UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE QUÍMICA

Programa de Pós-Graduação em Química

EVANDRO IVANOV

**Detecção de pesticidas por Espectroscopia Raman
Intensificada por Superfície (SERS) com nanopartículas
de prata funcionalizadas**

Versão corrigida

São Paulo

Data do Depósito na SPG:

26/07/2019

EVANDRO IVANOV

**Detecção de pesticidas por Espectroscopia Raman
Intensificada por Superfície (SERS) com nanopartículas
de prata funcionalizadas**

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

Orientadora: Prof^a. Dr^a Paola Corio

São Paulo

2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

I93d Ivanov, Evandro
Detecção de pesticidas por Espectroscopia Raman
Intensificada por Superfície (SERS) com
nanopartículas de prata funcionalizadas / Evandro
Ivanov. - São Paulo, 2019.
207 p.

Tese (doutorado) - Instituto de Química da
Universidade de São Paulo. Departamento de Química
Fundamental.
Orientador: Corio, Paola

1. Espectroscopia Raman. 2. SERS. 3. Análises
ambientais. 4. Nanopartículas. 5. Pesticidas. I. T.
II. Corio, Paola, orientador.

Dedico este trabalho à memória de meus avós

Laura e Felix Sanchez

Sertão sendo do sol e os pássaros: urubu, gavião

– que sempre voam, às imensidões, por sobre...

Travessia perigosa, mas é a da vida.

Riobaldo

Agradecimentos

à minha orientadora, Prof^ª. Dr^ª. Paola Corio e aos professores-pesquisadores do Laboratório de Espectroscopia Molecular da USP, Prof^ª. Dr^ª. Márcia Laudelina Arruda Temperini, Prof^ª. Dr^ª. Dalva Lúcia de Araújo Faria, Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando, Prof. Dr. Paulo Sérgio Santos e Prof. Dr. Mauro Carlos da Costa Ribeiro, pelo suporte e orientação.

ao Prof. Dr. Santiago Sanchez-Cortez e a todo o grupo de pesquisa do *Instituto de La Estructura de La Materia* (Madri, Espanha), pela excelente recepção e intenso intercâmbio científico.

aos professores ministrantes de disciplinas no programa de química, Liane Márcia Rossi, Peter Wilhelm Tiedemann, Érico Teixeira Neto e Alexandre Brolo.

aos professores Renato Sanches Freire e Flávio Maron Vicchi pelas sugestões e colaboração após o exame de qualificação.

aos professores Francisco de Assis Queiroz (FFLCH-USP) e Paulo Alves Porto (IQ-USP) por me receberem em seus cursos sobre história da ciência.

aos técnicos da Central Analítica do IQ-USP pelo suporte com equipamentos: a Alfredo Duarte pelo treinamento em Microscopia Eletrônica de Varredura.

a todos os funcionários técnicos e administrativos do Instituto de Química da USP.

aos Representantes Discentes e integrantes das gestões 2014, 2015 e 2016 da Associação de Pós-graduandos do IQ-USP pelo comprometimento com a comunidade estudantil do IQ.

aos colegas do Laboratório de Espectroscopia Molecular, sobretudo aos que contribuíram com o desenvolvimento de estágios iniciais deste trabalho.

aos amigos do IQ-USP que colaboraram com disponibilidade, trabalho e ideias para o desenvolvimento deste projeto: Carolina Torres, Marina Leite, Fernanda Carli, Otávio Gil, Guilherme Pereira e Evandro Silva.

Agradeço, em especial, à minha avó pelas quartas-feiras, ao meu irmão pelos sábados e meus pais pelos domingos. Agradeço a alguns amigos pelas quintas-feiras na Europa, e a outros pelas viagens de final de semana. À minha companheira, agradeço por quase todos os outros dias.

Resumo

IVANOV, E.. **Detecção de pesticidas por Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS) com nanopartículas de prata funcionalizadas**. 2019. Tese – Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

A espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (SERS) é uma técnica que combina ultra-sensibilidade analítica com a riqueza de informações característica de espectroscopia vibracional, e consiste na análise de sistemas em que a molécula de interesse se encontra adsorvida sobre um substrato: em geral, nanopartículas metálicas (NPs). A intensificação do espectro Raman destas moléculas é promovida pela indução de campos elétricos pela ressonância localizada de *plasmons* de superfície (LSPR) das NPs e por efeitos de intensificação químicos associados com a configuração eletrônica do sistema NP-molécula. A impossibilidade de interação entre alguns grupos de poluentes (pesticidas hidrofóbicos, HPA, BTX) e a superfície dos substratos mais comuns é um obstáculo para a aplicação de SERS em análises ambientais. Interações podem ser viabilizadas pela modificação superficial de NPs metálicas com substâncias capazes de capturar poluentes por partição ou complexá-los. O objetivo principal é o desenvolvimento de substratos funcionalizados para detecção de pesticidas por partição ou complexação *host-guest*. Os resultados estão distribuídos em quatro capítulos temáticos. No capítulo 3, são apresentados procedimentos para síntese de nanopartículas de prata pelos métodos de Lee-Meisel, poliol e hidroxilamina neutra e de nanobastões de ouro pelo método CTAB. A cinética da síntese de nanofios de prata pelo método poliol é discutida. No capítulo 4, as fontes de variância de análises SERS são identificadas através da análise de variâncias por níveis hierárquicos (MLNVA) e são apresentados três métodos de tratamento de dados: a transformação estatística SNV, a aproximação para SERS em sistemas de partição e a aproximação da isoterma de adsorção por SERS. No capítulo 5, são apresentados procedimentos para funcionalização de nanopartículas de prata pelas mercaptanas bidentadas 1,8-octanoditiol e 8-mercaptop-1-octanol, incluindo estudo conformacional a partir da interpretação de espectros SERS, obtenção de constantes de afinidade e atribuição de bandas com cálculos DFT. Os sistemas apresentados são utilizados para obtenção de espectros SERS dos pesticidas organoclorados aldrin e endosulfan e para determinação da constante de afinidade dos pesticidas pelo filme de mercaptanas. No capítulo 6, são apresentados resultados obtidos com macrociclos capazes de formar complexos *host-guest* (ciclodextrinas, mercapto-ciclodextrinas e cucurbiturils). O ácido 4-mercaptop-fenilborônico (4-MPBA) é utilizado como ligante intermediário entre NPs e ciclodextrinas, e seu equilíbrio ácido base é estudado por SERS. As considerações finais fazem um balanço dos principais resultados e sugere sistemas para aplicação futura dos substratos desenvolvidos.

Palavras-chave: Espectroscopia Raman; SERS; nanopartículas metálicas; poluentes; pesticidas; funcionalização de superfície; análises ambientais.

Abstract

IVANOV, E. **Detection of pesticides by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) with functionalized silver nanoparticles.** 2019. PhD Thesis – Graduate Program in Chemistry, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) combines analytical ultra-sensitivity with the level of structural detail of vibrational spectroscopy. The technique involves the analysis of systems in which the probe molecule is adsorbed over a SERS substrate consisting of metal nanoparticles. In SERS, Raman spectra are enhanced by electric fields induced by Localized Surface Plasmon Resonance and by chemical enhancement mechanisms related to the electronic configuration of the system. Most chemical pollutants (including hydrophobic pesticides, PAHs and BTX) cannot be adsorbed by the most common SERS substrates. This imposes challenges for the application of SERS in environmental analysis. Modifying NP's surface properties by adsorbing substances capable of partitioning hydrophobic pollutants or promoting complexation reactions is a viable strategy to overcome this issue. The main objective of this thesis is the development of functionalized substrates to detect pesticides through partition or host-guest complexation. Results are divided into four thematic chapters. In Chapter 3, procedures for synthesizing gold and silver nanoparticles through different methods are presented. The methods are "Turkevich/Lee-Meisel", "Poliol" and "Neutral Hydroxylamine" for silver nanoparticles and "CTAB" for gold nanorods. Data regarding the chemical kinetics of the poliol method is presented. In Chapter 4, variance sources of SERS analysis are identified through Multi-level Nested Variance Analysis (MLNVA) and three methods for data treatment are presented: SNV transformation, approximation for SERS in partition systems and SERS adsorption isotherm. In chapter 5, procedures for functionalizing silver nanoparticle with bifunctional alkyl thiols are presented. A conformational study of 1,8-octanedithiol and 8-mercapto-1-octanol through SERS is reported, affinity constants are obtained and the developed materials are applied on the detection of organochlorine pesticides aldrin and endosulfan. DFT calculations are used to perform tentative attribution of vibrational bands. In chapter 6, studies involving functionalization with host-guest macrocycles (cyclodextrins, mercapto-cyclodextrins and cucurbiturils) are presented. 4-mercapto-phenylboronic acid (4-MPBA) is used as intermediate linker between cyclodextrin and metal NP, and its acid-base equilibrium is studied through SERS. The concluding remarks reflect over the most relevant results and propose systems for future application of the developed substrates.

Keywords: Raman Spectroscopy; SERS; metal nanoparticles; pollutants; pesticides; surface functionalization; environmental analysis.

Lista de abreviaturas e siglas

4-MPBA	Ácido 4-mercapto-fenilborônico;
AEF	Fator de intensificação analítico;
ARS	Vermelho de alizarina S;
BTX	Benzeno, tolueno e xileno;
CB8	Cucurbit[8]uril;
CDX	Ciclodextrina;
DT8	1,8-octanoditiol;
EF	Fator de intensificação;
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos;
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance;
HT8	8-mercapto-1-octanol;
LSPR	Ressonância localizada de <i>plasmons</i> de superfície;
MEV	Microscopia eletrônica de varredura;
MLNVA	Análise de variâncias em níveis hierárquicos;
NP	Nanopartícula;
NRS	Espectro Raman normal;
S-CDX	Mercapto-ciclodextrina;
SERS	Espectroscopia Raman intensificada por superfície;
SMEF	Fator de intensificação de uma molécula;
SSEF	Fator de intensificação do substrato SERS;
UV-VIS	Espectrofotometria no Ultravioleta-Visível;
VJB	Verde de jânus B.

Lista de Figuras e Tabelas

Figura 1. Algumas das figuras do trabalho original de Fleischmann, Hendra e McQuillan (1974). (a) espectros de piridina adsorvida sobre o eletrodo em diferentes potenciais, (b) tabela apresentando as bandas principais da piridina em solução de diferentes pHs e ligada a um ácido de Lewis e (c) organização proposta para a primeira monocamada de adsorção em diferentes potenciais.....	26
Figura 2. Valores para as partes real (a) e imaginária (b) de metais utilizados para produção de nano estruturas (prata, ouro e platina) de acordo com o modelo de Drude.	37
Figura 3. Dependência entre a intensidade relativa do campo elétrico e a distância da superfície metálica de acordo com a relação teórica (a) e experimental (b) para nanopartículas esféricas de diferentes dimensões. (Kennedy <i>et al.</i> , 1999; Aroca, 2006)	39
Figura 4. Diagrama de níveis de energia envolvidos na formação de complexos de transferência de carga entre moléculas e metais. As setas (a), (b) e (c) indicam as excitações possíveis. Adaptado de Campion e Kambhampati (1998).....	42
Figura 5. Representação esquemática do mecanismo para nucleação e crescimento de enxofre de LaMer. Adaptado de Lamer e Dinegar (1950).....	57
Figura 6. Evolução da energia livre de Gibbs em função do raio da nanopartícula metálica durante a etapa de crescimento do <i>nanocluster</i> . Adaptado de Finney e Finke (2008).	59
Figura 7. Localização típica da posição da ressonância de plasmons superficiais localizados (LSPR) de nanopartículas de ouro e prata de diferentes formas. Adaptado de Sun e Xia (2003).....	61
Figura 8. Semi-reação de oxidação do citrato para promoção da redução de íons metálicos na síntese de Lee-Meisel.....	64

Figura 9. (a) Espectros de extinção no UV-Visível, imagens de microscopia eletrônica de varredura para sínteses de Lee-Meisel realizadas a (b) 80°C e (c) 100° e respectivas distribuições de tamanho de partículas (d, e).	66
Figura 10. Espectros de extinção no UV-VIS-NIR da dispersão de (a) sementes e de (b) nanobastões de ouro sintetizados pelo método CTAB. (c) Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de nanobastões de ouro.	69
Figura 11. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para nanopartículas obtidas através do método poliol com concentração de PVP de (a) 0,05, (b) 0,10 e (c) 0,15 molL ⁻¹	73
Figura 12. Imagem de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas de prata obtidas através do método poliol sem agitação do meio reacional.	74
Figura 13. (a) espectros de extinção no UV-VIS obtidos em diferentes etapas da síntese (método poliol). (b) evolução da intensidade e comprimento de onda máximo para o modo fundamental da ressonância de plasmons de superfície localizados (LSPR) de nanofios de prata obtidos através do método poliol ao longo da síntese. (c) Curvas obtidas através da aplicação de modelos teóricos à dispersão de intensidades de LSPR.	78
Figura 14. (p. 78) Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de alíquotas removidas após (a) 19, (b) 22, (c) 26 e (d) 30 minutos do início da síntese pelo método poliol. Histogramas de distribuição de tamanho de partículas correspondentes para (f) 19, (g) 22, (h) 26 e (i) 30 minutos.	80
Figura 15. Espectros do verde de jânus B obtidos com alíquotas removidas da síntese em 19 (a), 26 (b) e 30 (c) minutos. (d) Distribuição estatística dos espectros obtidos.	82
Figura 16. (a) Espectro de extinção no UV-VIS e (b) imagens de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas obtidas pelo método da hidroxilamina neutra. Estruturas	

destacadas em vermelho são nanoestrelas típicas. O destaque em azul apresenta outras estruturas alongadas.	86
Figura 17. Esquema de níveis hierárquicos para análise de variâncias de amostras coloidais.	93
Figura 18. Esquema de níveis hierárquicos para análise de variâncias em amostras secas.	94
Figura 19. Estrutura molecular de pesticidas comerciais da família dos tiocarbamatos. (a) Thiram, (b) Metam-sódio e (c) Ferbam.	96
Figura 20. Espectro Raman Normal (A) e SERS sobre nanofios de prata (B) do fungicida thiram.	97
Figura 21. Magnitudes de variância calculados no estudo de níveis hierárquicos em termos de desvios padrão relativos para (a) dados brutos e (b) dados convertidos em <i>Standard Normal Variate</i> (SNV). (c) Magnitudes relativas de variâncias atribuídas a diferentes fatores, para os dois casos anteriores.	99
Figura 22. Imagens de microscopia ótica com "agregados típicos" para coleta de espectro de acordo com três operadores diferentes.	101
Figura 23. Fotografia de sistema bifásico típico envolvendo fase orgânica e dispersão de nanopartículas.	105
Figura 24. Espectros intensificados de thiram obtidos em sistemas de partição 1-octanol/dispersão de nanopartículas, obtidos em concentrações nominais de (a) $5 \cdot 10^{-3}$, (b) $5 \cdot 10^{-4}$ e (c) $5 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ na fase orgânica.	107
Figura 25. Isoterma de adsorção obtida com o valor de SNV da banda em 1383 cm^{-1} de amostras de thiram com diluições progressivas.	108
Figura 26. Estruturas moleculares da (a) alizarina vermelha S e do (b) verde de jânus B. ...	117
Figura 27. Espectros SERS obtidos para os corantes vermelho de alizarina S (a) e verde de jânus B (b) em diferentes concentrações.	118

Figura 28. Isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS com diferentes bandas dos corantes (a) vermelho de alizarina S e (b) verde de jânus B.....	119
Figura 29. Isotermas de adsorção para (a) ARS e (b) VJB nos modelos de Langmuir, Freundlich e Koble-Corrighan.....	121
Figura 30. Estruturas moleculares de funcionalizantes de interesse no desenvolvimento da tese.	127
Figura 31. Estruturas moleculares dos pesticidas organoclorados (a) aldrin e (b) endosulfan.	128
Figura 32. Estruturas otimizadas para 1,8-octanoditiol nas conformações (a) eclipsada-eclipsada, (b) eclipsada- <i>gauche</i> e (c) <i>gauche-gauche</i> . (d) Estrutura otimizada para 8-mercapto-1-octanol.....	130
Figura 33. Estruturas otimizadas para (a) 1,8-octanoditiol e (b) 8-mercapto-1-octanol ligados a um átomo de prata para simulação do espectro SERS.	131
Figura 34. (a) espectro SERS experimental do 2-mercapto-etanol. Projeções de Newman e espectros Raman normais simulados (DFT) para as conformações (b) <i>gauche</i> e (c) eclipsada do 2-mercapto-etanol.....	132
Figura 35. (a) Espectro SERS de 8-mercapto1-octanol. Espectros simulados (DFT) (a) para a molécula livre (NRS) e (b) para a molécula ligada a um átomo de prata (SERS).	133
Figura 36. (a) Espectro SERS de 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para a molécula livre (NRS) nas conformações (b) eclipsada-eclipsada, (c) eclipsada- <i>gauche</i> , (d) <i>gauche-gauche</i> e (d) para a molécula em conformação ec-ec ligada a um átomo de prata (SERS)...	134
Figura 37. Espectros SERS de 8-mercapto-1-octanol nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação <i>gauche</i> (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).	136

Figura 38. Espectros SERS de 1,8-octanoditiol nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação <i>gauche</i> (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).....	136
Figura 39. Isotermas de adsorção calculadas com as bandas em (a) 1081 cm^{-1} do 8-mercaptop-1-octanol e (b) 707 cm^{-1} do 1,8-octanoditiol.....	138
Figura 40. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercaptop-1-octanol em proporção de 0,25 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação <i>gauche</i> (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).	139
Figura 41. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercaptop-1-octanol em proporção de 0,50 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação <i>gauche</i> (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).	139
Figura 42. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercaptop-1-octanol em proporção de 0,75 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação <i>gauche</i> (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).	140
Figura 43. Fragmentos de moléculas otimizados pelo Gaussian para cálculo das frequências Raman e atribuição de bandas de aldrin e endosulfan: (a) norbornadieno, (b) norbornadieno hexaclorado, (c) e anel com grupo sulfito nas conformações (c) α e (d) β	145
Figura 44. Espectros SERS do pesticida Aldrin com nanopartículas funcionalizadas com (a) 8-mercaptop-1-octanol, (c) 1,8-octanoditiol e (b) mistura 1:1 dos dois compostos. (d) Espectro SERS do pesticida endosulfan com nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol...	147

Figura 45. Espectro SERS do pesticida aldrin em nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para o (b) norbornadieno e para o (c) norbornadieno hexaclorado (Figura 46).....	148
Figura 46. Espectro SERS do pesticida endosulfan em nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para conformações (b) α e (c) β do anel contendo grupo sulfito e para o (d) norbornadieno hexaclorado (Figura 43).	149
Figura 47. Isotermas de adsorção calculadas com as bandas em (a) 350 cm^{-1} do aldrin e (b) 401 cm^{-1} do endosulfan.	150
Figura 48. Estruturas moleculares de (a) α -ciclodextrina, (b) cucurbit[6]uril.....	156
Figura 49. Estruturas otimizadas para (a) 4-MPBA ligado a um <i>cluster</i> com 14 átomos de prata e (b) a base conjugada ligada a um átomo de prata.	162
Figura 50. Comportamento ácido-base do ácido 4-mercapto-fenilborônico.....	162
Figura 51. Espectros SERS experimentais para (a) 4-MPBA e (c) sua base conjugada. Espectros simulados (DFT) para (b) 4-MPBA e (d) sua base conjugada.....	163
Figura 52. Espectro SERS e bandas deconvoluídas para 4-MPBA em concentrações de (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $1,3 \cdot 10^{-5}$, (c) $3,1 \cdot 10^{-6}$ e (d) $3,9 \cdot 10^{-7}$	165
Figura 53. (a) curva de Ostwald e (b) isoterma de adsorção obtidas com bandas do espectro SERS do 4-MPBA.....	166
Figura 54. (a) Forma genérica da reação de 4-MPBA com dióis. (b) Representação esquemática dos equilíbrios envolvidos na detecção de pesticidas com o sistema contendo NPs, 4-MPBA, CDX e pesticidas (P).	167
Figura 55. (a) Espectro SERS da 6-deoxi-6-mercapto- β -ciclodextrina. Subtração do branco nos espectros SERS do sistema contendo (b) atrazina, (c) aldrin e (d) endosulfan.	171
Figura 56. Espectro SERS de cucurbit[8]uril em pH 8,5.	174

Figura 57. Isoterma de adsorção de cucurbit[8]uril obtida através da aproximação SERS com a banda em 442 cm^{-1}	175
Figura 58. (a) Espectro SERS de cucurbit[8]uril. Subtração do branco nos espectros SERS do sistema contendo complexos <i>host-guest</i> com (b) atrazina, (c) aldrin e (d) endosulfan.	176
Tabela 1. Parâmetros obtidos na aplicação dos modelos de Boltzmann e Watzky Finke nos dados de intensidade de LSPR correspondentes a diferentes alíquotas coletadas ao longo da síntese de nanofios de prata.	79
Tabela 2. Média, desvio padrão e desvio padrão relativo para as distribuições de tamanho de nanopartículas apresentadas na Figura 14.....	81
Tabela 3. Fórmula e coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) de alguns pesticidas comerciais. Os valores de referência foram obtidos na FISPQ de produtos comerciais da Agilent e Sigma-Aldrich.	104
Tabela 4. Valores dos parâmetros no modelo aplicado para obtenção da isoterma de adsorção da Figura 25.	109
Tabela 5. Equações para o modelo de adsorção clássico de Langmuir e a aproximação para obtenção da constante de afinidade através de espectroscopia Raman intensificada por superfície.....	116
Tabela 6. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para ARS e VJB apresentadas na Figura 28.	119
Tabela 7. Modelos de isoterma de adsorção aplicados sobre os dados obtidos através da espectroscopia no UV-Visível (Figura 29) para ARS e VJB.....	120
Tabela 8. Parâmetros calculados para as isotermas apresentadas na Figura 29.....	121

Tabela 9. Frequências experimentais e teóricas (DFT) para diferentes conformações de 1,8-octanoditiol (Figuras 32 e 33) e atribuição tentativa de bandas.1,8-octanoditiol. Fatores de correção: 0,953 (NRS) e 0,949 (SERS).....	142
Tabela 10. Frequências experimentais e teóricas (DFT) para 8-mercapto-1-octanol (Figuras 32 e 33) e atribuição tentativa de bandas. Fatores de correção: 0,953 (NRS) e 0,949 (SERS)...	143
Tabela 11. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para 8-mercapto-1-octanol e 1,8-octanoditiol. (Figura 39)	143
Tabela 12. Frequências experimentais para os pesticidas aldrin e endosulfan e frequências teóricas calculadas para os fragmentos apresentados na Figura 46. Fator de correção: 0,959.	152
Tabela 13. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para Aldrin e Endosulfan.....	153
Tabela 14. Algumas propriedades de ciclodextrinas (Jambhekar e Breen, 2016a).....	158
Tabela 15. Volumes moleculares médios de alguns pesticidas de interesse.	159
Tabela 16. Frequências experimentais e teóricas (DFT) e atribuição de bandas para o ácido 4-mercapto-fenil-borônico e sua base conjugada. Fator de correção: 0,985.	169
Tabela 17. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS e aproximação de Ostwald para 4-MPBA.....	169
Tabela 18. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para cucurbit[8]uril.....	177

Sumário

Resumo	9
Abstract.....	10
Lista de abreviaturas e siglas	11
Lista de Figuras e Tabelas	12
Capítulo 1	
Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície: Origens e fundamentos	25
1.1. Descoberta e discussões iniciais	25
1.2. Fundamentos físicos da SERS: Intensidade do espectro Raman e mecanismos de intensificação	31
1.3. Propriedades óticas de metais e mecanismo de intensificação eletromagnética	33
1.4. Mecanismo de intensificação e efeitos químicos	40
1.5. Fatores de intensificação e o princípio da incerteza em SERS.....	44
1.6. Problemas específicos e organização da tese	49
Capítulo 2	
Objetivos gerais e específicos.....	53
2.1. Objetivos gerais	53
2.2. Objetivos específicos	53
Capítulo 3	
Sínteses de nanopartículas plasmônicas para aplicação em Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície.....	55

3.1.	Aspectos teóricos	55
3.2.	Síntese de nanopartículas de prata pelo método Turkevich/Lee-Meisel.....	63
3.2.1.	Procedimento.....	63
3.2.2.	Caracterização e discussão dos resultados	64
3.3.	Síntese de nanobastões de ouro pelo método CTAB	67
3.3.1.	Procedimento.....	67
3.3.2.	Caracterização e discussão dos resultados	68
3.4.	Síntese de nanopartículas de prata pelo método poliol	70
3.4.1.	Procedimentos	70
3.4.2.	Considerações sobre a cinética e o mecanismo da síntese	72
3.4.3.	Evolução na atividade SERS de substratos obtidos através do método poliol.....	82
3.5.	Síntese de nanopartículas de prata pelo método da hidroxilamina neutra — discussão sobre "nanoestrelas" de prata	84
3.5.1.	Procedimento.....	84
3.5.2.	Caracterização e discussão dos resultados	85

Capítulo 4

Aproximações e métodos para a análise de substâncias de interesse ambiental por SERS..... 89

4.1.	Dispersões coloidais e substratos depositados: Comparação por análise de variâncias em níveis hierárquicos (MLNVA)	89
4.1.1.	Procedimentos	91
4.1.2.	Resultados e discussão	95

4.2. Adsorção de substâncias hidrofóbicas em sistemas bifásicos para obtenção de espectros SERS 102

4.2.1. Procedimentos..... 102

4.2.2. Resultados e discussão 104

4.3. Considerações sobre a obtenção de isothermas de adsorção por SERS 113

4.3.1. Procedimentos..... 113

4.3.2. Resultados e discussão 114

Capítulo 5

Funcionalização de superfície por filmes de mercaptanas bidentadas para detecção de pesticidas hidrofóbicos 125

5.1. Análise conformacional de filmes de 1,8-octanoditiol 128

5.1.1. Procedimentos..... 128

5.1.2. Resultados e discussão 131

5.2. Detecção de pesticidas organoclorados com NPs funcionalizadas com filmes de 1,8-octanoditiol e 8-mercapto-1-octanol..... 144

5.2.1. Procedimentos..... 144

5.2.2. Resultados e discussão 146

Capítulo 6

Funcionalização de nanopartículas com complexantes *host-guest* para detecção de pesticidas hidrofóbicos 155

6.1. Funcionalização de nanopartículas de prata com sistema 4-MPBA-Ciclodextrina 159

6.1.1. Procedimentos..... 159

6.1.2.	Resultados e discussão	161
6.2.	Funcionalização com Mercapto-ciclodextrinas	170
6.2.1.	Procedimento.....	170
6.2.2.	Resultados e discussão	170
6.3.	Funcionalização com cucurbit[8]uril	173
6.3.1.	Procedimentos	173
6.3.2.	Resultados e discussão	174
Capítulo 7		
	Considerações finais	179
Apêndice		
I –	Lista de instrumentos e reagentes	185
II –	Índice de procedimentos experimentais	185
Anexo I.....		187
Referências Bibliográficas:		189
Súmula Curricular		205

Capítulo 1

Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície: Origens e fundamentos

1.1. Descoberta e discussões iniciais

O primeiro registro de um espectro SERS é atribuído a Fleischmann, Hendra e McQuillan (1974). O objetivo principal do trabalho era demonstrar a potencialidade da espectroscopia Raman, como técnica, para análise de fenômenos de superfície — o desafio, em termos de instrumentação, era demonstrar que a espectroscopia Raman tinha capacidades comparáveis à espectroscopia no infravermelho. (Fleischmann *et al.*, 1974; Fleischmann *et al.*, 1976; Mcquillan, 2009; Hendra, 2016) Processos superficiais eram (e ainda são) de extremo interesse para a eletroquímica e catálise heterogênea — embora a dependência entre potencial e corrente e a estrutura de reagentes e produtos de um processo fossem determináveis através da instrumentação da época, mecanismos de reação precisavam ser deduzidos. Havia, então, grande demanda de técnicas espectroscópicas que atingissem limites de detecção em ordem de grandeza adequada à primeira monocamada dos eletrodos e materiais em desenvolvimento na época, de modo a fornecer informações detalhadas sobre os processos que nela ocorriam. (Hendra, 2016) Nesse sentido, os resultados de Fleischmann eram muito impressionantes, mesmo se comparados com resultados típicos obtidos através de espectroscopia no infravermelho por reflectância total atenuada (ATR-IR).

O objeto de estudo do artigo era a adsorção de piridina sobre eletrodos rugosos de prata, e os dados apresentados no artigo demonstram que, caso o potencial aplicado ao eletrodo seja positivo em relação ao potencial de carga zero, o espectro se torna análogo ao da molécula ligada a um ácido de Lewis, como demonstrado pelo autor através da comparação com o espectro de piridina ligada a cloreto de zinco. O resultado indica que, nessa situação, a piridina se liga diretamente ao metal através do par de elétrons isolado do átomo de nitrogênio. Em potenciais negativos, pressupõe-se que a interação é intermediada por

Fig. 2. Raman spectra of pyridine in solution and at the silver electrode. (A) liquid pyridine; (B) 0.05 M aqueous pyridine; (C) silver electrode 0 V (S.C.E.); (D) -0.2 V; (E) -0.4 V; (F) -0.6 V; (G) -0.8 V; (H) -1.0 V.

(b)

Table 1 Raman bands of pyridine in different environments		
	$\Delta\nu$ (cm ⁻¹)	
liquid pyridine	991	1030
0.05 M aqueous pyridine solution	1005	1037
0.05 M aqueous pyridinium ion solution	1011	1029
Lewis acid site on alumina		1019
Zn (pyridine) ₂ Cl ₂		1025

Fig. 3. A possible model of the structure of the double layer between silver and potassium chloride solution containing pyridine. (a) At potentials positive to the P.Z.C. showing pyridine adsorbed to silver via nitrogen and in an "aqueous acidic environment", (b) at potentials negative to the P.Z.C. showing adsorbed pyridine in "aqueous environment".

Figura 1. Algumas das figuras do trabalho original de Fleischmann, Hendra e McQuillan (1974). (a) espectros de piridina adsorvida sobre o eletrodo em diferentes potenciais, (b) tabela apresentando as bandas principais da piridina em solução de diferentes pHs e ligada a um ácido de Lewis e (c) organização proposta para a primeira monocamada de adsorção em diferentes potenciais.

moléculas de água.

O experimento é bastante engenhoso, com um trabalho bastante delicado no projeto do eletrodo para realização da medida, e uma conclusão muito bem fundamentada. A Figura 1 apresenta algumas das figuras e tabelas do artigo original, mostrando os espectros da piridina pura, em solução, adsorvida sobre os eletrodos em diversos potenciais, a tabela com a atribuição de bandas, incluindo a do espectro da piridina adsorvida em cloreto de zinco e a ilustração do modelo apresentado para a adsorção. Entretanto, o aspecto mais discutido sobre o trabalho foi outro: os espectros apresentados tinham intensidade muito superior aos normalmente obtidos com a instrumentação da época, como apontado na carta de Creighton ao editor do *Journal of the American Chemical Society* (Albrecht e Creighton, 1977) — considerando as condições experimentais e a adsorção de moléculas à superfície metálica, é possível estimar que a razão entre moléculas espalhadoras na solução e na superfície do eletrodo é da ordem de 10^5 , de modo que a simples possibilidade de observar o complexo de coordenação em intensidade semelhante às bandas da piridina livre implica que, de alguma maneira, o espectro das moléculas adsorvidas tem intensidade da ordem de 10^5 vezes maior do que das moléculas em solução. Amplificações dessa ordem poderiam ser atribuídas ao efeito Raman ressonante, que também era um tópico de interesse na literatura dos anos 70. (Sala e Temperini, 1975; Albrecht e Creighton, 1977)

Em trabalho realizado de maneira independente, Jeanmaire e Vanduyne (1977) expandiram o experimento de Fleischmann para outras aminas heterocíclicas aromáticas e alifáticas e também reconheceram que a intensidade típica dos espectros não poderia ser atribuída ao aumento na área superficial do eletrodo — o tratamento usado por Fleischmann envolvia pelo menos dez ciclos de oxidação-redução da prata do eletrodo, o que deveria aumentar a área superficial em cerca de 10 vezes. Além de reconhecer, da mesma maneira que

Creighton, que a intensificação no caso deve ser da ordem de 10^5 vezes, o artigo demonstrou que tratamentos de superfície muito mais suaves, com apenas um ciclo de oxidação e redução e um aumento muito menos significativo da área superficial forneciam fatores de intensificação ainda maiores. Os autores reportaram a ocorrência do mesmo fenômeno, mas o explicaram através de uma ideia menos convencional do que o Raman ressonante: a intensificação pelo campo elétrico induzido nas vizinhanças do eletrodo. O modelo era, então, uma analogia entre o eletrodo recoberto e materiais em estado sólido, como semicondutores e cristais, e fez com que o manuscrito original fosse recusado e alterado diversas vezes. (Mcquillan, 2009)

A divergência nos modelos propostos pelos grupos de Creighton e Van Duyne é mencionada em publicações mais atuais como a origem da ideia de que há contribuições químicas e eletromagnéticas independentes para a intensificação SERS. (Mcquillan, 2009; Hendra, 2016) Outra divergência fundamental ocorria em torno de experimentos realizados por ambos os grupos em torno da dependência entre a intensificação do espectro e a frequência de excitação. Os resultados pareciam contraditórios: Creighton e colaboradores reportaram um aumento no sinal Raman associado à excitação com radiação de alta frequência, enquanto o grupo de Van Duyne apontou exatamente o oposto. A revisão de ambos os trabalhos por Moskovits (1978) apontou que a diferença entre ambos poderia ser explicada por diferenças na rugosidade dos eletrodos, decorrentes de diferenças nos tratamentos empregados. Desta maneira, o efeito poderia ser explicado por um fenômeno de ressonância decorrente das propriedades eletromagnéticas do metal, denominado “ressonância de condução ótica”, em que a frequência de ressonância λ_R , é dada por:

$$\lambda_R = \lambda_p \left[1 + \varepsilon_b + \frac{(2 + q)}{(1 - q)} \varepsilon_0 \right]^{1/2} \quad (1)$$

Aonde λ_p e ε_b são, respectivamente, a frequência de plasma e a parte imaginária da função dielétrica do metal, e ε_0 a permissividade elétrica do dielétrico em que ele está envolvido. Como os três (λ_p , ε_b e ε_0) são valores de referência, a frequência de ressonância, ou seu deslocamento com relação à frequência de plasma do metal, é dada pelo termo q , que é a fração em volume do metal no meio:

$$q = \frac{V_{metal}}{V_{metal} + V_{dielétrico}} \quad (2)$$

O tratamento usado por Creighton envolvia tempos de eletrodeposição mais longos, que faziam com que a superfície metálica fosse mais similar ao metal *bulk* (q próximo de 1), com frequência de ressonância deslocada para o vermelho, enquanto o tratamento mais curto empregado por Van Duyne fazia com que fendas tivessem dimensões menores (q próximo de 0), com frequências de ressonância deslocadas para o azul. (Moskovits, 1978)

O trabalho de Moskovits merece atenção especial, pois determinou muito do que seria o desenvolvimento futuro da espectroscopia Raman por superfície. Nos termos do próprio artigo:

“According to the model proposed above, the enhanced Raman scattering from molecules such as pyridine adsorbed on rough silver surfaces result, then from ordinary resonance or preresonance enhancement by a rather extraordinary system, namely, the ensemble of adsorbate-covered metal bumps on the electrode surface.”

