

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
QUÍMICA**

**Tatiana Bittencourt Villela Neves**

**SHINERS e SHINEF: Uma nova proposta de intensificação  
do sinal Raman e fluorescência**

**Juiz de Fora  
2014**

**Tatiana Bittencourt Villela Neves**

**SHINERS e SHINEF: Uma nova proposta de intensificação  
do sinal Raman e fluorescência**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Química. Área de concentração: Físico-Química.

Orientador: Dr. Gustavo Fernandes Souza Andrade.

**Juiz de Fora  
2014**

Dedico este trabalho...

Aos meus pais, Cristina e Frederico, que dedicaram suas vidas à minha educação; abrindo mão de seus sonhos para que eu pudesse concretizar os meus. Não há palavras que possam descrever minha gratidão e meu amor por vocês.

Ao meu amor, Moacyr, por estar ao meu lado em todos os momentos, torcendo pelo meu sucesso e me apoiando em todas as minhas empreitadas. Muito obrigada pela paciência, ajuda e carinho sempre.

Ao meu irmão, Pablo, pela amizade e companheirismo ao ouvir milhões de vezes as minhas apresentações.

À minha tia Luciana, meio mãe, meio irmã e sempre muito amiga, pelo apoio incondicional. Obrigada por tudo.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por guiar minha vida e me abençoar em todos os momentos.

Meu agradecimento mais que especial ao professor Dr. Gustavo por me orientar com tanta dedicação, paciência e por todo o esforço em me formar. Acima de tudo, agradeço por acreditar em mim, me incentivar e me apoiar sempre. Muito obrigada por tudo, esta etapa não seria possível sem você.

Agradeço aos meus avós, Mauro (*in memoriam*), Aparecida, Vera, Ricardo e Fábio, que me ajudaram e estiveram ao meu lado em todas as etapas da minha vida.

Aos meus tios, Alberto, Bruno, Cláudia, Kátia, Lídia, Marcelo, Maria de Fátima e Sandra, que sempre me ajudaram e torceram pelo meu sucesso.

Aos meus pequenos, Luísa, João Paulo, Júlia e Stela, meus grandes amores, por tornarem minha vida mais leve, colorida e muito mais feliz.

À minha sogra, Iraci, que me acolhe como a uma filha.

Aos amigos Leonardo e Maria Carolina por serem como irmãos e me estenderem as mãos nos momentos mais difíceis.

Às amigas Isabel, Natalia, Renata e Raquel pelo carinho e amizade de tantos anos.

À minha quase irmã, Laís, por estar sempre ao meu lado.

Aos amigos da Associação Herculano Pires: Helaine, Paulo, Adriene, Adriana, Sérgio, Romilda, Juliana, Arthur, Ane e Michelle pelo apoio espiritual. Em especial, agradeço à amiga Silmara por toda amizade e apoio sempre; ao Edwaldo por todo amparo, apoio e paciência. A todas as crianças que passaram pela AHP e modificaram minha vida.

Aos amigos do laboratório: Aline, Antônio Pedro, Bruno, Chris, Dhieniffer, Douglas, Felipe, Flávia, Gabriela, Kamila, Linus, Michelly, Patrícia, Silvioney, Stefany e Tamires por dividirem as aflições, desabafos e alegrias comigo.

Às amigas Carla e Milyan que desde o início da minha trajetória como química estiveram ao meu lado e torcendo por mim.

Aos professores Dr. Antônio Carlos, Dra. Celly, Dr. Luiz Fernando, Dra. Renata e Dra. Rosana pela ajuda na minha formação.

Ao professor Wagner de Assis Alves da UFRRJ pelos espectros FT-Raman.

Aos pesquisadores Dr. Bráulio S. Archanjo e Dra. Sandra Landi da Divisão de Metrologia de Materiais do INMETRO pelas imagens de microscopia.

À CAPES, ao CNPQ e à FAPEMIG pelo apoio financeiro.

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode  
começar agora e fazer um novo fim.”

Chico Xavier

## RESUMO

Os estudos visando o entendimento da interface metal/molécula levaram à descoberta do efeito SERS. Esse efeito foi descoberto casualmente e pode aumentar a intensidade Raman de espécies adsorvidas *ca.*  $10^6$  vezes. O desempenho SERS depende de alguns parâmetros, como: tamanho e forma das nanoestruturas metálicas e natureza do metal. Para evitar agregação e deposição das nanopartículas, uma nova metodologia é proposta nessa dissertação: recobrir a NPs com materiais inertes, como  $\text{SiO}_2$  e  $\text{MnO}_2$ . A esta metodologia dá-se o nome de SHINERS. Outra técnica que tem ganhado notoriedade devido às aplicações em sistemas biológicos é o efeito SEF. Para que o SEF seja observado é necessário um espaçamento entre o fluoróforo e as NPs, que também pode ser realizado pelo recobrimento com óxidos inertes, quando se utiliza a denominação SHINEF. O distanciamento da superfície provoca um decaimento do sinal; logo, as camadas devem ter alto controle da espessura para que os resultados sejam otimizados. Para o fim de obter desempenho otimizado SHINERS e SHINEF, nessa dissertação foram preparadas NPs de Au e Ag recobertas por camadas ultrafinas de  $\text{SiO}_2$  e  $\text{MnO}_2$  de diferentes espessuras. Foi possível caracterizar o recobrimento das NPs metálicas pelos óxidos utilizando TEM. Verificou-se o recobrimento com camadas de 2-6 nm de espessura. O recobrimento das NPs causa um deslocamento para maior comprimento de onda das bandas LSPR das nanopartículas sem recobrimento quando comparadas às NPs com recobrimento, atribuído à mudança do índice de refração local sobre as NPs. Os nanomateriais resultantes tiveram seu desempenho estudado utilizando o corante IR-820, que teve seu espectro vibracional atribuído nessa dissertação, como molécula-prova para os dois efeitos de intensificação. Verificou-se uma diminuição da intensidade SHINERS com o aumento da espessura do recobrimento em relação à intensidade SERS, atribuída ao aumento da distância entre adsorbato e superfície das NPs. Para o efeito SHINEF, verificou-se que ocorre uma intensificação apreciável da emissão de fluorescência quando o corante IR-820 na presença das NPs recobertas foi excitado em 785 nm. Os resultados obtidos são promissores para a aplicação das metodologias de preparação de NPs metálicas recobertas como substratos de alto desempenho para as técnicas SHINERS e SHINEF.

Palavras chave: SHINERS. SHINEF. SERS. IR-820. Óxido de silício. Óxido de manganês

## ABSTRACT

The studies to aimed the interface metal/molecule resulted in the discovery of the SERS effect. The SERS effect was discovered accidentally and can increase the intensity of scattering adsorbed species *ca.*  $10^6$  times. The SERS performance depends on several parameters such as: size, shape and nature of the metallic nanostructures. To avoid aggregation and deposition of nanoparticles, a new methodology is proposed in this dissertation: coat the NPs with inert materials like  $\text{SiO}_2$  and  $\text{MnO}_2$ . The cited methodology receives the name of SHINERS. Another technique that has been receiving great notoriety due to applications in biological systems is the SEF effect. A specific spacing between the fluorophore and NP is necessary for the SEF effect to occur and it can be accomplished by coating with inert oxides, which takes the denomination of SHINEF. The distance from the surface causes a decay of the signal, therefore, the layers are supposed to be ultrathin with precise thickness control for optimized results. In order to obtain a good SHINERS and SHINEF performance, in this dissertation, Ag and AuNPs coated with ultrafine layers of  $\text{SiO}_2$  and  $\text{MnO}_2$  to different thicknesses were prepared. It had been possible to characterize the coating of metal oxide NPs by using TEM. It has been determined covering oxide layer thickness of 2-6 nm. The coating of NPs causes a shift of LSPR bands for higher wavelength of the coating nanoparticles compared to uncoated NPs, assigned to increasing changes in the local refractive index of the NPs with the oxide layer thickness.

The resulting nanomaterials performances for SHINERS and SEF effect were studied using IR-820 dye, which had its vibrational spectrum assigned. There has been observed a decrease in the SHINERS intensity with the increasing thickness of the coating in relation to the SERS intensity attributed to the increasing distance of the adsorbate from the NPs surface. For SHINEF effect, it has been found that a significant enhancement of fluorescence emission occurs when IR- 820 dye in the presence of the coated NPs excited at 785 nm. The preparative methodologies proposed in this dissertation are promising for the application of coated Ag and Au NPs as substrates for high performance SHINERS and SHINEF techniques.

Keywords: SHINERS. SHINEF. SERS. IR-820. Silicon oxide. Manganese oxide.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: (a) Absorção no infravermelho; (b) espalhamento Raman Stokes e (c) espalhamento Raman anti-Stokes.....	17
Figura 2: Esquema de oscilação de <i>plasmon</i> dipolo para uma esfera mostrando o deslocamento da nuvem eletrônica em relação à posição do núcleo. Adaptado de (Willels, Van Duyne, 2007).....	23
Figura 3: (a) Dependência da intensificação do sinal Raman com a distância das NPs calculada a partir da Equação 12 (Pieczonka, Aroca, 2005); (b) Modelo teórico para representação do campo elétrico ao redor de NPs esféricas. Os vetores indicados representam a direção de incidência da radiação, $k$ , e de polarização da radiação excitante, $E$ . As escalas à direita foram calculadas pela razão entre a intensificação dos campos elétricos local e incidente. Adaptado de (Kelly <i>et al</i> , 2003). ....	26
Figura 4: Diagrama ilustrativo do alargamento da densidade de estados ( $\rho$ ) para (a) um complexo formado por um <i>cluster</i> de átomos de Ag no estado gasoso e (b) para o complexo de superfície de prata. Sendo $\rho_r$ e $\rho_d$ as densidades de estados receptores e doadores de elétrons, respectivamente. Adaptado de (Andrade, 2003).....	27
Figura 5: Sequência de etapas que leva à fluorescência. Adaptado de <a href="http://nanoluminescent.blogspot.com.br/p/luminescencia.html">http://nanoluminescent.blogspot.com.br/p/luminescencia.html</a> (Felinto <i>et al.</i> ) .....	31
Figura 6: Estrutura molecular do IR-820.....	40
Figura 7: Espectro UV-Visível do IR-820 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em solução aquosa. Na Figura acima e à esquerda do espectro constam os espectros no UV-VIS do IR-820 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$ em diferentes temperaturas.....	41
Figura 8: Espectros experimentais do IR-820 (A) FT-Raman da solução 1 $\text{mmol L}^{-1}$ (B) FT-Raman do sólido e (C) Infravermelho. ....	42
Figura 9: Espectros (A) Raman e (B) infravermelho do IR-820 calculados através da DFT.....	42
Figura 10: Esquema ilustrativo dos modos vibracionais adaptado da literatura (Osei-Yiadom, 2010). ....	43
Figura 11: Espectro Raman do IR-820 em solução aquosa e SERS do corante adsorvido em AgNPs. As concentrações do corante estão dispostas na figura. $\lambda_0 = 1064\text{nm}$ . ....	47
Figura 12: Espectro Raman do IR-820 em solução aquosa e SERS do corante adsorvido em AuNPs. As concentrações do corante estão dispostas na figura. $\lambda_0 = 1064\text{nm}$ . ....	47
Figura 13: Espectro de extinção das Ag@SiO <sub>2</sub> em diferentes tempos de reação. ....	52



Figura 14: Espectro de extinção das Au@SiO <sub>2</sub> .....	52
Figura 15: Espectro de extinção Au@SiO <sub>2</sub> com diferentes tempos de reação.....	54
Figura 16: Microscopia eletrônica de transmissão para Au@SiO <sub>2</sub> .....	54
Figura 17: Microscopia Eletrônica de Transmissão (A) Ag@SiO <sub>2</sub> 6nm; (B) Ag@SiO <sub>2</sub> 2 nm e (C) Au@SiO <sub>2</sub> 2nm e (D) Au@SiO <sub>2</sub> 2,5nm. ....	55
Figura 18: TEM de Ag@SiO <sub>2</sub> .....	56
Figura 19: Espectro de extinção das Ag@MnO <sub>2</sub> de espessura 1,2 nm. ....	58
Figura 20: Espectro de extinção das Au@MnO <sub>2</sub> em diferentes tamanhos.....	58
Figura 21: Microscopia eletrônica de transmissão das Au@MnO <sub>2</sub> com espessuras de aproximadamente, (A) 1,2 nm; (B) 2,5; (C) 2,5 e (D) 1,5 nm.....	60
Figura 22: Microscopia eletrônica de transmissão das Ag@MnO <sub>2</sub> com 2,5 nm de espessura.....	60
Figura 23: Espectro de extinção das Au@SiO <sub>2</sub> recém-preparadas e após 5 meses do preparo.....	61
Figura 24: Espectro de extinção das Au@MnO <sub>2</sub> recém-preparada e após 10 meses do preparo.....	62
Figura 25: Espectros (A) Raman do IR-820 multiplicado por 5 e SHINERS do corante (10 μmol L <sup>-1</sup> ) em Ag@SiO <sub>2</sub> com (B) 1 h e (C) 1,5 h de reação. λ <sub>0</sub> = 1064 nm. ....	63
Figura 26: Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa 100 μmol L <sup>-1</sup> e SHINERS do corante 100 μmol L <sup>-1</sup> em Au@SiO <sub>2</sub> com (B) 1 h e (C) 1,5 h de reação. λ <sub>0</sub> = 1064 nm.....	64
Figura 27: Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa 100 μmol L <sup>-1</sup> e SHINERS do corante adsorvido em Ag@MnO <sub>2</sub> com camadas nominais de 1,2 nm em diferentes concentrações (B) 100 μmol L <sup>-1</sup> e (C) 10 μmol L <sup>-1</sup> . λ <sub>0</sub> = 1064 nm.....	64
Figura 28: Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa 100 μmol L <sup>-1</sup> e (B) SHINERS do corante 100 μmol L <sup>-1</sup> adsorvido em Au@MnO <sub>2</sub> com camadas nominais de 2,5 nm. λ <sub>0</sub> = 1064 nm.....	65
Figura 29: Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa. As concentrações estão discriminadas na figura. λ <sub>0</sub> = 785 nm.....	71
Figura 30: Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa e adsorvido em AgNP e Ag@SiO <sub>2</sub> . A concentração final de todas as soluções foi 1 μmol L <sup>-1</sup> . λ <sub>0</sub> =785nm. ....	72

Figura 31: Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa e adsorvido em AuNP e Au@SiO<sub>2</sub>. A concentração final de todas as soluções foi 1 μmol L<sup>-1</sup>. λ<sub>0</sub>=785nm.

..... 72

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação esperada entre as espessuras das camadas de MnO <sub>2</sub> e o volume de reagente, de acordo com a referência (Lin <i>et al</i> , 2012) .....	37
Tabela 2: Atribuição das frequências das bandas (em cm <sup>-1</sup> ) para Raman, SERS (sobre nanopartículas de Au e Ag) e espectro infravermelho do IR-820. $\lambda_0 = 1064$ nm. ....	45
Tabela 3: Fatores de intensificação analíticos para diferentes concentrações do IR-820 sobre ouro prata. $\lambda_0 = 1064$ nm.....	50
Tabela 4: Fatores de intensificação analíticos para as NPs@SiO <sub>2</sub> .....	67
Tabela 5: Fatores de intensificação analíticos para as NPs@MnO <sub>2</sub> .....	68
Tabela 6: Comparação entre os AEF SHINERS e SERS.....	69

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu$ : Momento dipolo intrínseco

$q$ : Coordenada interna

$\psi$ : Função de onda

$g$ : Estado fundamental

$e$ : Estado excitado

$r$ : Estado virtual

$\vec{P}$ : Momento dipolo induzido

$\vec{E}$ : Campo elétrico

$\alpha$ : Polarizabilidade molecular

IV: Infravermelho

*gap*: Lacuna

$\delta$ : Deformação angular

$u$ : Deformação angular dos 3 hidrogênios dos grupos CH<sub>3</sub>

$v$ : Estiramento

*oop*: Deformações angulares fora do plano

*sc*: Scissoring

*t*: Twisting

*r*: Rocking

*w*: Wagging

conj: Cadeia conjugada

alq: Cadeia alquila

Au: Ouro

Ag: Prata

Cu: Cobre

Na<sub>3</sub>-citrato: Citrato de sódio

NP: Nanopartícula

NPs: Nanopartículas

AgNPs: Nanopartículas de prata

AuNPs: Nanopartículas de ouro

NPs@SiO<sub>2</sub>: Nanopartículas recobertas com óxido de silício

AgNPs@SiO<sub>2</sub>: Nanopartículas de prata recobertas com óxido de silício

AuNPs@SiO<sub>2</sub>: Nanopartículas de ouro recobertas com óxido de silício

NPs@MnO<sub>2</sub>: Nanopartículas recobertas com óxido de manganês

AgNPs@MnO<sub>2</sub>: Nanopartículas de prata recobertas com óxido de manganês

AuNPs@MnO<sub>2</sub>: Nanopartículas de ouro recobertas com óxido de manganês

NPs@Óxidos: Nanopartículas recobertas com óxidos de manganês e silício

$\rho_r$ : Densidade de estados receptores

$\rho_d$ : Densidade de estados doadores

$F_{Chem}$ : Interação química

$F_{EM}$ : Interação eletromagnética

LDS: Densidade de estados localizados no nível de Fermi (*localized density states*)

DFT: Teoria de densidade funcional (*density functional theory*)

$E_F$ : Energia do nível de Fermi do metal

EF: Fator de intensificação

HOMO: Orbital molecular de maior energia ocupado (*highest occupied molecular orbital*)

LSPR: Ressonância do *plasmon* de superfície localizado (*localized surface plasmon resonance*)

LUMO: Orbital molecular de menor energia desocupado (*lowest unoccupied molecular orbital*)

SERRS: Espectroscopia Raman ressonante intensificada por superfície (*surface enhanced resonance Raman Scattering*)

SERS: Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície (*surface enhanced Raman Scattering*)

SHINEF: Fluorescência intensificada por nanopartículas recobertas com camadas de materiais isolantes (*Shell-isolated nanoparticle enhanced fluorescence*)

SHINERS: Espalhamento Raman intensificado por nanopartículas recobertas com camadas de materiais isolantes (*Shell-isolated nanoparticle enhanced Raman spectroscopy*)

SHINs: Nanopartículas recobertas com camadas de materiais isolantes (*Shell-isolated nanoparticles*)

TEM: Microscopia eletrônica de transmissão (*transmission electronic microscopy*)

FT-Raman: Espectrômetro Raman com transformada de Fourier

UV-VIS: Espectroscopia de ultravioleta e visível

VI: Verde de Indocianina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
1.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	16
1.2 ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	18
1.3 EFEITO SERS .....	21
<b>1.3.1 Mecanismo Eletromagnético</b> .....	23
<b>1.3.2 Mecanismo Químico ou de Transferência de Carga</b> .....	26
1.4 SHINERS.....	28
1.5 FLUORESCÊNCIA INTENSIFICADA POR SUPERFÍCIE E SHINEF.....	30
1.6 FATORES DE INTENSIFICAÇÃO.....	32
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	35
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	35
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	35
<b>3 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	36
3.1 REAGENTES .....	36
3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	36
3.3 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS COM ÓXIDO DE SILÍCIO (ANEMA ET AL, 2011) .....	36
3.4 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS COM ÓXIDO DE MANGANÊS (LIN ET AL, 2012) .....	37
3.5 INSTRUMENTAÇÃO .....	37
3.6 OBTENÇÃO DOS ESPECTROS.....	38
<b>3.6.1 Espectros Raman e no Infravermelho Calculados</b> .....	38
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	40
4.1 ATRIBUIÇÃO VIBRACIONAL DO IR-820.....	40
4.2 SERS DO IR-820 .....	46
4.3 ANÁLISE DA FORMA E DAS ESPESURAS DAS CAMADAS DE SiO <sub>2</sub> E MnO <sub>2</sub> SOBRE Au E AgNPs .....	50
<b>4.3.1 Óxido de Silício</b> .....	51
<b>4.3.2 Óxido de Manganês</b> .....	57
4.4 ESTABILIDADE DAS NPS COM O TEMPO.....	61
4.5 SHINERS X RAMAN .....	63

<b>4.6 SHINEF X FLUORESCÊNCIA</b> .....	70
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	74
<b>6 PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	77
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	78

## **1 INTRODUÇÃO**

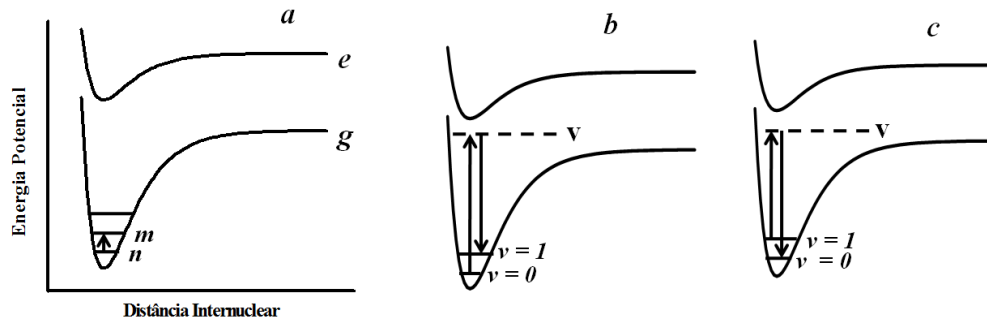
A espectroscopia visa estudar a interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais objetivos a determinação dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Os espectros fornecem informações sobre as energias envolvidas em transições entre níveis do sistema; a partir destes dados, é possível conhecer os níveis de energia, as ligações químicas e a estrutura molecular das espécies estudadas. No caso de moléculas, a região espectral onde as transições são observadas depende do tipo de níveis envolvidos: eletrônicos, vibracionais ou rotacionais, cujas transições fundamentais, normalmente, estão situadas nas regiões do ultravioleta ou visível, do infravermelho e das micro-ondas, respectivamente (Sala, 2008).

Existem diversos tipos de espectroscopia, tal que para cada uma delas há um fundamento específico e uma tecnologia adequada à observação de cada um dos fenômenos; entretanto, todas convergem para um mesmo objetivo: a caracterização molecular. O foco principal deste trabalho é a análise vibracional de moléculas adsorvidas em nanoestruturas metálicas modificadas por óxidos. As duas principais técnicas vibracionais são as espectroscopias no infravermelho e o espalhamento Raman.

### **1.1 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO**

Apesar de ambas as espectroscopias, infravermelho e Raman, serem técnicas de caracterização vibracional, fisicamente, os dois processos são bastante diferentes. O primeiro é um fenômeno de um único fóton e ocorre devido à ressonância da radiação excitante com a diferença de energia entre dois autoestados vibracionais da molécula (Augusto, 2005), como mostra a Figura 1 (a).





**Figura 1:** (a) Absorção no infravermelho; (b) espalhamento Raman Stokes e (c) espalhamento Raman anti-Stokes.

Por esta razão, a espectroscopia no infravermelho é uma técnica de absorção, cuja intensidade é dada pela probabilidade de transição,  $|\mu_{mn}|^2$ ; sendo  $\mu_{mn}$  o momento dipolo de transição, que é expresso pela Equação 1:

$$\mu_{mn} = \int \psi_m \mu \psi_n d\tau$$

Equação 1

Onde:  $\psi_m$  e  $\psi_n$  são as funções de onda dos estados vibracionais final e inicial, respectivamente; e  $\mu$  é o momento dipolo intrínseco da molécula, que pode ser descrito em três componentes:  $\mu_x$ ,  $\mu_y$  ou  $\mu_z$ . Assim, a Equação 1 pode ser descrita como na Equação 2:

$$(\mu_x)_{mn} = \int \psi_m \mu_x \psi_n d\tau$$

$$(\mu_y)_{mn} = \int \psi_m \mu_y \psi_n d\tau$$

$$(\mu_z)_{mn} = \int \psi_m \mu_z \psi_n d\tau$$

Equação 2

Devido à pequena dependência do momento dipolo de transição com o modo normal de vibração,  $q$ , este pode ser expandido em série de Taylor (Sala, 2008):

$$\mu_{mn} = \mu + \left( \frac{\partial \mu}{\partial q} \right)_0 q + \dots$$

Equação 3

na qual,  $\left( \frac{\partial \mu}{\partial q} \right)_0$  representa a variação de  $\mu$  com a coordenada normal,  $q$ , na condição de equilíbrio.

Agora, é possível definir algumas regras de seleção para observação do efeito. Para tanto, o momento dipolo deve variar durante a vibração, em pelo menos uma de suas componentes ( $\mu_x$ ,  $\mu_y$  ou  $\mu_z$ ), ou seja, a derivada de  $\mu$  em relação  $q$  deve ser diferente de zero; a integral de transição (Equação 1) também deve ser diferente de zero, logo o produto das funções  $\psi_m \times \mu \times \psi_n$ , deve ser uma função par (Andrade, 2003).

## 1.2 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Quando uma radiação monocromática é incidida sobre uma molécula, a luz pode ser espalhada elástica ou inelasticamente; ao primeiro fenômeno, dá-se o nome de espalhamento Rayleigh, ao segundo, de espalhamento Raman. O efeito Raman envolve a aniquilação de um fóton que provoca uma perturbação eletrônica de todos os níveis do sistema, tal que este é excitado a um nível de energia maior que uma transição vibracional, chamado estado virtual (v), que não é necessariamente um autoestado molecular; posteriormente, há a relaxação do sistema, seguida do espalhamento de um fóton de energia diferente da incidente, como ilustram as Figura 1 (b) e (c). A variação de energia entre os fótons incidente e espalhado corresponde à diferença de energia entre os níveis vibracionais, que depende das propriedades da espécie espalhadora (Sala, 2008).

Como os fenômenos são diferentes, as regras de seleção para o Raman variam com relação à espectroscopia no infravermelho. Com o intuito de esclarecer alguns pontos a respeito do efeito Raman, faremos uma breve discussão sobre o formalismo da técnica do ponto de vista clássico. Diferentemente da espectroscopia no infravermelho, a atividade Raman depende da variação do momento dipolo induzido pelo campo elétrico da radiação incidente,  $\vec{P}$ , durante a vibração. Este vetor pode ser descrito como um produto entre a polarizabilidade molecular,  $\alpha$ , e o campo elétrico da radiação excitante,  $\vec{E}$  (Sala, 2008):

$$\vec{P} = \alpha \vec{E}$$

Equação 4

Entende-se como polarizabilidade molecular o grau de deformação da nuvem eletrônica frente a uma perturbação por um campo incidente; assim, este termo depende das propriedades da molécula espalhadora. Podemos expandir  $\alpha$  em série de Taylor, em função da coordenada interna,  $q$ , como segue na Equação 5, na qual os termos de maior ordem foram desprezados devido às pequenas variações em função de  $q$  nestas condições.

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \alpha_0 + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q + \dots$$

Equação 5

Sabendo-se que  $q$  e  $\vec{E}$  podem ser escritos como  $q = q_0 \cos(2\pi\nu_v t)$  e  $E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t)$  e substituindo-os juntamente com a Equação 4 na Equação 3, teremos:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_v t)$$

Equação 6

Lembrando da relação trigonométrica  $\cos(a)\cos(b) = 1/2 [\cos(a + b) + \cos(a - b)]$  e substituindo na Equação 6:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0 q_0 E_0 \{ \cos[(2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] + \cos[(2\pi(\nu_0 - \nu_v)t] \}$$

Equação 7

Da Equação 7 tira-se uma importante conclusão: para que o segundo termo contribua, ou seja, para que ocorra o espalhamento Raman, o termo  $\left(\frac{\partial \alpha}{\partial q}\right)_0$  deve ser diferente de zero. Logo, o tensor polarizabilidade deve variar com a coordenada interna durante a vibração em pelo menos uma de suas componentes (Sala, 2008).

A partir da Equação 7 podemos ainda observar os três fenômenos de espalhamento de luz: o espalhamento Rayleigh e os espalhamentos anti-Stokes e o Stokes, que são representados pelas, primeira, segunda e terceira parcelas, respectivamente (Sala, 2008). Na Figura 1 (b), observa-se que a perturbação eletrônica pelo fóton ocorre a partir do estado fundamental, e a molécula chega a um nível de energia superior,  $v$ , e, após espalhar um fóton de menor energia que o inicial, retorna ao estado vibracional excitado. Por outro lado, na Figura 1 (c) a espécie espalhadora parte do estado vibracional excitado e retorna ao estado vibracional fundamental. O primeiro efeito é conhecido como espalhamento Raman Stokes e o segundo como espalhamento Raman anti-Stokes. É possível observar pela Figura 1 que ambos medem a energia entre dois níveis vibracionais consecutivos. Todavia, no espectro Raman observa-se simetricamente à linha Rayleigh, que corresponde à energia da radiação excitante, as bandas Stokes em frequências mais baixas e as bandas anti-Stokes em frequências mais altas; tal que o espalhamento Stokes é muito mais intenso, pois no estado vibracional fundamental a população  $e$ , portanto, a probabilidade de transição é superior à do estado excitado, à temperatura ambiente (Sala, 2008).

Para que a transição Raman ocorra, o momento de transição,  $(\alpha_{ij})_{mn}$ , deve ser diferente de zero em pelo menos uma das componentes do tensor de polarizabilidade. Sendo  $(\alpha_{ij})_{mn}$ , descrito pela Equação 8:

$$(\alpha_{ij})_{mn} = \int \psi_m \alpha_{ij} \psi_n d\tau$$

Equação 8

e,  $\alpha_{ij}$ , o tensor polarizabilidade:

$$\alpha_{ij} = \begin{vmatrix} \alpha_{xx} & \alpha_{xy} & \alpha_{xz} \\ \alpha_{yx} & \alpha_{yy} & \alpha_{yz} \\ \alpha_{zx} & \alpha_{zy} & \alpha_{zz} \end{vmatrix}$$

Equação 9

A intensidade Raman depende da probabilidade de transição, ou seja, do quadrado da integral de transição dada pela Equação 8. Desta maneira, sendo  $I_0$  a intensidade da

radiação incidente e  $\nu$  a frequência da radiação espalhada, a intensidade Raman pode ser escrita à seguinte forma mostrada na Equação 10 (Sala, 2008):

$$I = \left( \frac{16\pi^2}{9c^4} \right) I_0 \nu^4 \sum_i \sum_j |(\alpha_{ij})_{mn}|^2$$

Equação 10

Como podemos ver na Equação 10, a intensidade Raman depende da quarta potência da frequência da radiação excitante; logo, para linhas lasers com comprimentos de onda menores, a intensidade Raman será maior, quando comparadas aos lasers de comprimento de onda maior. Também é dependente da probabilidade de transição que está fortemente ligada às propriedades intrínsecas das espécies espalhadoras (Andrade, 2003).

Como a espectroscopia Raman é um fenômeno de perturbação de segunda ordem, sua seção de choque é cerca de  $10^{10}$  vezes menor que na espectroscopia no infravermelho, que torna o fenômeno pouco intenso. Isto limitou o uso da técnica a sistemas puros ou altas concentrações de analitos durante muito tempo (Aroca, 2006).

Na década de 1970 houve uma melhora apreciável na tecnologia dos equipamentos Raman e o advento do uso de *laser* em espectroscopia, o que possibilitou a observação de efeitos de intensificação do sinal Raman. Um destes efeitos é o espalhamento Raman ressonante, que resulta da ressonância entre a radiação excitante e uma transição eletrônica permitida da espécie, aumentando a seção de choque Raman em até  $10^5$  vezes; tal que alguns modos vibracionais são preferencialmente intensificados, sobretudo os modos dos grupos cromofóricos. Descobriu-se ainda, a espectroscopia Raman intensificada por superfície, SERS, cuja intensificação do sinal é em torno de seis ordens de grandeza (Le Ru, Etchegoin, 2009).

### 1.3 EFEITO SERS

No estudo de monocamadas adsorvidas por espectroscopia Raman, além da baixa seção de choque, a densidade de moléculas adsorvidas por centímetro quadrado,  $10^{14}$ - $10^{15}$   $\text{cm}^{-2}$ , também é baixa. Por esta razão, Fleischmann e col. (Fleischmann *et al*, 1974) aumentaram a área superficial de eletrodos de prata por ciclos de óxido-redução a fim de aumentar o número de espalhadores. Após este tratamento eletroquímico, obtiveram

um excelente espectro da piridina adsorvida sobre prata, com alta relação sinal/ruído e atribuíram esta melhora substancial ao aumento da área superficial (de Faria *et al*, 1999).

Entretanto, em 1977, Jeanmarie e Van Duyne (Jeanmaire, Vanduyne, 1977) e Abrecht e Creighton (Albrecht, Creighton, 1977), retomaram estes estudos e, em trabalhos independentes, mostraram que a intensificação do sinal da piridina era da ordem de  $10^6$  e o aumento da área superficial não chegava a duas ordens de grandeza; logo, a intensificação não poderia ser atribuída ao aumento da área superficial. Por conseguinte, o ganho do sinal foi correlacionado a um novo fenômeno: o efeito SERS (de Faria *et al*, 1999).

Desde sua descoberta houve uma busca crescente da comunidade científica em reafirmar e explorar o efeito SERS, na tentativa de expandi-lo a outros substratos. Foi observado em outros metais, como metais alcalinos e alguns metais de transição (Cao *et al*, 2002), todavia, é registrado em maior intensidade em metais de cunhagem: Au, Ag e Cu. Além disso, a ressonância eletromagnética é nula em superfícies lisas ou no metal estendido; para tanto, são necessárias estruturas fractais em escala nanométrica. Outro fator preponderante é a natureza do adsorbato, já que a afinidade pela superfície metálica favorece a intensificação. A primeira observação do efeito SERS ocorreu em eletrodos ativados eletroquimicamente, entretanto, é possível observá-lo em outras superfícies, tais como suspensões de nanopartículas, cujas propriedades serão discutidas neste trabalho.