Moskovits (1978)

Deve-se ressaltar que o artigo não só ofereceu uma explicação satisfatória para um conjunto de observações não negligenciáveis e conflituosas relacionadas à dependência entre a frequência de excitação e a intensificação dos espectros, mas aproximou o comportamento dos eletrodos rugosos, em que as fendas tinham larguras e profundidades da ordem de centenas de nanômetros, aos colóides de esferas metálicas cujas propriedades óticas eram bem explicadas pelo eletromagnetismo clássico desde o início do século XX, propondo ainda, em seu último parágrafo, o uso de colóides metálicos como substratos. Além disso, explica porque esse fenômeno era observado apenas em metais da família 11 (cobre, prata e ouro), em que a ressonância de condutividade ótica ocorre próxima à região visível do espectro eletromagnético, e coincide com as frequências de excitação de espectrômetros Raman.

Nos anos seguintes, o uso de dispersões coloidais dos metais em questão não apenas se tornou realidade, mas se tornou indissociável da pesquisa em *SERS* (Moskovits, 1985), e a transposição do modelo para esse tipo de sistema o tornou ainda mais bem sucedido. De toda maneira, os sistemas estudados eram interessantes do ponto de vista da perspectiva e desafiadores do ponto de vista dos dados - em uma breve retrospectiva de seus resultados principais, Fleischmann pontuou, em 1980 (Fleischmann *et al.*, 1981), que qualquer teoria proposta precisaria dar conta de inúmeras anomalias observáveis em todos os sistemas então estudados, entre as quais se podem citar o surgimento de um sinal de fundo contínuo em conjunto com as bandas Raman intensificadas, a dependência entre o potencial elétrico e a intensificação do sinal de determinadas bandas em estudos eletroquímicos, além de alterações na intensidade relativa entre bandas do espectro intensificado quando comparado ao espectro normal.

Os artigos comentados nesta seção e seus autores constituem um conjunto de publicações muito importante para a compreensão da espectroscopia Raman intensificada por

superfície enquanto fenômeno, e a origem de muitas das elaborações e modelos teóricos encontrados em artigos de revisão e livros texto mais recentes, com variados graus de refinamento. As informações aqui mencionadas acerca do desenvolvimento dos experimentos e de suas comunicações podem ser encontradas em relatos publicados por alguns dos autores envolvidos nos trabalhos iniciais (Haynes *et al.*, 2005; Mcquillan, 2009; Hendra, 2016), que tem por motivação, principalmente, a disputa pela paternidade da descoberta do fenômeno. No entanto, a leitura da produção de qualquer um deles de maneira isolada, em comparação com o desenvolvimento atual da SERS como tópico de pesquisa, oferece um recorte incompleto, de modo que não há nenhuma dúvida de que cada um dos grupos aqui mencionados contribuiu de maneira única para a compreensão e o desenvolvimento futuro da técnica.

1.2. Fundamentos físicos da SERS: Intensidade do espectro Raman e mecanismos de intensificação

De maneira geral, se considera que existem dois mecanismos separados e complementares para a intensificação SERS: a intensificação eletromagnética e a intensificação química. Ambos os efeitos ocorrem de maneira simultânea, e a contribuição de cada um deles para a intensificação total depende de particularidades do sistema.

A intensidade do espectro Raman em si pode ser tratada como dependente de quatro fatores: a frequência (ν) e amplitude do campo elétrico (E_0) da radiação excitante, o número de espalhadores, ou seja, moléculas no caminho ótico da radiação (N) e a variação na

polarizabilidade molecular provocada pela vibração da molécula ($d\alpha/dQ$) (Sur, 2010). Em termos proporcionais, considera-se que:

$$I_{ER} \propto \nu^4 E_0 N \frac{d\alpha}{dQ} \quad (3)$$

A intensificação eletromagnética do espectro Raman está relacionada com a amplitude do campo eletromagnético (E_0): A incidência de radiação eletromagnética sobre metais provoca oscilações coletivas dos elétrons livres — em termos clássicos, o metal pode ser considerado como a sobreposição de uma rede de núcleos positivos e um gás de elétrons negativos, motivo pelo qual a oscilação coletiva no interior de metais *bulk* é denominada ressonância de plasma. (Marton e Lemon, 1971) Como o campo elétrico da radiação provoca movimentos em sentidos opostos para os núcleos e elétrons, é natural que ocorra a formação de dipolos elétricos na superfície do metal, e, conseqüentemente, a formação de campos elétricos intensos normais à superfície — a esse fenômeno é dado o nome de ressonância de *plasmons* superficiais. Embora tenham a mesma natureza, as frequências de *plasmons* tendem a ser menos energéticas do que as frequências de plasma. Quando a partícula metálica é muito menor do que o comprimento de onda da luz, a oscilação ocorre de maneira confinada, dando origem à ressonância de plasmons de superfície localizados (*LSPR*, no acrônimo em inglês). O último caso tem especial relevância para SERS, já que nanopartículas plasmônicas são o material mais usual em estudos e aplicações. É importante ressaltar que, idealmente, o fenômeno de intensificação eletromagnética não sofre nenhuma influência do analito, e é explicado apenas pelas propriedades óticas do substrato.

O mecanismo de intensificação química adquire, portanto, função conceitual de explicar a influência da identidade do sistema e tem relação com o termo $d\alpha/dQ$ da equação (3). Embora a comparação entre espectro Raman normal e espectro intensificado seja comum,

a informação espectral obtida através de SERS não é, e nem pode ser, a mesma contida no espectro Raman normal da molécula em fase sólida ou solução aquosa, porque o sistema não é o mesmo. A intensificação só é possível se houver algum grau de interação entre a molécula e interesse e a superfície, e isso pode se dar através, por exemplo, da formação de ligações covalentes, complexos de transferência de carga ou interações eletrostáticas. (Campion e Kambhampati, 1998; Sur, 2010) Comparando-se o sistema SERS com moléculas em solução, alguns aspectos do mecanismo são claros: o sistema metal-molécula sempre será mais polarizável do que a molécula isolada, e como necessariamente há mudanças nos orbitais moleculares, pode ocorrer supressão de fluorescência. Embora se considere que a contribuição do mecanismo de intensificação química seja ordens de grandeza inferior à do mecanismo de intensificação eletromagnética, considerações acerca da identidade do sistema são essenciais para uma explicação completa dos aspectos observáveis de espectros intensificados, principalmente os aspectos não relacionados com a intensidade do espectro, como o deslocamento de bandas com relação ao espectro Raman normal, variações na intensidade relativa das bandas e surgimento de sinais de fundo. (Moore *et al.*, 2012)

Aspectos detalhados dos dois mecanismos serão abordados nas duas seções a seguir.

1.3. Propriedades óticas de metais e mecanismo de intensificação eletromagnética

Como mencionado anteriormente, a atribuição da intensificação SERS ao comportamento ótico do substrato expandiu as possibilidades da técnica de eletrodos rugosos para colóides metálicos (Moskovits, 1985) — embora em ambos os casos a intensificação

possa ser explicada pela excitação de moléculas adsorvidas por campos elétricos intensos, a origem dos campos não é a mesma em ambos os casos. As propriedades óticas de metais podem ser compreendidas a partir do estudo físico do comportamento do gás de elétrons em que o retículo cristalino composto pelos núcleos está inserido, levando em conta que em um condutor ideal, a atração entre o núcleo e elétrons das camadas de valência é desprezível. (Feynman, 2008) Em termos de escala de tamanho, nanopartículas tipicamente empregadas na SERS (cujas dimensões podem variar entre 20 e 100 nm (Tao *et al.*, 2008)) se situam no limite em que seu comportamento pode ser considerado metálico — isso significa que, com algumas exceções, suas propriedades óticas podem ser compreendidas em termos do eletromagnetismo clássico. (Hartland, 2011) Nesse sentido, um bom ponto de partida é o modelo de Drude, desenvolvido no início do século XX para explicar a condução de corrente contínua e outras propriedades dos metais. (Marton e Lemon, 1971; Dignam e Moskovits, 1973; Hartland, 2011)

O índice de refração (n) ou a constante dielétrica ($\epsilon = n^2$) de uma substância está relacionado com a polarizabilidade molecular (α) através da equação de Clausius-Mosotti, aonde N é a concentração de átomos ou moléculas por unidade de volume:

$$3 \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} = N\alpha \quad (4)$$

Do ponto de vista da mecânica quântica, a polarizabilidade de um material é dependente da frequência da radiação incidente, já que envolve a ocorrência de ressonância entre o campo elétrico oscilante e os diversos osciladores presentes em átomos e moléculas. A polarizabilidade como função da frequência $\alpha(\omega)$ pode ser expressa por:

$$\alpha(\omega) = \frac{q_e^2}{\epsilon_0 m} \sum_k \frac{f_k}{-\omega^2 + i\gamma_k \omega + \omega_{0k}^2} \quad (5)$$

Aonde a cada um dos k osciladores é atribuída uma frequência natural (ω_{0k}), um coeficiente de amortecimento (γ_k) e um fator de força (f_k), que indica a magnitude da contribuição. A polarizabilidade é simples de definir para uma substância isotrópica em fase gasosa (um gás nobre), em que o número de osciladores é bem definido e corresponde à função de onda dos níveis eletrônicos. Em materiais em fase condensada, a diversidade de interações provoca dois efeitos: um aumento substancial no número de osciladores e valores maiores para o coeficiente de amortecimento, γ .

No entanto, a consequência mais importante da equação anterior nesta discussão é que, sendo a polarizabilidade um número complexo, o índice de refração também o será, podendo ser apresentado como:

$$n(\omega) = n_1 - in_2 \quad (6)$$

Expressar o índice de refração como uma função complexa torna o modelo capaz de explicar fenômenos como a reflexão e a absorção de luz. O índice real (n_1) indica a velocidade de propagação da luz em um meio. A magnitude do índice imaginário (n_2) está relacionada com o grau de atenuação da onda incidente promovida pelo meio, devida à transferência de energia para os osciladores atômico-moleculares.

De acordo com o modelo de Drude (Marton e Lemon, 1971), a maior contribuição para a polarizabilidade de metais são os elétrons livres em que a força de restauração para a oscilação induzida é desprezível. O quadrado do índice refração (ou a constante dielétrica) de metais é dado por:

$$n^2 = \varepsilon(\omega) = 1 - \frac{Nq_e^2}{m\varepsilon_0} \cdot \frac{1}{\omega(\omega + i\gamma)} \quad (7)$$

Nesta expressão, o valor da constante dielétrica depende, portanto, de duas variáveis relacionadas às propriedades macroscópicas do metal. A primeira é o coeficiente de amortecimento, que é inversamente proporcional à condutividade elétrica do metal, σ :

$$\gamma = \frac{1}{\tau} = \frac{Nq_e^2}{m} \cdot \frac{1}{\sigma} \quad (8)$$

O termo τ representa o tempo médio entre colisões na condução de corrente elétrica. Em termos práticos, isso significa que, quanto melhor condutor for o metal, menor será a atenuação da radiação. A segunda variável é a frequência de plasma (ω_p), dada por:

$$\omega_p^2 = \frac{Nq_e^2}{m\epsilon_0} \quad (9)$$

A expressão para a frequência de plasma é algebricamente idêntica para um metal e para um gás ionizado, sendo a única diferença, do ponto de vista físico, o termo N , que indica o número de elétrons por unidade de volume — embora essa densidade eletrônica seja muito maior em materiais em fase condensada, o comportamento do sistema é exatamente o mesmo. O valor de ω_p indica a frequência de oscilação natural dos elétrons livres do metal *bulk*, o que significa que se a radiação incidente possuir frequência similar ocorre a indução de uma oscilação coletiva e a consequente absorção de radiação pelo material. Quando a frequência da radiação incidente é maior do que a frequência de plasma, o termo imaginário da constante dielétrica se torna desprezível, e o metal se torna transparente — na maioria dos metais, o processo se dá em frequências de raios X ou do ultravioleta de alta energia.

A Figura 2 mostra as constantes dielétricas calculadas através do modelo de Drude para prata, ouro e platina, os metais mais aplicados na produção de nanoestruturas. Comparando os valores da curva com valores obtidos na literatura (Johnson e Christy, 1972), pode-se observar que, em geral, os valores para a constante dielétrica real calculados através

Figura 2. Valores para as partes real (a) e imaginária (b) de metais utilizados para produção de nano estruturas (prata, ouro e platina) de acordo com o modelo de Drude.

do modelo de Drude são menores do que os medidos. O modelo pode ser aperfeiçoado através de um termo para a contribuição das transições inter-banda dos metais (Marton e Jordan, 1977; Hartland, 2011) — a correção é especialmente relevante no caso do ouro, em que a transição se dá na região do visível, e faz com que a curva se torne menos inclinada para a parte real e atinja um máximo na parte imaginária, relacionado à absorção de luz para promoção de elétrons entre níveis eletrônicos. (Johnson e Christy, 1972)

Em sua natureza, a ressonância de plasmons superficiais não é diferente da ressonância de plasma ou da ressonância de condução ótica, mencionadas nas seções anteriores — sua frequência, como em todas as demais, está relacionada com a disposição dos elétrons livres do metal em cada um dos casos. De maneira geral, esses fenômenos ocorrem de maneira simultânea. Plasmons superficiais não são inexistentes em materiais *bulk*, mas se

tornam irrelevantes quando comparados com fenômenos como a ressonância de plasma e a transição inter-bandas. (Marton e Lemon, 1971; Marton e Jordan, 1977; Hartland, 2011) Por esse motivo, a ressonância de plasmons de superfície localizados (LSPR) é considerada uma propriedade emergente em materiais nanoestruturados, em que ela é dominante: quanto menor uma estrutura, maior sua relação área-volume, o que significa que propriedades superficiais (como é o caso da LSPR) passam a ter maior contribuição para as propriedades do material, em comparação com propriedades típicas de materiais *bulk*.

A intensidade do campo elétrico nas vizinhanças de uma nanopartícula (E_{ext}) é dada pela resolução das equações de Maxwell para uma esfera metálica polarizável sob campo elétrico uniforme — aproximação que é válida se o comprimento de onda da radiação incidente for cerca de 10 vezes maior do que o diâmetro da partícula. (Willets e Van Duyne, 2007) A equação a seguir (Aroca, 2006) mostra a dependência entre o campo elétrico produzido pelo plasmon com a amplitude da radiação incidente (E_0), e o raio da partícula (a):

$$-E_{ext}(r, \theta) = E_0 r \cos \theta \left[1 + \left(\frac{\epsilon_{ext} - \epsilon_{int}}{\epsilon_{int} + 2\epsilon_{ext}} \right) \frac{a^3}{r^3} \right] \quad (10)$$

Sendo o termo de ressonância (g):

$$g = \frac{\epsilon_{ext} - \epsilon_{int}}{\epsilon_{int} + 2\epsilon_{ext}} \quad (11)$$

Aonde ϵ_{int} e ϵ_{ext} são, respectivamente, as constantes dielétricas no interior da esfera e no meio que a envolve. Como no caso dos metais a constante dielétrica é negativa, a ressonância ocorre na frequência em que a parte real da constante dielétrica do metal corresponde a $-2\epsilon_{ext}$. Nessa situação, a parte real do denominador tende a zero, e o campo elétrico é intensificado em várias ordens de grandeza. De um ponto de vista qualitativo, a frequência de ressonância é aquela em que a nuvem eletrônica da nanopartícula metálica é

mais polarizável e, portanto, mais eficiente na extinção de luz, tanto por absorção quanto por espalhamento — para o vácuo, o termo de ressonância g é exatamente idêntico ao da equação de Clausius-Mosotti. Considerando os valores para a parte real da constante dielétrica apresentados na Figura 2, é possível observar que para a prata e ouro, a condição de ressonância ocorre no visível, enquanto para a platina, se dá no ultravioleta.

Outro aspecto da equação (10) que merece destaque é o termo a^3/r^3 , que mostra a distância de excitação por LSPR. O campo decai de maneira inversamente proporcional a r^3 , mas a taxa de decaimento é maior ou menor de acordo com a dimensão da partícula, expressa por a^3 — como consequência, quanto maior a nanopartícula, maior será a distância na qual

Figura 3. Dependência entre a intensidade relativa do campo elétrico e a distância da superfície metálica de acordo com a relação teórica (a) e experimental (b) para nanopartículas esféricas de diferentes dimensões. (Kennedy *et al.*, 1999; Aroca, 2006)

ela será capaz de detectar moléculas. É por esse motivo que nanopartículas aplicadas em SERS normalmente estão na escala das dezenas de nanômetros, e não em escala propriamente nanométricas. A Figura 3(a) mostra a intensidade relativa do campo elétrico induzido em função da distância para nanopartículas de diâmetros entre 5 e 50 nm. Embora o gráfico sugira que partículas típicas geram campos significativos na ordem de alguns nanômetros, medidas experimentais da dependência entre distância e intensificação SERS (Kennedy *et al.*, 1999) sugerem que o decaimento do campo respeita a relação:

$$\frac{I}{I_0} = \left(\frac{a}{r} \right)^{10} \quad (12)$$

Aonde I/I_0 é a intensidade normalizada para a intensidade máxima. Essa relação sugere que o alcance do efeito é significativamente menor (Figura 3(b)), que na prática significa que a contribuição de moléculas que interagem com a superfície metálica para o espectro observado, será sempre ordens de grandeza maior do que a de moléculas que estão presente na solução, mas não são capazes de realizar interações.

1.4. Mecanismo de intensificação e efeitos químicos

Normalmente, a contribuição química para o fator de intensificação SERS é considerada como sendo ordens de grandeza inferior à contribuição do mecanismo eletromagnético. Embora isso torne sua relevância questionável do ponto de vista da intensidade, o mecanismo envolve a ocorrência de fenômenos muito significativos para a elucidação de algumas observações experimentais.

Como mencionado anteriormente, a intensificação química está associada com um aumento no termo $d\alpha/dQ$ da equação (3), que representa a taxa de variação da polarizabilidade associada com um modo vibracional particular. A seção de choque diferencial do espalhamento Raman ($d\sigma/d\Omega$), é proporcional a esse termo e à quarta potência do deslocamento Raman. Pode-se considerar de maneira intuitiva que o sistema SERS, envolvendo uma molécula ligada a uma nanopartícula metálica será, necessariamente, mais polarizável do que a molécula isolada, especialmente considerando a alta polarizabilidade da nanopartícula na frequência de ressonância de plasmons. Essa consideração é suficiente para explicar (embora não para quantificar) o aumento na intensidade da radiação espalhada. No entanto, a dependência entre a seção de choque e o deslocamento Raman, que explica porque as bandas na região de alta energia ($>3000\text{ cm}^{-1}$) são mais intensas do que as localizadas na região de impressão digital em moléculas orgânicas, não é verificada no espectro SERS. Além disso, em alguns sistemas é possível observar harmônicas de certos modos vibracionais. (Rousseau e Williams, 1976; Clark e Dines, 1986; Ribeiro, 1992) Na época em que o SERS começou a ser desenvolvido, esse tipo de observação já era atribuído a sistemas em que ocorre o efeito Raman ressonante, e a “intensificação química” pode ser explicada pela diferença entre os níveis energéticos dos orbitais moleculares da molécula isolada e da molécula ligada à superfície metálica — é muito comum que o sistema nanopartícula-molécula seja ressonante em determinado comprimento de onda mesmo quando a molécula isolada não é. (Mcnay *et al.*, 2011; Moore *et al.*, 2012) Isso ocorre devido à formação de complexos de transferência de carga entre o orbital HOMO da molécula e o nível de Fermi do metal: neste caso, a radiação excitante se torna ressonante com a transição entre o nível de Fermi e o orbital LUMO da molécula. Além disso, pode ocorrer transferência de carga entre o nível de Fermi do metal e o orbital LUMO da molécula, que pode provocar ressonância na transição entre o orbital LUMO e orbitais moleculares de maior energia. (Campion e

Figura 4. Diagrama de níveis de energia envolvidos na formação de complexos de transferência de carga entre moléculas e metais. As setas (a), (b) e (c) indicam as excitações possíveis. Adaptado de Campion e Kambhampati (1998).

Kambhampati, 1998) Esses dois processos são representados no diagrama de níveis de energia da Figura 4.

O tratamento teórico do Raman ressonante envolve a dedução do tensor de polarizabilidade da transição Raman através da teoria de perturbações. (Rousseau e Williams, 1976; Ribeiro, 1992) A emissão Raman é tratada com um processo de dois fótons, em que, ao contrário de outros processos de natureza puramente eletrônica, não podem ser separadas duas etapas independentes, de absorção e emissão. Para uma transição entre níveis vibracionais m e n , envolvendo um estado intermediário r , o tensor α em um plano $\rho\sigma$ (que pode ser xy , xz ou yz) é dado por:

$$(\alpha_{\rho\sigma})_{mn} = \frac{1}{\hbar} \sum_r \left(\frac{\langle \psi_n | \mu_\rho | \psi_r \rangle \langle \psi_r | \mu_\sigma | \psi_m \rangle}{\nu_{rm} - \nu_0 + i\gamma_r} + \frac{\langle \psi_n | \mu_\sigma | \psi_r \rangle \langle \psi_r | \mu_\rho | \psi_m \rangle}{\nu_{rn} + \nu_0 + i\gamma_r} \right) \quad (13)$$

A equação é um somatório dos estados intermediários (r) possíveis — ψ representa a função de onda que descreve o estado subscrito, e μ_ρ e μ_σ são os componentes do momento de dipolo de transição eletrônica no plano em questão. Nos denominadores, ν_{rm} indica a frequência da transição eletrônica, ν_0 a frequência da radiação excitante e γ_r o coeficiente de amortecimento do estado excitado. Na condição de ressonância, as frequências da radiação excitante e da transição eletrônica coincidem — o pequeno valor real do denominador do primeiro termo faz com que ele seja muito maior do que o segundo. (Ribeiro, 1992) Além disso, nesse caso o valor do tensor α é muito maior do que na condição de pré-ressonância e o tempo de meia vida do estado intermediário é equivalente ao do estado eletrônico excitado, fatores que explicam a intensificação das bandas dos cromóforos envolvidos na transição eletrônica no espectro Raman. (Rousseau e Williams, 1976)

O mecanismo químico, ou, de forma mais ampla, os efeitos químicos observados em SERS não se limitam a explicar a intensidade do espectro Raman - conceitos envolvidos no efeito Raman ressonante, em conjunto com efeitos devidos à formação de complexos de transferência de carga são as razões mais comuns para diferenças qualitativas observadas quando se comparam os espectros SERS e espectros Raman normais. (Sur, 2010; McNay *et al.*, 2011; Moore *et al.*, 2012) Considerando que os campos elétricos locais gerados pela ressonância de plasmons superficiais são sempre perpendiculares à superfície metálica, é natural que haja favorecimento para a excitação de modos vibracionais que envolvam movimentos também perpendiculares, de modo que as intensidades relativas no espectro SERS trazem informações sobre a orientação das moléculas sobre a superfície. (Creighton, 1983; Moskovits e Suh, 1984; Creighton, 1986) No caso da piridina, por exemplo, as bandas intensificadas são atribuídas a modos totalmente simétricos do anel, indicando que a orientação da molécula deve ser também perpendicular à superfície. No espectro, também

podem ser observadas harmônicas de vibrações, o que é uma característica típica do efeito Raman ressonante. (Creighton, 1983)

Mesmo em sistemas não ressonantes, considerações sobre a orientação da molécula sobre a superfície metálica são essenciais para explicar espectros obtidos através de SERS.(Creighton, 1983; Moskovits e Suh, 1984) Considerando a grande variedade de sistemas que podem ser estudados, esse aspecto pode ser vantajoso, trazendo informações sobre a estrutura submicroscópica do sistema ou pode tornar a análise ineficiente ou inviável, sobretudo em casos em que a interação entre metal e molécula é fraca.

1.5. Fatores de intensificação e o princípio da incerteza em SERS

A magnitude da intensificação SERS pode ser compreendida como o produto de contribuições independentes dos mecanismos químico e eletromagnético — embora se considere que a contribuição eletromagnética seja ao menos duas ordens de grandeza maior do que a contribuição química, a generalização é questionável, já que a contribuição química depende de características muito particulares do sistema analisado, e pode atingir magnitude equiparável — além disso, mesmo considerando que nanopartículas “grandes” podem produzir campos intensos em distâncias muito maiores do que a escala molecular, não é exagerado afirmar que a ocorrência de algum tipo de interação entre molécula e substrato não é apenas desejável, mas um pré-requisito para a efetividade da técnica.

A mensuração dessa magnitude em termos de fator de intensificação é problemática, não apenas pela dificuldade em estabelecer convenções científicas, como pelas maneiras muito variadas em que a intensificação pode ocorrer. Dessa maneira, o fator de intensificação

SERS é muito mais importante como conceito do que como medida. Le Ru e col. propuseram três definições a partir dos argumentos mais comuns na literatura: o *Single Molecule Enhancement Factor* (*SMEF*), o *Substrate Enhancement Factor* (*SEF*) e o *Analytical Enhancement Factor* (*AEF*). (Le Ru *et al.*, 2007)

O *AEF* é a definição de caráter mais intuitivo, e expressa a efetividade da intensificação do ponto de vista analítico:

$$AEF = \frac{I_{SERS}}{I_{NRS}} \frac{C_R}{C_{SERS}} \quad (14)$$

A relação das intensidades dos espectros SERS (I_{SERS}) e Raman normal (I_{NRS}) podem ser normalizadas pela concentração da solução prova utilizada em cada uma das medidas (C_R , de referência e C_{SERS}). O *AEF* é útil em diversas situações, pois dá dimensão da magnitude da concentração na qual um analito pode ser detectado por SERS. No entanto, ele não considera a organização do sistema em nível molecular — a densidade de moléculas em uma solução aquosa tende a ser menor do que no filme formado sobre a superfície de nanopartículas metálicas, de modo que o *AEF* tende a ser sobreestimado.

A definição de caráter mais formal é a do *SMEF*, ou fator de intensificação de uma única molécula, que considera a relação entre as intensidades espectrais de moléculas excitadas por SERS e por Raman normal (NRS). O argumento de Creighton sobre o trabalho de Fleischmann, nos anos 70 (Fleischmann *et al.*, 1974; Albrecht e Creighton, 1977), considera exatamente esse conceito — o número de moléculas adsorvidas sob o laser deveria ser menor do que o de moléculas não adsorvidas, e mesmo assim o espectro observado era apenas o das adsorvidas. Matematicamente, o *SMEF* pode ser expresso como:

$$SMEF = \frac{I_{SERS}^{SM}}{\langle I_{NRS}^{SM} \rangle} \quad (15)$$

Aonde o numerador é a intensidade emitida por uma molécula no espectro SERS e o denominador a intensidade média emitida por molécula no espectro Raman normal. Naturalmente, a intensidade emitida por uma molécula no espectro SERS não é mensurável — para fins de cálculo, o *SMEF* pode ser expresso em termos de seções de choque diferenciais:

$$SMEF = \frac{d\sigma_{SERS}}{d\Omega} / \frac{d\sigma_{NRS}}{d\Omega} \quad (16)$$

A seção de choque diferencial considera a probabilidade de um evento ocorrer e ser detectado — o termo $d\Omega$ se refere ao ângulo sólido de detecção. Embora essa definição encontre poucas aplicações experimentais, outras definições para o fator de intensificação devem ser dedutíveis como casos desta, que é mais geral.

Nesse sentido, o *SSEF* apresenta a mesma ideia, com a diferença de considerar a intensidade SERS também em termos médios:

$$EF = \frac{I_{SERS}/n_s}{I_{NRS}/n_v} \quad (17)$$

Nessa definição, a intensidade SERS é normalizada pelo número de moléculas contidas na superfície analisada (n_s), enquanto a intensidade do Raman normal é normalizada pelo número de moléculas no volume analisado (n_v). Do ponto de vista experimental, a exigência é obter os números de moléculas através dos parâmetros experimentais utilizados. Sendo a medida realizada em um substrato sólido, o valor de n_s deve considerar a densidade de partículas por unidade de área (μ_p), a densidade de moléculas sobre a superfície metálica (μ_m), a área média da nanopartícula utilizada (A_p) e a área efetiva da medida (A_e):

$$N_s = \mu_m A_p \mu_p A_e \quad (18)$$

Na equação (18), o produto $\mu_m A_p$ expressa o número de moléculas por nanopartícula, e o produto $\mu_p A_e$ expressa o número de nanopartículas na área iluminada pelo espectrômetro Raman. O número de moléculas no espectro Raman normal (n_v) é simplesmente o produto do volume efetivo de medida pela concentração da solução prova de referência (C_R). Considerando que o volume efetivo de medida (V_e) é o produto de uma altura efetiva (h_e) por uma área efetiva (A_e) a expressão para n_v é:

$$n_v = C_R A_e h_e \quad (19)$$

Substituindo as últimas duas expressões na equação (17), se obtém a expressão para o fator de intensificação do substrato SERS:

$$SSEF = \frac{I_{SERS}}{I_{NRS}} \frac{C_R h_e}{\mu_m \mu_p A_p} \quad (20)$$

Naturalmente, alguns dos parâmetros experimentais utilizados envolvem aproximações e estimativas, enquanto outros podem ser obtidos com facilidade. O *SSEF*, ao contrário do *AEF*, considera características do espalhamento intensificado em nível submicroscópico e, por esse motivo, é bastante utilizado na literatura. No entanto, ele apresenta uma limitação, pois desconsidera o efeito da adsorção do analito sob o substrato — a medida do *SSEF* deve ser realizada em condições ideais: para uma precisão adequada, o substrato utilizado para obtenção do espectro SERS deve ser o mesmo analisado por microscopia eletrônica para a determinação de μ_p e A_p , e deve ser possível obter o espectro de uma solução do analito de interesse, o que restringe a medida a analitos solúveis em água. Além disso, como o próprio nome sugere, o método atribui a intensificação ao substrato, e não ao sistema como um todo. O uso de uma mesma molécula prova em substratos diferentes é uma maneira efetiva de comparar o desempenho SERS dos mesmos, mas nesse sentido, o *SSEF* não é diferente do *AEF*, e é coerente afirmar que a capacidade de intensificar o espectro

de uma molécula não necessariamente se estende para qualquer outra substância, já que é necessário considerar o tipo de interação entre molécula e substrato.

Outro aspecto determinante no conceito do fator de intensificação é a agregação das nanopartículas. Todo o tratamento apresentado para a intensificação SERS desconsidera a possibilidade de acoplamento de plasmons entre nanopartículas agregadas, produzindo *hot spots* plasmônicos (Otto, 2002; Moskovits, 2005) capazes de produzir campos elétricos mais intensos e com maior alcance do que nanopartículas isoladas. A possibilidade de agregação é um dos motivos pelo qual substratos produzidos por métodos *bottom up*, ou seja, obtidos a partir da redução de sais de ouro e prata em condições adequadas, são muito mais eficientes do que substratos nanofabricados (produzidos a partir do metal *bulk* em métodos *top down*). Esse é um dos principais argumentos para a proposição, por Natan (2006), do “princípio da incerteza” em SERS, expresso pelo autor como:

$$Resolution \# \times Enhancement Factor \approx Constant$$

O termo “*Resolution #*” representa o nível de conhecimento em nível atômico molecular do substrato SERS. Essa formulação é uma analogia com o princípio da incerteza da mecânica quântica, e sugere que um alto conhecimento da organização do substrato, obtido, por exemplo, através da nanofabricação, estará obrigatoriamente correlacionado com um baixo fator de intensificação. Da mesma maneira, substratos que se auto-organizam de maneira espontânea, como coloides depositados sobre placas de vidro, fornecem altos fatores de intensificação e alta eficiência.

A analogia do fator de intensificação é uma importante reflexão acerca da pesquisa em SERS. Mesmo em uma época em que os métodos para preparação de nanopartículas de todas as formas com distribuições de tamanho estreitas, boa parte dos pesquisadores ainda aplicam coloides sintetizados por métodos desenvolvidos nos anos 80, como o método de Lee-Meisel.

(Lee e Meisel, 1982) Além disso, chama atenção para a influência do sistema, e não apenas do substrato, na eficiência da intensificação — embora muitos dos aspectos fundamentais aqui apresentados tenham atingido consenso na comunidade científica, o efeito SERS ainda apresenta muita complexidade e muitos aspectos que não podem ser generalizados, devido a particularidades dos múltiplos sistemas cuja análise é possível.

1.6. Problemas específicos e organização da tese

O tema desta tese está inserido na área ampla da Química Ambiental. Para aplicação de uma técnica em análises ambientais, alguns requisitos devem ser cumpridos: alta sensibilidade e seletividade, permitindo detectar e caracterizar substâncias em concentrações traço, praticidade no preparo das amostras, incluindo a possibilidade de análises *in situ* e robustez e nos resultados obtidos. (Alvarez-Puebla e Liz-Marzan, 2010)

SERS é uma técnica analítica caracterizada pela sua alta sensibilidade, o que permite incluí-la no rol das técnicas analíticas ultra-sensíveis e fornece informações estruturais com detalhe característico da espectroscopia vibracional, o que cria grande apelo sobre sua aplicação em análises ambientais (Narayanan *et al.*, 1992). Por outro lado, por ter sua maior eficiência relacionada com o uso de colóides metálicos em oposição a estruturas nanofabricadas (Moskovits, 2005; Mark e Fabris, 2012), e diversos problemas associados com a reprodutibilidade das medidas, a técnica ainda falha em atender aos requisitos para análises ambientais e se inserir no mercado de instrumentação de maneira viável.

Além disso, outro desafio se impõe à aplicação de SERS: parte significativa das moléculas de interesse ambiental, que inclui, por exemplo, os pesticidas organoclorados, os

solventes BTX e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que não são compostos por moléculas com grupos funcionais ou cargas elétricas capazes de promover a interação com substratos típicos (Natan, 2006; Futamata *et al.*, 2011). Deste problema, surge a necessidade da funcionalização, ou seja: modificação das propriedades superficiais de nanopartículas para promover a interação com substâncias que normalmente não seriam adsorvidas sobre o substrato e, portanto, não poderiam ser detectadas por SERS (Guerrini *et al.*, 2006; Alvarez-Puebla e Liz-Marzan, 2010; Gadogbe *et al.*, 2015; Kubackova *et al.*, 2015). O desenvolvimento de procedimentos para obtenção de nanopartículas funcionalizadas e sua aplicação na análise de moléculas prova de interesse ambiental, se adiciona às demandas já convencionais das análises SERS, que incluem o preparo de maneira reprodutível dos substratos e o planejamento de experimentos e uso de recursos quimiométricos para interpretar e comparar resultados de maneiras adequadas.

Metodologias com nanopartículas e funcionalizantes diversos foram empregadas para detecção de maneira direta e indireta de diversas moléculas de interesse ambiental, que incluem pesticidas hidrofóbicos (Zhao *et al.*, 2017), HPAs (Costa *et al.*, 2006; Guerrini *et al.*, 2009b), ácidos húmicos (Alvarez-Puebla *et al.*, 2007; Roldan *et al.*, 2011) e até mesmo complexos de íons de metais pesados (Alvarez-Puebla e Liz-Marzan, 2010; Zeng *et al.*, 2017). No entanto, cada um destes trabalhos utiliza de materiais e métodos muito particulares, sendo por vezes desafiador compreender o significado de seus resultados de maneira mais ampla.

Esta tese busca solucionar alguns dos problemas metodológicos descritos, e está organizada de acordo com eles. Os resultados experimentais estão organizados em 4 capítulos temáticos.

No Capítulo 3, são apresentadas todas as sínteses de nanopartículas de prata e ouro empregadas no desenvolvimento do trabalho, buscando constituir um material de referência

útil para futuros projetos — de modo que mesmo sínteses que não foram continuamente aplicadas em análises neste projeto são apresentadas. Com objetivo semelhante, o Capítulo 4, são discutidos métodos de preparo de amostra, tratamento de dados e aproximações com relevância na aplicação de SERS em química ambiental. No Capítulo 5 são apresentados dados referentes à funcionalização com mercaptanas bifuncionais, em que, além dos procedimentos típicos para detectar moléculas de interesse ambiental, se busca a compreensão da conformação de moléculas funcionalizantes e a organização dos filmes formados por elas. O Capítulo 6, por sua vez, apresenta o trabalho desenvolvido em colaboração com pesquisadores do *Instituto de La Estructura de La Matéria* (Madri, Espanha), que buscou a aplicação de moléculas capazes de promover a formação de compostos *host-guest* com moléculas de interesse ambiental — embora os resultados não tenham sido, em sua maioria, bem sucedidos na detecção dos poluentes, o registro é de alta relevância, já que usa materiais típicos da química supramolecular e se encontra no estado da arte das pesquisas em Espectroscopia Raman intensificada por Superfície.

Os procedimentos experimentais estão distribuídos ao longo dos quatro capítulos, e são apresentados no início das seções em que seus resultados são apresentados e discutidos. Os apêndices incluem a lista dos instrumentos utilizados para obtenção dos dados, informações sobre reagentes e um índice remissivo para facilitar a consulta a procedimentos experimentais.

Capítulo 2

Objetivos gerais e específicos

2.1. Objetivos gerais

- Desenvolver métodos para síntese e modificação superficial de nanomateriais, buscando aplicações em diversas áreas da nanotecnologia;
- Desenvolver materiais e métodos para pesquisa e aplicação da Espectroscopia Raman na análise de sistemas e substâncias químicas de interesse ambiental;
- Constituir nesta tese um material de referência útil para pesquisas futuras sobre estes temas.

2.2. Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de prata e ouro com controle dimensional e morfológico através de métodos reportados na literatura nas últimas décadas, buscando compreender as variáveis envolvidas em cada um deles;
- Avaliar métodos de tratamento de dados e aproximações úteis na aplicação da Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície em estudos de química superficial e análise de sistemas de interesse ambiental;

- Desenvolver procedimentos e compreender fatores conformacionais e estruturais envolvidos na funcionalização de nanopartículas metálicas por filmes de alquil-tióis e sua aplicação na detecção de poluentes orgânicos persistentes por SERS;
- Compreender, através da Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície, as interações de superfície de complexantes *host-guest*, como ciclodextrinas e cucurbiturils, para funcionalização de nanopartículas metálicas e complexação e detecção de pesticidas organoclorados.

Capítulo 3

Sínteses de nanopartículas plasmônicas para aplicação em Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície

3.1. Aspectos teóricos

A partir dos anos 90, o desenvolvimento da nanotecnologia trouxe avanços no controle morfológico e dimensional das nanoestruturas metálicas exigidas para o uso da Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície. Com os avanços, cresceu o grau de especialização dos grupos dedicados à sua síntese. Não é incomum que grupos especializados em espectroscopia Raman, com excelentes resultados usando *SERS*, usem ainda métodos de síntese distantes do estado da arte da síntese de nanoestruturas. Esse desencontro é próprio de uma época em que a literatura científica cresceu em volume — os artigos sobre *SERS* publicados nos últimos 5 anos correspondem a 41% dos publicados nos últimos quarenta anos, enquanto para artigos sobre nanopartículas, o número chega a 52%¹ — e em que sua organização e interpretação exige uso de índices, algoritmos e métodos de pesquisa cada vez mais complexos. A disputa por índices de produtividade da parte dos pesquisadores e de impacto da parte dos periódicos intensifica este efeito. Publicações científicas sobre qualquer tema são progressivamente mais específicas e menos detalhadas. Isso não significa, de maneira nenhuma, que não se produz ciência de qualidade na atualidade, mas essas

¹ Dados extraídos da plataforma *Web of Science* em julho de 2019.

características são próprias da ciência contemporânea, e constituem um desafio peculiar para os que nela ingressam.

O termo "colóide" foi empregado pela primeira vez ainda no século XIX para se referir à situação em que um composto sabidamente insolúvel se dispersa em um meio líquido. A definição tornou-se bastante ampla, descrevendo todas as situações em que uma fase (sólida ou líquida), se dispersa em outra (líquida), incluindo tipos variados de dispersões e emulsões, como dispersões poliméricas, emulsões contendo micelas e bicamadas lipídicas, e dispersões de partículas inorgânicas, em que estão inseridas as nanopartículas metálicas de que trata este capítulo. (Roucoux *et al.*, 2002) As principais propriedades de dispersões coloidais são a permissividade a líquidos e substâncias em solução e o longo tempo necessário para a deposição, levando à proposta, por Graham (1861), de que "colóides" (em oposição aos "cristalóides"), seriam compostos por partículas grandes o suficiente para não configurar uma solução e pequenas o suficiente para que a deposição não ocorra – intervalo compreendido entre 1 nm e 1 μ m. A compreensão contemporânea sobre este tipo de material está relacionada à sua incorporação na nanotecnologia, e está mais relacionada com a emergência de propriedades de interesse tecnológico em escala nanométrica — no caso de colóides metálicos, são consideradas as propriedades óticas e catalíticas especiais — e não o tamanho das partículas. (Hunyadi Murph *et al.*, 2017)

Antes da descoberta de aplicações nanotecnológicas, o preparo de colóides metálicos era encarado como uma curiosidade acadêmica, embora pudesse ser empregada para identificar a presença de metais de transição dos grupos 10 e 11 em solução (Vogel, 1981), ou como pigmento. Aplicações modernas criaram uma grande demanda por métodos mais eficientes de síntese, buscando maior homogeneidade dimensional e morfológica das

Figura 5. Representação esquemática do mecanismo para nucleação e crescimento de enxofre de LaMer. Adaptado de Lamer e Dinegar (1950).

partículas em dispersão, e de caracterização, impulsionada especialmente pelo desenvolvimento da microscopia eletrônica. (Wiley, Sun, Chen, *et al.*, 2005; Tao *et al.*, 2008)

Embora no estado atual da pesquisa sobre a síntese de colóides metálicos realizações impressionantes sejam possíveis, a compreensão físico-química dos mecanismos de formação passa pela teoria clássica de nucleação, cuja ilustração mais icônica é o estudo da formação de *sols* de enxofre reportada por LaMer, em 1950. (Lamer e Dinegar, 1950) Neste trabalho, partículas monodispersas de enxofre elementar são produzidas através da adição de solução de enxofre em uma mistura etanol/acetona a um meio aquoso. O mecanismo de nucleação de LaMer apresenta três estágios, sintetizados na Figura 5: No estágio (1), a concentração da substância aumenta até superar o limite de saturação da solução e atingir uma concentração de

supersaturação crítica, a partir da qual se inicia o estágio (2), em que a formação de núcleos ocorre em uma velocidade tão grande que é considerada imensurável. A redução na concentração da espécie química pela nucleação primária alivia a condição de supersaturação e a velocidade diminui, favorecendo o estágio (3): o crescimento dos núcleos por difusão.

Considera-se, então, que a energia livre de Gibbs da nucleação depende de dois fatores de sinais opostos — a formação do material *bulk* através da formação de novas ligações entre os átomos presentes em solução, fator exergônico, e a formação de uma superfície entre a nova fase sólida e o solvente, fator endergônico. (Finney e Finke, 2008) O primeiro fator é dependente do volume do núcleo formado, enquanto o segundo fator é dependente da sua área superficial.

$$\Delta G = -V|\Delta G_V| + A_s\gamma \quad (21)$$

Nesta equação, se considera o módulo da variação de energia livre por unidade de volume $|\Delta G_V|$ e a energia livre de superfície por unidade de área, γ . Embora de difícil aplicação, esta equação simples ilustra alguns conceitos fundamentais para compreensão do fenômeno. Em qualquer caso, o produto mais favorável do ponto de vista termodinâmico é o material *bulk*, em que o número de ligações no interior do material é muito mais significativo do que a área de interação na superfície. Contudo, as dimensões *bulk* não podem ser atingidas instantaneamente a partir da solução, e a formação de núcleos se dá de maneira sequencial, após o instante em que os primeiros átomos que excedem o limite de saturação da solução se agregam. Nos estágios iniciais da nucleação, os núcleos são compostos por poucos átomos e representam o caso oposto ao material *bulk*: a relação área-volume é muito alta, e até que os núcleos atinjam uma dimensão crítica seu crescimento é endergônico, como demonstrado pela Figura 6.

Figura 6. Evolução da energia livre de Gibbs em função do raio da nanopartícula metálica durante a etapa de crescimento do *nanocluster*. Adaptado de Finney e Finke (2008).

A energia livre de Gibbs atinge um valor máximo quando os núcleos atingem um raio crítico, a partir do qual não há mais limitações termodinâmicas para o crescimento dos núcleos. Esta situação limite pode ser descrita com os mesmos parâmetros da equação:

$$\Delta G^* = \frac{16\pi r^3}{3|\Delta G_V|^2} \quad (22)$$

Embora o modelo de LaMer tenha sido desenvolvido a partir da nucleação de enxofre elementar, sua aplicação à formação de núcleos metálicos foi ampla, mesmo considerando as diferenças entre os dois sistemas, especialmente a diferença na concentração empregada em cada um dos casos (no caso dos metais, concentrações típicas são de 10 a 100x menores do que no experimento com enxofre) (Watzky e Finke, 1997) – se espera, por exemplo, que a evolução na energia livre de Gibbs de acordo com a dimensão das partículas seja similar nos dois casos.

Isso significa que do ponto de vista termodinâmico, o produto favorecido é sempre o metal *bulk* e a possibilidade de formação de nanopartículas metálicas se explica por fatores cinéticos. O desenho típico de uma síntese impede que os núcleos cresçam de maneira descontrolada através de estratégias variadas, por exemplo:

- Garantir que o precursor metálico seja consumido totalmente antes ou pouco depois de atingido o raio crítico das nanopartículas.
- Promover a adsorção de íons sobre a superfície metálica para aumentar a energia de superfície e consequentemente o raio crítico do núcleo metálico.
- Promover a adsorção de surfactantes sobre a superfície de modo a limitar estericamente o crescimento dos núcleos por difusão e retardar o fim do processo de nucleação primária.
- Realizar a síntese sob forte agitação para promover o rompimento dos núcleos através de colisões, no processo denominado nucleação secundária.

Embora estes aspectos da teoria da nucleação clássica e dos procedimentos de síntese expliquem o tamanho das partículas dispersas, dizem muito pouco sobre a morfologia das nanopartículas dispersas. O controle morfológico é uma demanda de grande destaque na literatura, especialmente nas sínteses voltadas para aplicações óticas, como é o caso de SERS. Isso se deve ao fato de o espectro de extinção de colóides ser dependente não apenas do tamanho, mas da forma das partículas dispersas. — A Figura 7 apresenta algumas das formas e tamanhos mais comuns.

Os fatores que influenciam o crescimento de uma forma ou outra são variados e menos bem definidos do que os fatores que influenciam o tamanho. De um ponto de vista estritamente prático, é importante notar que há três "elementos" presentes em qualquer síntese de nanopartículas por método *bottom up*:

Figura 7. Localização típica da posição da ressonância de plasmons superficiais localizados (LSPR) de nanopartículas de ouro e prata de diferentes formas. Adaptado de Sun e Xia (2003).

- O precursor metálico: qualquer sal em solução que será reduzido para formação do colóide;
- O agente redutor: a substância que promove a redução do sal;
- O meio dispersante: o solvente da síntese, assim como íons, substâncias poliméricas e tensoativos que são introduzidos para promover controle dimensional e morfológico.

Os dois primeiros itens são determinantes da velocidade da reação de redução, que influencia diretamente no tamanho médio das partículas obtidas. O terceiro item influencia o controle morfológico de maneira mais determinante, e dá origem a mecanismos diversos e algumas vezes conflitantes sobre a possibilidade de controle morfológico - o uso de misturas complexas como dispersantes promove a ocorrência de fenômenos variados de maneira simultânea e competitiva, e o planejamento de experimentos para definir a influência de cada um deles não é trivial.

Entre os fenômenos que sem dúvida influenciam o controle morfológico em sínteses de nanopartículas metálicas deve-se citar:

- A reprodução da morfologia das sementes formadas nos primeiros instantes da síntese;

- O *templating* promovido pela coordenação de moléculas de polímeros e tensoativos na superfície dos núcleos;
- A ocorrência de polimento oxidativo (*oxidative etching*), processo no qual íons em solução promovem a remoção de átomos da superfície dos núcleos em crescimento por mecanismos oxidativos.

As sementes que são produzidas nos instantes iniciais da síntese podem ser caracterizadas por técnicas como a microscopia eletrônica de transmissão de campo escuro. No caso de sínteses envolvendo a prata, por exemplo, é fato conhecido que sementes monocristalinas promovem a formação de partículas cúbicas, enquanto sementes policristalinas podem promover a formação de quase-esferas e morfologias como nanofios e pirâmides (Kim *et al.*, 2004). Por outro lado, a formação de sementes monocristalinas ou policristalinas é dependente de um número muito grande de variáveis que atuam em uma escala de tempo muito pequena. A nucleação nos instantes iniciais da síntese tem velocidade "rigorosamente infinita", e as primeiras sementes formadas determinarão a morfologia final da dispersão caso a agitação seja eficiente o suficiente para promover a difusão e nucleação secundária. Isso se deve ao caráter autocatalítico e à alta velocidade de nucleação: as velocidades de crescimento e de rompimento de núcleos por colisão têm forte dependência com a área e volume das sementes já existentes - cristais que já são grandes sempre terão vantagem sobre cristais menores na competição por íons reduzidos na solução.

O *templating* tem alta capacidade explicativa *ad hoc*, especialmente em casos em que há prevalência do crescimento unidimensional, como a síntese poliol de nanofios de prata e a síntese de nanobastões de ouro pelo método CTAB. A caracterização de nanopartículas por microscopia eletrônica de resolução atômica permite estabelecer as faces cristalinas preferenciais de adsorção de diferentes agentes estabilizantes. O crescimento se dá, então, no

mesmo plano cristalino em que a adsorção é preferencial, pois as moléculas adsorvidas inibem o crescimento em planos perpendiculares por impedimento estérico.

O polimento oxidativo é contraintuitivo, pois envolve a reoxidação de átomos reduzidos por íons presentes no meio dispersante, e é sem dúvida o mecanismo mais complexo de demarcar experimentalmente, sendo usado, algumas vezes, de maneira contraditória – a produção de cloro a partir de íons cloreto e posterior oxidação da superfície de núcleos, por exemplo, é apontada como determinante para a formação de ao menos três morfologias diferentes (Wiley, Sun e Xia, 2005; Wiley *et al.*, 2006). Por este motivo, nesta tese a contribuição deste mecanismo será considerada secundária.

Nas seções a seguir são apresentadas algumas das sínteses de coloides de prata e ouro mais comumente utilizado para aplicação em SERS. A caracterização das nanopartículas e discussão dos resultados buscará apresentar exemplos de alguns dos princípios expostos nesta seção.

3.2. Síntese de nanopartículas de prata pelo método Turkevich/Lee-Meisel

3.2.1. Procedimento

Em um procedimento típico, 50 mL de uma solução de AgNO_3 0,001 M são aquecidos à temperatura de síntese e, em seguida, são adicionados 10 mL de uma solução de citrato de sódio 1%. Embora este procedimento use volumes menores, as proporções entre

concentrações são semelhantes às do artigo original (Lee e Meisel, 1982). A síntese foi realizada em duas temperaturas diferentes: em banho de 80°C e na temperatura de ebulição, sob refluxo. Os colóides resultantes são caracterizadas por espectroscopia UV-VIS e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3.2.2. Caracterização e discussão dos resultados

Lee e Meisel (1982) apresentaram cinco maneiras diferentes de sintetizar colóides de prata ou ouro para o estudo da adsorção de corantes por SERS. Os agentes redutores propostos são o gás hidrogênio, o boridreto de sódio e o citrato de sódio – nos dois primeiros casos, o coloide é estabilizado por polivinilalcool (PVA), um polímero solúvel, enquanto no último, os íons de citrato atuam ao mesmo tempo como redutores do íon metálico, de acordo com a semi-reação apresentada na Figura 8, e estabilizantes das partículas formadas — além de dispensar o uso do polímero estabilizante, o citrato de sódio é um reagente comum e barato, mais estável do que o boridreto de sódio, e de manipulação mais simples e segura do que o hidrogênio.

Por este motivo, este é o procedimento que se notabilizou com o “método de Lee-

Figura 8. Semi-reação de oxidação do citrato para promoção da redução de íons metálicos na síntese de Lee-Meisel.

Meisel” para síntese de nanopartículas de prata e ouro, e é referido desta maneira na maior parte dos trabalhos que as aplicam em SERS. Em trabalhos que visam outras aplicações, é comum que a redução por citrato, especialmente do ouro, seja referida como “Método de Turkevich” (Nikoobakht e El-Sayed, 2003; Kimling *et al.*, 2006; Paluri *et al.*, 2015), se referindo a trabalhos mais antigos sobre a cinética da síntese e as propriedades dos colóides sintetizados. (Turkevich *et al.*, 1951)

O método é o exemplo mais claro e bem estabelecido dos conceitos apresentados na seção 3.1: os agentes redutores atuam de maneira lenta o suficiente para que os processos de nucleação primária e secundária garantam um número de núcleos grande o suficiente para que não haja precursor metálico o suficiente para que as partículas cresçam até dimensões *bulk*, e a energia superficial é reduzida pela adsorção de moléculas.

O resultado obtido, para as duas temperaturas em que a síntese foi realizada, é um conjunto de cristais quase-esféricos ligeiramente alongados com dimensões bastante homogêneas. Resultados típicos para as duas temperaturas estão apresentados na Figura 9.

Para a síntese a 80 °C, o tempo total de síntese é de cerca de duas horas, o tamanho médio das nanopartículas é de 53 ± 23 nm e o máximo de extinção devido à ressonância de plasmons localizados (LSPR) está em 440 nm. Para a síntese a 100°C, o tempo total de síntese se reduz para 1 hora, e a dimensão média das nanopartículas resultantes é menor, de 27 ± 9 nm, o que pode ser explicado pela produção de maior número de núcleos nos estágios iniciais da síntese — isso leva à menor sobreposição das etapas de nucleação e crescimento e consequente aumento na regularidade dimensional, se comparada com a síntese à 80°C (os desvios-padrão relativos são de 33% para a síntese a 100°C e 43% para a síntese a 80°C). O fato de que o crescimento também ocorre de maneira mais rápida explica a maior irregularidade morfológica das partículas. As imagens MEV mostram que embora as quase-

Figura 9. (a) Espectros de extinção no UV-Visível, imagens de microscopia eletrônica de varredura para sínteses de Lee-Meisel realizadas a (b) 80°C e (c) 100° e respectivas distribuições de tamanho de partículas (d, e).

esferas sejam mais regulares, as estruturas alongadas (nanobastões) são claramente mais frequentes e mais longas na síntese a 100°C.

A síntese de Lee-Meisel permite muito menos controle morfológico do que as sínteses que serão apresentadas a seguir. Contudo, devido à sua robustez, à grande estabilidade dos colóides sintetizados e à facilidade de obtenção dos reagentes necessários, a síntese e suas diversas variações continuam sendo o método mais utilizado para obtenção de substratos para aplicação em SERS.

3.3. Síntese de nanobastões de ouro pelo método CTAB

3.3.1. Procedimento

A síntese ocorre em duas etapas: preparação de sementes e crescimento das nanopartículas. São preparados previamente 10 mL de solução de ácido tetracloroáurico (HAuCl_4) 1 mmolL^{-1} , 10 mL de solução de nitrato de prata (AgNO_3) 4 mmolL^{-1} e 15 mL de solução de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB) 7% e 1 mL de solução $0,08 \text{ molL}^{-1}$ de ácido ascórbico. A solução de boridreto de sódio (NaBH_4 , 15 mg para 10 mL) deve ser preparada no momento da adição. Na etapa de nucleação, são adicionados a um bequer 5 mL de solução de CTAB, 2,5 mL de água deionizada e 2,5 mL de solução de HAuCl_4 . Em seguida, a solução é mantida sob forte agitação, e são adicionados 600 μL de solução de NaBH_4 . Após 2 minutos, a dispersão deve ser castanho-clara, e recomenda-se que seja mantida em repouso por alguns minutos para garantir sua estabilidade. Na etapa de crescimento, são misturados 5 mL de solução de CTAB, 200 μL de solução de AgNO_3 e 5 mL

de solução de HAuCl_4 , e 70 μL de ácido ascórbico. Após adição de ácido ascórbico, a solução torna-se incolor. A solução é mantida sob agitação e são adicionados 20 μL da dispersão preparada na etapa de nucleação. A dispersão adquire a coloração roxa característica de nanobastões após alguns minutos, e a reação se completa após cerca de 25 minutos de síntese. Ambas as dispersões, da etapa de nucleação e de crescimento são caracterizadas por UV-VIS e MEV. O procedimento aqui empregado é adaptado do apresentado na tese de Souza (2016). Diversos detalhes práticos para a obtenção de nanobastões de ouro são discutidos em Scarabelli *et al.* (2015).

3.3.2. Caracterização e discussão dos resultados

O espectro de LSPR da dispersão apresenta uma evolução bastante característica, em que as sementes, de coloração castanha e banda de absorção em torno de 550 nm se tornam nanobastões com duas bandas de extinção, em 540 nm, atribuída à ressonância de plasmon transversais, e 780 nm, atribuída à ressonância de plasmons longitudinais. As imagens MEV mostram nanopartículas anisotrópicas com cerca de 10 nm de espessura, 40 nm de comprimento e uma morfologia que é referida, na literatura, como *dogbone* (Gou e Murphy, 2005; Saute e Narayanan, 2011), devido à maior espessura nas pontas do bastão. (Figura 10)

Na primeira etapa da síntese, a redução por boridreto, que ocorre de maneira praticamente instantânea, e a baixa concentração de íons AuCl_4^- evita que haja qualquer direcionamento morfológico, e as nanopartículas formadas são quase esferas de dimensões nanométricas. A segunda etapa usa um agente redutor que atua de forma mais lenta, de modo

Figura 10. Espectros de extinção no UV-VIS-NIR da dispersão de (a) sementes e de (b) nanobastões de ouro sintetizados pelo método CTAB. (c) Imagem de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de nanobastões de ouro.

que tanto o efeito da estrutura fina das sementes quanto da presença de CTAB é predominante, e o crescimento é induzido de maneira unidimensional.

A cinética da síntese de nanobastões foi extensivamente estudada (Bullen *et al.*, 2011), e um dos aspectos reportados é a influência determinante da presença de íons Ag^+ para formação de nanobastões (Nikoobakht e El-Sayed, 2003), que sugere que os cristais só adquirem a forma alongada caso haja presença de átomos de prata na rede cristalina. Mesmo assim, nanobastões de ouro não podem ser considerados como partículas bimetálicas, já que a concentração de prata, relativa à de ouro, é muito pequena, e não é suficiente para influenciar as propriedades de superfície das nanopartículas de maneira significativa.

O CTAB é um íon de amônio quaternário com uma cadeia longa, tipicamente usado como tensoativo e catalisador de transferência de fase. Nessa síntese, ele é usado em grande quantidade, e o alongamento das nanopartículas resultantes é tipicamente atribuído à ocorrência da reação dentro de micelas e bicamadas do material. A alta concentração de CTAB, associada com sua grande afinidade pela superfície do coloide faz com que o desempenho SERS de nanopartículas sintetizadas por esse método seja inferior ao de nanopartículas mais convencionais, como as do método de Lee-Meisel. Além disso, a caracterização por microscopia eletrônica é bastante desafiadora, devido à grande quantidade de matéria orgânica presente após a secagem do coloide. Mesmo assim, há aspectos interessantes no uso de nanobastões de ouro – a presença de duas bandas de extinção permite que a escolha da frequência de excitação seja seletiva com relação a moléculas adsorvidas nas pontas ou nas paredes do nanobastão. Esse aspecto é muito promissor, por exemplo, para o estudo de biomoléculas.

3.4. Síntese de nanopartículas de prata pelo método poliol

3.4.1. Procedimentos

a) Procedimento para síntese de nanofios de prata:

Em um procedimento típico, 50 mg de PVP (massa molar média de 50000 g mol^{-1}) são dissolvidos em 7 mL de etilenoglicol, nos quais 300 μL de uma solução $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl em etilenoglicol são previamente diluídos. Essa solução é então aquecida em banho de óleo de silicone à temperatura de 170°C , na qual é mantida por cerca de uma hora para garantir

estabilidade térmica e remoção completa da água presente no solvente. Após essa etapa, 3 mL de uma solução $0,1 \text{ molL}^{-1}$ de AgNO_3 são lentamente injetados por uma bomba peristáltica. O balão de síntese é então mantido por cerca de uma hora sob forte agitação, até a redução completa do precursor metálico.

b) Procedimento para ensaio cinético e caracterização:

Ensaio cinéticos são uma ferramenta muito útil para compreender a influência das condições experimentais na síntese de nanopartículas, e foram procedidos diversas vezes, ao longo deste trabalho, para a síntese de nanofios de prata. Nesse caso, alíquotas de $300 \mu\text{L}$ são removidas ao longo da síntese e diluídos em um fator fixo em água fria, o que provoca a cessão da atividade redutora do etilenoglicol. Em seguida, as alíquotas são caracterizadas por UV-VIS, MEV, e SERS, após adsorção do corante catiônico verde de jânus B.

c) Procedimento para avaliação da atividade SERS e tratamento estatístico dos dados:

Após a obtenção das imagens de microscopia eletrônica, $10 \mu\text{L}$ de solução $10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ de verde de jânus B são adicionados sobre cada *chip* de silício contendo nanopartículas depositadas das alíquotas de interesse – neste caso, as alíquotas removidas após 19, 26 e 30 minutos. Espectros SERS são então obtidos sobre os agregados de nanopartículas observados no microscópio, com radiação excitante de 633 nm, utilizando o mesmo arranjo ótico para todas as medidas. Para cada uma das três amostras, são obtidos 61 espectros, que são então ordenados hierarquicamente de acordo com a intensidade da banda em 689 cm^{-1} , e então organizados em três grupos estatísticos: espectros considerados válidos são aqueles intensos o suficiente para que o desvio padrão relativo nas bandas de 689 e 604 cm^{-1} não supere 33% -

caso contrário, o espectro é considerado inválido. Os espectros em que, devido ao excesso de intensidade, ocorre saturação do CCD são contados e configuram o terceiro grupo. Os espectros válidos têm, então, as linhas bases corrigidas para a comparação das intensidades.

3.4.2.Considerações sobre a cinética e o mecanismo da síntese

O método poliol foi largamente estudado e desenvolvido a partir do início dos anos 2000 e seu maior atrativo é a possibilidade de sintetizar nanopartículas com formas bastante variadas: fios, cubos, pirâmides, octaedros e outras formas platônicas de prata e ouro em proporções tipicamente maiores que a de outros métodos (Kim *et al.*, 2004; Wiley, Sun, Chen, *et al.*, 2005; Tao *et al.*, 2008) – essas possibilidades combinam propriedades óticas especiais com um grande apelo estético. O conjunto das publicações de Xia e colaboradores (Wiley, Sun, Chen, *et al.*, 2005; Wiley, Sun, Mayers, *et al.*, 2005; Wiley, Sun e Xia, 2005; Xia e Halas, 2005; Wiley *et al.*, 2006; Xiong e Xia, 2007; Skrabalak *et al.*, 2008) demonstra sua inequívoca potencialidade, assim como sua grande variedade de protocolos experimentais.

O conceito geral é a redução de precursores metálicos, prata ou ouro, por poliol em alta temperatura, na presença de polímeros estabilizantes – embora diversos polióis e polímeros tenham sido empregados, a forma mais comum da síntese envolve o uso de etilenoglicol como solvente e agente redutor e polivinilpirrolidona (PVP) como polímero estabilizante. Mesmo essa forma mais usual apresenta inúmeras variações, com discussões envolvendo ciclos de temperatura (Lim *et al.*, 2014), tempos de síntese, influência dos contraíons e por vezes modificações muito radicais causadas pela presença de concentrações traço de íons de halogênios ou de outros metais de transição (Wiley, Sun e Xia, 2005). Por

esse motivo, estabelecer um protocolo para a síntese envolve estudo aprofundado e leitura crítica das propostas e explicações já reportadas, cujos resultados são, muitas vezes, conflituosos.