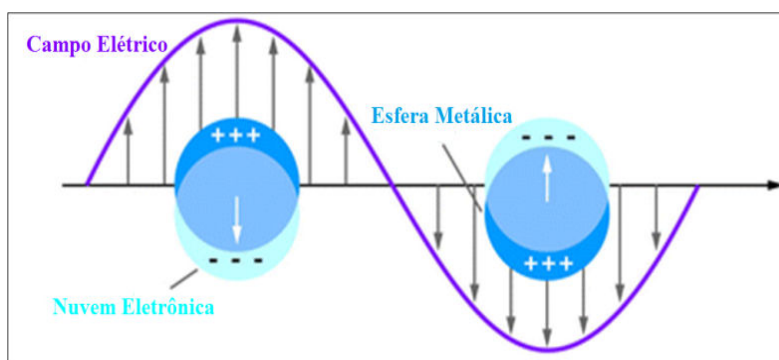
A partir de sua descoberta o SERS foi amplamente utilizado como uma poderosa ferramenta de caracterização de interfaces; com amplas aplicações em sistemas biológicos, catálise heterogênea, processos faradaicos, entre outros; atraindo uma gama de profissionais de diversas áreas (Ru, Etchegoin, 2008). Apesar desta visibilidade nos primeiros anos de sua descoberta, no final da década de 80 houve uma queda nos estudos do efeito SERS. Até que em 1997 Kneipp e col. (Kneipp *et al*, 1997) e Nie e Emery (Nie, Emery, 1997) apresentaram espectros SERS de uma única molécula. Estes resultados foram possíveis devido a fatores de intensificação do sinal Raman que podem chegar a  $10^{14}$  vezes, em regiões interpartículas, chamadas *hot spots*.

Como o efeito SERS não foi previsto teoricamente, houve a necessidade de proposições que visassem explicá-lo. Atualmente, dois modelos são os mais aceitos: o químico ou de transferência de carga e o eletromagnético. Tal que o segundo apresenta

maior contribuição na maioria dos casos, cerca de  $10^4$  vezes e, como discutiremos mais à frente, em determinadas situações é o único mecanismo vigente (Andrade, 2003).

### 1.3.1 Mecanismo Eletromagnético

O mecanismo eletromagnético está diretamente ligado às propriedades ópticas de alguns metais nanoestruturados, que são diferentes nos metais estendidos. As propriedades preponderantes neste caso são: a natureza, a forma, o tamanho das NPs e a função dielétrica do material metálico. Quando uma nanopartícula muito menor do que o comprimento de onda da radiação incidente é irradiada por uma radiação monocromática, o campo elétrico oscilante pode provocar uma oscilação coerente dos elétrons de condução, chamada *plasmon* de superfície localizado, LSPR, como esquematizado na Figura 2. Esta oscilação decorre das forças de restauração Coulombianas da atração entre a nuvem eletrônica e o núcleo que surgem com o deslocamento da nuvem eletrônica durante a excitação da radiação (Kelly *et al*, 2003). Para que ocorra a ressonância entre o *plasmon* e a radiação excitante, deve haver conservação da frequência e do campo paralelo à superfície; para tanto, são necessárias estruturas fractais em escala nanométrica, pois em superfícies lisas esta condição não é satisfeita (Andrade, 2003).



**Figura 2:** Esquema de oscilação de *plasmon* dipolo para uma esfera mostrando o deslocamento da nuvem eletrônica em relação à posição do núcleo. Adaptado de (Willets, Van Duyne, 2007).

O deslocamento da nuvem eletrônica provoca a intensificação do campo elétrico ao redor da superfície das NPs, e, conseqüentemente, o sinal Raman das moléculas

adsorvidas sobre o metal é amplificado. Podemos descrever a intensidade SERS analogamente à intensidade Raman como mostra a Equação 11 (Temperini *et al*):

$$I(SERS) \propto |E_0|^2 |E_s|^2 (\bar{\nu}_0 - \bar{\nu}_s)^4 \sum_{i,j} \alpha_{ij}$$

Equação 11

Sendo,  $E_0$  e  $E_s$ , os campos elétricos incidente e espalhado, respectivamente;  $\bar{\nu}_0$  e  $\bar{\nu}_s$  as frequências das radiações incidente e espalhada, respectivamente, e  $\alpha_{ij}$  a polarizabilidade molecular nas componentes  $i$  e  $j$ .

Considerando que a amplitude do campo espalhado difere do campo incidente apenas por um quantum vibracional é possível assumir a partir da Equação 11, que a intensidade SERS depende de  $|E|^4$ , enquanto a intensidade Raman depende de  $|E|^2$  (Temperini *et al*). Esta é a maior contribuição para a intensificação do sinal, pois devido à LSPR há uma amplificação dos campos incidente e espalhado nas proximidades da superfície das NPs (Temperini *et al*).

Para que o mecanismo eletromagnético contribua com a intensificação, não é necessário que haja interação entre a superfície e a espécie espalhadora. Por conseguinte, é um efeito de longo alcance e não provoca alterações significativas no espectro da espécie adsorvida em comparação com a espécie em solução (de Faria *et al*, 1999).

A transição LSPR envolve transferência eletrônica entre o nível de maior energia da banda de valência para a banda de condução do metal que constitui a nanoestrutura. No metal estendido não há *gap* de energia, ou seja, não há espaçamento entre os níveis de energia do metal. Para NPs pequenas o espaçamento entre os níveis é observado e, à medida que se aumenta o tamanho das NPs o espaçamento entre os níveis diminui (Morton *et al*, 2011). Devido à transição LSPR é possível observar uma banda no espectro UV-Visível de NPs; tal que, mudanças no índice de refração e no tamanho destas estruturas provocam deslocamentos da banda do *plasmon*.

Apesar de ser um efeito de longo alcance e, portanto, não ser necessário o contato direto da superfície metálica com a molécula prova, a intensidade SERS varia com a distância adsorbato-superfície,  $d$ . Considerando uma esfera metálica de raio  $a$ , a dependência da intensificação com a distância é dada pela Equação 12 (Pieczonka, 2005).



$$\frac{a}{(a + d)^{12}}$$

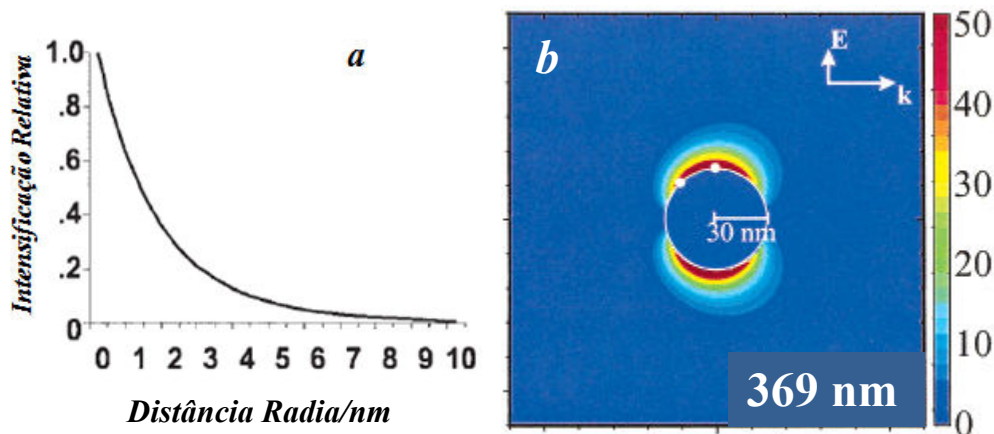
Equação 12

As moléculas da primeira camada, adsorvidas física ou quimicamente são mais influenciadas pela intensificação do campo elétrico local e, por conseguinte, a intensificação do sinal, nestes casos, é maior. Por esta razão, a perda do sinal com a distância em sistemas empíricos pode ser ligeiramente menor do que no modelo teórico discutido acima (Cotton, 1986) e a Equação 12 pode ser descrita da seguinte maneira para uma monocamada:

$$\frac{a}{(a + d)^{10}}$$

Equação 13

A Figura 3 (a) mostra a curva que representa a dependência da intensificação com a distância à superfície, segundo a Equação 12 (Pieczonka, Aroca, 2005). Esta relação para uma esfera também é ilustrada pelo cálculo numérico baseado no método DDA, método numérico que considera a aproximação de dipolos discretos - *dipole discrete approximation*) reportado por Kelly e col. (Kelly *et al*, 2003); no qual é possível observar a diminuição da intensificação do campo elétrico local com o aumento da distância da superfície. Entretanto, mesmo havendo uma diminuição, há intensificação apreciável do campo na região com distâncias menores que uma dezena de nanômetro em relação às NPs.

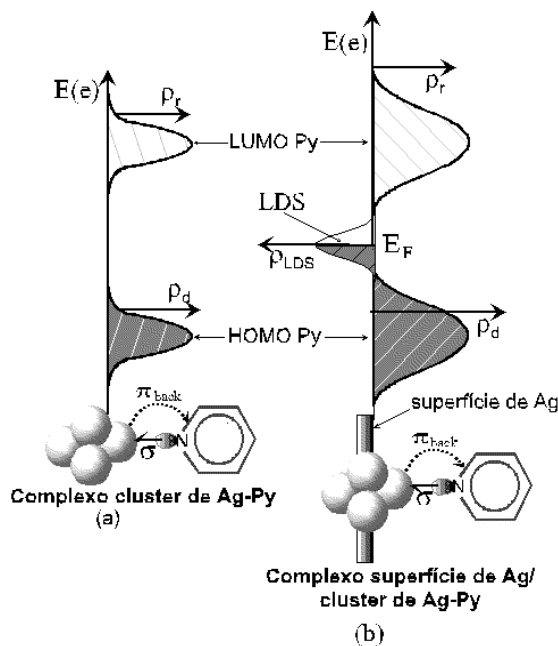


**Figura 3:** (a) Dependência da intensificação do sinal Raman com a distância das NPs calculada a partir da Equação 12 (Pieczonka, Aroca, 2005); (b) Modelo teórico para representação do campo elétrico ao redor de NPs esféricas. Os vetores indicados representam a direção de incidência da radiação,  $k$ , e de polarização da radiação excitante,  $E$ . As escalas à direita foram calculadas pela razão entre a intensificação dos campos elétricos local e incidente. Adaptado de (Kelly *et al*, 2003).

### 1.3.2 Mecanismo Químico ou de Transferência de Carga

No modelo químico, a interação entre os níveis eletrônicos da molécula espalhadora e da superfície metálica modifica os estados eletrônicos do sistema e, conseqüentemente, altera a polarizabilidade molecular. A interação pode ocorrer de diversas formas, seja por transferência de carga, ligações químicas convencionais ou interações eletrostáticas entre o metal e o adsorbato. Por esta razão é um efeito de curto alcance e é necessário que haja, além do contato, uma afinidade entre a superfície e a espécie espalhadora, que deve ser doadora e/ou receptora de elétrons.

A adsorção química da molécula sobre o metal envolve uma interação eletrônica entre os orbitais moleculares da espécie espalhadora e os elétrons da banda de condução do metal (Corio, 1998). Devido a estas interações pode ocorrer um alargamento (em termos energéticos) ou deslocamento dos estados eletrônicos da molécula espalhadora ( $\rho$ ), como ilustra a Figura 4 (b). Quando há formação do complexo de superfície, os orbitais moleculares da molécula espalhadora se sobrepõem aos estados do metal no nível de Fermi,  $E_F \rho_{LDS}$  (esse termo é a densidade local de estados – *local density of states*). Tal que a sobreposição dos níveis da molécula com os do metal, em geral, diminuem a energia da transição quando comparada às transições intrínsecas da molécula (Andrade, 2003).



**Figura 4:** Diagrama ilustrativo do alargamento da densidade de estados ( $\rho$ ) para (a) um complexo formado por um *cluster* de átomos de Ag no estado gasoso e (b) para o complexo de superfície de prata. Sendo  $\rho_r$  e  $\rho_d$  as densidades de estados receptores e doadores de elétrons, respectivamente. Adaptado de (Andrade, 2003).

A interação com a superfície pode modificar alguns aspectos do espectro Raman da espécie comparado ao espectro da molécula livre (sem interação com a superfície). Podem ocorrer deslocamentos de algumas bandas para maiores ou menores comprimento de onda; alteração nas intensidades relativas ou mesmo o aparecimento de novas bandas oriundas da ligação com o metal. Para moléculas menores, esta interação pode mudar drasticamente a simetria da molécula e, portanto, o grupo pontual destas estruturas; conseqüentemente, os modos vibracionais ativos no Raman são diferentes e o espectro pode mudar consideravelmente. Para moléculas maiores, em geral, há preferência de adsorção por alguns grupos funcionais, tal que aparecem apenas algumas variações no espectro da molécula livre oriundas do aparecimento de alguma interação química mais forte com a superfície (Pieczonka, Aroca, 2005). Estas ocorrências podem ser interessantes para o estudo da interface metal-molécula e podem ser utilizadas para caracterizar a forma de quimissorção das moléculas sobre as superfícies metálicas; obter informações a respeito da orientação do analito sobre a superfície; mudanças das espécies químicas envolvidas; informações de reações de oxidação-redução que porventura venham a ocorrer; efeitos de solvente, dentre outros (Corio *et al*, 1999).

Ambos os mecanismos, eletromagnético ou de transferência de carga, podem contribuir em diferentes proporções dependendo das características do sistema considerado; em geral, o primeiro contribui *ca.* de 4 ordens de grandeza, enquanto o segundo, *ca.* de duas ordens de grandeza (Corio, 1998).

Se a energia da transição eletrônica da molécula espalhadora for próxima ou coincidente com a energia da radiação excitante, a intensificação SERS pode se combinar ao efeito Raman ressonante de maneira tal que as intensificações oriundas destes efeitos são acumuladas e a intensificação do sinal é ainda maior. Este efeito é conhecido como espalhamento Raman ressonante intensificado por superfície (SERRS).

#### 1.4 SHINERS

O SERS, como discutido anteriormente, pode aumentar a relação sinal/ruído *ca.* de 6 ordens de grandeza, aumentando significativamente a seção de choque Raman e chegando a limites de detecção de uma única molécula, que torna seu uso como ferramenta analítica bastante interessante (Pieczonka, Aroca, 2005). Contudo, o uso desta poderosa ferramenta é bastante restrito, pois apenas os metais de cunhagem, Au, Ag e Cu, têm um bom desempenho SERS e são utilizados como substratos SERS-ativos. Algumas NPs de outros metais, como os do grupo VIII B (Pt, Ru, Rh, Pd, Fe, Co e Ni) também apresentam *plasmon* de superfície frente a uma radiação adequada; entretanto a intensificação do sinal neste caso é bem menor, *ca.*  $10^3$  vezes, e o manuseio destas estruturas é mais difícil devido à reatividade destes metais (Anema *et al.*, 2011). Assim, o SERS apresenta duas grandes limitações: a escassez de substratos SERS-ativos e a dificuldade na reprodutibilidade das medidas.

A dificuldade de obtenção de substratos SERS-ativos é oriunda de algumas restrições fenomenológicas, pois são necessários metais e morfologia específica das nanoestruturas que suportem o *plasmon* de superfície para obter um algo desempenho para o efeito. Os estudos das interações entre as NPs e a radiação eletromagnética têm atraído muita atenção devido às potenciais aplicações destes materiais em dispositivos, sensores e circuitos fotônicos. Sabe-se ainda que a localização da frequência de oscilação do *plasmon* depende da função dielétrica do metal, do tamanho, da forma das NPs e da constante dielétrica do meio. Portanto, o controle destas propriedades das nanopartículas tem sido amplamente estudado para aperfeiçoar o desempenho nas espectroscopias intensificadas. Eis um dos grandes desafios para os estudos que

envolvem os efeitos espectroscópicos intensificados: a necessidade de controlar o tamanho e a forma das NPs (Stewart *et al*, 2008).

A busca pela otimização do controle da geometria levaram ao desenvolvimento de sínteses com alto domínio sobre esses parâmetros nos últimos anos (Xia *et al*, 2009). Apesar de todos os avanços nesta área, estas estruturas são muito instáveis quando em contato com as moléculas a ser estudadas; além disso, as NPs de metais de cunhagem interagem fortemente entre si, formando agregados que dificultam e muitas vezes, impossibilitam a caracterização do adsorbato pela técnica SERS. Estas variações estruturais das NPs metálicas na presença do adsorbato provocam mudanças nas propriedades ópticas do metal e pode dificultar a reprodutibilidade dos espectros SERS.

A fim de minimizar a interação entre as NPs e destas com o analito sob estudo, propôs-se recentemente recobrir AuNPs e AgNPs com camadas ultrafinas de materiais dielétricos, sobretudo de óxidos, como o SiO<sub>2</sub> (Anema *et al*, 2011) e o MnO<sub>2</sub> (Lin *et al*, 2012). Estes isolantes podem aumentar fortemente a estabilidade morfológica e estrutural das NPs, conservando suas propriedades ópticas e também uma alta performance SERS, desde que a espessura das camadas seja bem controlada (Anema *et al*, 2011). A esta nova metodologia denominou-se SHINERS (*Shell-isolated nanoparticles enhanced Raman spectroscopy*) (Anema *et al*, 2011).

Como o recobrimento aumenta a estabilidade das NPs e conserva o *plasmon* de superfície, evitando a interação do metal com o adsorbato e as interações interpartículas, o uso de outros metais, como metais alcalinos ou de transição, além do Au, Ag e Cu, torna-se viável, aumentando o número de substratos SERS-ativos e, conseqüentemente, aumenta a aplicabilidade da técnica (Anema *et al*, 2011). Além disto, a camada evita o contato das NPs com as moléculas em estudo e, portanto, evita que as NPs se deteriorem e aumenta a reprodutibilidade dos espectros (Anema *et al*, 2011), já que as interações químicas com a superfície, neste caso, são em geral fracas. O isolamento do metal evita que haja interações das moléculas prova com a superfície e, assim, não se esperam alterações significativas do espectro SERS quando comparado ao espectro Raman do analito em solução.