A presença de íons cloreto é determinante para a boa formação e distribuição de tamanhos adequada. Caso a síntese seja realizada sem nenhuma adição de cloreto, as nanopartículas formadas variam de quase-esferas que variam entre 100 e 300 nm de diâmetro e partículas alongadas (bastões) com seção transversal entre 200 e 500 nm, a depender da concentração de PVP, como demonstrado pelas imagens de microscopia eletrônica de varredura apresentadas na Figura 11. Estruturas semelhantes são obtidas quando a síntese é realizada sem agitação, com uma distribuição de tamanhos ainda mais polidispersa – são formados nanofios, nanobastões e quase-esferas com dimensões maiores do que o usual, partículas cúbicas e agregados com nanopartículas de tamanhos muito variados, algumas vezes nas dimensões de poucos nanômetros (Figura 12). A influência de íons cloreto já foi

Figura 11. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para nanopartículas obtidas através do método poliol com concentração de PVP de (a) 0,05, (b) 0,10 e (c) 0,15 molL⁻¹.

Figura 12. Imagem de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas de prata obtidas através do método poliol sem agitação do meio reacional.

explicada através de sua participação em ciclos de polimento oxidativo (*oxidative etching*), algumas vezes levando à formação de fios bem definidos, e outras à formação de cubos. No entanto, a semelhança entre algumas das estruturas obtidas em sínteses realizadas sem adição de cloreto e sem agitação, sugere que o efeito pode ser atribuído, de alguma forma, ao processo de nucleação secundária.

Quando a síntese é realizada sem agitação, as colisões entre núcleos primários nos primeiros momentos da síntese ocorrem em frequência muito menor, e a dispersão de núcleos no meio da síntese é muito ineficiente – núcleos formados no início da síntese crescem rapidamente, mas a heterogeneidade em sua dispersão faz com que o crescimento não se torne, de fato, predominante, e a nucleação primária siga ocorrendo por períodos muito mais longos do que o usual. Por esse motivo, as dimensões das partículas variam em tantas ordens

de grandeza, desde partículas menores do que as usuais, da ordem de poucos nanômetros, até partículas muito maiores, com centenas de nanômetros. A analogia entre resultados obtidos nessa condição e sem presença de íons cloreto sugere que o papel destes também esteja relacionado com a nucleação secundária – de fato, considerando que a solubilidade do cloreto de prata em água é baixa e as concentrações típicas da síntese se aproximem de seu produto de solubilidade ($K_{ps} = 1,77 \cdot 10^{-10}$), é possível que pequenos cristais exerçam a função de catalisador da nucleação secundária, especialmente nos primeiros momentos da síntese, já que os mesmos cristais serão progressivamente solubilizados conforme a concentração de prata decai. Da mesma maneira, é possível que pequenos cristais de cloreto de prata funcionem como gérmen para a nucleação primária da prata metálica, o que contribuiria para a policristalinidade das estruturas formadas.

Considerando que a estrutura cristalina da prata *bulk* é cúbica de face centrada, é natural concluir que a única nanoestrutura monocristalina possível é o nanocubo – nanofios, que tem seções transversais pentagonais e quase-esferas, necessariamente envolvem múltiplos cristais conjugados e, no caso das esferas, orientados maneira desordenada.

A análise dos espectros de alíquotas retiradas em diversos momentos da síntese, apresentados na Figura 13(a), mostra uma evolução sigmoideal na intensidade de extinção por LSPR que se adapta bem à curva de crescimento de Boltzmann, que tem a expressão geral:

$$y = \frac{A_1 - A_2}{1 + e^{k(x-x_0)}} + A_2 \quad (23)$$

Aonde A_2 e A_1 são respectivamente os patamares máximo e mínimo da sigmoide, x_0 o ponto de inflexão e k a constante de velocidade de crescimento. Bullen *et al.* (2011) usam esse fator como a constante de velocidade da reação no caso de outra nanoestrutura com crescimento unidimensional, os nanobastões de ouro — para a curva de Boltzmann

apresentada na Figura 13(c), a constante de velocidade é de $0,23 \text{ min}^{-1}$, enquanto o ponto de inflexão, em que a velocidade de crescimento das nanopartículas atinge seu máximo, é de 24,5 minutos.

O modelo de crescimento de Boltzmann fornece parâmetros relevantes para interpretação dos dados, mas não pode ser deduzido a partir de leis de velocidade de reações intermediárias no mecanismo. Neste sentido, o modelo de Watzky-Finke (Finney e Finke, 2008) é uma alternativa bastante razoável, embora tenha sido desenvolvido para sistemas em que as nanopartículas são esféricas.

O mecanismo de Watzky-Finke é uma simplificação em duas etapas que permite obter valores médios para as constantes de nucleação (k_1) e de crescimento (k_2). A primeira etapa do mecanismo é a redução em pseudo-primeira ordem de íons metálicos em solução para a formação do *cluster* sólido inicial:

O crescimento é então interpretado como a reação deste *cluster* com outros íons presentes em solução, concomitante com a redução destes:

A lei de velocidade em função do consumo de prata iônica em solução é, portanto:

$$-\frac{d[\text{Ag}^+]}{dt} = k_1[\text{Ag}^+] + k_2[\text{Ag}^+]\text{Ag}_n \quad (24)$$

Aonde o termo Ag_n deve ser interpretado não como a concentração de *nanoclusters* em solução, mas como área superficial total dos *nanoclusters*, já que é deste parâmetro que depende o número de colisões que provocam seu crescimento.

A equação analítica obtida a partir deste mecanismo explica a existência de um período de latência como descrito por Turkevich, e garante boa adaptação aos dados experimentais (Finney e Finke, 2008).

$$A_t = [A]_0 - \frac{\frac{k_1}{k_2} + [A]_0}{1 + \frac{k_1}{k_2[A]_0} e^{(k_1+k_2[A]_0 t)}} \quad (25)$$

O modelo se adapta de maneira eficiente à evolução da intensidade de LSPR durante a síntese de nanofios de prata, apresentada na Figura 13(b). A conversão da intensidade de extinção UV-VIS em unidade de concentração a partir de um fator de conversão simples obtido a partir da concentração nominal permite a obtenção dos valores de constantes de velocidade, apresentados na Tabela 1, em unidades convencionais.

A razão entre as velocidades de nucleação e crescimento determina o grau de controle sobre a reação ao longo da síntese. Isso se dá porque o mecanismo é autocatalítico. O aumento na concentração de Ag^0 favorece a segunda etapa do mecanismo – como k_2 é sempre maior do que k_1 , isso significa que o crescimento inibe a nucleação primária, em um processo competitivo. Contudo, isso só ocorre quando a agitação e difusão de núcleos no meio reacional é eficiente, o que explica, por exemplo, a grande dispersão de tamanhos e formas de partículas observadas na Figura 12.

Figura 13. (a) espectros de extinção no UV-VIS obtidos em diferentes etapas da síntese (método poliol). (b) evolução da intensidade e comprimento de onda máximo para o modo fundamental da ressonância de plasmons de superfície localizados (LSPR) de nanofios de prata obtidos através do método poliol ao longo da síntese. (c) Curvas obtidas através da aplicação de modelos teóricos à dispersão de intensidades de LSPR.

Tabela 1. Parâmetros obtidos na aplicação dos modelos de Boltzmann e Watzky Finke nos dados de intensidade de LSPR correspondentes a diferentes alíquotas coletadas ao longo da síntese de nanofios de prata.

Modelo	Parâmetro	Valor obtido	Unidade
Boltzmann	K	$0,21 \pm 0,01$	min^{-1}
	x_0	$24,8 \pm 0,3$	min
	A_1	$(6 \pm 4) \cdot 10^{-4}$	molL^{-1}
	A_2	$(2,97 \pm 0,03) \cdot 10^{-2}$	molL^{-1}
Watzky-Finke	k_1	$(1,5 \pm 0,3) \cdot 10^{-3}$	min^{-1}
	k_2	$6,7 \pm 0,4$	$\text{L}/(\text{mol}^{-1}\text{min}^{-1})$
	A_0	$(2,99 \pm 0,03) \cdot 10^{-2}$	molL^{-1}

O máximo da extinção LSPR evolui de maneira bastante progressiva, mas o comprimento de onda máximo, como demonstrado na Figura 13(b), apresenta um deslocamento para o azul de cerca de 20 nm alguns minutos antes do ponto de inflexão da curva, em 24,5 minutos. As imagens de microscopia obtidas nas alíquotas em tempos imediatamente anteriores e posteriores a esse instante (Figura 14), removidas em 19, 22, 26 e 30 minutos, mostram que o deslocamento está correlacionado com a evolução de nanopartículas quase-esféricas com diâmetro de 28 ± 7 nm em nanofios com seção-transversal de 34 ± 8 nm (Tabela 2). Até os 30 minutos de síntese, a espessura continua a variar de maneira praticamente linear até 50 ± 10 nm, que é a mesma espessura dos nanofios obtidos ao final da síntese. O comprimento, por outro lado, aumenta até o consumo de todo o precursor metálico, e pode atingir dezenas de micrômetros.

Figura 14. (p. 78) Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de alíquotas removidas após (a) 19, (b) 22, (c) 26 e (d) 30 minutos do início da síntese pelo método poliol. Histogramas de distribuição de tamanho de partículas correspondentes para (f) 19, (g) 22, (h) 26 e (i) 30 minutos.

Isso demonstra que os dois modelos cinéticos, de Boltzmann e Watzky-Finke, são insensíveis à morfologia das nanopartículas sintetizadas. A atividade SERS, no entanto, é bastante sensível à estrutura do substrato, devido à influência de *hot spots* plasmônicos. Este aspecto será discutido na seção seguinte.

Tabela 2. Média, desvio padrão e desvio padrão relativo para as distribuições de tamanho de nanopartículas apresentadas na

Figura 14.

Tempo de retirada	Média	Desvio padrão	Desvio padrão
da alíquota	/nm	/nm	relativo
/min			(%)
19	28	7,6	27
22	34	8,1	23
26	42	11	28
30	52	13	26

3.4.3. Evolução na atividade SERS de substratos obtidos através do método poliol

Um dos aspectos da síntese de nanofios mais estudado ao longo da tese é a correlação da atividade SERS com a evolução estrutural das nanopartículas que pode ser demonstrada através da obtenção de espectros intensificados do verde de jânus B (VJB) usando como substrato as alíquotas retiradas nos tempos anteriormente discutidos – O VJB é um corante catiônico análogo da safranina e seu espectro SERS tem alta intensidade com a maioria dos

Figura 15. Espectros do verde de jânus B obtidos com alíquotas removidas da síntese em 19 (a), 26 (b) e 30 (c) minutos. (d) Distribuição estatística dos espectros obtidos.

substratos. Por esse motivo, é bastante utilizado como molécula prova.

Os espectros apresentados na Figura 15 mostram as bandas em 604 e 682 cm^{-1} atribuídas a modos de deformação angular do grupo azo ($\text{C}=\text{N}=\text{N}$) e de deformação angular do anel central, análogo da fenazina, um dos cromóforos presentes na molécula (Bonancea *et al.*, 2008). A banda em 520 cm^{-1} pertence ao cristal de silício usado como suporte para a deposição do substrato. A comparação da intensidade das bandas nos substratos retirados em 19, 26 e 30 minutos mostra que após a formação expressiva de nanofios, que ocorre após o ponto de inflexão em 25 minutos, o fator de intensificação analítico aumenta de 3 a 5 vezes – como os espectros são obtidos em grandes agregados, em que toda a área iluminada pelo equipamento está preenchida com nanopartículas, o número de moléculas espalhadoras diminui devido ao crescimento dos fios, de modo que o aumento no fator de intensificação do substrato, que considera o número de moléculas espalhadoras, deve ser ainda maior.

Outra evidência que demonstra o aumento do fator de intensificação é a classificação estatística dos espectros usados para a obtenção da média em três categorias, considerando que todos os espectros são obtidos sob uma mesma potência de laser e um mesmo arranjo ótico: aqueles que fornecem dados úteis, aqueles em que o sinal é insignificante e aqueles em que a intensidade provoca saturação do detector CCD do equipamento. Embora a média das intensidades das bandas seja praticamente idêntica nas alíquotas removidas em 26 e em 30 minutos, o número de espectros que provocam saturação do detector aumenta e o número de espectros estatisticamente insignificantes diminui — provocando um aumento no grupo dos espectros válidos, indicativo de maior eficiência analítica. Considerando que nesta metodologia os espectros válidos são determinados através das intensidades máximas obtidas sob mesmas condições experimentais, isso indica que o substrato se torna mais homogêneo ao

longo do tempo, e que sua eficiência atinge um máximo que está associado com a presença de *hot spots* plasmônicos no volume iluminado pelo laser.

3.5. Síntese de nanopartículas de prata pelo método da hidroxilamina neutra — discussão sobre "nanoestrelas" de prata

3.5.1. Procedimento

A síntese foi realizada com dois procedimentos distintos: a reprodução do procedimento original apresentado por Garcia-Leis *et al.* (2013), e um procedimento adaptado para produzir um maior volume de coloide.

No primeiro caso, 500 μL de solução de hidroxilamina neutra $0,06 \text{ molL}^{-1}$ são misturados com 500 μL de solução de hidróxido de sódio $0,05 \text{ molL}^{-1}$. A solução resultante é mantida sob agitação, e são adicionados 9 mL de solução de nitrato de prata $0,001 \text{ molL}^{-1}$. Após cinco minutos, adicionam-se, por fim, 100 μL de solução de citrato de sódio 1%.

No procedimento para produção de maiores volume de coloide, os volumes de soluções de hidroxilamina neutra, hidróxido de sódio, nitrato de prata e citrato de sódio são alterados para 1,5 mL, 1,5 mL, 27 mL e 300 μL , respectivamente.

Os colóides resultantes foram caracterizados por espectroscopia de espalhamento no UV-VIS e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

3.5.2. Caracterização e discussão dos resultados

O termo "nanoestrelas" se refere a estruturas metálicas altamente ramificadas e normalmente de grandes dimensões — sementes com imperfeições superficiais dão origem às ramificações, que crescem em direções aleatórias, dando origem a uma morfologia que pode ser comparada ao diagrama de uma estrela — estruturas semelhantes, no entanto, já foram referidas como "flores" ou "fractais" (Gulina *et al.*, 2018). O desenvolvimento deste tipo de estrutura com prata foi motivado pela descrição da ocorrência de estruturas ramificadas em ouro (Kumar *et al.*, 2008). A discussão em torno do nome permite divergências acerca da primeira publicação descrevendo a síntese de nanoestrelas de prata — o termo foi provavelmente empregado pela primeira vez em Garcia-Leis *et al.* (2013), embora seja possível argumentar que as estruturas são similares às descritas por Wang *et al.* (2008) como "nanoestruturas altamente ramificadas" (*highly branched nanostructures*).

Há divergência sobre a existência da nanoestrela como uma nanopartícula isolada — as dimensões que atingem centenas de nanômetros e as condições experimentais utilizadas na síntese sugerem que elas possam ser hiperestruturas formadas a partir de nanopartículas menores, de forma quase-esférica ou alongada.

De toda maneira, do ponto de vista de SERS, a principal vantagem deste tipo de estrutura é a alta eficiência na região do infravermelho, que permite contornar a fluorescência de determinados analitos (Garcia-Leis *et al.*, 2013) — esta alta eficiência seria obtida em qualquer uma das situações, com nanopartículas únicas e grandes agregados.

Os resultados obtidos através do procedimento descrito sugerem que as duas hipóteses fazem sentido. Imagens de microscopia eletrônica de varredura das nanopartículas obtidas, apresentadas na Figura 16(b) demonstram que o coloide é constituído de uma mistura de

Figura 16. (a) Espectro de extinção no UV-VIS e (b) imagens de microscopia eletrônica de varredura de nanopartículas obtidas pelo método da hidroxilamina neutra. Estruturas destacadas em vermelho são nanoestrelas típicas. O destaque em azul apresenta outras estruturas alongadas.

nanopartículas quase-esféricas similares às obtidas através do método de Lee-Meisel, descrito na seção 3.2, com as referidas nanoestruturas ramificadas reportadas na literatura. Essa mistura explica de maneira muito satisfatória o perfil LSPR apresentado no espectro de extinção, na Figura 16(a) — a banda principal seria uma combinação da banda típica de nanopartículas quase-esféricas com dimensão aproximada de 60 nm, em 400 nm, com os *plasmons* transversais das ramificações de estruturas maiores — o perfil esperado para o LSPR destas estruturas envolve um componente transversal ligeiramente deslocado para o azul em comparação às quase-esferas, devido ao relaxamento promovido pela grande dimensão longitudinal. A "cauda" que se estende até o infravermelho próximo pode ser atribuída à ressonância de plasmons longitudinais das estruturas ramificadas e nanopartículas maiores, com dimensões tipicamente superiores a 100 nm.

Capítulo 4

Aproximações e métodos para a análise de substâncias de interesse ambiental por SERS

Toda pesquisa sobre *SERS*, no atual estágio de desenvolvimento da técnica é, ainda, metodológica. Qualquer tentativa de aplicação exige lidar com a fabricação das nanoestruturas usadas como substratos, com a adsorção das moléculas de interesse sobre elas, muitas vezes limitada, e até mesmo com detalhes na manipulação das soluções-prova, que frequentemente chegam a ter concentrações da ordem de $10^{-7} \text{ molL}^{-1}$ (Darby e Le Ru, 2014). Isso explica porque, apesar da literatura especializada ressaltar as inúmeras potencialidades da técnica desde meados dos anos 80, sua aplicação na solução de problemas tecnológicos e sua introdução no mercado de instrumentação científica ainda são tímidas.

Neste capítulo serão abordados alguns aspectos e potencialidades de SERS enquanto técnica, com especial ênfase nos métodos e protocolos que borem ser realizados para a obtenção de uma robustez analítica adequada.

4.1. Dispersões coloidais e substratos depositados: Comparação por análise de variâncias em níveis hierárquicos (MLNVA)

Há duas abordagens encontradas com frequência na literatura para a realização de análises SERS com nanopartículas metálicas: aquela em que a dispersão de nanopartículas é

misturada com uma solução do analito de interesse, e a dispersão obtida é medida diretamente pelo equipamento Raman (Furini *et al.*, 2015), e aquela em que uma gota dessa dispersão é depositada sobre uma superfície plana (vidro, ITO, silício) e seca à temperatura ambiente (Freeman *et al.*, 1995). Esta última encontra diversas variações, que incluem o uso de equipamentos de *spin coating* para garantir uma deposição mais uniforme sobre a superfície, secagem em estufa e a adição da solução de analito sobre as nanopartículas já secas (Santos *et al.*, 2016). Contudo, para fins práticos, estas e outras mudanças experimentais serão consideradas como variações de um mesmo procedimento.

Os fatores que influenciam a precisão da medida na abordagem mais simples, em que a dispersão de nanopartículas é misturada ao analito, são três:

- O operador;
- O instrumento de medida;
- O preparo da mistura dispersão/analito.

Quando se considera a amostra seca, um quarto fator, que adquire grande importância, deve ser considerado:

- A heterogeneidade na deposição das nanopartículas.

O experimento descrito a seguir foi elaborado para medir o quanto cada um desses fatores afeta a precisão final da análise, através de uma análise de variância em multiníveis ou níveis hierárquicos, abordagem cujo fundamento pode ser encontrado em manuais de estatística (Taylor, 1990). Outro aspecto discutido é a possibilidade do uso da transformação estatística *Standard Normal Variate (SNV)* para normalização dos dados obtidos e aumento na precisão das medidas de intensidade.

Como já mencionado anteriormente, a intensidade das bandas em um espectro Raman depende da variação na polarizabilidade molecular provocada por um determinado modo normal de vibração, o que se torna ainda mais complexo nos espectros SERS, devido à influência da polarizabilidade da nuvem eletrônica da nanopartícula metálica e a orientação da molécula em relação ao campo elétrico gerado pela ressonância de plasmons. A abordagem utilizada neste capítulo desconsidera estes fatores, considerando as bandas espectrais apenas como sinais analíticos, e é, sem dúvida, reducionista. Contudo, esta discussão é de suma importância para a aplicação de aproximações que serão descritas posteriormente neste mesmo capítulo, como a obtenção de isothermas de adsorção, assim como de outras abordagens que não estão no escopo desta tese, como a aplicação de SERS em análises quantitativas.

4.1.1. Procedimentos

a) Protocolo para coleta de dados por operadores independentes:

Um protocolo experimental contendo o método de preparo de amostras e os parâmetros de medida (apresentado como Anexo) foi fornecido para três operadores independentes. Todos os materiais necessários, incluindo a solução de thiram de concentração $1 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e o colóide preparado através do método de Lee-Meisel (seção 3.2) foram preparados previamente e fornecidos para os operadores. O experimento foi dividido em duas partes, com preparo de amostra coloidal e preparo de amostra seca.

Na etapa com amostra em forma de dispersão coloidal cada operador preparou 3 amostras, e realizou medidas em triplicata em cada uma delas, de acordo com os parâmetros

experimentais indicados. Para a etapa com a amostra seca, uma gota de cada uma das três amostras foi depositada sobre uma placa de vidro, e foram realizadas medidas em triplicata em 3 pontos distintos de cada amostra.

b) Obtenção dos valores de variância para cada um dos níveis:

Os dados obtidos estão organizados de maneira hierárquica de acordo com o diagrama apresentado nas figuras 17 e 18. A variância do nível 1, em ambos os casos, é obtida diretamente através dos valores médios determinados no nível 2, como quadrado do desvio padrão, de acordo com a equação

$$V = \sigma^2 = \frac{\sum(x - \bar{x})^2}{N} \quad (26)$$

Aonde x é o valor da medida, $\bar{x}$ o valor médio, e N o número de componentes da média. Para níveis inferiores, o desvio padrão é estimado dividindo-se o intervalo médio das medidas que compõem o nível ($\bar{r}$) por uma constante estatística adequada (p^*).

$$\sigma = \frac{\bar{r}}{d_2^*} \quad (27)$$

Os valores de d_2^* para conjuntos de dados com diferentes tamanhos e organizações foram interpolados a partir dos valores apresentados nos anexos de Taylor (1990): 1,77 para o nível 2, 1,72 para o nível 3 e 1,70 para o nível 4.

Figura 18. Esquema de níveis hierárquicos para análise de variâncias em amostras secas.

c) Conversão dos dados em *Standard Normal Deviate* (SNV):

O valor de um determinado número de onda de um espectro em SNV pode ser definido como

$$I_{SNV} = \frac{I_{\bar{\nu}} - \bar{I}}{\sigma} \quad (28)$$

Onde $I_{\bar{\nu}}$ é a intensidade do espectro no número de onda $\bar{\nu}$, $\bar{I}$ representa a intensidade média de todos os pontos do espectro e σ o seu desvio padrão. A transformação estatística consiste na conversão de todos os pontos, e a intensidade do espectro passa a ser expressa em termos do número de desvios padrão (σ).

4.1.2. Resultados e discussão

O fundamento da análise de variâncias em níveis hierárquicos é que a variância total de uma análise, que considera os diferentes fatores que a influenciam e é obtida diretamente no nível superior (nível 1), é uma combinação linear das contribuições de cada um dos níveis inferiores.

$$V_{total} = V_1 + \frac{V_2}{N_2} + \frac{V_3}{N_3} \dots + \frac{V_n}{N_n} \quad (29)$$

Desta forma, é possível obter o quanto cada um dos fatores contribui para a variância total, oferecendo estratégias objetivas para otimização da análise. A elaboração de um experimento deste tipo para SERS é conveniente, pois embora os fatores que influenciam a variação de resultados entre diferentes operadores sejam conhecidos e discutidos

Figura 19. Estrutura molecular de pesticidas comerciais da família dos tiocarbamatos. (a) Thiram, (b) Metam-sódio e (c) Ferbam.

qualitativamente, a magnitude da contribuição de cada um destes fatores para as incertezas analíticas não costuma ser medida.

O composto selecionado como molécula prova está inserido no contexto das análises ambientais. Thiram é um fungicida e repelente animal comercial aplicado em diversas lavouras e pertencente à classe dos tiocarbamatos, cujas estruturas estão representadas na Figura 19. A primeira publicação apresentando e discutindo seu espectro SERS, em conjunto com outros pesticidas análogos, ocorreu poucos meses depois de um vazamento de grandes proporções, decorrente do descarrilhamento de um trem que transportava tonéis de metam-

sódio sobre o rio Sacramento (Califórnia, EUA) (Narayanan *et al.*, 1992; Sanchez-Cortes *et al.*, 1998).

Em trabalhos mais recentes (Saute e Narayanan, 2013; Khlebtsov *et al.*, 2015; Ivanov *et al.*, 2016), pesticidas da família dos tiocarbamatos se mostram como moléculas-prova adequadas para a caracterização e teste de sensores desenvolvidos para análises ambientais, devido a um conjunto de fatores: Apresentam alto sinal analítico e baixo limite de detecção, não apresentam efeito ressonante em radiações de excitação visíveis, são hidrofóbicos como a grande maioria das moléculas de interesse ambiental e interagem com facilidade com superfícies de prata e de ouro. No caso do thiram, a interação se dá por quimissorção

Figura 20. Espectro Raman Normal (A) e SERS sobre nanofios de prata (B) do fungicida thiram.

dissociativa (Sanchez-Cortes *et al.*, 2001), o que explica a grande diferença entre seus espectros SERS e Raman normal (Figura 20) – A interação com o metal provoca quebra da ligação S—S, com frequência em 557 cm^{-1} , que desaparece no espectro SERS. A adsorção se dá com a molécula perpendicular à superfície do metal, o que provoca grande intensificação dos modos vibracionais no plano de simetria do fragmento da molécula, em especial da banda atribuída à ligação C—N, cuja frequência, em 1382 cm^{-1} é a de maior intensidade no espectro, e foi utilizada como banda de referência no estudo em múltiplos níveis. Espectros simulados e a atribuição de bandas completa para o thiram estão apresentados em Ivanov *et al.* (2016).

O uso de amostras na forma de dispersões coloidais contendo o analito de interesse tem a vantagem de permitir uma maior reprodutibilidade nos espectros obtidos, tanto do ponto de vista da intensidade quanto da robustez, já que o sistema se torna menos sensível a pequenas quantidades de contaminantes SERS ativos. Amostras secas, por sua vez, proporcionam uma melhor relação sinal-ruído, em troca de menor robustez e grande heterogeneidade na intensidade do sinal analítico. Estas constatações de ordem prática são confirmadas pelos resultados obtidos no estudo por MLNVA, embora as razões nele demonstradas não sejam intuitivas.

A Figura 21(a) mostra a magnitude das variâncias atribuídas a cada um dos fatores, e torna claro que, quando considerados os dados brutos, a maior fonte de variância no caso de amostras secas é a heterogeneidade na superfície da amostra, que atinge 60% da variância total, como apresentado nos gráficos da Figura 21(c). Quando comparados os valores de variância obtidos para o preparo de amostra observa-se que este é uma fonte de variância muito mais significativa do que nas amostras coloidais, em que a influência de oscilações na medida do instrumento chega a ser superior. A única diferença entre o preparo dos dois tipos

Figura 21. Magnitudes de variância calculados no estudo de níveis hierárquicos em termos de desvios padrão relativos para (a) dados brutos e (b) dados convertidos em *Standard Normal Variate* (SNV). (c) Magnitudes relativas de variâncias atribuídas a diferentes fatores, para os dois casos anteriores.

de amostra é a existência, no caso de amostras secas, de uma etapa de deposição. Embora do ponto de vista operacional essa etapa possa parecer um detalhe, os dados demonstram que o impacto analítico é muito significativo, e que esforços para garantir uma deposição mais homogênea do colóide, como o uso de equipamentos *spin coating*, são bastante válidos para otimização analítica. As flutuações na medida, por sua vez, têm impactos distintos nos dois sistemas – amostras secas garantem uma maior precisão em um mesmo ponto de análise, já que são eliminados fatores como a evaporação do solvente e o movimento das partículas em dispersão. Este resultado sugere que um dos melhores meios para a obtenção de resultados mais robustos e precisos com sistemas em dispersão é a modificação do arranjo experimental, utilizando, por exemplo, cubetas seladas no lugar de recipientes abertos, e lentes que garantam iluminação de maiores volumes de amostra. Também é importante observar que embora os espectros apresentados (Figura 21C) tenham intensidades semelhantes, as condições para a coleta com amostras secas são mais brandas — a melhor relação sinal-ruído obtida com estas, permite que as potências utilizadas sejam até 100 vezes menores, o que é uma vantagem no caso de amostras mais fotoquimicamente ativas.

Neste tipo de estudo estatístico, o nível mais alto é sempre muito mais amplo e genérico do que os inferiores, em que o fator estudado costuma ser muito bem delimitado. Existem inúmeros fatores que podem explicar variações no nível 1, em que o fator estudado é o operador — estes podem incluir a expertise na operação do instrumento Raman, o treinamento em boas práticas de laboratório, a prática no preparo e análise de amostras para SERS nas duas condições estudadas no experimento e até mesmo idiossincrasias no método de trabalho. Um dos fatores é bastante característico de análises SERS em amostras secas, e pode explicar o fato do desvio padrão relativo do operador ser maior neste caso: embora o protocolo experimental instrua a procurar "agregados de nanopartículas", o tamanho e aspecto

de agregados varia muito, e atribui certa subjetividade à análise desse tipo de amostra. A Figura 22 mostra algumas imagens de microscopia ótica com o que os três diferentes operadores consideraram como "agregados de nanopartículas" — Alguns se encontram na borda da dispersão seca, enquanto outros são agregados pequenos encontrados no centro da gota. Alguns apresentam presença de líquido, enquanto outros tem aspecto totalmente seco. Talvez este seja o aspecto, dentre todos os estudados, que mais necessita de convenções.

A transformação SNV se mostra muito efetiva na normalização de desvios devidos ao tamanho dos agregados de nanopartículas e à heterogeneidade da amostra seca. A Figura 21 apresenta os resultados da análise de variância com os mesmos dados, convertidos para SNV. O desvio padrão relativo total varia de 76% com os dados brutos para 6% com os espectros convertidos, e a contribuição atribuída à medida se torna mais significativa do que as do preparo de amostras e da heterogeneidade da amostra sólida. O mesmo ocorre para as amostras coloidais, embora a redução no desvio padrão relativo, de 25% para 9%, seja menor do que no caso das amostras secas.

A eficiência da transformação SNV se explica pelo fato de que a relação sinal-ruído

Figura 22. Imagens de microscopia ótica com "agregados típicos" para coleta de espectro de acordo com três operadores diferentes.

em análises SERS se deve não apenas à quantidade de moléculas espalhadoras (sinal bruto), mas ao fator de recobrimento da superfície metálica, e à natureza competitiva do fenômeno de intensificação Raman, em que o sinal do estabilizante da dispersão de nanopartículas se torna mais intenso em amostras em que a concentração do analito de interesse é menor. Estes dois aspectos do fenômeno SERS são de alta relevância em discussões posteriores deste capítulo, sobretudo na aplicação de SERS na obtenção de isothermas de adsorção.

4.2. Adsorção de substâncias hidrofóbicas em sistemas bifásicos para obtenção de espectros SERS

4.2.1. Procedimentos

a) Obtenção de espectros de thiram em sistema 1-octanol-água:

Remove-se uma alíquota de 3 mL de dispersão de nanofios de prata (síntese descrita na seção 3.4), e após três ciclos de centrifugação e lavagem com água deionizada, completa-se o volume para 10 mL. Uma solução estoque $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ é preparada pela dissolução de 60 mg de thiram em 50 mL de 1-octanol. Em seguida, são realizadas duas diluições em dez vezes para obter as concentrações de $5,0 \cdot 10^{-4}$ e $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Em tubos eppendorf, são inseridos 1 mL de cada uma das três soluções, e 1 mL da dispersão de nanofios lavada. Para análise, 5 μL de cada fase aquosa são removidos e depositados em lâminas de vidro. Após secagem, os espectros são obtidos no Renishaw InVia com radiação excitante de 633 nm.

b) Determinação da concentração de sítios ativos em sistema saturado (HPLC):

Três amostras são preparadas com a dispersão de nanofios em água e diferentes volumes de solução estoque $5,0 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ de thiram (ambos os preparos são descritos no item anterior). Em seguida, 100 μL de cada fase orgânica é removida, e o volume é completo até 1 mL. A análise por HPLC foi realizada na central analítica do IQ-USP, de acordo com metodologia descrita em Ohto *et al.* (1994) e Irth *et al.* (1990). A eluição é realizada em coluna de sílica C18 com 250 mm, com fase móvel isocrática contendo 70% de solução aquosa 0,1% de ácido fórmico e 30% de acetonitrila. Após cada eluição de 25 minutos, a coluna é lavada com a solução de ácido fórmico por 10 minutos e recondicionada com a fase móvel por 5 minutos para a análise da próxima amostra. O tempo de eluição do thiram é de 14 minutos, e a quantificação é realizada através de comparação com uma curva de calibração.

c) Obtenção da isoterma de partição-adsorção do thiram em sistema clorofórmio-água:

1,5 mL de solução de thiram $6,4 \cdot 10^{-4}$ em clorofórmio são preparados através da dissolução de 2,3 mg. Em seguida, essa solução é sucessivamente diluída em 2:1 para obtenção dos pontos da análise. As amostras são preparadas com volumes equivalentes de solução de thiram e dispersão de nanofios de prata. Após alguns minutos, 5 μL das fases aquosas são removidos e depositados sobre placas de microscopia. Para cada gota depositada, 30 espectros são obtidos no Renishaw InVia, com radiação excitante de 633 nm — os dados são submetidos à transformação estatística SNV antes da obtenção do espectro médio, e a isoterma é obtida através de modelo que será descrito em detalhe na seção a seguir.