A alta estabilidade das NPs recobertas permite outros tipos de aplicação, como as *smart-dust*; neste caso, as nanopartículas podem ser retiradas de suspensão, secas e utilizadas como pó e, então, são espalhadas como um “pó mágico” sobre a superfície que se deseja analisar. Esta é uma das aplicações mais interessantes destes materiais, já que não se faz necessário tratamento prévio da amostra, e não ocorre deterioração da

amostra a ser analisada, além de permitir o estudo de substratos que o SERS não permite, como monocristais, por exemplo (Anema *et al*, 2011).

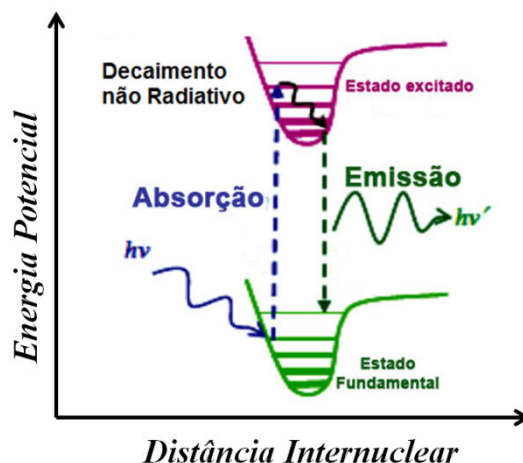
Para que haja um bom desempenho SERS, algumas condições são necessárias; entre essas condições está a necessidade de controlar a espessura da camada de dielétrico, devido à forte dependência da intensidade do sinal com a distância do adsorbato com a superfície do metal (Pieczonka, Aroca, 2005), como explicado anteriormente. É sabido que a intensidade do sinal Raman diminui a uma razão de  $d^{-10}$  com o aumento da distância à superfície (Pieczonka, Aroca, 2005). Com o recobrimento, há perda do sinal; todavia, para camadas ultrafinas e compactas, essa perda, ainda que significativa, pode ser vantajosa pelo aumento da estabilidade em suspensão que essas novas estruturas podem apresentar e as possíveis aplicações destes materiais.

### **1.5 FLUORESCÊNCIA INTENSIFICADA POR SUPERFÍCIE E SHINEF**

O entendimento do SERS e o desenvolvimento da plasmônica possibilitaram a descoberta de outras técnicas espectroscópicas intensificadas por LSPR. Dentre estas, estão a absorção no infravermelho intensificada (SEIRA) (Aroca, 2006) e a fluorescência intensificada por superfície (SEF) (Ru, Etchegoin, 2008).

O efeito SEF é uma técnica relativamente nova e tem ganhado notoriedade devido à gama de aplicações biológicas que este fenômeno pode oferecer (Stewart *et al*, 2008). A intensificação do sinal de fluorescência aumenta ainda mais a sensibilidade da técnica e seus limites de detecção, que permitem seu uso em diversos sistemas, como imunoenaios, estudos de complexos e sistemas biomoleculares (Gagni *et al*, 2013).

O mecanismo de fluorescência, assim como o Raman, é um fenômeno de dois fótons. Na fluorescência, quando uma radiação monocromática é incidida, um fóton é absorvido pela molécula que, por sua vez, é excitada a um estado eletrônico de maior energia. Devido a colisões ou perdas térmicas, há um decaimento não radiativo ao longo dos níveis vibracionais do estado excitado, até atingir o nível vibracional de mais baixa energia do estado. Posteriormente há uma relaxação do sistema e emissão de um fóton (Paula, 2006), como ilustra a Figura 5.



**Figura 5:** Sequência de etapas que leva à fluorescência. Adaptado de <http://nanoluminescent.blogspot.com.br/p/luminescencia.html> (Felinto *et al.*)

O SEF é oriundo de diversas interações, contudo, a maior contribuição para a intensificação é derivada da ressonância do *plasmon* de superfície. A interação entre as nanopartículas e os fluoróforos depende do tamanho das NPs, da estrutura molecular e da distância metal-adsorbato (Gómez, 2009). Diferentemente do efeito SERS, no SEF para fluoróforos diretamente ligados às superfícies metálicas, observa-se em geral a supressão do sinal de fluorescência e não a intensificação (Anger *et al*, 2006). A interação entre os níveis eletrônicos das NPs e do fluoróforo possibilita que a energia acumulada pela molécula no estado excitado seja transferida para os níveis do metal de maneira tal que o fóton de fluorescência não é emitido (Gómez, 2009).

Por conseguinte, para que o SEF seja obtido é necessário que existam espaçadores que mantenham o fluoróforo a distâncias entre 5 e 15 nm da superfície, para que os fatores de intensificação SEF atinjam valores máximos (Lakowicz *et al*, 2004). A necessidade de separar o fluoróforo da partícula metálica que suporta LSPR limita fortemente os fatores de intensificação SEF, que atingem, em situações otimizadas, valores de 100 vezes (Brolo *et al*, 2005).

Para a fluorescência, o alto controle da espessura destas camadas é crucial para que os EF sejam otimizados. Neste caso, as SHINs, com camadas compactas e com alto controle da espessura podem ser os substratos ideais para intensificação da fluorescência. A esta técnica denominou-se SHINEF (*Shell-isolated nanoparticles enhanced fluorescence*) (Guerrero, Aroca, 2011).

O acoplamento dos estados eletrônicos da molécula com os do metal pode acarretar em mudanças significativas no dipolo de emissão e, portanto, no espectro de fluorescência, provocando variações em intensidade, deslocamentos da banda de emissão, surgimentos de outras bandas ou mesmo mudanças no perfil das bandas da molécula livre (Guerrero, Aroca, 2011).

## 1.6 FATORES DE INTENSIFICAÇÃO

Para avaliar o desempenho das NPs metálicas como substratos SERS têm-se estudado modelos para quantificar o aumento da relação sinal ruído provocado pela superfície metálica. Para tanto, visa-se um modelo ideal, o qual deve descrever de maneira simples, sem muitas variáveis, todos os sistemas, além de ser viável de ser calculado tanto por simulação computacional quanto experimentalmente (Ru *et al*, 2007). Entretanto, devido à complexidade do efeito SERS não há um modelo único que se aplique a todos os sistemas. A seção de choque SERS depende dos modos vibracionais do analito e, como discutido anteriormente, os fatores de intensificação podem ser originados da interação química ( $F_{Chem}$ ) ou eletromagnética ( $F_{EM}$ ), de acordo com a preponderância destes efeitos sobre a molécula prova (Ru *et al*, 2007).

Além disto, existem muitos outros parâmetros que interferem no desempenho SERS, tais como: características do laser (comprimento de onda, polarização, ângulo de incidência); propriedades do detector (ângulo de coleção sólido, detecção polarizada ou não); propriedades do substrato SERS envolvido (material, geometria, orientação, tamanho, forma, ressonância do *plasmon* de superfície localizado); propriedades intrínsecas do analito, como os tensores dos modos vibracionais Raman e a seção de choque Raman; propriedades de adsorção, em particular a eficiência e orientação da adsorção, distância da superfície, variações na polarizabilidade molecular oriunda da interação metal-analito; dentre outros.

Devido a esta gama de parâmetros envolvidos no efeito SERS, não foi possível a padronização de um único modelo que atendesse a todas estas demandas. Assim, alguns estudos propuseram diferentes metodologias que se aplicam a várias situações, de maneira aproximada, entretanto, satisfatória para diferentes fins. Estas foram subdivididas na literatura recente em três classificações principais: fator de intensificação para uma única molécula (SMEF); fator de intensificação para o substrato SERS (SSEF) e fator de intensificação analítico (AEF).



Os modelos SMEF e SSEF se atêm às propriedades intrínsecas dos substratos SERS-ativos e, por isso, nem sempre são utilizáveis, já que, muitas vezes os experimentos não nos asseguram determinadas informações. Assim, o AEF é um dos modelos mais utilizados, e propõe uma ideia intuitiva do aumento de intensidade; esse modelo considera uma relação entre as intensidades das bandas SERS,  $I_{SERS}$ , e Raman,  $I_{Raman}$ , e as concentrações dos analitos utilizadas nestes casos,  $c_{SERS}$  e  $c_{Raman}$ , respectivamente, como mostra a Equação 14; tal que para que os resultados sejam comparáveis, é fundamental que os resultados sejam obtidos sob as mesmas condições espectrais.

$$AEF = \frac{I_{SERS}/c_{SERS}}{I_{Raman}/c_{Raman}}$$

Equação 14

Para exemplificar o cálculo utilizado na obtenção dos fatores de intensificação, utilizaremos os dados para a banda de  $943\text{ cm}^{-1}$  do espectro FT-Raman do IR-820  $0,1\text{ mmol L}^{-1}$  na presença de  $\text{Ag@SiO}_2$  com 1 hora de reação. Inicialmente foi calculada a área da banda do corante em solução, cujo valor foi 0,089. Em seguida, calculou-se a área sob a curva do espectro do IR-820  $0,1\text{ mmol L}^{-1}$  na presença das  $\text{AgNPs@SiO}_2$ , em que se encontrou o valor de 0,854. As áreas foram obtidas através do programa OPUS, em que se fixou uma faixa espectral para todos os cálculos realizados. Desta maneira, a relação foi a seguinte:

$$AEF = \frac{0,854/10^{-4}}{0,089/10^{-4}} = 9,59$$

Equação 15

tal que, o valor encontrado para o AEF nesta condição foi equivalente a 9,59.

O modelo acima descrito é de fato um resultado intuitivo a respeito do aumento da relação sinal ruído do espectro que, apesar de permitir a quantificação da melhoria do sinal na presença das NPs, pode subestimar os resultados de fator de intensificação. Isto ocorre porque o cálculo apenas considera a concentração final da solução; o modelo pressupõe, portanto, que todas as moléculas presentes em solução contribuem igualmente para a intensificação. Entretanto, as moléculas mais próximas à superfície

contribuem mais para o aumento do sinal; conseqüentemente, a concentração do adsorbato envolvida efetivamente no SERS é menor do que a concentração final da solução e os fatores de intensificação podem ser ainda maiores do que os obtidos por este modelo. Para baixas concentrações, este erro é menor, pois a probabilidade das moléculas estarem próximas à superfície e formarem uma monocamada é maior.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVOS GERAIS**

Desenvolver metodologia para a obtenção de nanomateriais metálicos modificados recobertos com camadas de dielétricos e aprofundar o conhecimento sobre as técnicas SHINERS e SHINEF.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Recobrir nanopartículas de Au e Ag com camadas de óxidos de silício e manganês de espessuras controladas.
- Caracterizar morfologicamente as nanopartículas recobertas com óxidos para aperfeiçoar o controle da espessura das camadas ultrafinas de dielétricos.
- Avaliar o desempenho para os efeitos SHINERS e SHINEF das NPs obtidas.
- Desenvolver possíveis aplicações das nanopartículas isoladas por camadas de dielétricos (SHIN) baseadas nas características químicas das camadas de óxidos.

### 3 PARTE EXPERIMENTAL

#### 3.1 REAGENTES

Nos procedimentos experimentais foram utilizados os reagentes da Sigma-Aldrich: ácido cloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ -99%); nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ -99,999%); citrato trissódico ( $\text{Na}_3$ -citrato-99%); permanganato de potássio ( $\text{KMnO}_4$ -99%); oxalato de sódio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -99,5%); hidróxido de sódio (KOH-85%); silicato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SiO}_4$ -solução 27% em massa); 3-aminopropiltrimetilsilano (APTMS-97%) e IR-820 (80%). Todas as soluções aquosas foram preparadas com água deionizada ( $R=18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}^{-1}$ ) obtida de um desionizador da marca Millipore, modelo Energy UV.

#### 3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os coloides de ouro e prata foram sintetizados pela redução dos sais dos respectivos metais,  $\text{HAuCl}_4$  e  $\text{AgNO}_3$ , em solução aquosa, por  $\text{Na}_3$ -citrato (1% m/V), sob refluxo, segundo a metodologia de Frens (Frens, 1973) e Lee e Meisel (Lee, Meisel, 1982), respectivamente.

As nanopartículas de ouro (AuNP) foram preparadas aquecendo-se 50 mL de uma solução aquosa de  $\text{HAuCl}_4$  (0,01% em massa) até a ebulição sob refluxo. Neste momento, adicionou-se 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_3$ -citrato (1% m/V) e o aquecimento foi mantido até que a solução tornou-se vermelha, após aproximadamente 5 min.

Para obter as nanopartículas de prata (AgNP) prepararam-se 100 mL de uma solução de  $\text{AgNO}_3$  (0,018% em massa) aquecendo-a até a ebulição sob refluxo. Por conseguinte, adicionou-se 2 mL de  $\text{Na}_3$ -citrato (1% m/V) e o aquecimento foi mantido por uma hora. Ao final a solução tornou-se cinza.

#### 3.3 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS COM ÓXIDO DE SILÍCIO (ANEMA ET AL, 2011)

Inicialmente, adicionou-se uma solução aquosa  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  de APTMS a 30 mL das NPs de ouro ou prata, sob agitação magnética por cerca de 15 minutos (Anema *et al*, 2011). Em alguns casos, observou-se a agregação dos coloides, principalmente para as suspensões de ouro. Optou-se, portanto, por retirar a agitação magnética e foram feitos

testes com outras concentrações de APTMS, como  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$  e  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ . Os melhores resultados ainda foram obtidos com a concentração de  $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ .

Para 30 mL de coloide, adicionaram-se 400  $\mu\text{L}$  de APTMS ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ). Após a adição, a coloração da suspensão de nanopartículas de ouro mudou de vermelho para roxo e, na prata houve um escurecimento na mistura final, todavia, a mudança foi muito pequena. A seguir, adicionou-se à mistura 3200  $\mu\text{L}$  de silicato de sódio (0,54% m/V), sob agitação suave, o suficiente para homogeneizar a solução. A mistura final foi aquecida sob refluxo a  $90^\circ\text{C}$ , por diferentes tempos de reação, que variaram de 20 minutos a 4 horas.

### 3.4 RECOBRIMENTO DAS NANOPARTÍCULAS COM ÓXIDO DE MANGANÊS (LIN ET AL, 2012)

Adicionou-se a 10 mL da suspensão coloidal de nanopartículas metálicas uma solução de KOH ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ) até ajustar o pH = 9. A seguir, adicionaram-se diferentes volumes de soluções de  $\text{KMnO}_4$  ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  ( $10 \text{ mmol L}^{-1}$ ), para camadas de espessuras distintas, como segue na Tabela 1. Deixou-se a solução resultante reagir por cerca de 10 minutos a temperatura ambiente e, então, aqueceu-se a mistura a  $60^\circ\text{C}$  por 2 h.

**Tabela 1:** Relação esperada entre as espessuras das camadas de  $\text{MnO}_2$  e o volume de reagente, de acordo com a referência (Lin *et al*, 2012)

<b>Espessura da camada (nm)</b>	<b>0,5</b>	<b>0,7</b>	<b>1,2</b>	<b>1,8</b>	<b>2,5</b>	<b>10</b>
<b>Volume de <math>\text{KMnO}_4</math> <math>10 \text{ mmol L}^{-1}</math> (mL)</b>	0,02	0,05	0,08	0,1	0,14	0,56
<b>Volume de <math>\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4</math> <math>10 \text{ mmol L}^{-1}</math> (mL)</b>	0,1	0,25	0,4	0,5	0,7	2,8

### 3.5 INSTRUMENTAÇÃO

Para caracterizar e avaliar o desempenho das NPs, as técnicas espectroscópicas utilizadas foram: absorção no UV-Visível, espectroscopia de espalhamento Raman, fluorescência e microscopia eletrônica de transmissão (TEM). As medidas de absorção no UV-Visível foram feitas através de um equipamento Shimadzu modelo 1800.

Os espectros SHINEF foram obtidos no espectrômetro Raman dispersivo, marca Bruker e modelo Senterra, com excitação em 785 nm. Também se utilizou o espectrômetro FT-Raman da marca Bruker, modelo RFS/100, com excitação em 1064 nm para obtenção de espectros SERS e SHINERS.

A técnica de microscopia eletrônica de transmissão foi utilizada em colaboração como Dr. Bráulio S. Archanjo e a Dra. Sandra M. Landi na Divisão de Metrologia de Materiais do INMETRO, em Duque de Caxias, RJ, para caracterizar a espessura das camadas e a forma de recobrimento das nanopartículas. O equipamento utilizado nas medidas foi um microscópio de transmissão de elétrons (S/TEM), modelo Titan G2 80-300, do fabricante FEI. Os espectros no infravermelho foram obtidos em um espectrômetro FT-IR da marca BOMEM, modelo MB-102.

### 3.6 OBTENÇÃO DOS ESPECTROS

Os espectros SERS e SHINERS foram obtidos no espectrômetro FT-Raman utilizando 300 mW de potência e 200 scans. As amostras foram preparadas três dias antes da medida, a fim de aumentar a adsorção do corante no coloide e, por conseguinte, a intensificação do sinal. Os espectros SHINERS com excitação no visível foram obtidos com excitação em 633 nm, potência de 15 mW, 10 segundos de acumulação e 4 coadições. Os espectros de fluorescência foram obtidos em um espectrômetro Raman com excitação em 785 nm, 1 mW de potência, 2 segundos de acumulação e 5 coadições, em geometria de retro-espalhamento.

Para otimizar os espectros SERS diluíram-se as suspensões coloidais 5 vezes a fim de evitar a reabsorção das nanopartículas e permitir consequente aumento do sinal; e adicionou-se KCl 0,02 mol L<sup>-1</sup> para aumentar a interação interpartículas que também favorece o aumento do sinal Raman.

#### 3.6.1 Espectros Raman e no Infravermelho Calculados

A estrutura e frequência vibracionais do IR-820 foram calculadas usando o conjunto de programas Gaussian 09 com nível de teoria do funcional da densidade (DFT), usando o funcional híbrido B3LYP, (Becke, 1993, Lee *et al*, 1988, Miehlich *et al*, 1989) e o conjunto de funções de base triplo- $\zeta$  6-311G (d,f) (Krishnan *et al*, 1980,

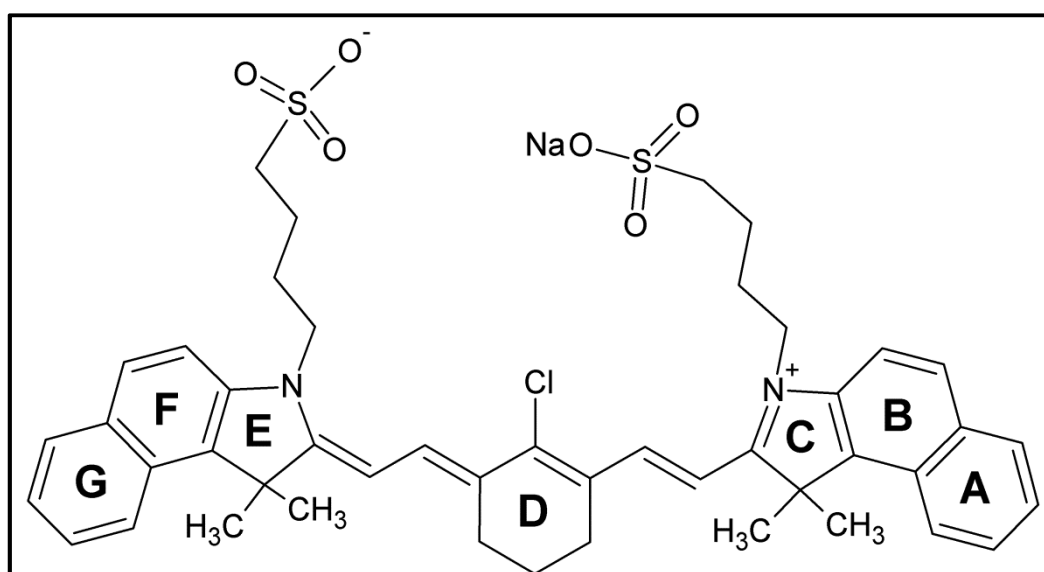
McLean, Chandler, 1980). A otimização da geometria foi realizada sem qualquer restrição; não houve nenhuma frequência imaginária calculada, confirmando que a estrutura calculada representa o mínimo local de energia. O cálculo da atividade Raman foi convertido para o cálculo de intensidade pela correção de frequência de espalhamento e temperatura finita (Collier *et al*, 1999). Os espectros Raman e no infravermelho calculados foram plotados e visualizados pelo *software GaussView* (Dennington *et al*, 2003).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 ATRIBUIÇÃO VIBRACIONAL DO IR-820

Com o intuito de estudar o recobrimento das nanopartículas e suas potencialidades quanto à intensificação dos sinais Raman e fluorescência, a molécula-prova proposta foi o corante IR-820. Este é um corante do tipo indocianina, de caráter aniônico, cuja estrutura molecular é mostrada na Figura 6, na qual são destacados, pelas letras A a G, os anéis aromáticos e heterocíclicos característicos do grupo cianina (Torres, 2010).

A classe de corantes indocianinas, principalmente o corante verde de indocianina, tem sido amplamente utilizada como marcadores SERS e SEF de sistemas biológicos para estudos *in vivo* devido às suas propriedades fluorescentes, alta polarizabilidade e boa biocompatibilidade (Van der Vorst *et al*, 2012). Devido a essas propriedades, a busca por esse tipo de molécula-prova pode ser importante para eventuais aplicações em biossensores baseados nas técnicas intensificadas por *plasmon*, como as propostas neste trabalho.

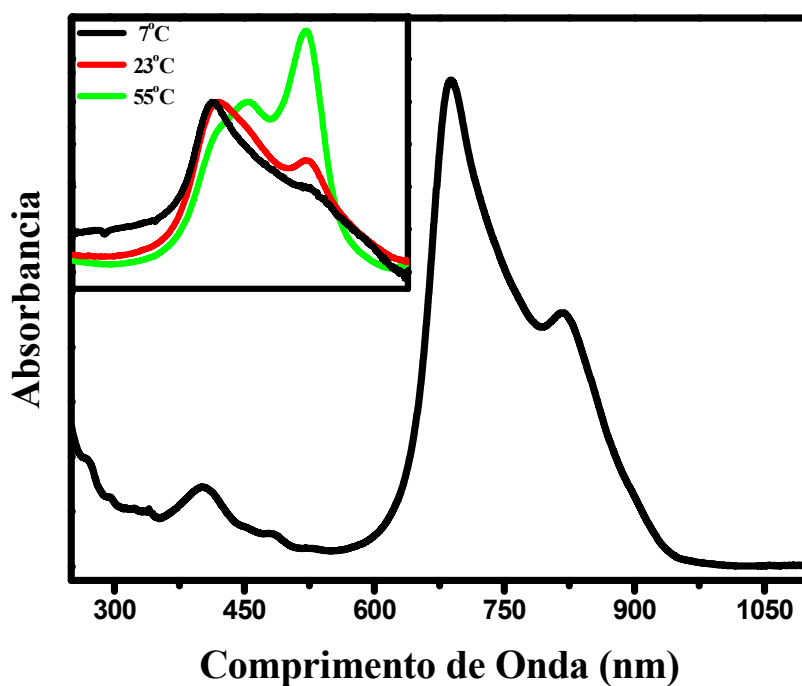


**Figura 6:** Estrutura molecular do IR-820.

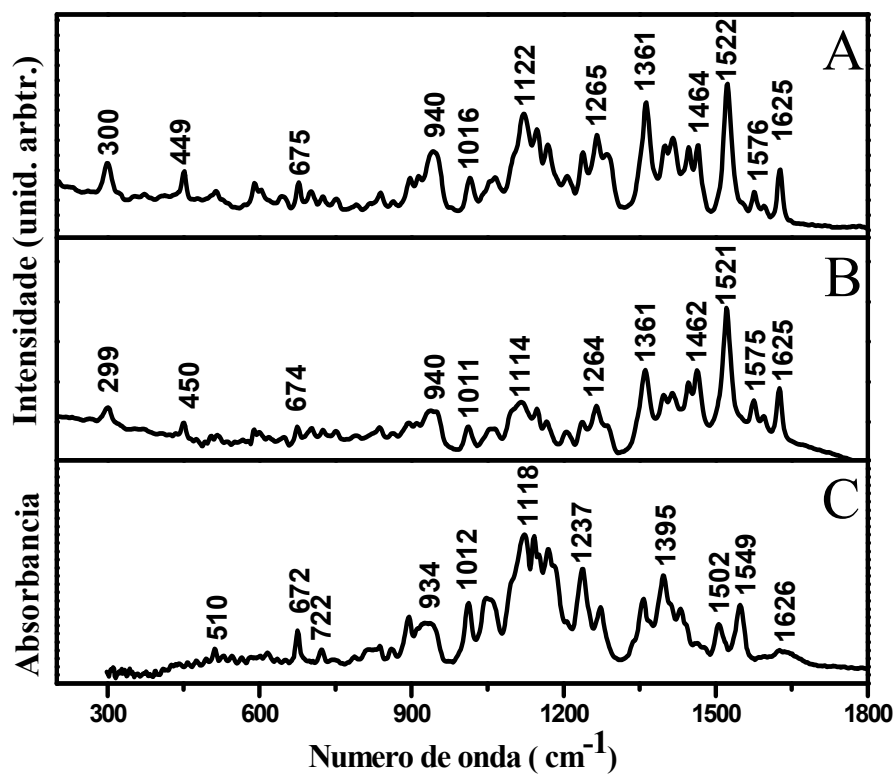
A Figura 7 apresenta o espectro de absorção do IR-820 em solução aquosa. Em função da alta deslocalização eletrônica, o corante apresenta uma forte banda de absorção na região do visível, em 690 nm, cuja absorvidade molar nesta condição é  $7180 \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$ , atribuída à transferência de carga (Torres, 2010). A banda mais fraca na



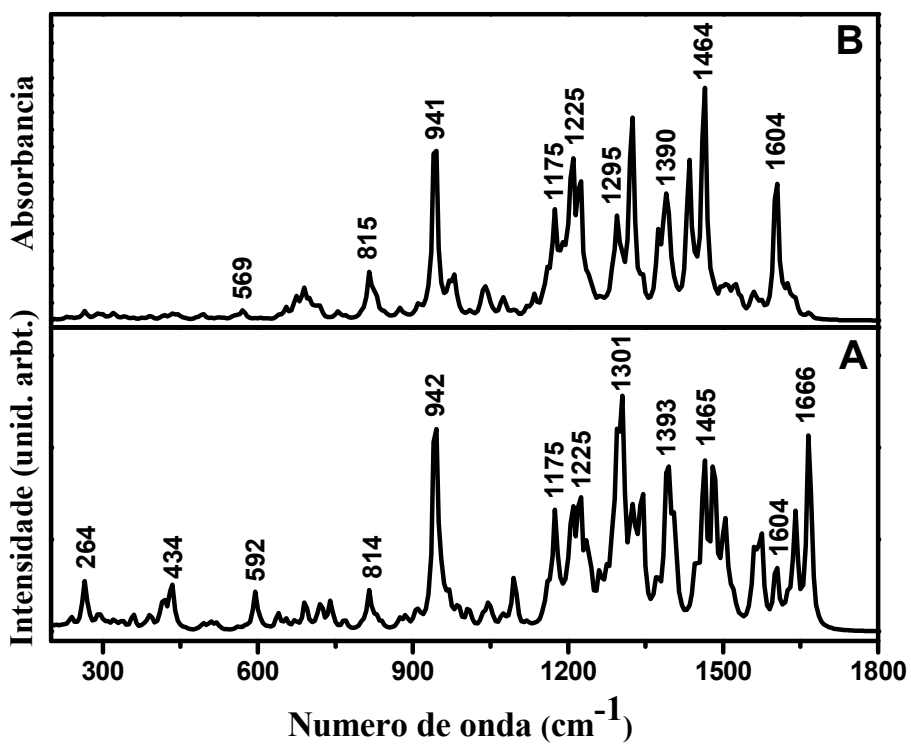
região do infravermelho próximo, em 819 nm é atribuída a bandas quentes do composto. Isso pode ser constatado pelo inserto na lateral superior esquerda da Figura 7, na qual são mostrados os espectros do IR-820 a 7, 23 e 55 °C; nos quais observou-se um aumento na intensidade da banda em 819 nm com o aquecimento, característica de bandas quentes.



**Figura 7:** Espectro UV-Visível do IR-820 10 µmol L<sup>-1</sup> em solução aquosa. Na Figura acima e à esquerda do espectro constam os espectros no UV-VIS do IR-820 10 µmol L<sup>-1</sup> em diferentes temperaturas.



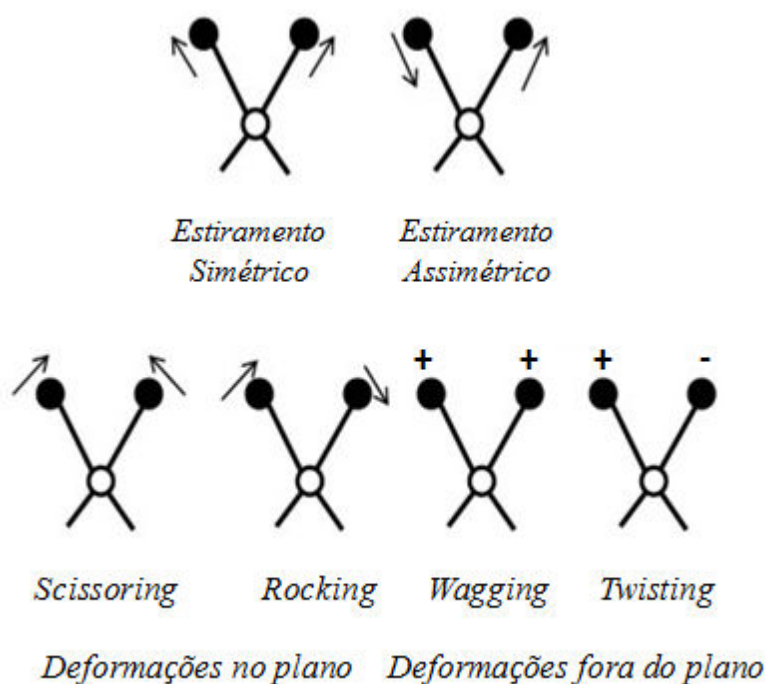
**Figura 8:** Espectros experimentais do IR-820 (A) FT-Raman da solução 1 mmol L<sup>-1</sup> (B) FT-Raman do sólido e (C) Infravermelho.



**Figura 9:** Espectros (A) Raman e (B) infravermelho do IR-820 calculados através da DFT.

A Figura 8 apresenta os espectros Raman e no infravermelho experimentais do IR-820: FT-Raman da solução ( $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ ) e do composto sólido e o espectro no infravermelho do composto sólido. A Figura 9 apresenta os espectros Raman e no infravermelho do corante calculados, obtidos utilizando a teoria do funcional da densidade.

Devido às potencialidades do IR-820 e à importância da análise deste corante para o trabalho nessa dissertação, foi feita a atribuição vibracional das principais bandas dos espectros Raman e no infravermelho. Os modos vibracionais correspondentes às bandas dos espectros mostrados na Figura 8 estão dispostos na Tabela 2, os quais foram obtidos através dos espectros calculados. As frequências citadas na discussão abaixo foram obtidas dos valores dos espectros calculados. Os modos de estiramento, simétrico e assimétrico, e de deformação angular, *wagging*, *rocking*, *scissoring* e *twisting* são esquematizados na Figura 10; em que os vetores indicam o deslocamento dos átomos e os sinais ilustram se os átomos entram (+) ou saem (-) do plano da página.



**Figura 10:** Esquema ilustrativo dos modos vibracionais adaptado da literatura (Osei-Yiadom, 2010).

Na região de mais baixa energia são observadas as bandas em 308, 359, 392 e 461  $\text{cm}^{-1}$ , referentes às deformações angulares da ligação CCC das cadeias alifáticas; a banda em 392  $\text{cm}^{-1}$  também é atribuída à deformação angular CCC da cadeia conjugada.

O estiramento da ligação CC do grupamento alquila é observado em 802 e 1072  $\text{cm}^{-1}$ . Já as deformações angulares do  $\text{CH}_2$  referentes a este grupamento ocorrem em diferentes frequências, tal que: o modo *rocking* aparece em 741, 768 e 1072  $\text{cm}^{-1}$ ; o modo *twisting* é observado em 1174 e 1375  $\text{cm}^{-1}$ ; o *wagging* em 1392  $\text{cm}^{-1}$  e o *scissoring* que aparece em maior energia dentre estes, em 1594  $\text{cm}^{-1}$ . Acoplado ao modo *scissoring*, em 1504  $\text{cm}^{-1}$ , observa-se o modo *umbrella* do  $\text{CH}_3$  das cadeias alquila.

A deformação angular da ligação CCC da cadeia conjugada, além de aparecer acoplada a outro modo, como atribuído à banda em 392  $\text{cm}^{-1}$ , também contribui para os modos atribuídos às bandas em 654 e 874  $\text{cm}^{-1}$ . Os estiramentos das ligações CC deste grupo ocorrem em regiões de mais alta energia: 1223, 1463, 1573 e 1603  $\text{cm}^{-1}$ . Em 1463  $\text{cm}^{-1}$  este modo aparece acoplado ao estiramento CN e à deformação angular CH da cadeia carotenoide no plano. Este último aparece ainda na atribuição de outras frequências, como: 815, 943, 1274, 1375, 1382 e 1463  $\text{cm}^{-1}$ . Na banda em 1573  $\text{cm}^{-1}$  o estiramento CC aparece acoplado ao estiramento CN e apenas é observada no espectro no infravermelho. Além de ser observado nesta região, o estiramento CN aparece em 1392  $\text{cm}^{-1}$ .

Na Figura 6 os anéis são denominados pelas letras A-G e na Tabela 2 os modos respectivos a cada um dos anéis são discriminados; entretanto, discutiremos os modos relativos aos anéis de maneira genérica, para facilitar a compreensão. A deformação angular CCC dos anéis ocorre nas seguintes frequências: 520, 595, 639, 654, 840, 874 e 911  $\text{cm}^{-1}$ . Em 911  $\text{cm}^{-1}$  há ainda outro modo predominante, o *twisting* do  $\text{CH}_2$  referente ao anel D. Este mesmo modo também é observado em 1274  $\text{cm}^{-1}$ ; ao passo que, o modo *rocking* do  $\text{CH}_2$  do anel D é visualizado em 815  $\text{cm}^{-1}$ . A deformação angular da ligação CH dos anéis aromáticos fora do plano aparece em 718  $\text{cm}^{-1}$ ; enquanto que estas deformações no plano ocorrem em frequências distintas: 1161, 1174, 1208, 1236 e 1482  $\text{cm}^{-1}$ . Em alguns casos estes modos apareciam mais localizados sobre alguns anéis específicos; em outros, as vibrações calculadas são mais deslocalizadas ao longo de toda a molécula, o mesmo observou-se para o estiramento cujas frequências observadas foram: 1011, 1046, 1072, 1562, 1640 e 1666  $\text{cm}^{-1}$ .