4.2.2. Resultados e discussão

O estudo de fenômenos de partição é fundamental para espécies de interesse ambiental, pois permite prever sua distribuição e destino em diferentes compartimentos presentes no ambiente, como solo, água e atmosfera. De maneira geral, esse estudo envolve a determinação de coeficientes de partição ou coeficientes de transporte, que indicam em que proporção um determinado composto se distribui em compartimentos com propriedades diferentes. O coeficiente mais utilizado e reportado é o para a partição no sistema bifásico 1-octanol-água (K_{ow}), cuja determinação é exigência legal para a comercialização de pesticidas no Brasil e indica, de maneira comparativa, o "grau de hidrofobicidade" destes. A Tabela 3 apresenta o valor de K_{ow} para alguns pesticidas de uso comercial.

Tabela 3. Fórmula e coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) de alguns pesticidas comerciais. Os valores de referência foram obtidos na FISPQ de produtos comerciais da Agilent e Sigma-Aldrich.

Pesticida	Fórmula	log K_{ow}
DDT	$(C_6H_4Cl)_2CHCl_3$	6,91
Aldrin	$C_{12}H_8Cl_6$	6,50
Endosulfan	$C_9H_6Cl_6O_3S$	3,83
Malathion	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	5,0
Atrazina	$C_8H_{14}ClN_5$	2,61
Thiram	$C_6H_{12}N_2S_4$	2,1

Do ponto de vista de SERS, a partição também é um fenômeno relevante, já que esta pode fornecer um modelo para a adsorção de moléculas sobre superfícies metálicas. Os experimentos aqui representados visam demonstrar que é possível detectar poluentes hidrofóbicos extraíndo-os de uma fase orgânica, em que são altamente solúveis, usando colóides de prata ou ouro SERS ativos (Figura 23). Neste caso, não se pode assumir que a presença de nanoestruturas de prata em dispersão não interfere no equilíbrio de partição definido pelo coeficiente K_{ow} – a adsorção de moléculas sobre a superfície provocará o deslocamento do equilíbrio de partição entre a fase orgânica e o colóide, de modo que o sistema embora aparentemente bifásico, é trifásico em escala nanométrica. O processo pode ser representado como um equilíbrio de transporte entre três compartimentos:

O grau de deslocamento no equilíbrio dependerá de dois fatores: a constante de

Figura 23. Fotografia de sistema bifásico típico envolvendo fase orgânica e dispersão de nanopartículas.

afinidade da molécula com a superfície (K_{ads}) e o número de sítios ativos disponíveis para adsorção. Considerando que as duas constantes envolvidas no equilíbrio (K_{ow} e K_{ads}) podem ser definidas como:

$$K_{ow} = \frac{[M_{(1-octanol)}]}{[M_{(aq)}]} \quad (30)$$

$$K_{ads} = \frac{[MS]}{[M_{(aq)}][S]} \quad (31)$$

E a relação entre as duas constantes expressa a constante de partição entre a fase orgânica e a superfície metálica:

$$K_{oc} = \frac{[MS]}{[M_{(1-octanol)}][S]} \quad (32)$$

O número de sítios ativos é tipicamente determinado através de uma condição de saturação, em que a concentração na fase orgânica é muito superior ao número de sítios disponíveis para adsorção. Em fase aquosa, obter essa condição é impossível, devido à baixa solubilidade do composto – uma eventual diluição do coloide para compensar a concentração do analito tornaria muito difícil a análise SERS. Por esse motivo, publicações procuram estimar o número de moléculas na superfície a partir da morfologia média do substrato e da densidade molar do analito de interesse (Le Ru *et al.*, 2007). Utilizando o sistema bifásico, por outro lado, é perfeitamente possível trabalhar com soluções de concentrações mais altas — nos experimentos descritos, concentrações da ordem de $10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ foram suficientes para provocar a saturação do substrato e determinar experimentalmente o número de sítios ativos simplesmente determinando qual a concentração que resta na fase orgânica depois de estabelecido o equilíbrio. A partir das análises por HPLC descritas na seção 4.2.1, é possível

determinar a concentração de sítios ativos como sendo de $0,46 \text{ mmolL}^{-1}$, que representa 1,6% da concentração nominal de prata na dispersão de nanofios.

Figura 24. Espectros intensificados de thiram obtidos em sistemas de partição 1-octanol/dispersão de nanopartículas, obtidos em concentrações nominais de (a) $5 \cdot 10^{-3}$, (b) $5 \cdot 10^{-4}$ e (c) $5 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ na fase orgânica.

Além disso, espectros do thiram foram obtidos de maneira confiável e reproduzível em sistema 1-octanol/dispersão de nanopartículas nas concentrações de $5 \cdot 10^{-3}$, $5 \cdot 10^{-4}$ e $5 \cdot 10^{-5}$ molL⁻¹, conforme apresentado na Figura 24.

Para obter da constante de adsorção, é possível realizar medições com soluções-prova diluídas de maneira progressiva. O sinal SERS deve atingir uma intensidade máxima devido à saturação do substrato - a relação entre os sinais obtidos em diferentes concentrações e esse patamar máximo é análogo ao fator de recobrimento de Langmuir, e pode ser utilizado para obter uma isoterma de adsorção, como a apresentada na Figura 25, baseada na intensidade da banda em 1383 cm⁻¹, atribuída ao estiramento da ligação C—N no fragmento do thiram, e calcular um valor para a constante de afinidade (K), apresentado na Tabela 4. A expressão que representa o modelo de adsorção é:

Figura 25. Isotherma de adsorção obtida com o valor de SNV da banda em 1383 cm⁻¹ de amostras de thiram com diluições progressivas.

Tabela 4. Valores dos parâmetros no modelo aplicado para obtenção da isoterma de adsorção da Figura 25.

Parâmetro	Valor obtido	Unidade
$I_{\max}$	$5,71 \pm 0,02$	σ
K	$(4,3 \pm 0,5) \cdot 10^4$	Lmol^{-1}

$$\frac{I}{I_{\max}} = \frac{K[M]}{1 + K[M]} \quad (33)$$

Em que K é a constante de afinidade com a superfície, $[M]$ a concentração da molécula prova (no caso, o thiram), e $I/I_{\max}$ a relação entre a intensidade em dada concentração e a concentração limite, devida à saturação dos sítios de adsorção.

No experimento, o clorofórmio foi utilizado no lugar do 1-octanol por oferecer algumas vantagens operacionais: como é mais denso que a água, alíquotas utilizadas para análise SERS podem ser removidas sem que a ponteira do pipetador tenha contato com a fase orgânica. Considerando que a concentração do pesticida em água, baseado no valor de K_{ow} , é ao menos duas ordens de grandeza inferior à da fase orgânica, o uso do clorofórmio previne contaminações, garantindo maior precisão na determinação da constante de afinidade.

O valor obtido para a constante de partição-adsorção do thiram, segundo esse modelo, é de $4,3 \cdot 10^4$, como apresentado na Tabela 4. A curva também permite observar que o sinal passa a decair quando a concentração da fase orgânica se aproxima da concentração de sítios ativos determinada no ensaio de saturação, apresentado anteriormente. Sobre o valor da constante K , deve-se considerar, ainda, que ela representa o processo de partição-adsorção como um todo, cuja expressão é apresentada na equação (32). A constante de adsorção de

Langmuir (K_{ads}) é dada pelo produto deste valor com o coeficiente de partição solvente-água da molécula, no caso, clorofórmio-água (K_{cw}):

$$K_{ads} = K_{oc}K_{cw} \quad (34)$$

Esse valor pode ser estimado com alguma precisão através de um modelo de regressão linear de primeira ordem muito útil em química ambiental, o das equações de Collander (Briggs, 1981). O modelo considera que o logaritmo de uma constante de partição (K_p) solvente-água é proporcional à diferença entre as energias internas (ΔU) da fase orgânica e da fase aquosa.

$$\log K_p = aP\Delta U \quad (35)$$

Onde P é a pressão e a uma constante de proporcionalidade arbitrária. ΔU , neste caso, expressa a diferença entre a energia coesiva dos dois meios. Assumindo que para que ocorra solvatação é necessário que haja formação de um “buraco” proporcional ao tamanho da molécula na estrutura do líquido, e que esse processo reduz a energia coesiva, valores de ΔU serão maiores quanto mais diferentes forem os processos de solvatação nos dois solventes, e deverá ser proporcional a qualquer diferença de variáveis que expresse a dissimilaridade entre os dois solventes. Uma delas é a diferença entre as concentrações de água no solvente e na própria água (ΔC).

$$\log K_p = a'P\Delta C \quad (36)$$

Onde a' é uma nova constante de proporcionalidade. Considerando que a concentração de água nela própria é a densidade molar da água ($\rho_{ma} = 55,5 \text{ mol/dm}^3$), a expressão para ΔC é:

$$\Delta C = C_{aa} - C_{ao} = \rho_{ma} - C_{ao} \quad (37)$$

Em seguida, adiciona-se um termo que expressa a contribuição das interações soluto-solvente, novamente em função da concentração de água na fase orgânica (C_{ao}) e da densidade molar da água (ρ_{ma}).

$$\log K_p = a'P\Delta C + \log \left(\frac{C_{ao}}{\rho_{ma}} \right) \quad (38)$$

Como C_{ao} sempre será menor do que ρ_{ma} , o logaritmo sempre será negativo, indicando que a contribuição das interações será mais significativa para solventes em que a solubilidade da água é baixa. Solutos capazes de realizar interações dipolo-dipolo, por exemplo, terão a constante de partição menor quanto menos capaz de realizar esse tipo de interação for a fase orgânica.

Isolando-se $a'P$ da equação (38) se obtém:

$$a'P = \frac{\log K_p - \log \left(\frac{C_{ao}}{\rho_{ma}} \right)}{\Delta C} \quad (39)$$

Esta expressão pode ser utilizada para obter a relação entre os logaritmos das constantes de dois sistemas de partição (1 e 2) a partir das concentrações de água em cada um dos sistemas:

$$\log K_1 = \left(\frac{\Delta C_1}{\Delta C_2} \right) \log K_2 + \left(\log \frac{C_{ao1}}{\rho_{ma}} - \frac{\Delta C_1}{\Delta C_2} \log \frac{C_{ao2}}{\rho_{ma}} \right) \quad (40)$$

Onde os números subscritos indicam o sistema ao qual os valores de ΔC e C se referem e ρ_{ma} é novamente a densidade molar da água. Essa expressão tem a forma de uma equação linear:

$$\log K_1 = a \log K_2 + b \quad (41)$$

Onde os termos a e b são chamados de parâmetros de Collander, e seus valores são dados por:

$$a = \left(\frac{\Delta C_1}{\Delta C_2} \right) \quad (42)$$

$$b = \left(\log \frac{C_{ao1}}{\rho_{ma}} - \frac{\Delta C_1}{\Delta C_2} \log \frac{C_{ao2}}{\rho_{ma}} \right) \quad (43)$$

A partir dos parâmetros para o clorofórmio apresentados por Briggs (1981) e o valor de referência da constante de partição 1-octanol-água ($\log K_{ow} = 2,1$), o valor da constante de partição clorofórmio água do thiram deve ser de 10 ($\log K_{cw} = 1,0$). Isso significa que o valor de K_{ads} é cerca de uma ordem de grandeza maior do que o valor determinado para K_{oc} e apresentado na Tabela 4, ou seja, $4,3 \cdot 10^5$.

O valor da constante de partição do thiram indica que, comparado com outros pesticidas, como os da classe dos organoclorados, o tiocarbamato é uma substância bastante hidrofílica, se situando no limite em que a aproximação de Collander é eficiente. Mesmo assim, a molécula é uma substância prova muito eficiente para SERS com baixa solubilidade em água, e o valor obtido para a constante de adsorção é bastante razoável. O valor dos resultados aqui descritos é metodológico — os procedimentos aqui empregados se mostrarão ainda mais úteis em moléculas de maior hidrofobicidade, como as que serão abordadas a partir do capítulo 5.

4.3. Considerações sobre a obtenção de isothermas de adsorção por SERS

4.3.1. Procedimentos

a) Obtenção de isothermas de adsorção de corantes por UV-VIS:

Foram preparadas soluções dos corantes verde de jânus B (VJB) com concentração $1,0 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e vermelho de alizarina S (ARS) com concentração $5,0 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Para cada ponto da isoterma, foi utilizada uma diluição diferente da solução, com fatores variando entre 0,1 e 1 da concentração original. Em tubos de vidro, 5 mL de cada uma das diluições foram misturados com 500 μL de dispersão de nanopartículas de prata preparada pelo método de Lee-Meisel. Após duas horas, tempo necessário para garantir que o sistema atingiu o equilíbrio, 5 mL de cada uma das misturas foram transferidos para tubos de centrífuga, e centrifugados a 12000 rpm por 20 minutos. Em seguida, 1,5 mL de cada sobrenadante foi transferido para tubos eppendorf e foi realizada uma nova centrifugação, a 14000 rpm por 30 minutos, para remoção completa das nanopartículas. A concentração de corante na solução foi, então, determinada através de espectroscopia de absorção no UV-VIS, com construção de uma curva de calibração para os comprimentos de onda de absorção adequados. Foram utilizadas as bandas de absorção de maior intensidade em 590 nm para o corante VJB e em 430 nm para o corante ARS.

b) Obtenção de isotermas de adsorção de corantes por SERS:

Utilizando as mesmas soluções de ARS e VJB descritas no procedimento anterior, foram realizadas 10 diluições em 2:1 sucessivas. Em seguida 1 mL de cada uma das diluições foram misturados com 500 µL da dispersão de nanopartículas de prata. Após duas horas, 10 µL de cada mistura foram removidos, depositados sobre placas de vidro e secos a temperatura ambiente. Os espectros Raman foram coletados sobre agregados de nanopartículas no equipamento Renishaw InVia, com comprimento de onda de excitação de 633 nm. Os parâmetros do instrumento foram otimizados com a amostra de maior concentração e em ambos os casos a análise foi interrompida quando a concentração de corante se tornou pequena demais para observação das bandas características do espectro. Os dados foram tratados com a transformação estatística SNV, como descrito na seção 4.1, e foram obtidas isotermas para determinação da constante de afinidade K utilizando pelo menos três bandas de cada espectro.

4.3.2. Resultados e discussão

A aproximação para obtenção de isotermas de adsorção através de SERS foi proposta por Kubackova *et al.* (2015) e consiste em uma analogia entre o comportamento do espectro SERS sob diluição e o modelo de adsorção de Langmuir. O modelo de Langmuir assume que a adsorção se dá em sítios bem definidos e isoenergéticos, de modo que as moléculas do adsorvente formam uma monocamada homogênea no substrato. (Langmuir, 1918) O equilíbrio de adsorção pode ser representado por

Aonde $[MS]$ representa o complexo adsorbato-sítio ativo. A constante do equilíbrio, que pode ser chamada de “constante de adsorção”, ou ainda “constante e afinidade” é dada por

$$K = \frac{[MS]}{[M]_{eq} [S]} \quad (44)$$

O modelo assume que os sítios de adsorção existem de maneira independente da presença do adsorbato, de modo que seu número total ($[S]_0$) deve ser dado pela soma da concentração de sítios livres e do complexo formado.

$$[S]_0 = [AS] + [S] \quad (45)$$

Rearranjando a equação (44) e dividindo os dois lados da equação por $[S]_0$ se obtém a equação de adsorção de Langmuir:

$$\theta = \frac{[MS]}{[S]_0} = \frac{K[M]_{eq}}{1 + K[M]_{eq}} \quad (46)$$

Aonde θ recebe o nome de “fator de recobrimento”, já que representa a proporção dos sítios ativos disponíveis que estão ocupados por uma molécula adsorvida. A comparação entre as duas expressões, do modelo de adsorção de Langmuir, e do modelo de adsorção SERS (Tabela 5) torna claro porque o procedimento envolve uma aproximação, e não uma determinação direta da constante de afinidade: Enquanto no modelo de Langmuir é necessário conhecer $[M]_{eq}$, a concentração em equilíbrio da molécula em questão, a aproximação SERS utiliza simplesmente $[M]$, a concentração nominal da solução prova utilizada.

Tabela 5. Equações para o modelo de adsorção clássico de Langmuir e a aproximação para obtenção da constante de afinidade através de espectroscopia Raman intensificada por superfície.

Equação do modelo de Langmuir	Aproximação da isoterma SERS
$\frac{[MS]}{[S]_0} = \frac{K[M]_{eq}}{1 + K[M]_{eq}}$	$\frac{I}{I_{max}} = \frac{K[M]}{1 + K[M]}$

Considerando que a concentração em equilíbrio sempre será menor do que a concentração nominal antes da ocorrência da adsorção, a aproximação faz com que o valor da constante seja sobre-estimado em concentrações distantes do ponto de saturação. O principal objetivo do procedimento descrito nesta seção é avaliar o grau de confiabilidade da aproximação, comparando os valores de constante de equilíbrio obtidos através de SERS e através de um método mais convencional, a espectroscopia UV-VIS.

A alizarina vermelha S (ARS) é uma versão mais solúvel da alizarina, enquanto o verde de jânus B (VJB) é um azocorante análogo da safranina. Ambos foram utilizados em trabalhos anteriores de nosso grupo de pesquisa (Bonancea *et al.*, 2008; Inoue e Corio, 2010; De Souza e Corio, 2013), e suas estruturas estão apresentadas na Figura 26. A alta absortividade molar desse tipo de composto permite as isotermas de adsorção sejam obtidas por SERS e UV-VIS em concentrações similares.

Como demonstrado pelos estudos estatísticos apresentados na seção 4.1, o uso da intensidade em termos de desvios padrão do espectro total (transformação SNV) é um meio eficiente de contornar a variância provocada pela irregularidade no número de espalhadores em substratos depositados. No caso da obtenção de isotermas, a transformação tem outra

Figura 26. Estruturas moleculares da (a) alizarina vermelha S e do (b) verde de jânus B.

vantagem: é capaz de indicar quais das bandas do espectro são estatisticamente mais significativas e, portanto, mais adequadas para a aplicação do modelo, e também permite determinar com maior precisão o limite de detecção da molécula em questão. Em trabalhos publicados, é comum que se assuma que a isoterma deve ser obtida considerando a banda com maior intensidade no espectro, mas um critério que pode indicar a confiabilidade da aproximação é se há boa coincidência entre constantes determinadas a partir de diferentes bandas.

A Figura 27 mostra o comportamento dos espectros médios de corantes usados nos experimentos aqui reportados (ARS e VJB) de acordo com a concentração, e demonstram como o crescimento na intensidade das bandas do íon citrato, que se tornam aparentes quando a concentração do corante se aproxima do limite de detecção, podem interferir na determinação da constante de adsorção. Os espectros dos dois corantes foram coletados em regiões distintas, mas em ambos o crescimento na significância do espectro do coloide impossibilita a obtenção de isotermas de adsorção de maneira confiável em certas regiões — por exemplo, a região entre 1260 e 1420 cm⁻¹ do espectro da ARS e a região entre 860 e 980 cm⁻¹ no espectro do VJB.

Isso indica que as isotermas de adsorção devem ser obtidas de acordo com dois critérios principais: as bandas devem ter significância estatística, com todos, ou pelo menos a

Figura 27. Espectros SERS obtidos para os corantes vermelho de alizarina S (a) e verde de jânus B (b) em diferentes concentrações.

Figura 28. Isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS com diferentes bandas dos corantes (a) vermelho de alizarina S e (b) verde de jânus B.

Tabela 6. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para ARS e VJB apresentadas na Figura 28.

Corante	Banda no espectro	Parâmetro	Valor	Unidade
SERS /cm⁻¹				
Vermelho de Alizarina S	1241	log K	6,5 ± 0,1	Lmol ⁻¹
		I _{max}	5,1 ± 0,3	σ
	1423	log K	6,1 ± 0,3	Lmol ⁻¹
		I _{max}	4 ± 1	σ
Verde de Jânus B	682	log K	6,0 ± 0,1	Lmol ⁻¹
		I _{max}	2,1 ± 0,1	σ
	1185	log K	6,9 ± 0,2	Lmol ⁻¹
		I _{max}	2,8 ± 0,2	σ
	1202	log K	6,3 ± 0,1	Lmol ⁻¹
		I _{max}	4,4 ± 0,2	σ

Tabela 7. Modelos de isoterma de adsorção aplicados sobre os dados obtidos através da espectroscopia no UV-Visível (Figura 29) para ARS e VJB.

Langmuir	Freundlich	Koble-Corrighan
$\frac{[MS]}{[S]_0} = \frac{K[M]_{eq}}{1 + K[M]_{eq}}$	$Q_{ads} = K_f[M]_{eq}^{1/n_f}$	$Q_{ads} = \frac{A[M]_{eq}^{n_{KC}}}{1 + B[M]_{eq}^{n_{KC}}}$

maioria dos pontos com SNV maior do que zero, e devem estar fora da região em que ocorre interferência do espectro do estabilizante. Esse é o caso das bandas em 1241 e 1420 cm^{-1} da ARS e em 682, 1185 e 1202 cm^{-1} do VJB. As isotermas obtidas de acordo com essas bandas estão apresentadas na Figura 28 — outras bandas destacadas na figura demonstram a necessidade de cumprimento dos critérios expostos. Bandas como as em 1158 cm^{-1} da ARS e em 1134 cm^{-1} do VJB têm perfil adequado à aplicação do modelo de Langmuir, mas sua baixa significância estatística não permitira obter parâmetros confiáveis. A banda em 1319 cm^{-1} da ARS aparenta se intensificar quando a concentração se aproxima do limite de detecção, mas isso ocorre devido ao aumento na significância do espectro do citrato.

Pode-se argumentar que embora o surgimento de bandas de íons citrato em baixas concentrações de corante seja uma desvantagem provocada pela conversão em SNV, ela demonstra de maneira clara que a adsorção de moléculas-prova em colóides é um processo competitivo, já que a superfície em que se dá a adsorção não é livre, e é necessária a dessorção do estabilizante para que ela ocorra.

Para análise dos dados obtidos através de espectroscopia no UV-Visível, foram utilizados três modelos de adsorção, apresentados na Tabela 7, dentre os diversos apresentados por Foo e Hameed (2010): os de Langmuir e Freundlich, e o de Koble-Corrighan

Figura 29. Isotermas de adsorção para (a) ARS e (b) VJB nos modelos de Langmuir, Freundlich e Koble-Corrigan.

Tabela 8. Parâmetros calculados para as isotermas apresentadas na Figura 29.

Modelo	Parâmetro	Unidade	Valor para ARS	Valor para VJB
Langmuir	log K	Lmol ⁻¹	3,9 ± 0,2	6,6 ± 0,2
	C _{sat}	mol.mg _{Ag} ⁻¹	(1,2 ± 0,7)·10 ⁻⁶	(8,1 ± 0,4)·10 ⁻⁷
	R ²	-	0,94	0,95
Freundlich	K _f	L.mg _{Ag} ⁻¹	(1,9 ± 0,3)·10 ⁻²	(2 ± 1)·10 ⁻⁵
	n _f	-	0,94 ± 0,01	3,8 ± 0,5
	R ²	-	0,996	0,92
Koble-Corrigan	A	mol.mg _{Ag} ⁻¹	0,2 ± 0,1	0,01 ± 0,01
	log B	Lmol ⁻¹	5,2 ± 0,4	3,9 ± 0,4
	n _{kc}	-	1,23 ± 0,08	0,6 ± 0,1
	R ²	-	0,997	0,98

(Koble e Corrigan, 1952). As isotermas estão apresentadas na Figura 29, e os parâmetros calculados para cada uma delas estão na Tabela 8.

No caso do VJB, a constante obtida através da aplicação do modelo de Langmuir, com ordem de grandeza de 10^6 , é compatível com a obtida através da aproximação SERS, mas o valor calculado para limite de saturação da superfície é claramente inferior à quantidade adsorvida. Nessa região, mesmo a curva obtida com o modelo de Freundlich, que dentre os três modelos tem o menor coeficiente de correlação, parece se adaptar melhor aos dados, embora a quantidade adsorvida os supere. O modelo de melhor adaptação é o de Koble-Corrigan, com uma constante de afinidade ($\log B$) inferior à obtida pelo modelo de Langmuir em uma ordem de grandeza.

A interpretação do caso da ARS é mais desafiadora, já que o valor para n obtido através do modelo de Freundlich, muito próximo a 1, indica uma correlação quase linear entre a concentração de equilíbrio e o número de moléculas adsorvidas. Isso representa um desvio mais radical com relação ao modelo de Langmuir do que no caso do VJB. Tanto o modelo de Langmuir quanto o modelo de Koble-Corrigan fornecem constantes de afinidade inferiores às obtidas por SERS, e o modelo de Langmuir extrapola os dados para obtenção do limite de saturação. Quando comparada com a obtida para o VJB, a constante de Freundlich indica afinidade três ordens de grandeza inferior, enquanto a aproximação SERS indica que VJB e ARS têm constantes de afinidade bastante próximas.

A competição pela superfície também pode explicar a alta concordância entre as isotermas de adsorção obtidas por UV-VIS e SERS para o VJB, um corante catiônico, e a pior concordância no caso da ARS, um corante aniônico. No primeiro caso, as moléculas do

corante tem carga oposta à camada superficial da nanopartículas. Isso significa que a adsorção de VJB não necessariamente exige a dessorção de íons citrato — as duas moléculas podem coexistir na superfície, e o fato de que o citrato não é observado no espectro SERS pode ser atribuído à grande diferença entre as seções de choque Raman dos dois compostos. No segundo caso, a adsorção envolve uma etapa de dessorção do citrato antes que ARS possa aderir à superfície da prata, e o estabelecimento de um equilíbrio competitivo entre o estabilizante e a molécula prova. Isso naturalmente leva à obtenção de constantes de afinidade inferiores e a uma menor adaptação ao modelo de Langmuir, que assume que a existência dos sítios de adsorção é independente da presença da molécula adsorvida.

Mesmo tendo graus de adaptação diferentes aos modelos teóricos, o desvio com relação ao modelo de Langmuir é plausível e esperado para os dois corantes. Ambos são compostos por moléculas grandes, com mais de um grupo funcional capaz de promover a adsorção e uma alta delocalização de cargas elétricas, possibilitando orientações variadas para a interação molécula-superfície. Os dois corantes se ligam à superfície da prata através de atração eletrostática, um efeito de longa distância em que tanto a atração ou repulsão pelos íons de citrato quanto a repulsão entre as moléculas do próprio corante tem grande influência. Todos esses fatores tornam pouco razoável que a adsorção ocorra de maneira isoenergética, a premissa fundamental do modelo de Langmuir.

A alta adaptação dos dados obtidos através de SERS ao modelo de Langmuir (Tabela 6), por outro lado, pode ser explicada pelo fato de que a intensificação eletromagnética é um efeito de curta distância. Embora os corantes interajam com a superfície de maneiras, e consequentemente com distâncias, variadas, o efeito SERS só é capaz de detectar as moléculas que se localizam a distâncias muito curtas da superfície e que devem se comportar de maneira mais homogênea e ideal. Isso pode sugerir que a constante de adsorção obtida para

a ARS é próxima da que seria obtida caso fosse possível eliminar completamente o citrato da superfície do coloide. No caso do VJB, a compatibilidade entre os resultados SERS e UV-VIS indica que a competição com o estabilizante não tem efeito tão determinante na adsorção.

Isso demonstra que a aproximação SERS fornece dados mais realistas e compatíveis com métodos tradicionais quando a adsorção da molécula prova é mais próxima da ideal. Nesses casos a constante de adsorção obtida é próxima da constante termodinâmica, relacionada com a energia de interação. Por outro lado, quando o comportamento da molécula não é ideal — por exemplo, nos casos em que a adsorção é dissociativa ou a competição com o estabilizante é mais determinante — desvios maiores devem ser esperados, o que não significa que a aproximação SERS, se encarada de maneira crítica, não seja capaz de fornecer dados relevantes para compreender a adsorção do composto.

Capítulo 5

Funcionalização de superfície por filmes de mercaptanas bidentadas para detecção de pesticidas hidrofóbicos

A análise da literatura permite afirmar que existem diferenças conceituais entre "nanopartículas funcionalizadas" e "funcionalização de nanopartículas".

O uso da expressão "nanopartículas funcionalizadas" remonta à década de 80 e envolve estudos e aplicações muito distintos dos que são objetos de estudo desta tese. Alquil-tióis, ou mercaptanas, foram extensivamente utilizados como estabilizantes no método bifásico de Brust para síntese de nanopartículas metálicas (Brust *et al.*, 1994; Brust *et al.*, 1995), que embora garanta um bom controle dimensional e morfológico, caiu em desuso, provavelmente por envolver volumes significativos de solventes como benzeno e tolueno, o que confere maior insalubridade ao procedimento e o coloca em desacordo com os princípios da química verde (Anastas e Eghbali, 2010).

O método de Brust é aplicado por Porter *et al.* (1998) para sintetizar nanopartículas de prata e ouro funcionalizadas com mercaptanas com diversos comprimentos de cadeia e lista possíveis aplicações, como imunoensaios e nanoeletrônica, e embora aplique a espectroscopia Raman na caracterização dos materiais preparados, não faz nenhuma menção a SERS. Aspectos relacionados com os espectros Raman e infravermelho são utilizados para discutir a organização dos filmes autoorganizados sobre a superfície metálica. Da mesma forma, Malinsky *et al.* (2001) apresenta, em grande detalhe, a influência do comprimento da cadeia nas propriedades óticas de nanopartículas modificadas com alquil-tióis.

"Funcionalização", por outro lado, é um tema específico em SERS, e tem relação com a adsorção de moléculas de interesse que não interagem com substratos convencionais, como é o caso da maioria das moléculas de interesse ambiental. No primeiro registro que relaciona as palavras-chave "funcionalização" e "SERS" neste contexto, as moléculas-prova de interesse (no caso, explosivos), foram derivatizadas de modo a se tornarem capazes de interagir com o colóide metálico (Balaguera *et al.*, 2005). No ano seguinte, (Guerrini *et al.*, 2006; 2009b) realizaram a primeira aplicação na detecção de poluentes, utilizando nanopartículas funcionalizadas com calix[4]areno na detecção indireta de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) — o método envolve a formação de complexo *host-guest* entre o funcionalizante e o pesticida, conceito que será apresentado em maior detalhe no Capítulo 6.

Em trabalhos mais recentes a atenção se voltou novamente para compostos mais simples, como mercaptanas e seus derivados. As mercaptanas bidentadas são funcionalizantes vantajosos com relação aos funcionalizantes supramoleculares, principalmente devido à maior disponibilidade e menor custo. Além disso, permitem detecção direta do espectro de alguns pesticidas. (Kubackova *et al.*, 2015).

A literatura reporta que a presença de dois grupos funcionais em moléculas bidentadas (Figura 30) é capaz de induzir a formação de *hot spots* em substratos coloidais através da formação de ligações com duas partículas ao mesmo tempo. Os *hot spots* formados seriam capazes de produzir fatores de intensificação muito altos, já que o interstício entre as duas partículas teria a dimensão da molécula funcionalizante. (Guerrini *et al.*, 2009a; Li *et al.*, 2009; Kubackova *et al.*, 2015). Entretanto, Gadogbe *et al.* (2015) sugerem que esta é apenas umas entre diversas possibilidades de organização dos filmes sobre nanopartículas, e que provavelmente não é a mais favorável do ponto de vista termodinâmico. Embora a

organização de alquil-tióis seja relativamente simples em superfícies planas, a geometria e imperfeições superficiais nos colóides criam alguns desafios. A compreensão da organização dos filmes funcionalizantes é um problema tão relevante quanto a detecção de pesticidas, finalidade da funcionalização.

Neste capítulo, os resultados apresentados buscam elucidar a organização dos funcionalizantes 1,8-octanoditiol (DT8) e 8-mercapto-1-octanol (HT8), e como esta influencia a detecção dos pesticidas organoclorados aldrin e endosulfan (Figura 31), através da interpretação das informações estruturais obtidas em análises SERS e de aproximações descritas no capítulo anterior. Simulações computacionais são utilizadas como ferramentas auxiliares para compreender os espectros de funcionalizantes e moléculas-prova.

Aldrin e endosulfan são pesticidas organoclorados clássicos, com altos potenciais de bioacumulação e biomagnificação, que foram aplicados extensivamente desde os anos 60. Atualmente, seu uso se encontra banido em países signatários da convenção de Estocolmo, o que inclui o Brasil. Mesmo assim, sua aplicação como molécula prova é relevante, devido à similaridade entre as propriedades químicas destes compostos com a maioria dos pesticidas organoclorados, e de sua alta persistência, que permite que seja possível detectar a eles ou a seus metabólitos diretos mesmo anos após a interrupção do uso. (Qu *et al.*, 2017)

Figura 30. Estruturas moleculares de funcionalizantes de interesse no desenvolvimento da tese.

Figura 31. Estruturas moleculares dos pesticidas organoclorados (a) aldrin e (b) endosulfan.

5.1. Análise conformacional de filmes de 1,8-octanoditiol

5.1.1. Procedimentos

a) Obtenção de espectro SERS de 2-mercapto-etanol:

Em um procedimento típico, uma solução prova de 2-mercapto-etanol é preparada em álcool com concentração de $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. Em seguida, 10 μL desta solução são adicionados à 500 μL de colóide, a dispersão é depositada sobre uma placa de vidro e o espectro é coletado com radiação excitante de 633 nm.

b) Análise conformacional de filmes de 1,8-octanoditiol e 8-mercapto-1-octanol:

Soluções estoque de 8-mercapto-1-octanol (HT8) e 1,8-octanoditiol (DT8) foram preparadas com concentração de $1 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$. A partir destas soluções originais, foram preparadas misturas com proporção de 0,25, 0,50 e 0,75 de DT8. Com as duas soluções

estoque puras e cada uma das três misturas, diluições progressivas de 1:1 foram realizadas. Em procedimento análogo ao da obtenção de isothermas de adsorção apresentada na seção 4.3, 100 μL de cada solução com diferentes composições e concentrações foram adicionados 900 μL de colóide preparado através do método de Lee-Meisel, e os espectros Raman foram coletados a partir das dispersões com radiação excitante de 633 nm.

c) Simulações computacionais:

Os cálculos foram realizados com o Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). A geometria otimizada das moléculas e os espectros simulados foram obtidos em simulações DFT com o funcional híbrido B3LYP (Hohenberg e Kohn, 1964; Kohn e Sham, 1965; Becke, 1997). A base de cálculo para a simulações de espectros Raman normais de todas as moléculas foi 6-311++g(d, p), enquanto para espectros SERS (com um átomo de prata), foi utilizada a palavra chave *gen* e uma base de dados mista com 6-311g++(3df, 3dp) para átomos de C, H, O e S e LANL2DZ para átomos de prata, com pseudo-potenciais para camadas internas. As figuras 32 e 33 apresentam representação gráfica em 3D estrutura otimizada das moléculas simuladas pelo Gaussian no GaussView 5.0. Quando necessário, as estruturas foram modificadas manualmente para evitar a presença de frequências imaginárias no resultado do cálculo.

Figura 32. Estruturas otimizadas para 1,8-octanoditiol nas conformações (a) eclipsada-eclipsada, (b) eclipsada-*gauche* e (c) *gauche-gauche*. (d) Estrutura otimizada para 8-mercapto-1-octanol.

Figura 33. Estruturas otimizadas para (a) 1,8-octanoditiol e (b) 8-mercapto-1-octanol ligados a um átomo de prata para simulação do espectro SERS.

5.1.2. Resultados e discussão

O 2-mercapto-etanol é uma molécula bastante elegível para aplicação como molécula prova em SERS, pois adere facilmente à superfície dos sensores mais utilizados, não é fluorescente como a maioria dos corantes utilizados para este fim e tem um espectro intenso e de fácil interpretação (Figura 34). As quatro bandas principais podem ser atribuídas ao estiramento da ligação covalente formada entre os átomos de prata e enxofre por quimissorção dissociativa (402 cm^{-1}), ao estiramento da ligação C—S nas conformações *gauche* (635 cm^{-1}) e eclipsada (721 cm^{-1}) e ao estiramento da ligação C—C (1018 cm^{-1}), cuja intensidade relativa se apresenta muito maior do que no espectro Raman normal devido à orientação perpendicular à superfície metálica. A intensidade da banda em 635 cm^{-1} , de aproximadamente um terço da

banda em 721 cm^{-1} indica que, embora a conformação preferencial seja a eclipsada, a molécula retém alguma liberdade de rotação após a adsorção na superfície.

Essa diversidade conformacional, demonstrada através de dados experimentais e simulações DFT na Figura 34 é bastante relevante: Embora não possa ser utilizado como funcionalizante, o espectro do 2-mercapto-etanol é semelhante ao de moléculas de cadeia mais longa, cujo empacotamento sobre a superfície de nanoestruturas de prata leva à formação de filmes com capacidade de capturar pesticidas organoclorados hidrofóbicos, em

Figura 34. (a) espectro SERS experimental do 2-mercapto-etanol. Projeções de Newman e espectros Raman normais simulados (DFT) para as conformações (b) gauche e (c) eclipsada do 2-mercapto-etanol.

fenômeno análogo à partição entre compartimentos, cuja relevância para a química ambiental foi discutida no capítulo 4.

Entre as moléculas empregadas em ensaios preliminares, se incluíam moléculas com comprimento de cadeia e grupos terminais variados, como o 1,6-octanoditiol, 6-mercaptop-1-hexanol e ácido 11-mercaptop-undecanóico. A Figura 30 apresenta, de formam sintética, as estruturas moleculares de funcionalizantes de interesse. Em etapas posteriores do projeto, a variedade foi abandonada devido à maior eficiência de filmes cujo comprimento de cadeia é 8, como também reportado em Kubackova *et al.* (2015). Portanto, os resultados apresentados a seguir enfatizam aspectos conformacionais do par 1,8-octanoditiol e 8-mercaptop-1-octanol, assim como resultados obtidos na detecção de pesticidas organoclorados com nanopartículas

Figura 35. (a) Espectro SERS de 8-mercaptop-1-octanol. Espectros simulados (DFT) (a) para a molécula livre (NRS) e (b) para a molécula ligada a um átomo de prata (SERS).

Figura 36. (a) Espectro SERS de 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para a molécula livre (NRS) nas conformações (b) eclipsada-eclipsada, (c) eclipsada-*gauche*, (d) *gauche-gauche* e (e) para a molécula em conformação ec-ec ligada a um átomo de prata (SERS).

de prata funcionalizadas com estes compostos.

Os espectros SERS do 8-mercapto-1-octanol e do 1,8-octanoditiol, apresentados na Figura 35, são muito semelhantes entre si, e de certa forma análogos ao do 2-mercapto-etanol. As bandas de maior intensidade nos espectros SERS são atribuídas à ligação C—S, em 703 cm^{-1} para o ditiol e 707 cm^{-1} para o álcool, e ao modo de vibração totalmente simétrica da cadeia carbônica, análogo ao estiramento C—C do 2-mercapto-etanol, em 1083 cm^{-1} para o ditiol e 1098 cm^{-1} para o álcool.

Porter *et al.* (1998) aponta a intensidade desta última banda (1083 cm^{-1}) como um indicativo do ordenamento do filme formado sobre as nanopartículas: quando a banda é mais intensa e estreita, o filme pode ser considerado ordenado ou cristalino, e bandas mais largas indicam que o filme é mais desordenado ou amorfo. Em filmes ordenados, as moléculas tem menor liberdade conformacional, devido ao impedimento estérico promovido pelo empacotamento eficiente. Isso permite afirmar que filmes de DT8 (Figura 36) são menos ordenados do que filmes de HT8 (Figura 35), o que guarda relação com o momento de dipolo do grupo terminal. Como a diferença nas cargas parciais no grupo —OH é muito maior do que no grupo —SH, o primeiro tem interação preferencial com a água, dando ao álcool caráter mais anfifílico, enquanto no segundo, interações do grupo terminal com o próprio filme provocam menor ordenamento.

A resposta dos espectros SERS à redução na concentração das soluções de DT8 e HT8 (figuras 37 e 38) também reforça o argumento sobre a maior cristalinidade de filmes de HT8. Moléculas de DT8 possuem maior mobilidade em concentrações mais baixas, como pode ser observado pelo surgimento de uma banda em 622 cm^{-1} , associada o estiramento da ligação C—S da molécula de ditiol em conformação *gauche*, em conjunto com a banda em 703 cm^{-1} , atribuída ao estiramento C—S da molécula em conformação eclipsada. No álcool, não há

Figura 37. Espectros SERS de 8-mercapto-1-octanol nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação *gauche* (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).

Figura 38. Espectros SERS de 1,8-octanoditiol nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação *gauche* (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).

alterações no espectro, e a presença de apenas uma banda atribuída ao estiramento C—S, em 707 cm^{-1} indica, também, que há menor mobilidade rotacional das moléculas no filme.

As frequências calculadas a partir de simulações DFT, apresentadas nas tabelas 9 e 10 apresentam boa correspondência com as frequências experimentais. A Figura 32 apresenta representação em 3D das geometrias otimizadas pelo Gaussian, com três conformações possíveis para a molécula do ditiol e a conformação eclipsada do álcool. É importante observar que nas simulações em que os dois grupos terminais se encontram na mesma conformação, eclipsada ou *gauche*, apenas uma banda é prevista, enquanto na conformação em que os dois grupos possuem conformações distintas, as duas bandas estão presentes no espectro simulado, apresentado nas figuras 35 e 36 — Os espectros simulados para SERS com um átomo de prata ligado à molécula são mais fidedignos do ponto de vista das intensidades relativas, especialmente no caso do HT8, mas fornecem frequências muito menores do que as experimentais para o estiramento da ligação C—S, devido à baixa energia atribuída à ligação. Na representação em 3D da geometria otimizada (Figura 33), a ligação não é representada, embora a vibração esteja prevista, com atividade Raman compatível com a experimental, em 651 cm^{-1} para o ditiol e 661 cm^{-1} para o álcool.

As isotermas de Langmuir obtidas através da aproximação SERS (Figura 39 e Tabela 11) fornecem constantes de adsorção de $8 \cdot 10^4$ para o 8-mercaptop-1-octanol e de $3 \cdot 10^4$ para o 1,8-octanoditiol, indicando maior afinidade do álcool. Considerando que a reorganização das ligações é a mesma para os dois sistemas (com rompimento da ligação S—H e formação de ligação covalente entre enxofre e prata), a diferença na afinidade deve se explicar por fatores entrópicos. Considerando que a molécula do álcool é mais anfifílica, é possível que, em solução, se organize em estruturas micelares, de modo que sua adsorção à superfície não

Figura 39. Isothermas de adsorção calculadas com as bandas em (a) 1081 cm^{-1} do 8-mercapto-1-octanol e (b) 707 cm^{-1} do 1,8-octanoditiol.

provoque variação de entropia negativa. Esse tipo de organização não é possível para o ditiol, de modo que sua adsorção promove perda significativa de mobilidade.

Mesmo assim, quando os dois compostos estão presentes na solução prova, em proporções de ditiol de 0,25, 0,50 e 0,75 (espectros apresentados nas figuras 40, 41 e 42 respectivamente), alguns efeitos interessantes podem ser observados: em proporção de 0,25, o espectro do ditiol praticamente não pode ser observado. Contudo, na proporção de 0,5, em que as concentrações dos dois compostos são equivalentes, o espectro observado quando a concentração da mistura é mais alta ($1 \cdot 10^{-4}\text{ molL}^{-1}$) é o do ditiol. No entanto, a banda característica em 1018 cm^{-1} do álcool surge em alta intensidade quando a concentração se aproxima de $2 \cdot 10^{-5}\text{ molL}^{-1}$, como demonstrado na Figura 41(e). Isso pode ser explicado pela vantagem competitiva devida à presença, nas moléculas de DT8, de dois grupos funcionais

Figura 40. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercapto-1-octanol em proporção de 0,25 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação *gauche* (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).

Figura 41. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercapto-1-octanol em proporção de 0,50 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação *gauche* (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).

Figura 42. Espectros SERS de mistura 1,8-octanoditiol:8-mercaptop-1-octanol em proporção de 0,75 nas concentrações (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $5,0 \cdot 10^{-5}$, (c) $2,5 \cdot 10^{-5}$ e (d) $1,3 \cdot 10^{-5}$. (e) Evolução da intensidade das bandas atribuídas à conformação *gauche* (G), conformação eclipsada (E) e cadeia alquílica (C).

capazes de se ligar à superfície — quando a concentração é muito superior ao número de sítios ativos disponíveis, a adsorção do ditiol prevalece sobre a adsorção do álcool por razões cinéticas. Em concentrações mais baixas, a maior afinidade do HT8 faz com que seu espectro prevaleça.

Quando as duas moléculas estão presentes em proporção de 0,75, o efeito ocorre de maneira mais tímida, mas o crescimento da banda *gauche*, em 622 cm^{-1} , é menos significativo do que no caso do ditiol puro, sugerindo que mesmo presente em menor proporção, o 8-mercaptop-1-octanol provoca um maior ordenamento do filme misto. Como moléculas do álcool só estão presentes em conformação eclipsada, é natural que sua presença provoque um maior empacotamento do sistema como um todo, devido à possibilidade de interação entre as cadeias alquílicas dos dois compostos.

Os dados aqui apresentados demonstram que interações entre moléculas de alquiltióis e entre estas moléculas e o solvente tem efeito muito determinante na adsorção dos compostos sobre a superfície de nanopartículas metálicas. O efeito SERS pode ser utilizado de maneira eficiente para detectar efeitos relacionados à influência desse tipo de interação sobre a conformação destas moléculas durante a funcionalização de superfície, que se reflete em maior ou menor ordenamento do filme. Esse tipo de efeito deve ser, também, considerado mais determinante para a agregação de nanopartículas provocada pela adsorção de compostos como DT8, HT8 e análogos. Os dois compostos aqui discutidos provocam agregação do colóide em níveis semelhantes, o que desencoraja explicações mais simplistas — como a de que moléculas de funcionalizante podem se ligar a duas partículas diferentes, provocando a formação de dímeros (Guerrini *et al.*, 2009a; Li *et al.*, 2009). Mesmo a ocorrência deste tipo de *crosslink* com soluções prova de 1,8-octanoditiol em baixas concentrações, sugerida por Kubackova *et al.* (2015) e Gadogbe *et al.* (2015), parece menos provável quando considerados os efeitos conformacionais aqui descritos.

Tabela 9. Frequências experimentais e teóricas (DFT) para diferentes conformações de 1,8-octanoditiol (Figuras 32 e 33) e atribuição tentativa de bandas. 1,8-octanoditiol. Fatores de correção: 0,953 (NRS) e 0,949 (SERS).

Frequência experimental /cm ⁻¹	Frequências teóricas (DFT) /cm ⁻¹				Atribuição tentativa
	ec-ec (NRS)	ec-g (NRS)	g-g (NRS)	ec-ec (SERS)	
345				345	v (Ag—S)
622	-	623	623		v (C—S) (<i>gauche</i>)
703	707	700	-	651	v (C—S) (eclipsado)
	834	825	778 863	780	δ(C—S—H)
895					
1013	1010 1028	1015	1018 1025	998 1018	v _{as} (C—C—C)
1083	1076	-	1074	1054	v _s (C—C—C)
1209	-	-	-	-	
1298	1276	1264	1266	1277	δ(CH ₂)
1437	1436	1424	1420	1440 1451	δ(CH ₂)
2574	2577	2554	2552	2326	v (S—H)
2854	2889	2871 2887	2873	2835 2849 2861	v (C—H)
2925	2908 2937	2916	2903 2916	2902	v (C—H)

Tabela 10. Frequências experimentais e teóricas (DFT) para 8-mercapto-1-octanol (Figuras 32 e 33) e atribuição tentativa de bandas. Fatores de correção: 0,953 (NRS) e 0,949 (SERS).

Frequência experimental /cm ⁻¹	Frequência teórica NRS (DFT) /cm ⁻¹	Frequência teórica SERS (DFT) /cm ⁻¹	Atribuição tentativa
360		357	ν (Ag—S)
707	709	661	ν (C—S)
884	838	943	ν_s (O—C—C)
1017	1028	986	ν_{as} (C—C)
1098	1073	1065	ν_s (C—C—C)
1294	1273	1290	δ (CH ₂)
	1260	1303	
1430	1444	1471	δ (CH ₂)
		1485	
	2591		ν (S—H)
2858	2878	2880	ν_s (H—C—H)
2910	2904	2897	ν_{as} (H—C—H)
	2924	2912	
	2953	2930	
	2966	2965	

Tabela 11. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para 8-mercapto-1-octanol e 1,8-octanoditiol. (Figura 39)

	Parâmetro	Valor	Unidade
8-mercapto-1-octanol	K	$(8\pm 2)\cdot 10^4$	Lmol ⁻¹
	I _{max}	5,2±0,3	σ
	R ²	0,97	-
1,8-octanoditiol	K	$(3\pm 3)\cdot 10^4$	Lmol ⁻¹
	I _{max}	3±1	σ
	R ²	0,69	-

5.2. Detecção de pesticidas organoclorados com NPs funcionalizadas com filmes de 1,8-octanoditiol e 8-mercapto-1-octanol

5.2.1. Procedimentos

a) Funcionalização de nanopartículas de prata e detecção de aldrin e endosulfan:

Em um procedimento típico, adiciona-se 50 μL de solução de funcionalizante com concentração de $2 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ a 900 μL de coloide. Em seguida, são adicionados 40 μL de solução de nitrato de potássio $0,5 \text{ molL}^{-1}$ para provocar agregação das nanopartículas. 10 μL das soluções prova dos pesticidas aldrin e endosulfan, preparadas em álcool com concentração de $1 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ são adicionados, e a detecção é realizada com radiação excitante de 785 nm. Os testes foram realizados utilizando os funcionalizantes DT8, HT8, e solução contendo uma mistura dos dois em proporção de 1:1.

b) Obtenção de isotermas de adsorção de aldrin e endosulfan em nanopartículas funcionalizadas:

São realizadas diluições sucessivas em 1:1 com a solução de pesticida em álcool etílico (aldrin ou endosulfan, com concentração inicial de $1 \cdot 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$). A funcionalização é realizada da mesma maneira descrita no item anterior, com adição de solução de 50 μL de solução DT8 com concentração de $2 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$, seguida da adição de 40 μL de solução de nitrato de potássio $0,5 \text{ molL}^{-1}$. Em seguida, são adicionados 10 μL de cada solução preparada por diluição, e, para cada amostra 5 espectros são coletados com radiação excitante de 785

nm. Os espectros são convertidos em SNV e, para obtenção da isoterma, são consideradas as bandas de maior intensidade para cada pesticida: 350 cm^{-1} para o aldrin e 401 cm^{-1} para o endosulfan.

c) Simulações computacionais:

Os cálculos foram realizados com o Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). A geometria otimizada das moléculas e os espectros simulados foram obtidos em simulações DFT com o

Figura 43. Fragmentos de moléculas otimizados pelo Gaussian para cálculo das frequências Raman e atribuição de bandas de aldrin e endosulfan: (a) norbornadieno, (b) norbornadieno hexaclorado, (c) e anel com grupo sulfito nas conformações (c) α e (d) β .

funcional híbrido B3LYP (Hohenberg e Kohn, 1964; Kohn e Sham, 1965; Becke, 1997). A base de cálculo para as simulações de espectros Raman normais de todas as moléculas foi 6-311++g(d, p). A Figura 43 apresenta representação gráfica em 3D das estruturas otimizadas pelo Gaussian para fragmentos das moléculas de aldrin e endosulfan.

5.2.2. Resultados e discussão

Os espectros SERS dos pesticidas aldrin e endosulfan apresentam bandas características na região de baixa energia, com bandas bem definidas entre 300 e 420 cm^{-1} . Embora a detecção seja robusta e reprodutível, as bandas relacionadas com a presença do pesticida apresentam intensidade inferior à do funcionalizante, cuja banda próxima a 700 cm^{-1} é a de maior intensidade nos espectros apresentados na Figura 44.

Os modos vibracionais característicos estão em região de impressão digital de ligações C—Cl. Uma atribuição mais específica das bandas pode ser realizada a partir das simulações DFT. Aldrin e endosulfan são sintetizados a partir reações de Diels-Alder (Schmidt *et al.*, 2001). No caso do aldrin, a reação ocorre entre o norbornadieno e o hexacloropentadieno, enquanto para o endosulfan, o último reage com *cis*-1,4-butenol e há uma reação subsequente para formação do grupo sulfito. A atribuição de bandas pode ser realizada a partir de simulações de fragmentos das moléculas: foram simulados o norbornadieno clorado, presente tanto na estrutura do aldrin quanto do endosulfan, e os grupos acoplados a ele em cada um dos casos: o norbornadieno não-clorado, acoplado ao aldrin, e o anel de sete átomos com heterogrupos sulfito acoplado ao endosulfan, para o qual foram simuladas as conformações α

Figura 44. Espectros SERS do pesticida Aldrin com nanopartículas funcionalizadas com (a) 8-mercapto-1-octanol, (c) 1,8-octanoditiol e (b) mistura 1:1 dos dois compostos. (d) Espectro SERS do pesticida endosulfan com nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol.

(anel torcido) e β (simétrica), que normalmente estão presentes na proporção de 7:3 em materiais comerciais (Schmidt *et al.*, 2001).

O espectro SERS do aldrin (Figura 45) é caracterizado por quatro bandas na região entre 300 e 400 cm^{-1} , sendo as duas de maior intensidade, em 350 e 395 cm^{-1} , atribuídas, respectivamente, ao estiramento de ligações C—Cl nos carbonos terciários e ao estiramento simétrico do grupo Cl—C—Cl no carbono secundário. Este último também é o modo de

Figura 45. Espectro SERS do pesticida aldrin em nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para o (b) norbornadieno e para o (c) norbornadieno hexaclorado (Figura 43).

maior intensidade no espectro do endossulfan (Figura 46), ocorrendo em 402 cm^{-1} . No espectro SERS do aldrin (Figura 45), também está presente uma banda que pode ser atribuída a um modo de deformação angular do grupo norbornadieno não clorado, em 522 cm^{-1} . No caso do endossulfan (Figura 46), as bandas do norbornadieno clorado se sobrepõem a bandas que podem ser atribuídas a modos de deformação do anel e do grupo sulfito no anel acoplado, com destaque para a banda em 343 cm^{-1} , que se localiza entre os modos atribuídos aos diversos grupos C—Cl, em intensidade similar. A Tabela 12 apresenta a atribuição de bandas completa baseada nos fragmentos simulados, apresentados na Figura 43.

A comparação de espectros obtidos para o aldrin com diferentes funcionalizantes, apresentados na Figura 44 indicam que espectros com bandas mais bem resolvidas e intensas são obtidos com o filme contendo apenas 1,8-octanodiol. Na seção 5.1, foi possível concluir

Figura 46. Espectro SERS do pesticida endosulfan em nanopartículas funcionalizadas com 1,8-octanoditiol. Espectros simulados (DFT) para conformações (b) α e (c) β do anel contendo grupo sulfito e para o (d) norbornadieno hexaclorado (Figura 43).

que a presença de 8-mercapto-1-octanol provoca maior ordenamento no filme formado sobre a superfície das nanopartículas. O resultado do ensaio SERS com o aldrin indica que essa menor mobilidade prejudica a captura do pesticida pelo filme — a menor resolução e intensidade do espectro podem ser causadas por uma menor afinidade da molécula pela nanopartícula funcionalizada ou ainda por uma organização do sistema em que as moléculas do pesticida só interagem com o filme de maneira superficial, mantendo maior distância da superfície, com menor intensidade do campo elétrico excitante.

As isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS, apresentadas na Figura 47. e Tabela 13, indicam que a constante de adsorção do endosulfan ($\log K = 6,0$) é inferior à do aldrin ($\log K = 7$). O resultado sugere certo grau de analogia entre a adsorção sobre nanopartículas funcionalizadas e o fenômeno de partição. Observando os valores de K_{ow} apresentados na Tabela 3, é possível afirmar que uma maior afinidade do aldrin é esperada, devido à sua menor hidrosolubilidade, se comparado ao endosulfan. O valor da constante de afinidade, para o aldrin, também é relativamente próximo do valor de referência para K_{ow} .

Os dois processos, adsorção e partição, não são idênticos, mas se relacionam no plano conceitual. Assim como no caso da estrutura dos filmes de funcionalizante, o principal fator que explica a adsorção do ponto de vista termodinâmico é o entrópico. É esperado que compostos mais hidrofóbicos tenham maior afinidade pela superfície funcionalizada, mas a principal contribuição, assim como no caso do coeficiente de partição, deve ser o aumento na

Figura 47. Isotermas de adsorção calculadas com as bandas em (a) 350 cm^{-1} do aldrin e (b) 401 cm^{-1} do endosulfan.

entropia do solvente, associado com a desolvatação do composto hidrofóbico.

A metodologia descrita permite detectar os pesticidas em concentrações da ordem de $10^{-7} \text{ molL}^{-1}$, o que demonstra o grande potencial da aplicação de SERS em sistemas de interesse em química ambiental. É esperado que a metodologia aqui descrita permita detectar outros princípios ativos semelhantes ao aldrin e endosulfan, como heptachlor e chlordan, e ainda metabólitos e derivados destes, como o dieldrin e o sulfato de endosulfan. Tentativas com pesticidas de outros grupos, como triazínicos e organofosforados não forneceram resultados positivos, sugerindo que o funcionalizante da nanopartícula é relativamente seletivo. No entanto, é possível que o método seja efetivo na detecção de outros organoclorados, como, por exemplo, o DDT e o 2,4-D.

Tabela 12. Frequências experimentais para os pesticidas aldrin e endosulfan e frequências teóricas calculadas para os fragmentos apresentados na Figura 43. Fator de correção: 0,959.

Frequências experimentais /cm ⁻¹		Frequências teóricas (DFT) /cm ⁻¹				Atribuição tentativa
Aldrin	Endosulfan	Norborna-dieno	Hexacloro-norborna-dieno	Sulfito cíclico α	Sulfito cíclico β	
	242			234	230	$\delta(\text{anel})$
				256	251	
253			253			$\delta(\text{anel})$
	288			294	281	$\delta(\text{anel})$
	317				310	$\delta(\text{anel})$
327	333		318			$\delta_{\text{as}}(\text{Cl-C}=\text{C-Cl})$
			327			$\delta(\text{anel}) +$ $\nu_{\text{as}}(\text{Cl-C-Cl})$
				329		$\delta(\text{anel})$
	343				347	$\delta(\text{anel}) +$ $\delta(\text{SO}_3)$
350	350		355			$\nu(\text{C-Cl}) +$ $\delta(\text{Cl-C-Cl})$
373	374		367			$\delta_{\text{as}}(\text{anel})$
				368		$\delta(\text{SO}_3)$
395	402		398			$\delta(\text{anel}) +$ $\nu_{\text{s}}(\text{Cl-C-Cl})$
			408			$\delta_{\text{s}}(\text{anel})$
			433			$\delta_{\text{as}}(\text{anel})$
	436				429	$\delta(\text{SO}_3)$
	483			469	481	$\delta(\text{SO}_3)$
522		526	506			$\delta_{\text{s}}(\text{anel})$

Tabela 13. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para Aldrin e Endosulfan.

	Parâmetro	Valor	Unidade
Aldrin	K	$(8\pm2)\cdot10^6$	Lmol^{-1}
	I_{max}	$3,77\pm0,09$	σ
	R^2	0,98	-
Endosulfan	K	$(1,1\pm0,3)\cdot10^6$	Lmol^{-1}
	I_{max}	$3,5\pm0,6$	σ
	R^2	0,98	-

Capítulo 6

Funcionalização de nanopartículas com complexantes *host-guest* para detecção de pesticidas hidrofóbicos

Como mencionado anteriormente, os principais problemas envolvidos na detecção de pesticidas por espectroscopia Raman intensificada por superfície são a sua baixa solubilidade em água e ausência de grupos funcionais capazes de interagir com a superfície metálica e promover o espalhamento intensificado. O capítulo anterior abordou a funcionalização de nanopartículas de prata com filmes de mercaptanas, de modo que a superfície fica envolvida por um compartimento hidrofóbico capaz de capturar substâncias insolúveis através de um processo análogo à partição entre solventes. Neste capítulo, serão abordados alguns testes utilizando substâncias supramoleculares, que seriam capazes de promover a detecção de pesticidas através da formação de complexos *host-guest*: ciclodextrinas (CDX), mercapto-ciclodextrinas (S-CDX) e cucurbiturils (CB).

Estes experimentos foram realizados durante estágio no *Instituto de La Estructura de La Materia* em colaboração com pesquisadores do *Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)*, e têm caráter bastante preliminar. Contudo, este capítulo apresenta características de sistemas muito promissores e ainda pouco explorados para aplicações em SERS.

Os agentes quelantes empregados são compostos de moléculas macrocíclicas, em que grupos funcionais hidrofílicos se organizam nas regiões exteriores da molécula, tornando as substâncias solúveis em água. O centro da molécula, por outro lado, tem propriedades que diferem da superfície: a cavidade de ciclodextrinas é essencialmente hidrofóbica, enquanto a

de cucurbiturils é capaz de produzir complexos de transferência de carga com moléculas visitantes — estas propriedades tornam ambas capazes de capturar moléculas em sua cavidade central. Por esse motivo, os complexos resultantes são denominados "complexos *host-guest*", e os agentes quelantes são algumas vezes referidos como “macrociclos” ou "anéis supramoleculares". Ciclodextrinas e cucurbiturils são exemplos típicos dessas substâncias, e suas estruturas moleculares estão apresentadas na Figura 48. (Kim *et al.*, 2001; Das e Scherman, 2011; Torrens e Castellano, 2015)

A aplicação destas moléculas em SERS é, de maneira geral, uma transposição de conceitos comuns em áreas de química supramolecular (Das e Scherman, 2011) e farmacêutica (Dahan *et al.*, 2010), com publicações bastante detalhadas sobre aplicações de ciclodextrinas e cucurbiturils em *drug delivery* (Macartney, 2011; Jambhekar e Breen, 2016b; a), em que drogas hidrofóbicas são complexadas buscando uma maior solubilidade e disponibilidade para absorção pelo organismo. Como as propriedades químicas de complexos *host-guest* são determinadas pelos grupos funcionais presentes no exterior da molécula, uma estratégia análoga pode ser empregada para promover adsorção de moléculas com pouca

Figura 48. Estruturas moleculares de (a) α -ciclodextrina, (b) cucurbit[6]uril.

afinidade pela superfície de nanopartículas metálicas, de modo que a adsorção de complexos de moléculas insolúveis sobre nanoestruturas metálicas viabilizaria sua detecção por SERS. A técnica já foi empregada para caracterização de complexos *host-guest* envolvendo o pesticida diquat e cucurbit[8]uril. Roldan *et al.* (2012) indicam que o composto é bastante eficiente na captura de moléculas ionizadas sugerindo que o sistema é promissor para detecção de pesticidas triazínicos, já que eles podem assumir cargas variadas devido a equilíbrios ácido-base.

Ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos classificados de acordo com o número de monômeros que compõe o anel, e estão disponíveis comercialmente nas versões α (6 monômeros), β (7 monômeros) e γ (8 monômeros). Trabalhos envolvendo a aplicação de complexantes em *drug delivery* ressaltam que é necessário que haja compatibilidade entre o tamanho da cavidade molecular do *host* com o volume molecular médio do *guest*. Valores para os volumes da cavidade interna de cada ciclodextrina (α , β ou γ) são apresentados por Jambhekar e Breen (2016a). O volume molecular médio pode ser calculado de maneira simples através de propriedades físicas de referência dos pesticidas de acordo com a fórmula.

$$V_m = \frac{M}{\rho N_A} \quad (47)$$

Em que M é a massa molar, ρ é a densidade e N_A é a constante de Avogadro. A comparação entre os volumes de cavidade de ciclodextrinas (Tabela 14) e os volumes moleculares médios para alguns pesticidas de interesse (Tabela 15) sugere que apenas a γ -ciclodextrina seria capaz de complexá-los. No sistema proposto, o ácido 4-mercaptopenilborônico é utilizado como ligante intermediário entre a superfície de prata e a γ -ciclodextrina, devido a sua capacidade de se ligar a dióis. (Springsteen e Wang, 2002; Sun *et al.*, 2016)

O cucurbituril é um composto sintetizado a partir da polimerização por condensação do glicoluril com formaldeído. Sua síntese foi reportada pela primeira vez no início do século XX (Behrend *et al.*, 1905), e sua estrutura foi alvo de especulações até a caracterização em 1981, que o identificou como um macrociclo com graus de polimerização que variam de 6 a 11, contendo uma “cavidade molecular hidrofóbica guardada por um portal carbonílico” (Assaf e Nau, 2015). O termo "cucurbituril" foi proposto por Freeman *et al.* (1981) em referência à família vegetal *Cucurbitaceae*, devido à semelhança entre a estrutura molecular do composto e a abóbora. Embora o procedimento de síntese seja relativamente simples, cucurbiturils de diferentes tamanhos formam complexos *host-guest* entre si, o que torna a sua purificação complexa e custosa. De maneira análoga às ciclodextrinas, devido às dimensões da cavidade interior, apenas cucurbit[8]uril seria capaz de complexar os pesticidas listados: esta é uma limitação relevante, pois o produto majoritário da síntese e o material com maior disponibilidade comercial é o cucurbit[6]uril. (Freeman *et al.*, 1981; Roldan *et al.*, 2012)

Tabela 14. Algumas propriedades de ciclodextrinas (Jambhekar e Breen, 2016a).