**Tabela 2:** Atribuição das frequências das bandas (em  $\text{cm}^{-1}$ ) para Raman, SERS (sobre nanopartículas de Au e Ag) e espectro infravermelho do IR-820.  $\lambda_0 = 1064 \text{ nm}$ .

Calc.	IR	Raman sólido	Raman solução	SERS (Ag)	SERS (Au)	Atribuição*·**
308	-	299	300	300	298	$\delta(\text{CCC})_{\text{alq,oop}}$
359	-	-	353	353	351	$\delta(\text{CCC})_{\text{alq,oop}}$
392	-	-	371	374	370	$\delta(\text{CCC})_{\text{alq,oop}} + \delta(\text{CCC})_{\text{conj}}$
461	462	450	449	451	452	$\delta(\text{CCC})_{\text{alq,oop}}$
481	510	503	474	476	478	$\delta(\text{SO}_3^-)_{\text{sim}} + \nu(\text{CS})$
520	-	515	515	514	511	$\delta(\text{CCC})_{\text{F,G}}$
595	-	588	-	590	589	$\delta(\text{CCC})_{\text{A,B,C}}$
639	618	-	-	-	-	$\delta(\text{CCC})_{\text{A,B,C}}$
654	-	-	646	647	645	$\delta(\text{CCC})_{\text{aneis}} + \delta(\text{CCC})_{\text{conj}}$
691	672	674	675	675	676	$\nu(\text{CS})$
718	-	702	701	701	699	$\delta(\text{CH})_{\text{aneis,oop}}$
741	722	725	725	726	724	$\delta(\text{CH}_2)_{\text{r,alq}_2}$
768	-	751	751	751	751	$\delta(\text{CH}_2)_{\text{r,alq}}$
802	786	790	789	792	790	$\nu(\text{CC})_{\text{alq}}$
815	811	811	-	-	-	$\delta(\text{CH})_{\text{conj,oop}} + \delta(\text{CH}_2)_{\text{r,D}}$
840	837	837	837	838	837	$\delta(\text{CCC})_{\text{E,F,G}}$
874	860	862	863	863	863	$\delta(\text{CCC})_{\text{E,F,G}} + \delta(\text{CCC})_{\text{conj}}$
911	893	894	897	897	897	$\delta(\text{CCC})_{\text{A,B,C}} + \delta(\text{CH}_2)_{\text{t,D}}$
943	934	940	940	944	941	$\delta(\text{CH})_{\text{conj,oop}}$
1011	1012	1011	1016	1014	1015	$\nu(\text{CC})_{\text{D}}$
1046	1051	1059	-	1054	-	$\nu(\text{CC})_{\text{A}}$
1072	-	-	1064	1067	1063	$\delta(\text{CH}_2)_{\text{r,alq}} + \nu(\text{CC})_{\text{D}}$
1161	1118	1114	1122	1122	1122	$\delta(\text{CH})_{\text{A,B,F,G}}$
1174	1141	1146	1147	1148	1144	$\delta(\text{CH})_{\text{aneis}}$
1208	1171	1166	1171	1167	1169	$\delta(\text{CH})_{\text{A,B,F,G}} + \delta(\text{CH}_2)_{\text{t,alq,D}} + \nu(\text{SO})$
1223	-	1205	1209	1207	1205	$\nu(\text{CC})_{\text{conj}}$
1236	1237	1235	1238	1235	1236	$\delta(\text{CH})_{\text{A,B,F,G}}$
1274	1273	1264	1265	1265	1263	$\delta(\text{CH})_{\text{conj}} + \delta(\text{CH}_2)_{\text{t,D}}$
1375	1375	1361	1361	1364	1363	$\delta(\text{CH}_2)_{\text{t,alq}} + \delta(\text{CH})_{\text{conj}}$
1392	1392	1397	1399	1398	1400	$\delta(\text{CH})_{\text{conj}} + \delta(\text{CH}_2)_{\text{w,alq}} + \nu(\text{CN})^1$
1463	-	-	1415	1414	1415	$\delta(\text{CH})_{\text{conj}} + \nu(\text{CC})_{\text{conj}}$
1482	1446	1446	1447	1445	1446	$\delta(\text{CH})_{\text{aneis}}$
1504	1463	1462	1464	1465	1463	$\delta(\text{CH}_2)_{\text{sc,alq}} + \delta(\text{CH}_3)_{\text{u,alq}}$
1562	1523	1521	1522	1522	1523	$\nu(\text{CC})_{\text{A,B}}$
1573	1549	-	-	-	-	$\nu(\text{CC,CN})_{\text{conj}}$
1603	-	1575	1576	1575	1574	$\nu(\text{CC})_{\text{conj}}^1$
1640	-	1595	1595	1596	1596	$\nu(\text{CC})_{\text{F,G}}$
1666	1626	1625	1626	1625	1626	$\nu(\text{CC})_{\text{A,B}}$

\* $\nu$ -estiramento;  $\delta$ -deformação angular; *u-umbrella*; *sc-scissoring*; *t-twisting*; *r-rocking*; *w-wagging*; conj-cadeia conjugada; alq-cadeia alquila; A,B,C,D,E,F,G - anéis numerados na Figura 6; oop-deformações angulares fora do plano \*\* A atribuição foi feita pela análise visual dos autovetores calculados por DFT e comparados com dados da literatura (Mayo *et al*, 2003).

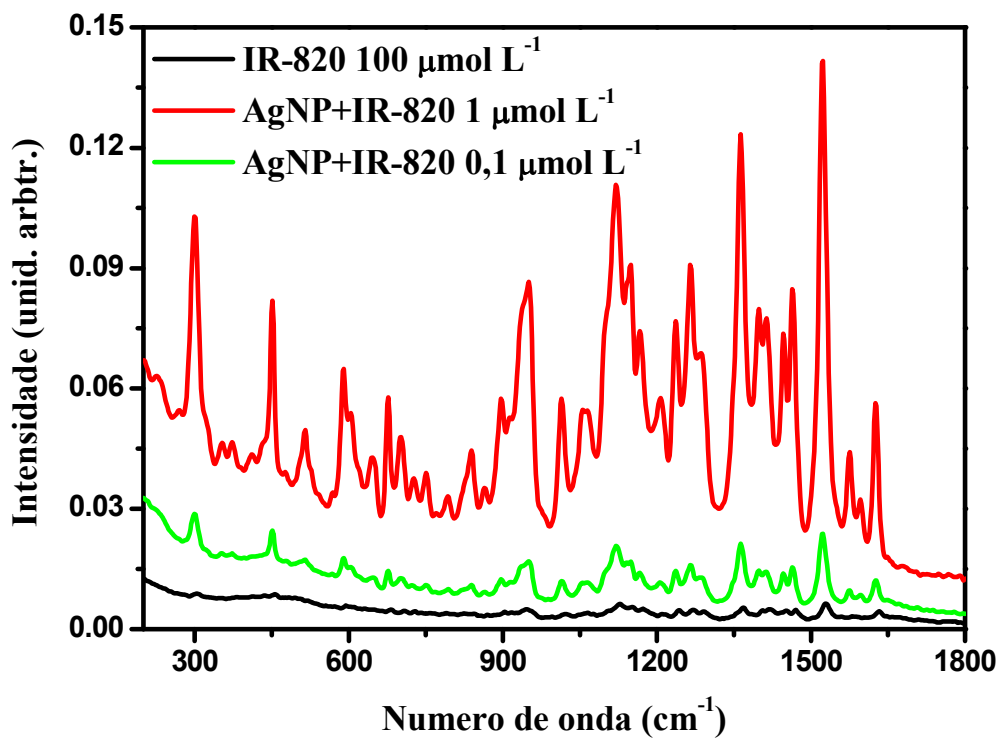
Para finalizar esta discussão, atribuiremos os modos relativos aos grupos ligados ao grupo sulfonato. A banda em  $481 \text{ cm}^{-1}$  foi atribuída à deformação angular simétrica do  $\text{SO}_3^-$  e ao estiramento da ligação CS; nos espectros Raman e infravermelho dos sólidos esta banda aparece em maior número onda, em torno de  $503 \text{ cm}^{-1}$ . O estiramento CS também é observado em  $691 \text{ cm}^{-1}$ , enquanto o estiramento SO aparece em  $1208 \text{ cm}^{-1}$ .

## 4.2 SERS DO IR-820

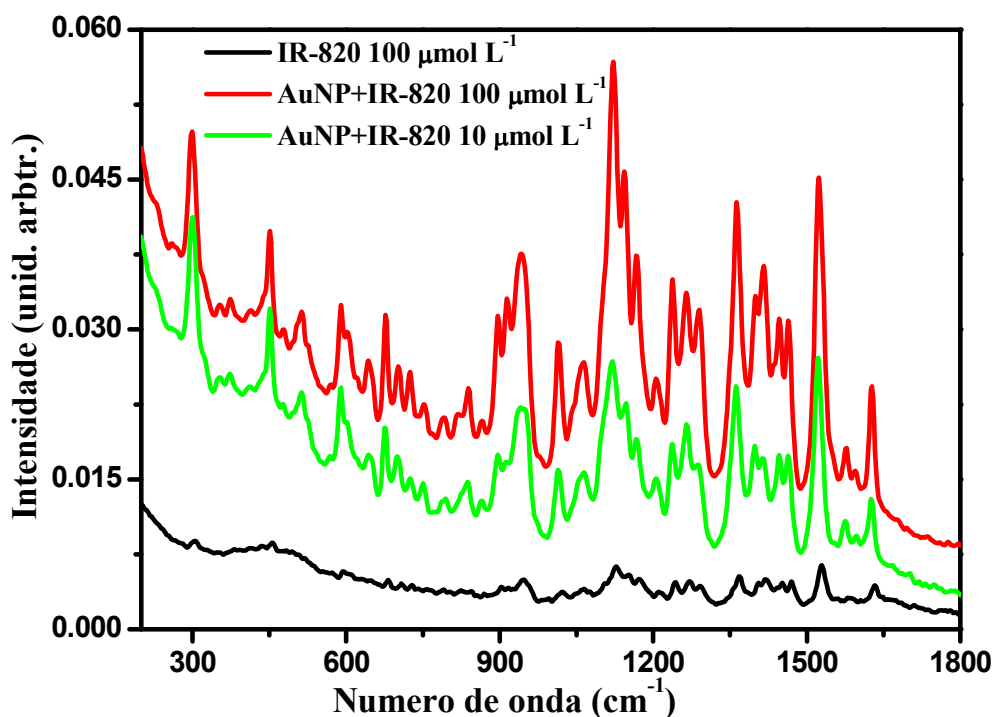
O IR-820 apresenta Raman pré-ressonante em 1064 nm, devido à banda de absorção vibrônica em 819 nm; por esta razão, foram realizados os experimentos para obtenção dos espectros SERS em AuNPs e AgNPs, cujos resultados são apresentados nas Figuras 11 e 12, respectivamente. Observa-se um aumento apreciável na intensidade Raman dos espectros em relação à solução quando em contato com as NPs, tanto na prata quanto no ouro, com fatores de intensificação que podem chegar a 3 ordens de grandeza.

A intensificação do sinal nas AgNPs é maior e foi possível determinar concentrações de IR-820 ainda mais baixas para as AuNPs. Em princípio, era de se esperar o contrário, pois a banda LSPR do ouro, em 530 nm, está mais deslocada para a região do infravermelho do que a da prata, em 415 nm e, por conseguinte, mais próxima da ressonância com o laser em 1064 nm. Contudo, pelos resultados de microscopia eletrônica de transmissão, que serão discutidas detalhadamente mais adiante, observou-se que as nanopartículas de Ag possuem maior dispersão de tamanhos, com uma pequena proporção de AgNP com tamanhos que chegam a aproximadamente 400 nm em alguns casos e, cuja banda LSPR seria esperada mais próxima à energia da radiação excitante; contribuindo, assim, mais efetivamente com a intensificação do sinal Raman.

Há uma grande similaridade entes os espectros SERS do IR-820 e os do verde de indocianina (VI) (Kneipp *et al*, 2005), cuja estrutura molecular é bastante parecida com a do corante em estudo, exceto pelo anel conectado a Cl do grupo central na cadeia, marcado como anel D na estrutura do IR-820 (Figura 6). A maior parte das bandas aparece nos espectros dos dois compostos, com algumas pequenas variações no número de onda, perfis das bandas ou mesmo nas intensidades relativas. Faremos a seguir uma comparação entre esses dois espectros.



**Figura 11:** Espectro Raman do IR-820 em solução aquosa e SERS do corante adsorvido em AgNPs. As concentrações do corante estão dispostas na figura.  $\lambda_0 = 1064\text{nm}$ .



**Figura 12:** Espectro Raman do IR-820 em solução aquosa e SERS do corante adsorvido em AuNPs. As concentrações do corante estão dispostas na figura.  $\lambda_0 = 1064\text{nm}$ .

A banda em  $1122\text{ cm}^{-1}$  no espectro do IR-820, atribuída à deformação angular CH dos anéis aromáticos, é correlata à banda em  $1116\text{ cm}^{-1}$  do espectro do VI. Em ambos os casos, é uma das bandas mais intensas dos espectros; além disto, o perfil destas bandas também é muito parecido, aparecendo dois ombros em maior número de onda. As bandas na região de maior energia, em  $1521$  e  $1625\text{ cm}^{-1}$ , atribuídas aos estiramentos CC dos anéis do IR-820 são correspondentes às bandas do VI que aparecem em  $1520$  e  $1628\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente, são intensas em ambos os espectros e apresentam o mesmo perfil, com larguras e intensidades relativas similares. Outra forte semelhança entre os espectros é a intensidade relativa das bandas, tal que as bandas mais intensas no espectro SERS do IR-820,  $1522\text{ cm}^{-1}$ ,  $1444\text{ cm}^{-1}$ ,  $1207\text{ cm}^{-1}$  e  $943\text{ cm}^{-1}$ , também são bastante intensas no SERS da indocianina.

Na presença de coloides de ouro e prata, as mudanças nos espectros SERS do IR-820 como largura, posição e intensidades relativas das bandas são pequenas quando comparadas ao espectro da molécula livre; esse resultado é muito similar ao observado para a VI por Kneipp e col. (Kneipp *et al*, 2005). Apesar desta forte semelhança, são observadas algumas variações nas intensidades relativas e no perfil de algumas bandas quando se comparam os espectros SERS e Raman do IR-820. Em concentrações mais baixas, como  $1,0$  e  $10,0\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ , só foi possível obter os espectros SERS, pois os espectros Raman da solução do corante livre não apresentaram sinal detectável do IR-820. Além disto, nestas condições, as mudanças espectrais são maiores, pois, algumas bandas não aparecem ou aparecem acopladas a outras nas soluções mais diluídas, como  $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ . De todos os espectros medidos em solução aquosa, na concentração de  $1,0\text{ mmol L}^{-1}$  as diferenças espectrais do Raman quando comparado com o SERS são mínimas; apenas são observadas algumas bandas mais intensas, como as bandas que aparecem em  $308$ ,  $940$  e  $1240\text{ cm}^{-1}$ .

Devido a estas pequenas oscilações nos espectros, sugere-se que o mecanismo químico não seja o predominante na intensificação SERS do IR-820; certamente, há interações químicas entre a superfície e o adsorbato, todavia, estas não são muito fortes. Isto já era de se esperar, devido ao acúmulo de cargas negativas na superfície, já que, tanto o  $\text{Na}_3$ -citrato, agente estabilizante, quanto o IR-820, são aniônicos. Além disto, os grupos com maior possibilidade de interação com a superfície de Ag e Au, as amins ligadas aos anéis aromáticos, sofrem forte impedimento estérico para essa interação.

Para avaliar o desempenho das NPs como substratos SERS têm-se estudado modelos para quantificar o aumento do sinal Raman provocado pela superfície metálica.



Para tanto, devido à sua simplicidade, o modelo escolhido nesse trabalho para o cálculo foi o fator de intensificação analítico, descrito na Equação 14. Como dito anteriormente, o modelo é um resultado intuitivo a respeito do aumento da relação sinal ruído do espectro que, apesar de quantificar a melhoria do sinal na presença das NPs, pode subestimar os resultados. Isto porque o cálculo apenas considera a concentração final da solução e o modelo propõe que todas as partículas presentes em solução contribuem igualmente com a intensificação. Entretanto, as moléculas mais próximas à superfície contribuem mais com o aumento do sinal, pois nesta condição, a contribuição do campo elétrico é maior (Kelly *et al*, 2003); conseqüentemente, a concentração de moléculas envolvidas efetivamente no SERS é menor do que a concentração final da solução e os fatores de intensificação podem ser ainda maiores do que os obtidos por este modelo. Mesmo com alguns desvios embutidos, o modelo nos permite discutir o desempenho das NPs frente ao sistema de estudo de uma maneira rápida e objetiva.