Ciclodextrina	Número de monômeros	Volume da cavidade (10^{-30} m^3)	Solubilidade em água (mg/mL)
α	6	174	145
β	7	262	18,5
γ	8	427	232

Tabela 15. Volumes moleculares médios de alguns pesticidas de interesse.

Pesticida	$V_m/10^{-30} \text{ m}^3$
Aldrin	379
Ametrina	317
Atrazina	302
Dieldrin	361
Endosulfan	387

6.1. Funcionalização de nanopartículas de prata com sistema 4-MPBA-Ciclodextrina

6.1.1. Procedimentos

a) Estudo do comportamento ácido-base e obtenção da isoterma de adsorção do ácido 4-mercaptofenilborônico (4-MPBA):

Para obtenção dos espectros SERS das formas protonada e desprotonada do 4-MPBA, duas alíquotas de 10 mL do colóide sintetizado pelo método de Lee-Meisel (pH 8-9) tiveram seus pHs ajustados através da adição de 22 mg de ácido cítrico (pH 4) e 100 μL de hidróxido de amônio (pH 10,5). Em seguida, 50 μL de solução de 4-MPBA foram adicionados a 450 μL do colóide. Os espectros SERS são obtidos com as duas dispersões (com pH 4 e pH 10,5), com radiação excitante de 532 nm.

A partir de uma solução estoque $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ de ácido 4-MPBA, diluições sucessivas são realizadas com água deionizada em uma proporção de 1:1, produzindo 8 soluções cujas

concentrações variam de $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ até $8 \cdot 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$. 100 μL de cada uma dessas soluções são misturados com 900 μL de coloide preparado através do método Lee-Meisel, em cápsulas de vidro. Após 15 minutos, os espectros Raman são obtidos com 10 repetições em radiação excitante de 532 nm.

Após a obtenção dos espectros médios e conversão para SNV, a deconvolução das bandas em 1573 e 1590 cm^{-1} é realizada através do software Origin 2017. As intensidades das bandas deconvoluídas são então utilizadas para obtenção da curva de Ostwald e da isoterma de adsorção.

b) Ensaios para detecção de pesticidas com nanopartículas de prata funcionalizadas com o sistema 4-MPBA-Ciclodextrina:

Para detecção de pesticidas, foram empregados dois procedimentos distintos.

No primeiro, sobre 900 μL do colóide de prata preparado através do método Lee-Meisel, são adicionados sucessivamente 50 μL de 4-MPBA, 40 μL de γ -ciclodextrina e 10 μL de solução prova de pesticidas. Espectros Raman da amostra são registrados após cada uma das etapas. As concentrações finais, a partir deste procedimento, são, de $1 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$, $1 \cdot 10^{-4}$ e $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ para 4-MPBA, CDX e pesticida, respectivamente.

No segundo método, uma pequena quantidade (aproximadamente 0,5 mg) do pesticida sólido é mantido em contato com a solução de ciclodextrina por 24 horas para garantir a presença do complexo pesticida-ciclodextrina. 50 μL do sobrenadante são então adicionados a 900 μL de colóide funcionalizado com 50 μL de 4-MPBA.

Os pesticidas testados foram aldrin, endosulfan, ametrina e atrazina.

c) Simulações computacionais:

Os cálculos foram realizados com o Gaussian 09 (Frisch *et al.*, 2009). A geometria otimizada das moléculas e os espectros simulados foram obtidos em simulações DFT com o funcional híbrido B3LYP (Hohenberg e Kohn, 1964; Kohn e Sham, 1965; Becke, 1997). Para simulações de espectros SERS do ácido 4-mercapto-fenil-borônico e sua base conjugada (ligados a *clusters* com 14 átomos de prata), foi utilizada a palavra chave *gen* e uma base de dados mista com a base 6-311g para átomos de C, H, O e S e LANL2DZ para átomos de Ag, com pseudo-potenciais para camadas internas. A Figura 49 apresenta a representação gráfica em 3D estrutura otimizada das moléculas simuladas pelo Gaussian no GaussView 5.0.

6.1.2. Resultados e discussão

Variações expressivas podem ser observadas no espectro SERS do 4-MPBA com a variação do pH do colóide. Embora dados para o pK_a do ácido não estejam disponíveis na literatura, o pK_a do ácido fenilborônico, sem presença do grupo tiol na posição 4 é de 8,83 (CRC Handbook of Chemistry and Physics, 2016), muito próximo do pH típico de um colóide de Lee-Meisel. Desta forma, quando o espectro SERS é registrado sem ajuste de pH, é observada uma sobreposição dos espectros do ácido e de sua base conjugada. O ácido 4-mercaptofenil-borônico é um ácido de Lewis – o ataque nucleofílico de moléculas de água ao átomo de boro provoca deslocamento do equilíbrio iônico da água (Figura 50).

Figura 49. Estruturas otimizadas para (a) 4-MPBA ligado a um *cluster* com 14 átomos de prata e (b) a base conjugada ligada a um átomo de prata.

Figura 50. Comportamento ácido-base do ácido 4-mercapto-fenilborônico.

Figura 51. Espectros SERS experimentais para (a) 4-MPBA e (c) sua base conjugada. Espectros simulados (DFT) para (b) 4-MPBA e (d) sua base conjugada.

As bandas mais intensas no espectro das duas formas são atribuídas ao modo de respiração do anel em 1073 cm^{-1} e ao modo de estiramento da ligação C—B. No espectro do 4-MPBA, a frequência desta última vibração é de 1590 cm^{-1} , enquanto na base conjugada a banda aparece deslocada para o vermelho, em 1573 cm^{-1} , devido ao aumento na massa reduzida do grupo borônico pela ligação de um íon hidróxido. A presença de uma banda associada ao modo de deformação fora do plano do anel aromático no espectro do 4-MPBA (752 cm^{-1}) e de modos de estiramento assimétrico das ligações do anel na sua base conjugada, sugere que a última se encontra praticamente perpendicular à superfície metálica, enquanto o ácido apresenta uma leve inclinação em direção a ela. A presença de banda associada com a ligação Ag—S na região de baixa energia indica que, como nos casos anteriores, a interação se dá por quimissorção dissociativa com formação de uma ligação covalente entre prata e enxofre. A atribuição tentativa de bandas vibracionais a partir dos espectros simulados apresentados na Figura 51, está na Tabela 16.

O equilíbrio ácido-base do 4-MPBA também pode ser deslocado pela diluição das soluções prova. Em soluções com concentração próxima do limite de detecção, o composto assume a forma da base conjugada, independente do pH do meio. A variação da intensidade relativa das bandas em 1573 e 1590 cm^{-1} devida à diluição é demonstrada pelos espectros apresentados na Figura 52. Considerando que a diferença na orientação das duas formas da molécula sobre a superfície é muito sutil, a deconvolução das bandas e comparação de suas intensidades relativas permite estimar o coeficiente de ionização (α) do ácido naquela concentração:

$$\alpha = \frac{[-B(OH)_3^-]}{[4-MPBA]_0} \approx \frac{I_{1573}}{I_{1573} + I_{1590}} \quad (48)$$

A estimativa de α pode ser utilizada para determinar a constante de ionização do ácido (K_a) de acordo com a lei da diluição de Ostwald:

$$\frac{\alpha^2}{(1 - \alpha)} = K_a \left(\frac{1}{C} \right) \quad (49)$$

Da mesma maneira, a soma das intensidades das bandas pode ser utilizada para obter a

Figura 52. Espectro SERS e bandas deconvoluídas para 4-MPBA em concentrações de (a) $1,0 \cdot 10^{-4}$, (b) $1,3 \cdot 10^{-5}$, (c) $3,1 \cdot 10^{-6}$ e (d) $3,9 \cdot 10^{-7}$.

isoterma de adsorção do ácido 4-MPBA, de acordo com a aproximação discutida no capítulo 4, assim como a banda atribuída à respiração do anel, em 1073 cm^{-1} .

A Figura 53 mostra a aplicação dos dois modelos aos dados obtidos: a correlação linear entre o termo de Ostwald calculado a partir das intensidades das bandas em 1573 e 1590 cm^{-1} e $1/C$, permite obter o valor de 5,6 para o pK_a do ácido 4-mercapto-fenilborônico, indicando que o grupo tiol ligado à superfície metálica o torna mais ácido do que o ácido fenilborônico. O modelo de Langmuir se adapta bem à curva obtida através da soma das áreas das bandas deconvoluídas, e fornece um valor de $1,8 \cdot 10^6$ para a constante de afinidade (Tabela 17).

O interesse no 4-MPBA enquanto funcionalizante se justifica pela reação deste com dióis, o que inclui monossacarídeos como a glicose e a frutose (Springsteen e Wang, 2002). A Figura 54(a) apresenta a expressão genérica para esta reação — Sun *et al.* (2016) atribuem à

Figura 53. (a) curva de Ostwald e (b) isoterma de adsorção obtidas com bandas do espectro SERS do 4-MPBA.

Embora ciclodextrinas possuam grande potencialidade, sua aplicação em SERS apresenta problema similar ao dos pesticidas organoclorados — sua afinidade por coloides

metálicos é baixa, o que inviabiliza a detecção tanto de ciclodextrinas livres quanto de complexos *host-guest*. O 4-MPBA seria capaz, portanto, de atuar como ligante intermediário entre a nanopartícula metálica e o complexo ciclodextrina-pesticida. É importante observar que a formação de dímeros de nanopartículas pelo sistema MPBA-açúcar-MPBA encontra objeções semelhantes às levantadas para o caso de ditióis no Capítulo 5, e parece ainda mais improvável no caso reportado — A Figura 54(b) é uma adaptação de Springsteen e Wang (2002) para o caso específico do sistema proposto, e demonstra que o ele envolve um conjunto de ao menos seis equilíbrios químicos, incluindo a adsorção sobre a nanopartícula (K_1), o equilíbrio ácido-base do grupo borônico livre e ligado à ciclodextrina (K_2 e K_5), a ligação com a ciclodextrina (K_3 e K_4) e, finalmente, a formação do complexo *host-guest* (K_6).

As tentativas de detectar pesticidas através do método descrito não apresentaram resultados positivos em nenhum dos casos, o que motivou a tentativa de aplicação de mercapto-ciclodextrinas, descrita na seção a seguir.

Tabela 16. Frequências experimentais e teóricas (DFT) e atribuição de bandas para o ácido 4-mercapto-fenil-borônico e sua base conjugada. Fator de correção: 0,985.

SERS — Ácido 4-mercaptofenilborônico		SERS — Base conjugada		Atribuição Tentativa
Frequência experimental /cm ⁻¹	Frequência Teórica /cm ⁻¹	Frequência experimental /cm ⁻¹	Frequência Teórica /cm ⁻¹	
312		323	270	$\nu(\text{Ag—S})$
474	432	418		$\nu(\text{Ph—S})$
612	577	690	718	$\delta(\text{Ph}) + \delta(\text{O—B—O})$
752	742			$\delta(\text{Ph})$
879	898	879	885	$\nu_s(\text{O—B—O})$
		1000	1025	$\nu_{as}(\text{Ph})$
		1022		$\nu_{as}(\text{Ph})$
1073	1059	1073	1064	$\nu_s(\text{Ph})$
1193	1210	1179		$\delta(\text{Ph—H})$
1278	1299	1284		$\nu_{as}(\text{Ph})$
1456		1456	1482	$\nu(\text{Ph—B}(\text{OH})_3^-)$
1590	1596	1573	1566	$\nu(\text{Ph—B}(\text{OH})_2)$

Tabela 17. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS e aproximação de Ostwald para 4-MPBA

Banda no espectro SERS /cm ⁻¹	Parâmetro	Valor	Unidade
Isoterma - 1073	K	$(1,5 \pm 0,7) \cdot 10^6$	Lmol ⁻¹
	I _{max}	5,8 ± 0,7	σ
	R ²	0,92	
Isoterma -1573 + 1590	K	$(8 \pm 4) \cdot 10^5$	Lmol ⁻¹
	I _{max}	11 ± 2	σ
	R ²	0,94	
Ostwald	K _a	$(2,38 \pm 0,08) \cdot 10^{-6}$	molL ⁻¹
	R ²	0,992	

6.2. Funcionalização com Mercapto-ciclodextrinas

6.2.1. Procedimento

a) Ensaios para detecção de pesticidas com nanopartículas de prata funcionalizadas com mercapto-ciclodextrinas (S-CDX):

Aproximadamente 0,2 mg de padrão analítico de pesticidas são introduzidos em tubos eppendorf, aos quais são adicionados 1 mL de solução de 6-mercapto-6-deoxi- β -ciclodextrina com concentração de $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. As análises por SERS são realizadas após 24h, com adição de 100 μL do sobrenadante de cada tubo a 900 μL de colóide preparado pelo método de Lee-Meisel. As medidas são realizadas em cápsulas de vidro com radiação excitante de 532 nm. Os pesticidas testados por este método foram aldrin, atrazina, endosulfan, dieldrin e lindano.

6.2.2. Resultados e discussão

O uso de um derivado da ciclodextrina, com um grupo tiol substituindo o grupo álcool ligado ao carbono primário é uma estratégia simples para garantir que haja interação entre o funcionalizante e a superfície metálica. O espectro obtido a partir da interação entre S-CDX e o colóide de Lee-Meisel (Figura 55) apresenta bandas estreitas características em 932 e 1127 cm^{-1} e duas bandas largas em 1399 e 1631 cm^{-1} . A banda em 289 cm^{-1} está relacionada, provavelmente, com a vibração envolvendo o átomo de prata ao qual a molécula se liga —

Figura 55. (a) Espectro SERS da 6-deoxi-6-mercapto- β -ciclodextrina. Subtração do branco nos espectros SERS do sistema contendo (b) atrazina, (c) aldrin e (d) endosulfan.

chama atenção, contudo, a ausência de banda na região de impressão digital da ligação C—S, entre 600 e 750 cm^{-1} .

Os espectros obtidos com a presença de pesticidas variam pouco — as mudanças são imperceptíveis observando os espectros sem tratamento especial: quando o espectro branco é subtraído, é possível observar pequenas alterações, que podem ser observadas na Figura 55. Em todas as amostras se observa aumento na intensidade da banda em 1399 cm^{-1} , o que pode estar associado com variações na conformação ou orientação da molécula. Na amostra preparada com aldrin, há surgimento de uma banda de pequena intensidade em 789 cm^{-1} . No caso do lindane e do dieldrin, os espectros obtidos eram idênticos ao branco.

Entretanto, todas estas modificações são muito pouco significativas do ponto de vista analítico, já que nenhuma delas atinge mais do que meio desvio padrão. Isso sugere que podem se tratar de flutuações estatísticas. O fato de que não há bandas que podem ser associadas com nenhum dos pesticidas também torna questionável se estas variações são provocadas por eles. Os resultados sugerem que o procedimento não foi efetivo para promover a formação de complexos *host-guest* e sua adsorção sobre a superfície do colóide metálico.

6.3. Funcionalização com cucurbit[8]uril

6.3.1. Procedimentos

a) Obtenção da isoterma de adsorção do cucurbit[8]uril:

A partir de uma solução estoque de cucurbit[8]uril (CB8) de concentração $9 \cdot 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$, são realizadas diluições sucessivas em 1:1. A seguir, adiciona-se 100 μL de cada solução a 900 μL de colóide preparado pelo método de Lee-Meisel — 10 espectros são obtidos a partir das dispersões com diferentes concentrações de CB8, em cápsulas de vidro, com radiação excitante de 532 nm. Em seguida, são convertidos em SNV e, para obtenção da isoterma, são consideradas as bandas de maior intensidade no espectro do CB8, em 441 cm^{-1} e 755 cm^{-1} .

b) Ensaios para detecção de pesticidas com nanopartículas de prata funcionalizadas com cucurbit[8]uril:

Aproximadamente 0,2 mg de padrão analítico de pesticidas são introduzidos em tubos eppendorf, aos quais são adicionados 1 mL de solução de cucurbit[8]uril com concentração de $1 \cdot 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. O meio foi acidificado com 10 μL de uma solução $0,01 \text{ molL}^{-1}$ de ácido clorídrico. As análises por SERS foram realizadas após 24h, com adição de 100 μL do sobrenadante de cada tubo a 900 μL de colóide preparado pelo método de Lee-Meisel. As medidas foram realizadas em cápsulas de vidro com radiação excitante de 532 nm. Os pesticidas testados por este método foram aldrin, atrazina e endosulfan.

6.3.2. Resultados e discussão

O espectro SERS de cucurbiturils (Figura 56) tem interpretação relativamente simples e intensidade bastante adequada à sua aplicação como funcionalizante. As bandas de maior intensidade podem ser atribuídas a modos de estiramento e deformação dos anéis do glicol-uril (442 cm^{-1}) e do anel de cinco carbonos nele contido (753 e 835 cm^{-1}). As vibrações entre 900 e 1000 estão associadas com modos de estiramento C—C e C—N no anel de 8 carbonos formado entre anéis de glicol-uril. (Roldan *et al.*, 2012)

A isoterma de adsorção do cucurbituril, obtida através da aproximação SERS com a intensidade da banda em 455 cm^{-1} apresentada na Figura 57 e na Tabela 18, fornece um valor de $1,6 \cdot 10^6\text{ Lmol}^{-1}$ para a constante de afinidade, sugerindo que embora não possua grupos funcionais típicos em funcionalizantes, a energia de interação é bastante compatível com a das mercaptanas discutidas no capítulo anterior.

Figura 56. Espectro SERS de cucurbit[8]uril em pH 8,5.

Figura 57. Isoterma de adsorção de cucurbit[8]uril obtida através da aproximação SERS com a banda em 442 cm^{-1} .

O método utilizado para a obtenção de complexos *host-guest*, assim como no caso do empregado para as ciclodextrinas, é inspirado pelos ensaios de solubilidade relacionados ao desenvolvimento de solubilizantes para *drug-delivery* (Macartney, 2011). Para os pesticidas organoclorados aldrin e endosulfan, a detecção é inequívoca, já que é possível observar as mesmas bandas características que são observadas em NPs funcionalizadas com filmes de mercaptanas — para o aldrin, em 355 , 384 e 435 cm^{-1} e para o endosulfan, em 382 e 411 cm^{-1} . Os espectros em que o branco foi subtraído, apresentados na Figura 58, mostram que as intensidades para estas bandas são cerca de um desvio padrão superiores à intensidade observada no espectro do branco.

Figura 58. (a) Espectro SERS de cucurbit[8]uril. Subtração do branco nos espectros SERS do sistema contendo complexos *host-guest* com (b) atrazina, (c) aldrin e (d) endosulfan.

Embora os resultados não sejam tão promissores quanto os reportados no capítulo anterior, eles sugerem que dentre os possíveis funcionalizantes aqui descritos o cucurbituril é o mais eficiente, pois embora os espectros obtidos para os pesticidas tenham baixa intensidade, são obtidos a partir de procedimentos simples, com bastante reprodutibilidade. A otimização nas metodologias de complexação *host-guest* é, provavelmente, o caminho mais eficiente para a obtenção de melhores resultados no futuro.

Tabela 18. Parâmetros calculados para as isotermas de adsorção obtidas através da aproximação SERS para cucurbit[8]uril

Banda no espectro SERS /cm ⁻¹	Parâmetro	Valor	Unidade
441	K	$(1,6 \pm 0,9) \cdot 10^6$	Lmol ⁻¹
	I _{max}	4,2±0,8	σ
	R ²	0,64	

Capítulo 7

Considerações finais

Ao longo dos seis anos em que se desenvolveu este projeto, SERS foi elevado a um novo patamar que inclui não apenas a ampliação do rol de aplicações possíveis, mas a inserção de materiais voltados à sua aplicação no mercado de instrumentação. No entanto, a introdução se dá a despeito da não-resolução de alguns dos problemas teóricos apresentados ainda na década de 80. A elaboração de um "currículo mínimo", centrado em convenções e métodos de trabalho básicos ainda é um desafio fundamental. A organização desta tese em capítulos temáticos reflete as etapas do desenvolvimento da pesquisa e se propõe a atender esta demanda: são apresentados fundamentos necessários para a compreensão do fenômeno e da técnica, a síntese de substratos, o desenvolvimento de métodos de tratamento de dados e aproximações e, finalmente, o desenvolvimento e aplicação de sistemas de interesse.

A apresentação de procedimentos de síntese de nanopartículas de prata e ouro busca constituir um compêndio, com procedimentos que produziram resultados satisfatórios nas etapas iniciais do projeto e um conjunto de referências equilibrado, que introduz conceitos básicos para compreensão das variáveis envolvidas em cada síntese ou conjunto de sínteses. Em um sentido prático, estes resultados não seriam possíveis sem o contato com outros pesquisadores, em especial estudantes de pós-graduação que lidavam com sistemas semelhantes. Procedimentos análogos podem ser encontrados em teses e dissertações de alunos e ex-alunos do Laboratório de Espectroscopia Molecular e de outros grupos de pesquisa. A obtenção extensiva de dados sobre a cinética da síntese de nanofios de prata pelo método poliol e a aplicação bem sucedida de modelos teóricos para obtenção de constantes de

velocidade de nucleação e crescimento, são aspectos específicos desta tese, que podem ser úteis para futura aplicação dos substratos preparados através do método em SERS.

O tratamento e interpretação de dados envolvem métodos muito diversos, tanto do ponto de vista quimiométrico quanto da aplicação de modelos teóricos — a escolha de ferramentas adequadas envolve um equilíbrio delicado entre o rigor teórico e a praticidade. Neste sentido, tanto os métodos de tratamento de dados apresentados e aplicados, como a interpretação de intensidades de bandas em termos de *SNV*, quanto aproximações e modelos teóricos — em essência, limitados — como a isoterma de adsorção, não podem ser aplicados a outros sistemas ou descartados sem reflexão. Os resultados presentes na tese buscam representar exemplos de uso adequado e consciente de limitações, e não promovê-los como solução para qualquer problema. Aplicar transformações estatísticas e aproximações com juízo crítico envolve avaliar alternativas, muitas das quais foram consideradas e descartadas antes da apresentação final deste trabalho. Neste sentido, a aplicação de modelos e transformações estatísticas permitiu obter informações úteis sobre os sistemas de interesse, incluindo constantes de afinidade para diversos funcionalizantes de nanopartículas e pesticidas, e informações conformacionais de moléculas constituintes de filmes funcionalizantes.

O desenvolvimento de métodos de funcionalização universais para aplicação em amostras de interesse ambiental ainda é um objetivo distante e, talvez, impossível. Contudo, tanto em trabalhos anteriores quanto nos resultados apresentados, o sistema que mais se aproxima de atingir este *status* é o de nanopartículas funcionalizadas por filmes de mercaptanas, com resultados especialmente promissores para 1,8-octanoditiol. Nesta tese, alguns resultados reportados previamente na literatura, como a detecção dos pesticidas aldrin e endosulfan, foram reproduzidos com sucesso e informações acerca dos espectros

vibracionais foram expandidas substancialmente através da comparação dos dados com simulações teóricas (DFT). Estudos conformacionais demonstram que mesmo sendo DT8 o funcionalizante mais bem sucedido, o sistema AgNP-DT8 está longe de ser simples: a variabilidade conformacional está, provavelmente, entre os fatores mais preponderantes para seu sucesso — as extremidades hidrofílicas de moléculas de 8-mercaptop-1-octanol, por exemplo, tornam os filmes formados na superfície das nanopartículas metálicas muito mais ordenados do que filmes de DT8 e, conseqüentemente, menos eficientes na captura de pesticidas organoclorados. A utilização de misturas com proporções variadas de HT8 e DT8 pode ser uma estratégia bastante efetiva para obter filmes com variados graus de organização e assim expandir a aplicação de nanopartículas funcionalizadas através destes métodos para outros compostos hidrofóbicos. Valores obtidos para constantes de afinidade dos organoclorados em filmes de mercaptanas sugerem que há certa analogia entre a captura de pesticidas por filmes e a partição entre solventes.

Estudos prospectivos com funcionalizantes macrocíclicos, como ciclodextrinas e cucurbiturils demonstraram ainda ser necessário maior conhecimento sobre as variáveis envolvidas na sua aplicação. A proposta de utilizar o ácido 4-mercaptop-fenilborônico como ligante intermediário entre a superfície metálica e a ciclodextrina é um ótimo exemplo: o conhecimento do equilíbrio ácido-base do composto ligado à superfície se mostrou uma necessidade, que foi atendida a partir da aplicação de uma nova aproximação, relacionada com a lei da diluição de Ostwald, para interpretação do comportamento do espectro SERS frente à diluição. Embora o uso do 4-MPBA seja promissor e tenha grande apelo estético, sua aplicação efetiva ainda demanda informações mais detalhadas sobre os outros equilíbrios envolvidos — a reação do grupo borônico com a ciclodextrina e a formação de complexos *host-guest* entre ciclodextrina e pesticida.

A realização de testes com mercapto-ciclodextrinas e cucurbiturils foi limitada, sobretudo pela indisponibilidade dos reagentes. No caso de S-CDX, todos os ensaios com pesticidas forneceram resultados negativos. Por outro lado, o uso de CB8 em meio ácido se mostrou efetivo: foi possível observar bandas características de aldrin e endosulfan na mesma região observada no sistema funcionalizado com DT8, embora com sinal de intensidade inferior. De modo similar ao caso do sistema 4-MPBA-CDX, apresentado em mais detalhe, o estudo da complexação *host-guest* no sistema CB8-pesticida permitiria, certamente, obter melhores resultados.

Embora desafiadora, a aplicação de SERS na detecção de poluentes sempre será objeto de grande interesse, devido à combinação rara entre ultra-sensibilidade e riqueza na informação estrutural. Os resultados apresentados nesta tese são especialmente relevantes no sentido de expor e atacar problemas metodológicos que serão, sem dúvida, encontrados em projetos futuros sobre o tema. No entanto, a detecção foi realizada para um número limitado de pesticidas, que são, em geral, poluentes-modelo que se mantêm relevantes enquanto conceitos para a Química Ambiental, mas cujo uso foi limitado pelas crescentes e necessárias limitações regulatórias ao uso de agrotóxicos. Neste sentido, é razoável considerar que a pesquisa futura deve expandir a aplicação dos sistemas desenvolvidos para moléculas de maior relevância na agricultura da atualidade.

Dentre os princípios ativos cujo uso foi licenciado de janeiro a maio de 2019, se incluem: 2,4-D, clorotalonil (organoclorados), difenoconazol, tebuconazol, sulfentrazona (triazóis), glifosato, glufosinato de amônio (organofosforados), atrazina, ametrina e hexazinona (triazínicos), glifosato e glufosinato de amônio (organofosforados), tiometoxam e acetamiprid (neonicotinóides) (MAPA, 2019). Além disso, se faz necessário o

desenvolvimento de métodos para a realização de análises em matrizes ambientais reais, como amostras de água e solo.

O estabelecimento de objetivos de pesquisa que atendam a estas demandas é, na atualidade, essencial para a inserção de SERS no rol das técnicas viáveis para análises ambientais, aumentando seu impacto social, sobretudo em um período em que o desenvolvimento de novos princípios ativos e formulações pelas indústrias químicas e farmacêuticas vem acompanhado de flexibilizações regulatórias e limitações orçamentárias e ideológicas às agências de fiscalização ambiental.

Apêndice

I – Lista de instrumentos e reagentes

- Espectrômetro Raman Renishaw 3000 acoplado a microscópio óptico;
- Espectrômetro Micro-Raman Renishaw InVia Reflex, acoplado a microscópio ótico;
- Espectrofotômetro UV-VIS-NIR Shimadzu, modelo UV-3101PC: permite a obtenção de espectros ópticos por transmissão e reflexão na região entre 190 nm e 3200 nm;
- Microscópio eletrônico de varredura JEOL FEG-SEM JSM 6330F (Central analítica-IQ-USP).

II – Índice de procedimentos experimentais

Síntese de nanopartículas pelo método de Turkevich/Lee-Meisel.....	63
Síntese de nanobastões de ouro pelo método CTAB.....	67
Síntese de nanofios de prata pelo método poliol.....	70
Ensaio cinético e caracterização de nanopartículas para o método poliol.....	71
Avaliação da atividade SERS e tratamento estatístico dos dados obtidos com nanofios de prata sintetizado pelo método poliol.....	71
Síntese de nanopartículas de prata pelo método da hidroxilamina neutra.....	84
Avaliação de SERS por análise de variâncias em níveis hierárquicos (MLNVA).....	91
Obtenção de espectros de thiram em sistema 1-octanol-água.....	102

Determinação da concentração de sítios ativos em sistema saturado (HPLC).....	103
Obtenção da isoterma de partição-adsorção do thiram em sistema clorofórmio-água.....	103
Obtenção de isotermas de adsorção de corantes por UV-VIS.....	113
Obtenção de isoterma de adsorção de corantes por SERS.....	114
Obtenção de espectro SERS de 2-mercapto-etanol.....	128
Análise conformacional de filmes de 1,8-octanoditiol e 8-mercapto-1-octanol.....	129
Simulações computacionais (DFT) para 1,8-octanoditiol e 8-mercapto-1-octanol.....	129
Funcionalização de nanopartículas de prata e detecção de aldrin e endosulfan.....	144
Obtenção de isotermas de adsorção de aldrin e endosulfan em nanopartículas funcionalizadas.....	145
Simulações computacionais (DFT) para fragmentos de aldrin e endosulfan.....	145
Estudo do comportamento ácido-base e obtenção da isoterma de adsorção do ácido 4-mercapto-fenilborônico.....	159
Ensaio para detecção de pesticidas com nanopartículas funcionalizadas com o sistema 4-MPBA-Ciclodextrina.....	160
Simulações computacionais (DFT) para 4-MPBA e sua base conjugada.....	161
Ensaio para detecção de pesticidas com nanopartículas de prata funcionalizadas com mercapto-ciclodextrinas.....	170
Obtenção da isoterma de adsorção de cucurbit[8]uril.....	173
Ensaio para detecção de pesticidas com nanopartículas de prata funcionalizadas com cucurbit[8]uril	173

Anexo I

Procedimento - Análise SERS de pesticida thiram em colóide de prata e colóide depositado

A. Preparo de amostras:

Em três tubos eppendorf numerados, adicione 100 μL de solução prova de pesticida thiram $1 \cdot 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$ e 900 μL de colóide de prata. Agite suavemente. Após 30 minutos, introduza uma gota de cada amostra em uma placa de microscopia lavada com água deionizada e numerada. Introduza sob lâmpada incandescente e remova somente depois que a placa estiver totalmente seca.

B. Análise do colóide

A análise deve ser realizada no InVia com frequência de excitação de 633 nm, 10% da potência do laser, lente de curta distância com magnificação 20x, em modo “extended”, com “range” de 500 a 1700 cm^{-1} . Na aba “timing”, em “number of acquisitions”, selecione 3. Introduza 300 μL de cada um dos colóides preparados em uma tampa de eppendorf, sob a qual será alocada uma lâmina de microscopia lavada com água deionizada. No microscópio, use a câmera com o laser para encontrar a superfície inferior da lâmina, selecione “Live Video > Set Origin” e, nas coordenadas, indique $Z = -200$ e selecione “Go”. Obtenha os espectros nos parâmetros indicados para as três amostras.

C. Análise de amostras secas

Os parâmetros para análise da placa com as amostras secas são os mesmos da seção anterior, mas a potência deve ser reduzida para 0,1%, e a lente usada deve ser de 50x. Introduza a placa previamente seca no microscópio e procure agregados de nanopartículas. Os espectros devem ser obtidos em três pontos diferentes de cada uma das gotas depositadas sobre a placa. Em uma das amostras, selecione “Live Video > Snap” e salve a imagem gerada no mesmo local dos dados coletados.

D. Nomes de arquivos

Para facilitar o processamento dos dados, os arquivos devem ser nomeados de acordo com os seguintes padrões, na pasta especificada.

Amostras coloidais:

633_MLNVA_[NOME DO OPERADOR]_COLOIDE_Amostra[1/2/3].wxd

Amostras secas:

633_MLNVA_[NOME DO OPERADOR]_SECO_Amostra[1/2/3]_p[1/2/3].wxd

Referências Bibliográficas:

ALBRECHT, M. G.; CREIGHTON, J. A. ANOMALOUSLY INTENSE RAMAN-SPECTRA OF PYRIDINE AT A SILVER ELECTRODE. **Journal of the American Chemical Society**, v. 99, n. 15, p. 5215-5217, 1977. ISSN 0002-7863.

ALVAREZ-PUEBLA, R. A.; DOS SANTOS, D. S.; AROCA, R. F. SERS detection of environmental pollutants in humic acid-gold nanoparticle composite materials. **Analyst**, v. 132, n. 12, p. 1210-1214, 2007. ISSN 0003-2654.