A Tabela 3 mostra os fatores de intensificação calculados para diferentes concentrações do IR-820 (de 0,1 a 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ ) sobre prata e ouro, para três bandas do espectro: 943; 1121 e 1522  $\text{cm}^{-1}$ . Observa-se, através dos AEF, que os espectros do IR-820 em prata apresentam fatores de intensificação SERS maiores que o ouro, provavelmente devido à maior dispersão de tamanhos dos colóides de Ag, cuja geometria pode ser mais favorável à excitação SERS em 1064 nm.

Em concentrações mais baixas o cálculo de AEF resulta em valores muito maiores para o IR-820 adsorvido em Ag, o que demonstra uma forte dependência do modelo de cálculo com a concentração. Essa dependência está ligada às limitações do modelo AEF, pois para concentrações mais baixas, a probabilidade das moléculas estarem próximas à superfície e formarem apenas uma monocamada é maior em comparação com o observado para concentrações mais altas; as moléculas tendem a estar mais próximas à superfície e, assim, contribuir mais com o aumento do sinal devido à maior influência do campo elétrico nas proximidades da superfície (Kelly *et al*, 2003). Por outro lado, em concentrações mais altas muitas moléculas não contribuem efetivamente com a intensificação SERS, devido à distância da superfície, mas são computadas no cálculo, subestimando os valores de intensificação obtidos.

**Tabela 3:** Fatores de intensificação analíticos para diferentes concentrações do IR-820 sobre ouro prata.  $\lambda_0 = 1064\text{nm}$ .

	<i>Concentração (<math>\mu\text{mol L}^{-1}</math>)</i>	<i>Número de onda (<math>\text{cm}^{-1}</math>)</i>	<i>AEF</i>
<i>Au</i>	100	943	11
		1121	9
		1522	9
	10,0	943	63
		1121	39
		1522	86
<i>Ag</i>	100	943	33
		1121	23
		1522	30
	10,0	943	271
		1121	173
		1522	257
1,0	943	2764	
	1121	1809	
	1522	2810	
0,10	943	4270	
	1121	2915	
	1522	4013	

#### 4.3 ANÁLISE DA FORMA E DAS ESPESSURAS DAS CAMADAS DE $\text{SiO}_2$ E $\text{MnO}_2$ SOBRE Au E AgNPs

Devido à LSPR é possível observar uma banda de absorção no espectro UV-Visível de nanoestruturas plasmônicas (Aroca, 2006). Mudanças na geometria, no tamanho e no índice de refração do meio dielétrico em contato com as nanopartículas podem provocar deslocamentos nos máximos de extinção (Kelly *et al*, 2003). Quando há o recobrimento das NPs com óxidos, ocorrem eventuais mudanças nos índices de refração dos coloides pela adição de material diferente do solvente à superfície das nanopartículas, por conseguinte, espera-se que haja um deslocamento progressivo da

banda LSPR à medida que as camadas de óxidos metálicos sobre as nanopartículas se tornam mais espessas (Li *et al.*, 2010).

O primeiro indício da ocorrência do recobrimento das nanopartículas de Ag e Au com óxidos nesse trabalho foi obtido a partir da espectroscopia no UV-Visível, devido aos deslocamentos da banda LSPR. Apesar disso, não foi possível quantificar a espessura das camadas apenas pelo espectro de extinção; para tanto, foram obtidas imagens de microscopia eletrônica de transmissão (TEM) para confirmar o desempenho do recobrimento e obter melhores informações morfológicas sobre estas camadas e determinar a espessura dos óxidos formados.

#### 4.3.1 Óxido de Silício

O estudo da efetividade do recobrimento foi feito, primeiramente, pela espectroscopia de extinção no UV-Visível. Nas Figuras 13 e 14 são mostrados os espectros de extinção para as suspensões de prata e ouro, respectivamente, com e sem recobrimento com óxido de silício para diferentes tempos de reação. Para os coloides de Ag e Au utilizados, os comprimentos de onda dos máximos de extinção são aproximadamente, 440 nm e 540 nm, respectivamente.

A partir dos espectros apresentados nas Figuras 13 e 14, pode-se observar os deslocamentos da banda LSPR dos coloides de NPs@SiO<sub>2</sub> para maiores comprimentos de onda, quando comparados às AgNPs e AuNPs; o deslocamento é variável para os diferentes metais e tempos de reação. O deslocamento da banda LSPR das AgNPs@SiO<sub>2</sub> frente às NPs sem recobrimento é *ca.* de 4 nm; enquanto que para AuNPs@SiO<sub>2</sub> é *ca.* de 10 nm e 14 nm, para as sínteses de 1 e 2 horas de reação, respectivamente. Também há uma variação para os dois metais quanto aos deslocamentos referentes aos diferentes tempos de reação. As bandas correspondentes a 1 e 2 h de reação para as AgNPs@SiO<sub>2</sub> são praticamente coincidentes, os deslocamentos não chegam a 2 nm, enquanto que para as AuNPs@SiO<sub>2</sub> há um deslocamento mais evidente, *ca.* de 4 nm.

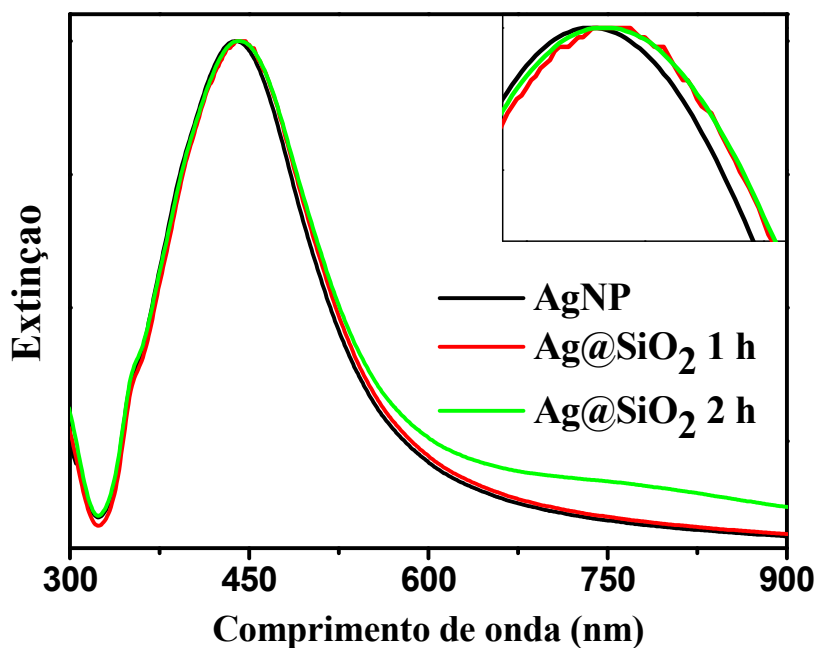


Figura 13: Espectro de extinção das Ag@SiO<sub>2</sub> em diferentes tempos de reação.

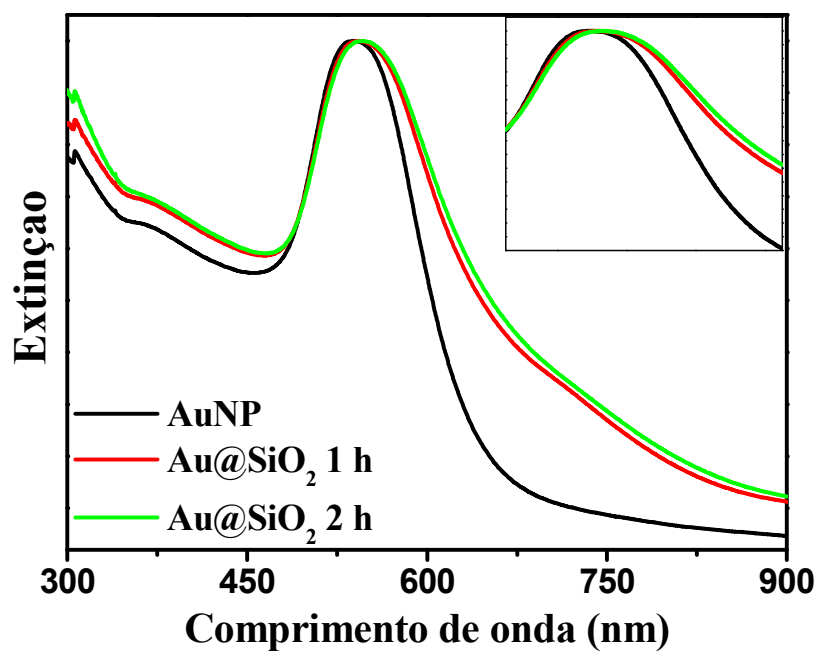


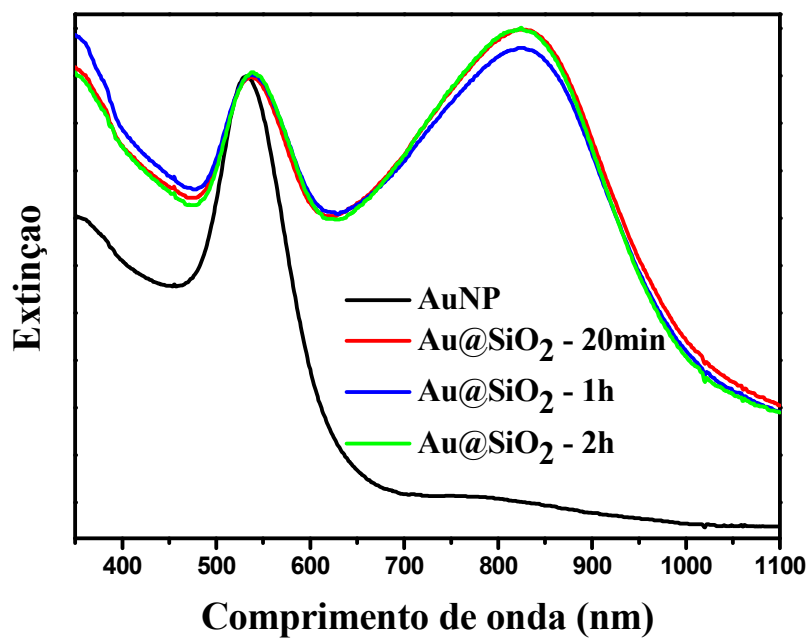
Figura 14: Espectro de extinção das Au@SiO<sub>2</sub>.

O perfil da banda LSPR das AgNPs é quase inalterado após o recobrimento com óxido de silício para a síntese referente a 1 hora de reação; para a síntese de 2 h observa-se uma pequena banda larga em maior comprimento de onda. As AuNPs, apresentam um alargamento da banda de extinção à medida em que se aumenta o tempo de reação. Em geral, quanto maior a dispersão de tamanhos das nanopartículas em suspensão,

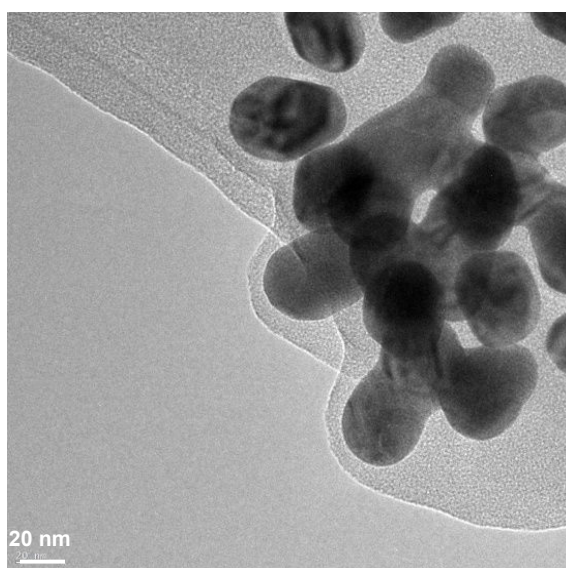
maior a largura da banda no espectro UV-Visível. Durante o recobrimento com óxido de silício pode haver a formação de partículas de tamanhos diferentes oriunda da interação interpartículas, que pode levar à formação de agregados de nanopartículas; por este aumento na diversidade de tamanhos a banda LSPR é alargada.

Os deslocamentos da banda LSPR para maior comprimento de onda são indicativos da formação da camada de óxido; com o aumento da espessura da camada nominal, com o tempo de reação, estes deslocamentos devem ser ainda maiores. Ao comparar os espectros representados pelas Figuras 13 e 14 eram esperados deslocamentos mais robustos da banda LSPR com os diferentes tempos de reação (Anema *et al*, 2011). Acredita-se que a reação pode ser mais rápida no início e, posteriormente, ser tão lenta que as mudanças na formação da camada não são percebidas.

Um comportamento atípico e bastante interessante foi observado em alguns espectros de extinção das AuNP@SiO<sub>2</sub>: o aparecimento de outra banda LSPR em maior comprimento de onda, como mostra a Figura 15; esta banda é característica da formação de NPs maiores. O recobrimento pode não ocorrer nas NPs individualmente, mas em um aglomerado de NPs, formando *clusters*, cuja estrutura leva ao acoplamento dos *plasmons* de superfície das NPs e à formação de NPs maiores (Aroca, 2006), como foi confirmado por imagens de TEM, como mostrado na Figura 16. Este acoplamento contribui com a intensificação do campo elétrico local. Por esta razão, este resultado pode ser bastante significativo, pois pode permitir minimizar a perda do sinal SERS, oriunda do distanciamento entre o adsorbato e a superfície do metal pela camada dielétrica.



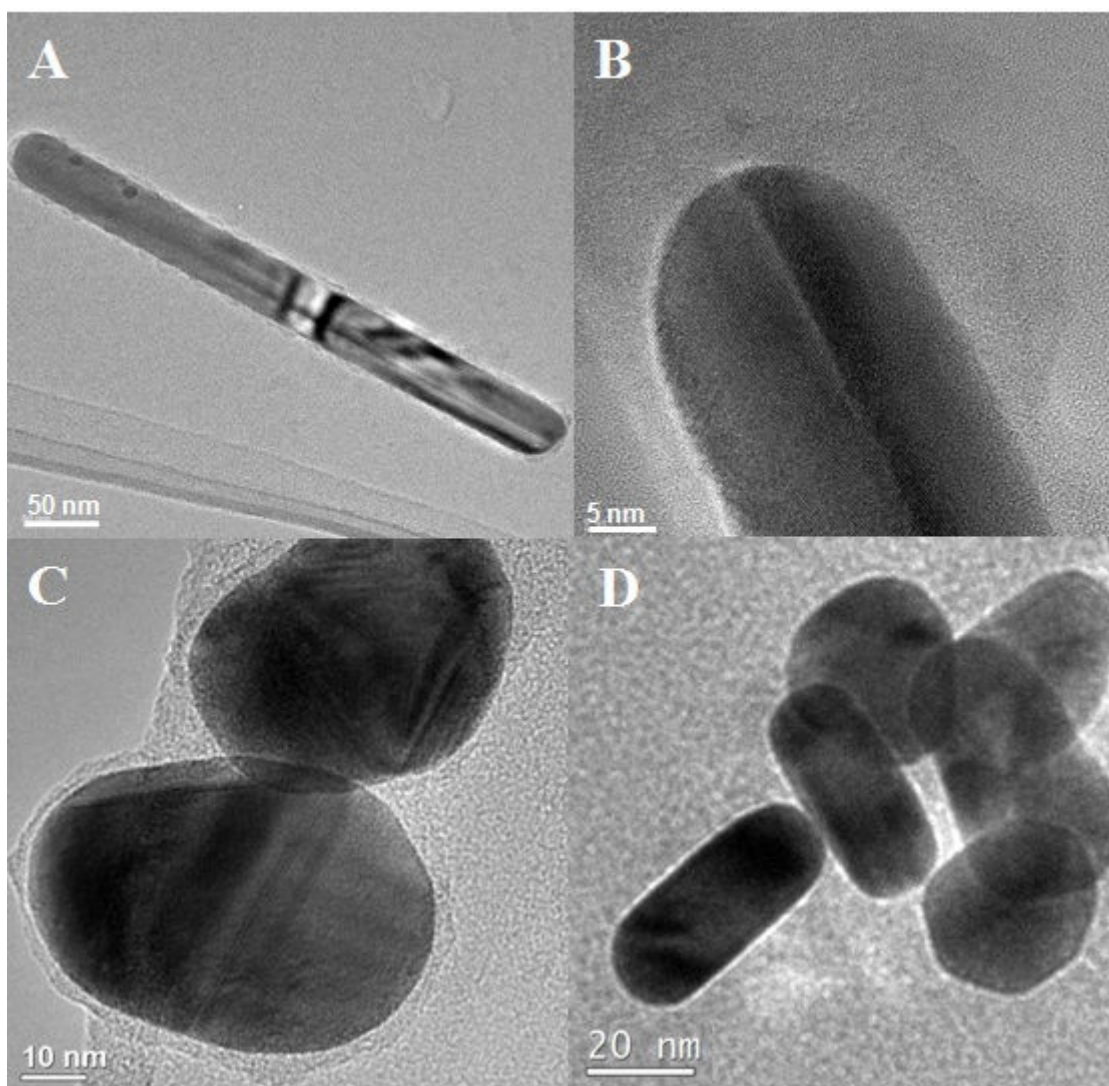
**Figura 15:** Espectro de extinção Au@SiO<sub>2</sub> com diferentes tempos de reação.