ALVAREZ-PUEBLA, R. A.; LIZ-MARZAN, L. M. Environmental applications of plasmon assisted Raman scattering. **Energy & Environmental Science**, v. 3, n. 8, p. 1011-1017, 2010. ISSN 1754-5692.

ANASTAS, P.; EGHBALI, N. Green Chemistry: Principles and Practice. **Chemical Society Reviews**, v. 39, n. 1, p. 301-312, 2010. ISSN 0306-0012.

AROCA, R. **Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy**. 1. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd, 2006. ISBN 978-0-471-60731-1.

ASSAF, K. I.; NAU, W. M. Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis. **Chemical Society Reviews**, v. 44, n. 2, p. 394-418, 2015. ISSN 0306-0012.

BALAGUERA, M. D. R. et al. Functionalization of nitroexplosives for Surface-Enhanced Resonance Raman Spectroscopy of silver colloids. In: CARAPEZZA, E. M. (Ed.). **Sensors, and Command, Control, Communications, and Intelligence**. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering, v.5778, 2005. p.327-336. (Proceedings of the Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (Spie)). ISBN 0277-786X

0-8194-5763-9.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry .5. Systematic optimization of exchange-correlation functionals. **Journal of Chemical Physics**, v. 107, n. 20, p. 8554-8560, Nov 1997. ISSN 0021-9606.

BEHREND, R.; MEYER, E.; RUSCHE, F. I. Ueber Condensationsproducte aus Glycoluril und Formaldehyd. **Justus Liebigs Annalen der Chemie**, v. 339, n. 1, p. 1-37, 1905. ISSN 0075-4617.

BONANCEA, C. E. et al. Surface-enhanced Raman study of electrochemical and photocatalytic degradation of the azo dye Janus Green B. **Applied Catalysis B-Environmental**, v. 77, n. 3-4, p. 339-345, Jan 10 2008. ISSN 0926-3373.

BRIGGS, G. G. Theoretical and Experimental Relationships between Soil Adsorption, Octanol-Water Partition-Coefficients, Water Solubilities, Bioconcentration Factors, and the Parachor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 1050-1059, 1981. ISSN 0021-8561.

BRUST, M. et al. Synthesis and Reactions of Functionalized Gold Nanoparticles. **Journal of the Chemical Society-Chemical Communications**, n. 16, p. 1655-1656, Aug 21 1995. ISSN 0022-4936.

BRUST, M. et al. Synthesis of Thiol-Derivatized Gold Nanoparticles in a 2-Phase Liquid-Liquid System. **Journal of the Chemical Society-Chemical Communications**, n. 7, p. 801-802, Apr 7 1994. ISSN 0022-4936.

BULLEN, C. et al. Chemical Kinetics of Gold Nanorod Growth in Aqueous CTAB Solutions. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 8, p. 3375-3380, 2011/08/03 2011. ISSN 1528-7483.

CAMPION, A.; KAMBHAMPATI, P. Surface-enhanced Raman scattering. **Chemical Society Reviews**, v. 27, n. 4, p. 241-250, 1998. ISSN 0306-0012.

CLARK, R. J. H.; DINES, T. J. Resonance Raman Spectroscopy, and Its Application to Inorganic Chemistry. New Analytical Methods (27). **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 25, n. 2, p. 131-158, 1986. ISSN 1521-3773.

COSTA, J. C. S. et al. Chemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons by surface-enhanced Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 70, n. 5, p. 1011-1016, Dec 15 2006. ISSN 0039-9140.

CRC Handbook of Chemistry and Physics. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2016.

CREIGHTON, J. A. SURFACE RAMAN ELECTROMAGNETIC ENHANCEMENT FACTORS FOR MOLECULES AT THE SURFACE OF SMALL ISOLATED METAL SPHERES - THE DETERMINATION OF ADSORBATE ORIENTATION FROM SERS RELATIVE INTENSITIES. **Surface Science**, v. 124, n. 1, p. 209-219, 1983. ISSN 0039-6028.

CREIGHTON, J. A. The resonance Raman contribution to sers: Pyridine on copper or silver in aqueous media. **Surface Science**, v. 173, n. 2, p. 665-672, 1986/08/02/ 1986. ISSN 0039-6028.

DAHAN, A. et al. The Solubility-Permeability Interplay in Using Cyclodextrins as Pharmaceutical Solubilizers: Mechanistic Modeling and Application to Progesterone. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 6, p. 2739-2749, Jun 2010. ISSN 0022-3549.

DARBY, B. L.; LE RU, E. C. Competition between Molecular Adsorption and Diffusion: Dramatic Consequences for SERS in Colloidal Solutions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 136, n. 31, p. 10965-10973, Aug 6 2014. ISSN 0002-7863.

DAS, D.; SCHERMAN, O. A. Cucurbituril: At the Interface of Small Molecule Host-Guest Chemistry and Dynamic Aggregates. **Israel Journal of Chemistry**, v. 51, n. 5-6, p. 537-550, May 2011. ISSN 0021-2148.

DE SOUZA, M. L.; CORIO, P. Effect of silver nanoparticles on TiO₂-mediated photodegradation of Alizarin Red S. **Applied Catalysis B-Environmental**, v. 136, p. 325-333, Jun 5 2013. ISSN 0926-3373.

DIGNAM, M. J.; MOSKOVITS, M. Influence of surface roughness on the transmission and reflectance spectra of adsorbed species. **Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics**, v. 69, n. 0, p. 65-78, 1973. ISSN 0300-9238.

FEYNMAN, R. P., LEIGHTON, R.B., SANDS, M. **Lições de física do Feynman**. São Paulo: Bookman Companhia Editora Ltda, 2008. ISBN 0-8053-9045-6.

FINNEY, E. E.; FINKE, R. G. Nanocluster nucleation and growth kinetic and mechanistic studies: A review emphasizing transition-metal nanoclusters. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 317, n. 2, p. 351-374, Jan 15 2008. ISSN 0021-9797.

FLEISCHMANN, M. et al. Enhanced Raman spectra from species formed by the coadsorption of halide ions and water molecules on silver electrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 117, n. 2, p. 243-255, 1981/01/25/ 1981. ISSN 0022-0728.

FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; MCQUILLA, A.J. Raman-Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode. **Chemical Physics Letters**, v. 26, n. 2, p. 163-166, 1974. ISSN 0009-2614.

FLEISCHMANN, M. et al. RAMAN-SPECTROSCOPY AT ELECTRODE-ELECTROLYTE INTERFACES. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 4, n. 3, p. 269-274, 1976. ISSN 0377-0486.

FOO, K. Y.; HAMEED, B. H. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. **Chemical Engineering Journal**, v. 156, n. 1, p. 2-10, Jan 2010. ISSN 1385-8947.

FREEMAN, R. G. et al. Self-Assembled Metal Colloid Monolayers - an Approach to Sens Substrates. **Science**, v. 267, n. 5204, p. 1629-1632, Mar 17 1995. ISSN 0036-8075.

FREEMAN, W. A.; MOCK, W. L.; SHIH, N. Y. Cucurbituril. **Journal of the American Chemical Society**, v. 103, n. 24, p. 7367-7368, 1981/12/01 1981. ISSN 0002-7863.

FRISCH, M. J. et al. **Gaussian 09**: Gaussian, Inc., Wallingford, Estados Unidos 2009.

FURINI, L. N. et al. Detection and quantitative analysis of carbendazim herbicide on Ag nanoparticles via surface-enhanced Raman scattering. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 46, n. 11, p. 1095-1101, Nov 2015. ISSN 0377-0486.

FUTAMATA, M.; YU, Y. Y.; YAJIMA, T. Elucidation of Electrostatic Interaction between Cationic Dyes and Ag Nanoparticles Generating Enormous SERS Enhancement in Aqueous Solution. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 13, p. 5271-5279, Apr 7 2011. ISSN 1932-7447.

GADOGBE, M. et al. Structures and Conformations of Alkanedithiols on Gold and Silver Nanoparticles in Water. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 119, n. 32, p. 18414-18421, Aug 2015. ISSN 1932-7447.

GARCIA-LEIS, A.; GARCIA-RAMOS, J. V.; SANCHEZ-CORTES, S. Silver Nanostars with High SERS Performance. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 117, n. 15, p. 7791-7795, Apr 18 2013. ISSN 1932-7447.

GOU, L.; MURPHY, C. J. Fine-Tuning the Shape of Gold Nanorods. **Chemistry of Materials**, v. 17, n. 14, p. 3668-3672, 2005/07/01 2005. ISSN 0897-4756.

GRAHAM, T. X. Liquid diffusion applied to analysis. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 151, p. 183-224, January 1, 1861 1861.

GUERRINI, L. et al. Functionalization of Ag nanoparticles with dithiocarbamate calix[4]arene as an effective supramolecular host for the surface-enhanced Raman scattering detection of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Langmuir**, v. 22, n. 26, p. 10924-10926, Dec 19 2006. ISSN 0743-7463.

GUERRINI, L. et al. Nanosensors Based on Viologen Functionalized Silver Nanoparticles: Few Molecules Surface. Enhanced Raman Spectroscopy Detection of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Interparticle Hot Spots. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 1418-1425, Feb 15 2009a. ISSN 0003-2700.

GUERRINI, L. et al. Sensing Polycyclic Aromatic Hydrocarbons with Dithiocarbamate-Functionalized Ag Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. **Analytical Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 953-960, Feb 1 2009b. ISSN 0003-2700.

GULINA, L. B. et al. Flower-like silver nanocrystals: facile synthesis via a gas-solution interface technique. **Journal of Materials Science**, v. 53, n. 11, p. 8161-8169, Jun 2018. ISSN 0022-2461.

HARTLAND, G. V. Optical Studies of Dynamics in Noble Metal Nanostructures. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 6, p. 3858-3887, 2011/06/08 2011. ISSN 0009-2665.

HAYNES, C. L. et al. Surface-enhanced Raman sensors: early history and the development of sensors for quantitative biowarfare agent and glucose detection. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 36, n. 6-7, p. 471-484, 2005. ISSN 1097-4555.

HENDRA, P. THE DISCOVERY OF SERS: an idiosyncratic account from a vibrational spectroscopist. **Analyst**, v. 141, n. 17, p. 4996-4999, 2016. ISSN 0003-2654.

HOHENBERG, P.; KOHN, W. Inhomogeneous Electron Gas. **Physical Review**, v. 136, n. 3B, p. B864-B871, 1964.

HUNYADI MURPH, S. E.; COOPERSMITH, K. J.; LARSEN, G. K. Nanoscale Materials: Fundamentals and Emergent Properties. In: HUNYADI MURPH, S. E.; LARSEN, G. K., *et al* (Ed.). **Anisotropic and Shape-Selective Nanomaterials: Structure-Property Relationships**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p.7-28. ISBN 978-3-319-59662-4.

INOUE, F.; CORIO, P. Raman and SERS Investigation of the Photodegradation Process of Janus Green B in Different pH Values. **Xxii International Conference on Raman Spectroscopy**, v. 1267, p. 1043-1044, 2010. ISSN 0094-243X.

IRTH, H. et al. Determination of Dithiocarbamates in Residues by Liquid-Chromatography with Selective Precolumn or Reaction-Detection Systems. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 39, n. 2, p. 129-139, 1990. ISSN 0306-7319.

IVANOV, E.; ANDO, R. A.; CORIO, P. Solid-liquid-liquid extraction as an approach to the sensitive detection of a hydrophobic pollutant through surface-enhanced Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 87, p. 116-122, 11// 2016. ISSN 0924-2031.

JAMBHEKAR, S. S.; BREEN, P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations I: structure and physicochemical properties, formation of complexes, and types of complex. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 356-362, Feb 2016a. ISSN 1359-6446.

JAMBHEKAR, S. S.; BREEN, P. Cyclodextrins in pharmaceutical formulations II: solubilization, binding constant, and complexation efficiency. **Drug Discovery Today**, v. 21, n. 2, p. 363-368, Feb 2016b. ISSN 1359-6446.

JEANMAIRE, D. L.; VANDUYNE, R. P. Surface Raman Spectroelectrochemistry .1. Heterocyclic, Aromatic, and Aliphatic-Amines Adsorbed on Anodized Silver Electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 1-20, 1977. ISSN 1572-6657.

JOHNSON, P. B.; CHRISTY, R. W. Optical Constants of the Noble Metals. **Physical Review B**, v. 6, n. 12, p. 4370-4379, 1972.

KENNEDY, B. J. et al. Determination of the Distance Dependence and Experimental Effects for Modified SERS Substrates Based on Self-Assembled Monolayers Formed Using Alkanethiols. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 103, n. 18, p. 3640-3646, 1999/05/01 1999. ISSN 1520-6106.

KHLEBTSOV, B. N. et al. Gold Nanoisland Films as Reproducible SERS Substrates for Highly Sensitive Detection of Fungicides. **Acs Applied Materials & Interfaces**, v. 7, n. 12, p. 6518-6529, Apr 1 2015. ISSN 1944-8244.

KIM, F. et al. Platonic gold nanocrystals. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 43, n. 28, p. 3673-3677, 2004. ISSN 1433-7851.

KIM, H. J. et al. Selective inclusion of a hetero-guest pair in a molecular host: Formation of stable charge-transfer complexes in cucurbit[8]uril. **Angewandte Chemie-International Edition**, v. 40, n. 8, p. 1526-+, 2001. ISSN 1433-7851.

KIMLING, J. et al. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 32, p. 15700-15707, Aug 17 2006. ISSN 1520-6106.

KOBLE, R. A.; CORRIGAN, T. E. ADSORPTION ISOTHERMS FOR PURE HYDROCARBONS. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 383-387, 1952. ISSN 0019-7866.

KOHN, W.; SHAM, L. J. Self-Consistent Equations Including Exchange and Correlation Effects. **Physical Review**, v. 140, n. 4A, p. A1133-A1138, 1965.

KUBACKOVA, J. et al. Sensitive Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) Detection of Organochlorine Pesticides by Alkyl Dithiol-Functionalized Metal Nanoparticles-Induced Plasmonic Hot Spots. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 663-669, Jan 6 2015. ISSN 0003-2700.

KUMAR, P. S. et al. High-yield synthesis and optical response of gold nanostars. **Nanotechnology**, v. 19, n. 1, Jan 9 2008. ISSN 0957-4484.

LAMER, V. K.; DINEGAR, R. H. Theory, Production and Mechanism of Formation of Monodispersed Hydrosols. **Journal of the American Chemical Society**, v. 72, n. 11, p. 4847-4854, 1950/11/01 1950. ISSN 0002-7863.

LANGMUIR, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, p. 1361-1403, Jul-Dec 1918. ISSN 0002-7863.

LE RU, E. C. et al. Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: a comprehensive study. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 37, p. 13794-13803, Sep 20 2007. ISSN 1932-7447.

LEE, P. C.; MEISEL, D. Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols. **Journal of Physical Chemistry**, v. 86, n. 17, p. 3391-3395, 1982. ISSN 0022-3654.

LI, W. Y. et al. Dimers of Silver Nanospheres: Facile Synthesis and Their Use as Hot Spots for Surface-Enhanced Raman Scattering. **Nano Letters**, v. 9, n. 1, p. 485-490, Jan 2009. ISSN 1530-6984.

LIM, G. H. et al. Polyol synthesis of silver nanostructures: Inducing the growth of nanowires by a heat-up process. **Chemical Physics Letters**, v. 602, p. 10-15, May 20 2014. ISSN 0009-2614.

MACARTNEY, D. H. Encapsulation of Drug Molecules by Cucurbiturils: Effects on their Chemical Properties in Aqueous Solution. **Israel Journal of Chemistry**, v. 51, n. 5-6, p. 600-615, May 2011. ISSN 0021-2148.

MALINSKY, M. D. et al. Chain length dependence and sensing capabilities of the localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles chemically modified with alkanethiol self-assembled monolayers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 123, n. 7, p. 1471-1482, Feb 21 2001. ISSN 0002-7863.

MARK, P. R.; FABRIS, L. Understanding nanoparticle assembly: A simulation approach to SERS-active dimers. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 369, p. 134-143, Mar 1 2012. ISSN 0021-9797.

MARTON, J. P.; JORDAN, B. D. Optical properties of aggregated metal systems: Interband transitions. **Physical Review B**, v. 15, n. 4, p. 1719-1727, 1977.

MARTON, J. P.; LEMON, J. R. Optical Properties of Aggregated Metal Systems. I. Theory. **Physical Review B**, v. 4, n. 2, p. 271-280, 1971.

MCNAY, G. et al. Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) and Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering (SERRS): A Review of Applications. **Applied Spectroscopy**, v. 65, n. 8, p. 825-837, Aug 2011. ISSN 0003-7028.

MCQUILLAN, A. J. The discovery of surface-enhanced Raman scattering. **Notes and Records of the Royal Society**, v. 63, n. 1, p. 105-109, 2009.

MOORE, J. E.; MORTON, S. M.; JENSEN, L. Importance of Correctly Describing Charge-Transfer Excitations for Understanding the Chemical Effect in SERS. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 3, n. 17, p. 2470-2475, Sep 2012. ISSN 1948-7185.

MOSKOVITS, M. Surface-Roughness and Enhanced Intensity of Raman-Scattering by Molecules Adsorbed on Metals. **Journal of Chemical Physics**, v. 69, n. 9, p. 4159-4161, 1978. ISSN 0021-9606.

MOSKOVITS, M. Surface-Enhanced Spectroscopy. **Reviews of Modern Physics**, v. 57, n. 3, p. 783-826, 1985. ISSN 0034-6861.

MOSKOVITS, M. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 36, n. 6-7, p. 485-496, Jun-Jul 2005. ISSN 0377-0486.

MOSKOVITS, M.; SUH, J. S. Surface Selection-Rules for Surface-Enhanced Raman-Spectroscopy - Calculations and Application to the Surface-Enhanced Raman-Spectrum of Phthalazine on Silver. **Journal of Physical Chemistry**, v. 88, n. 23, p. 5526-5530, 1984. ISSN 0022-3654.

NARAYANAN, V. A. et al. Normal Raman and Surface-Enhanced Raman-Scattering (Sers) Spectra of Some Fungicides and Related Chemical-Compounds. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 23, n. 5, p. 281-286, May 1992. ISSN 0377-0486.

NATAN, M. J. Concluding remarks - Surface enhanced Raman scattering. **Faraday Discussions**, v. 132, p. 321-328, 2006. ISSN 1364-5498.

NIKOBAKHT, B.; EL-SAYED, M. A. Preparation and growth mechanism of gold nanorods (NRs) using seed-mediated growth method. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 10, p. 1957-1962, May 2003. ISSN 0897-4756.

OHTO, M. et al. Simultaneous Hplc Determination of Mecoprop, Oxin-Copper, Simazine and Thiram in Drinking-Water by an Online Solid-Phase Extraction Technique. **Bunseki Kagaku**, v. 43, n. 1, p. 71-74, Jan 1994. ISSN 0525-1931.

OTTO, A. What is observed in single molecule SERS, and why? **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 33, n. 8, p. 593-598, Aug 2002. ISSN 0377-0486.

PALURI, S. L. A. et al. Introducing "Green" and "Nongreen" Aspects of Noble Metal Nanoparticle Synthesis: An Inquiry-Based Laboratory Experiment for Chemistry and Engineering Students. **Journal of Chemical Education**, v. 92, n. 2, p. 350-354, Feb 2015. ISSN 0021-9584.

PORTER, L. A. et al. Gold and silver nanoparticles functionalized by the adsorption of dialkyl disulfides. **Langmuir**, v. 14, n. 26, p. 7378-7386, Dec 22 1998. ISSN 0743-7463.

QU, C. K. et al. Residues of hexachlorobenzene and chlorinated cyclodiene pesticides in the soils of the Campanian Plain, southern Italy. **Environmental Pollution**, v. 231, p. 1497-1506, Dec 2017. ISSN 0269-7491.

RIBEIRO, M. C. C. S., PAULO SÉRGIO Espectro eletrônico de absorção e perfil de excitação Raman. Duas faces de uma mesma questão. I. **Química Nova**, v. 15, n. 4, p. 317-322, 1992/04/22 1992. ISSN 1678-7064.

ROLDAN, M. L. et al. Interaction of soil humic acids with herbicide paraquat analyzed by surface-enhanced Raman scattering and fluorescence spectroscopy on silver plasmonic nanoparticles. **Analytica Chimica Acta**, v. 699, n. 1, p. 87-95, Aug 5 2011. ISSN 0003-2670.

ROLDAN, M. L. et al. Cucurbit[8]uril-stabilized charge transfer complexes with diquat driven by pH: a SERS study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 14, n. 14, p. 4935-4941, 2012. ISSN 1463-9076.

ROUCOUX, A.; SCHULZ, J.; PATIN, H. Reduced transition metal colloids: A novel family of reusable catalysts? **Chemical Reviews**, v. 102, n. 10, p. 3757-3778, Oct 2002. ISSN 0009-2665.

ROUSSEAU, D. L.; WILLIAMS, P. F. RESONANCE RAMAN-SCATTERING OF LIGHT FROM A DIATOMIC MOLECULE. **Journal of Chemical Physics**, v. 64, n. 9, p. 3519-3537, 1976. ISSN 0021-9606.

SALA, O.; TEMPERINI, M. L. A. RESONANCE RAMAN EFFECT OF SOLID COPPER THIOPHOSPHATE. **Chemical Physics Letters**, v. 36, n. 5, p. 652-654, 1975. ISSN 0009-2614.

SANCHEZ-CORTES, S. et al. Surface-enhanced vibrational study (SEIR and SERS) of dithiocarbamate pesticides on gold films. **Langmuir**, v. 17, n. 4, p. 1157-1162, Feb 20 2001. ISSN 0743-7463.

SANCHEZ-CORTES, S. et al. Raman and surface-enhanced Raman spectroscopy of dithiocarbamate fungicides. **Vibrational Spectroscopy**, v. 17, n. 2, p. 133-144, Sep 1998. ISSN 0924-2031.

SANTOS, J. J. et al. Detection of Plasmon Coupling between Silver Nanowires Based on Hyperspectral Darkfield and SERS Imaging and Supported by DDA Theoretical Calculations. **Chemphyschem**, v. 17, n. 4, p. 463-467, 2016. ISSN 1439-7641.

SAUTE, B.; NARAYANAN, R. Solution-based direct readout surface enhanced Raman spectroscopic (SERS) detection of ultra-low levels of thiram with dogbone shaped gold nanoparticles. **Analyst**, v. 136, n. 3, p. 527-532, 2011. ISSN 0003-2654.

SAUTE, B.; NARAYANAN, R. Solution-based SERS method to detect dithiocarbamate fungicides in different real-world matrices. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 44, n. 11, p. 1518-1522, Nov 2013. ISSN 0377-0486.

SCARABELLI, L. et al. A “Tips and Tricks” Practical Guide to the Synthesis of Gold Nanorods. **The Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 6, n. 21, p. 4270-4279, 2015/11/05 2015. ISSN 1948-7185.

SCHMIDT, W. F. et al. Thermodynamic, Spectroscopic, and Computational Evidence for the Irreversible Conversion of β - to α -Endosulfan. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5372-5376, 2001/11/01 2001. ISSN 0021-8561.

SKRABALAK, S. E. et al. On the polyol synthesis of silver nanostructures: Glycolaldehyde as a reducing agent. **Nano Letters**, v. 8, n. 7, p. 2077-2081, Jul 2008. ISSN 1530-6984.

SOUZA, K. D. S. **Junções moleculares e agregados de nanobastões de ouro: um estudo SERS**. 2016. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. 10.11606/T.46.2016.tde-06042016-141254.

SPRINGSTEEN, G.; WANG, B. H. A detailed examination of boronic acid-diol complexation. **Tetrahedron**, v. 58, n. 26, p. 5291-5300, Jun 24 2002. ISSN 0040-4020.

SUN, D. et al. Construction of highly sensitive surface-enhanced Raman scattering (SERS) nanosensor aimed for the testing of glucose in urine. **Rsc Advances**, v. 6, n. 59, p. 53800-53803, 2016. ISSN 2046-2069.

SUN, Y. G.; XIA, Y. N. Gold and silver nanoparticles: A class of chromophores with colors tunable in the range from 400 to 750 nm. **Analyst**, v. 128, n. 6, p. 686-691, 2003. ISSN 0003-2654.

SUR, U. K. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy - Recent Advancement of Raman Spectroscopy. **Resonance - Journal of Science Education**, v. 15, n. 2, p. 154-164, 2010/02/15 2010.

TAO, A. R.; HABAS, S.; YANG, P. D. Shape control of colloidal metal nanocrystals. **Small**, v. 4, n. 3, p. 310-325, Mar 2008. ISSN 1613-6810.

TAYLOR, J. K. **Statistical Techniques for Data Analysis**. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1990. ISBN 1-58488-385-5.

TORRENS, F.; CASTELLANO, G. Computational Study of Nanosized Drug Delivery from Cyclodextrins, Crown Ethers and Hyaluronan in Pharmaceutical Formulations. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 15, n. 18, p. 1901-1913, 2015. ISSN 1568-0266.

TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. **Discussions of the Faraday Society**, v. 11, n. 0, p. 55-75, 1951. ISSN 0366-9033.

VOGEL, A. I. **Química Analítica Qualitativa**. 1ª edição em português; 5ª edição revista por Gyulia Svehla. São Paulo: Mestre Jou, 1981. ISBN 8587068016.

WANG, Y. L. et al. A Facile, Water-Based Synthesis of Highly Branched Nanostructures of Silver. **Langmuir**, v. 24, n. 20, p. 12042-12046, Oct 21 2008. ISSN 0743-7463.

WATZKY, M. A.; FINKE, R. G. Transition Metal Nanocluster Formation Kinetic and Mechanistic Studies. A New Mechanism When Hydrogen Is the Reductant: Slow, Continuous Nucleation and Fast Autocatalytic Surface Growth. **Journal of the American Chemical Society**, v. 119, n. 43, p. 10382-10400, 1997/10/01 1997. ISSN 0002-7863.

WILEY, B. et al. Shape-controlled synthesis of silver and gold nanostructures. **Mrs Bulletin**, v. 30, n. 5, p. 356-361, May 2005. ISSN 0883-7694.

WILEY, B. et al. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: The case of silver. **Chemistry-a European Journal**, v. 11, n. 2, p. 454-463, Jan 7 2005. ISSN 0947-6539.

WILEY, B.; SUN, Y. G.; XIA, Y. N. Polyol synthesis of silver nanostructures: Control of product morphology with Fe(II) or Fe(III) species. **Langmuir**, v. 21, n. 18, p. 8077-8080, Aug 30 2005. ISSN 0743-7463.

WILEY, B. J. et al. Maneuvering the surface plasmon resonance of silver nanostructures through shape-controlled synthesis. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 110, n. 32, p. 15666-15675, Aug 17 2006. ISSN 1520-6106.

WILLETS, K. A.; VAN DUYNE, R. P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. **Annual Review of Physical Chemistry**, v. 58, p. 267-297, 2007. ISSN 0066-426X.

XIA, Y. N.; HALAS, N. J. Shape-controlled synthesis and surface plasmonic properties of metallic nanostructures. **Mrs Bulletin**, v. 30, n. 5, p. 338-344, May 2005. ISSN 0883-7694.

XIONG, Y. J.; XIA, Y. N. Shape-controlled synthesis of metal nanostructures: The case of palladium. **Advanced Materials**, v. 19, n. 20, p. 3385-3391, Oct 19 2007. ISSN 0935-9648.

ZENG, Y. et al. A label-free SERS probe for highly sensitive detection of Hg²⁺ based on functionalized Au@Ag nanoparticles. **Talanta**, v. 162, p. 374-379, Jan 2017. ISSN 0039-9140.

ZHAO, Q. et al. SERS-based ultrasensitive detection of organophosphorus nerve agents via substrate's surface modification. **Journal of Hazardous Materials**, v. 324, p. 194-202, Feb 2017. ISSN 0304-3894.

Súmula Curricular

Evandro Ivanov

São Bernardo do Campo, São Paulo, 1990.

Educação

Curso Técnico em Química, ETE Getúlio Vargas, São Paulo, 2007.

Bacharelado em Química Ambiental, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Licenciatura em Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Ocupação

2006 — 2007	Aprendiz, General Motors do Brasil (São Caetano do Sul, SP)
2010 — 2013	Técnico I, Comissão nacional de Energia Nuclear.
2013 — 2018	Bolsista de Doutorado, CNPq.
2014 — 2015	Representante Discente, Comissão Coordenadora do Programa de Química, Universidade de São Paulo.
2014 — 2015	Membro da Diretoria da Associação de Pós-Graduandos do Instituto de Química da USP
2015 — 2016	Representante Discente, Comissão do Departamento de Química Fundamental, Universidade de São Paulo.
2017	Membro do comitê Científico do 5º Salão Nacional de Divulgação Científica da ANPG (Belo Horizonte, MG).
2017 — 2017	Estágio, Instituto de La Estructura de La Materia (Madri, Espanha).
2018 —	Professor, St. Paul's School — Fundação Anglo-Brasileira de Educação e Cultura (São Paulo, SP).

Publicações

Artigos completos publicados em periódicos

IVANOV, E.; ANDO, R. A.; CORIO, P. Solid-liquid-liquid extraction as an approach to the sensitive detection of a hydrophobic pollutant through surface-enhanced Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, v. 87, p. 116-122, 11// 2016. ISSN 0924-2031.

SANTOS, J.J., IVANOV, E., dos Santos, D.P., TOMA, H.E., CORIO, P.. Detection of Plasmon Coupling between Silver Nanowires Based on Hyperspectral Darkfield and SERS Imaging and Supported by DDA Theoretical Calculations. *Chemphyschem*, v. 17, n. 4, p. 463-467, 2016. ISSN 1439-7641.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

SQUAIR, P., POZZO, L., IVANOV, E., OSSO JUNIOR, J. A.. Neutron activation of microspheres containing sup(165)Ho: theoretical and experimental radionuclidic impurities study. In: International Nuclear Atlantic Conference, 2011, Belo Horizonte. International Nuclear Atlantic Conference, 2011.

Resumos publicados em anais de congressos

IVANOV, E., VONO, L.L.R., CORIO, P. Avaliação da obtenção de isotermas de adsorção por espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) em sistemas com multicamadas. In: V Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, Campos do Jordão. V ENBRAER, 2017.

IVANOV, E., CORIO, P.. Correlation between structure evolution and SERS performance in the polyol synthesis of silver nanowires. In: 46th World Chemistry Congress, 40ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química e IUPAC 49th General Assembly, 2017, São Paulo. IUPAC 2017, 2017.

IVANOV, E., ANDO, R. A., CORIO, P.. Plasmonic silver nanowires as sensitive sensors for herbicide thiram through Surface-enhanced Raman Spectroscopy: understanding the adsorption behavior and analytical limit of detection. In: XV Brazilian MRS Meeting, 2016, Campinas. XIV Brazilian MRS Meeting, 2016.

SANTOS, J. J., IVANOV, E., SANTOS, D. P., TOMA, H. E., CORIO, P.. Correlação entre SERS e Espectro de Espalhamento de Campo Escuro. In: IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015, Juiz de Fora. IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015.

IVANOV, E., CORIO, P.. Detecção SERS do pesticida thiram por extração líquido-líquido com suspensão de nanofios de prata. In: IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015, Juiz de Fora. IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015.

TORRES, C. F., IVANOV, E., CORIO, P., FREIRE, R. S.. Caracterização Raman de oxihaleto de bismuto (BiOCl, BiOBr e BiOI) para aplicação em fotocatalise. In: IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015, Juiz de Fora. IV Encontro Brasileiro de Espectroscopia Raman, 2015.

IVANOV, E., CORIO, P.. Using the 'polyol synthesis' as a simple tool for preparing hybrid TiO₂@Ag nanocomposites. In: XIV SBPMat, 2015, Rio de Janeiro. Anais da XIV SBPMat, 2015.

IVANOV, E., CORIO, P.. Correlations between Ag-nanowires structural evolution during synthesis and SERS properties. In: XXIV International Conference on Raman Spectroscopy, 2014, Jena, Alemanha. XXIV International Conference on Raman Spectroscopy (XXIV ICORS), 2014.

IVANOV, E., CORIO, P.. Comparison of SERS effectiveness of anisotropic Ag substrates. In: Surface-Enhanced Spectroscopies 2014, 2014, Chemnitz, Alemanha. SES 2014, 2014.

OSSO, J. A., BEZERRA, R., VILLELA, L. A., Correia, J.L., Nieto, W., SQUAIR, P., IVANOV, E., MENGATTI, J.. Desenvolvimento de novo método de produção de Tc-99m no IPEN-CNEN/SP. In: XXVI Congresso Brasileiro de Medicina Nuclear, 2012, Salvador. XXVI Congresso Brasileiro de Medicina Nuclear, 2012.

SQUAIR, P., POZZO, L., IVANOV, E., BEZERRA, R. ; OSSO, J. A., Neutron activation of microspheres containing ¹⁶⁵Ho: preliminary results. In: 18th International Conference on Medical Physics and XVI Brazilian Congress on Medical Physics, 2011, Porto Alegre, Brasil. 18th International Conference on Medical Physics, 2011.