**Figura 16:** Microscopia eletrônica de transmissão para Au@SiO<sub>2</sub>.

A quantificação da espessura da camada de óxidos e análise morfológica das NPs@SiO<sub>2</sub> foi feita através da TEM, cujas informações estruturais são bastante ricas. Pelas micrografias, foi possível determinar os tamanhos e geometrias das NPs sintetizadas, a efetividade do recobrimento e as espessuras das camadas formadas ao redor das AgNPs e AuNPs.

As Figuras 17 (A) e (B) mostram as micrografias das  $\text{Ag@SiO}_2$  e as micrografias das sínteses de  $\text{Au@SiO}_2$  estão explícitas nas Figuras 17 (C) e (D). Na TEM como é medida a intensidade do feixe de elétrons transmitida, os pontos mais escuros representam os átomos ou moléculas com maior massa molar. Assim, observamos na Figura 17 que as formas mais escuras são referentes às nanopartículas de prata e ouro. Ao redor destas estruturas nota-se uma fina camada mais clara que as NPs e mais brilhantes do que o fundo da imagem que contornam as NPs que são atribuídas ao recobrimento com óxido de silício.



**Figura 17:** Microscopia Eletrônica de Transmissão (A)  $\text{Ag@SiO}_2$  6nm; (B)  $\text{Ag@SiO}_2$  2 nm e (C)  $\text{Au@SiO}_2$  2nm e (D)  $\text{Au@SiO}_2$  2,5nm.

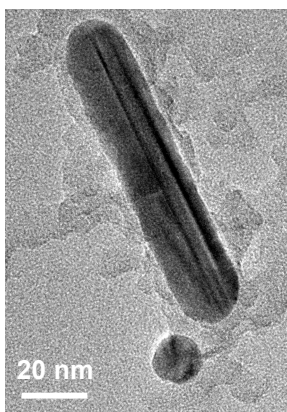
As camadas de  $\text{SiO}_2$  são claramente percebidas nas microscopias e bastante definidas ao redor das NPs. Alguns valores aproximados das espessuras das camadas

foram medidos a fim de avaliar a precisão do recobrimento e os possíveis interferentes no controle da espessura como, por exemplo, a relação com o tempo de reação.

Nas imagens referentes às sínteses de prata recobertas com SiO<sub>2</sub>, Figuras 17 (A) e (B), as camadas medidas foram aproximadamente 6 nm e 2 nm, respectivamente; para o ouro, Figuras 17 (C) e (D), estes valores foram mais próximos 2 nm e 2,5 nm. Estes resultados apesar de ligeiramente diferentes, são bastante coerentes com os da literatura, cujos valores estimados para estas sínteses são de 4 a 6 nm (Li *et al.*, 2010).

É de se esperar que as espessuras sejam bastante próximas, como no caso das Au@SiO<sub>2</sub>, já que trata-se do mesmo procedimento experimental. No caso das Ag@SiO<sub>2</sub> a variação foi um pouco maior. Essa variação é observada em diversas imagens de microscopia, nas quais, nem sempre são observados recobrimentos uniformes; entretanto, de modo geral, quando há formação das camadas, estas são bem definidas ao redor das NPs e têm espessuras médias similares. Uma possibilidade para a variação da espessura da camada de óxido é que os reagentes podem não ter sido consumidos totalmente na solução e a reação continuar à temperatura ambiente de maneira não-homogênea devido à presença de nanopartículas com diferentes tamanhos que poderiam servir de maneiras diferentes como centros de crescimento; as variações na espessura seriam de poucos nanômetros porque nesta condição a reação é muito mais lenta.

A Figura 18 apresenta uma micrografia de AgNPs recobertas com óxido de silício ilustrando a dispersão de tamanhos e de forma das nanopartículas. Como discutido na literatura esta síntese apresenta *ca.* de 20% de bastões com tamanhos variados, que podem chegar a 400 nm de comprimento (Hildebrandt, Stockburger, 1984), como a NP representada na Figura 17 (A) e 80% de esferas, como mostra a Figura 18. Este resultado justifica o bom desempenho das nanopartículas de prata, recobertas ou não, com excitação em 1064 nm.



**Figura 18:** TEM de Ag@SiO<sub>2</sub>.



### 4.3.2 Óxido de Manganês

Diferentemente das sínteses de óxido de silício, a espessura da camada nominal de  $\text{MnO}_2$  depende das concentrações de reagente (Lin *et al.*, 2012). Para estudar essa variação foram feitos os espectros de extinção de Ag e AuNPs, recobertas com óxido de manganês que seguem nas Figuras 19 e 20, respectivamente; nas quais estão descritas as espessuras das camadas nominais, cujos valores constam na Tabela 1 (Lin *et al.*, 2012). Além do deslocamento da banda do *plasmon*, há outro indicativo da formação de  $\text{MnO}_2$ : o aumento da absorbância na região próxima a 380 nm, já que o óxido de manganês absorve nesta região (Lin *et al.*, 2012). À medida que a concentração de permanganato adicionado e, conseqüentemente, a espessura da camada de óxido de manganês aumenta, este ombro torna-se mais intenso. Este resultado é mais facilmente observado na Figura 20, na qual as diferenças nas espessuras são mais visíveis e, portanto, mais fácil de perceber as variações espectrais.

A partir da Figura 19 podemos observar o deslocamento da banda LSPR para o vermelho quando as nanopartículas de Ag são recobertas; a variação é de apenas 8 nm, o que era de se esperar, já que se almeja que a camada nominal tenha espessura de *ca.* de 1,2 nm, não sendo, portanto, muito espessa, a ponto de provocar grandes mudanças na banda do *plasmon*. A obtenção de camadas diferentes, como por exemplo de 10 nm, não foi possível nos colóides de Ag. Nestas sínteses, muitas vezes eram formados flocos brancos devido à formação de oxalato de prata (Vogel, 1981) e a agregação dos colóides era bastante frequente neste caso.

O recobrimento das AuNPs foi mais simples do que para a prata; essas suspensões se mostraram mais estáveis frente aos reagentes em questão, o que permitiu a obtenção de resultados mais variados e a possibilidade de formação de camadas mais espessas. A Figura 20 mostra os espectros de extinção das AuNPs@ $\text{MnO}_2$  referentes às espessuras de 2,5 e 10 nm. Nota-se que o deslocamento é bastante acentuado para as diferentes camadas, como era de se esperar para tamanhos maiores.

É interessante notar também que o perfil das bandas LSPR antes e após o recobrimento tanto para a prata quanto para o ouro é praticamente inalterado; ocorrem apenas algumas mudanças características da formação de  $\text{MnO}_2$ , como o aumento da absorbância em menor comprimento de onda e os deslocamentos dos máximos referentes às variações dos índices de refração. Em nenhum dos espectros obtidos houve alargamento acentuado das bandas ou a formação de outras bandas. Além disto, nos

espectros das NPs@MnO<sub>2</sub> observa-se um deslocamento progressivo do máximo de extinção bem mais marcante que para as NPs@SiO<sub>2</sub>.

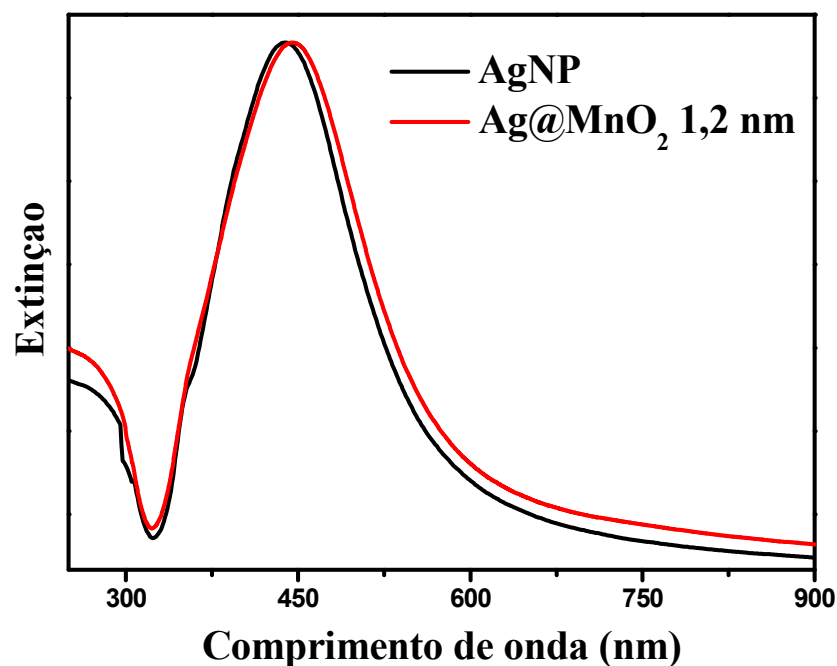


Figura 19: Espectro de extinção das Ag@MnO<sub>2</sub> de espessura 1,2 nm.

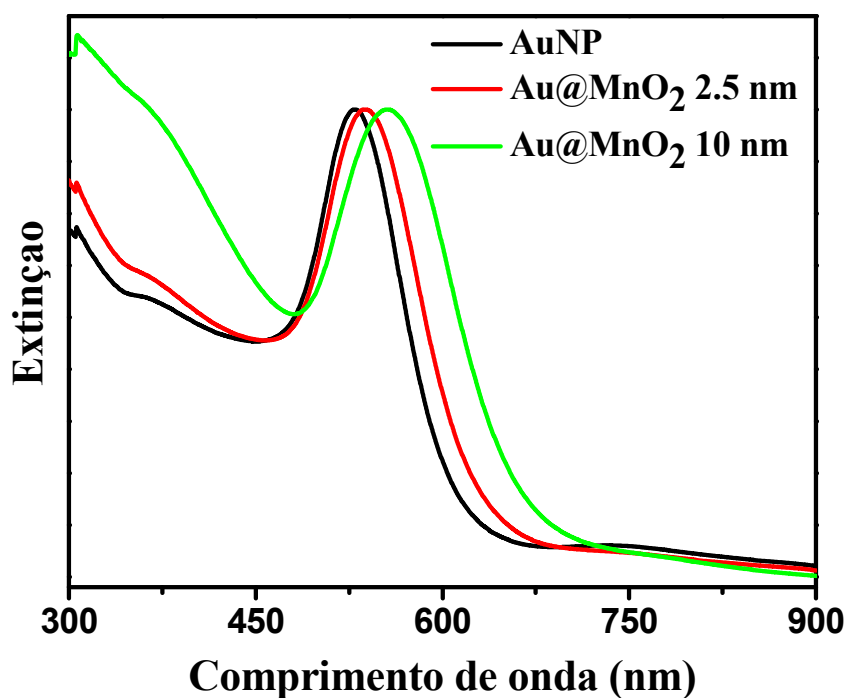


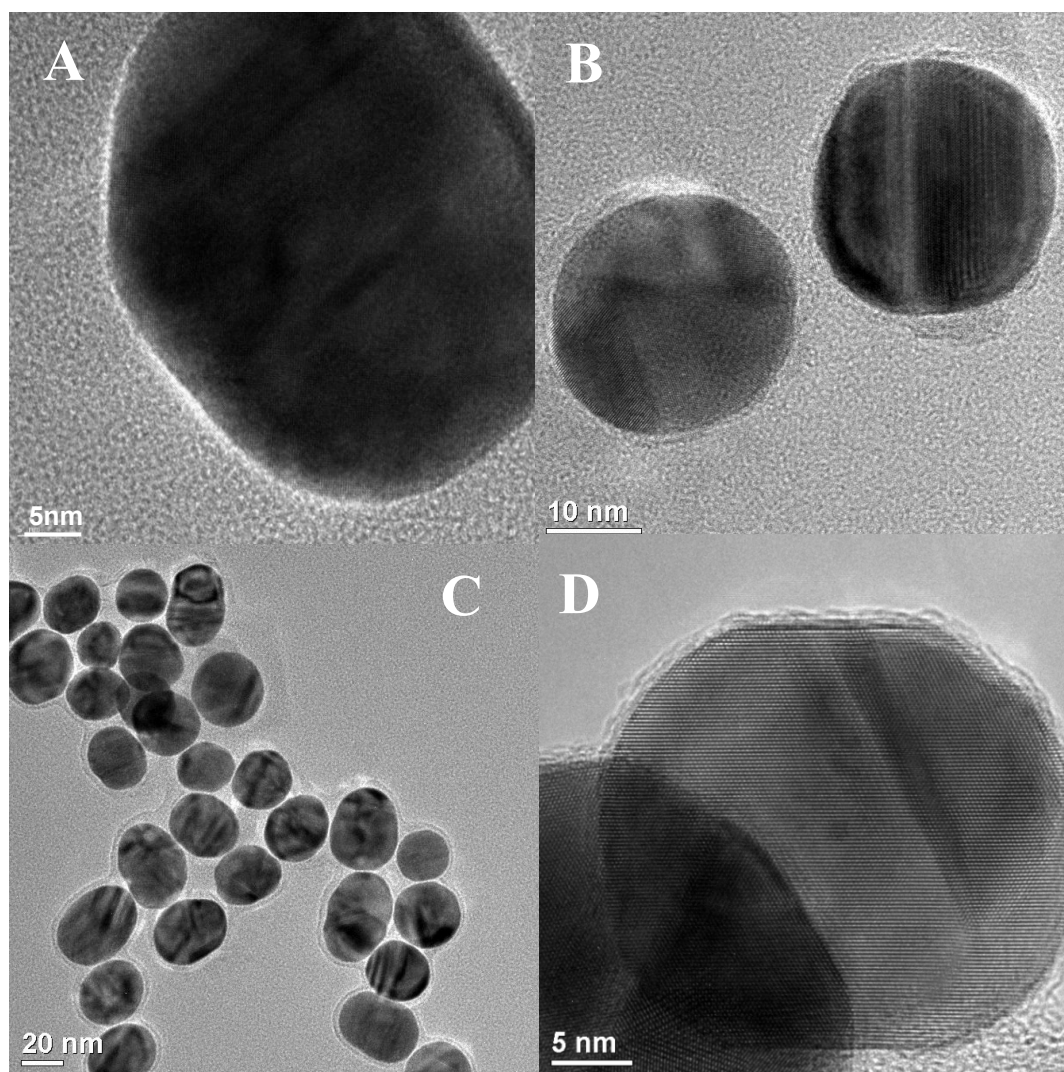
Figura 20: Espectro de extinção das Au@MnO<sub>2</sub> em diferentes tamanhos.

As Figuras 21 e 22 mostram as micrografias de nanopartículas de ouro e prata, respectivamente, recobertas com óxido de manganês. Assim como discutido para as

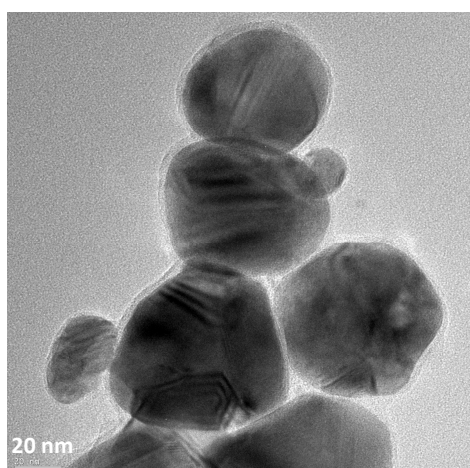
NPs@SiO<sub>2</sub>, as camadas são representadas pela região mais clara ao redor da região mais escura, representada pelas NPs. É interessante notar que as camadas de MnO<sub>2</sub> são nitidamente percebidas nas microscopias e bastante definidas ao redor das NPs. A Figura 21 (C) mostra que o recobrimento das Au@MnO<sub>2</sub> é bastante uniforme; observa-se que há um conjunto de NPs recobertas, sendo que, o recobrimento ocorre em cada uma delas individualmente, mantendo suas características morfológicas, o que deve resultar na conservação do *plasmon* de superfície de cada uma. Por esta razão, não foi observada a banda em maior comprimento de onda nos espectros de extinção, como aconteceu nas nanopartículas recobertas com óxido de silício, já que não houve agregação dos coloides e, portanto, grande dispersão de tamanhos.

Foram medidas as espessuras médias das camadas apresentadas nas imagens de microscopia que variaram de 1,2 a 2,5 nm. As Figuras 21 e 22 se referem a sínteses submetidas às mesmas condições experimentais, tal que, as concentrações utilizadas neste caso foram referentes às sínteses de 2,5 nm. Portanto, era de se esperar que todas as espessuras fossem em torno de 2,5 nm. Em algumas micrografias, referentes às AuNPs recobertas, as espessuras variaram *ca.* 1 nm; estas mudanças podem ser associadas a concentrações locais diferentes, ou seja, ao adicionar os reagentes, eles não são dispersos de maneira homogênea e o crescimento da camada é diferente em diferentes regiões das amostras.

A obtenção das imagens de Ag@MnO<sub>2</sub> foi mais difícil do que as de ouro, devido à dificuldade de obtenção destes materiais. Na Figura 22 também é possível verificar um recobrimento nítido e uniforme ao redor das nanopartículas. Pelas microscopias não foi detectada a formação de bastões, mas a dispersão de tamanhos nas AgNPs recobertas com óxido de manganês foi maior. Assim, como nas AuNPs@MnO<sub>2</sub> o recobrimento das NPs ocorreu nas NPs individualmente e não observou-se a formação de agregados.



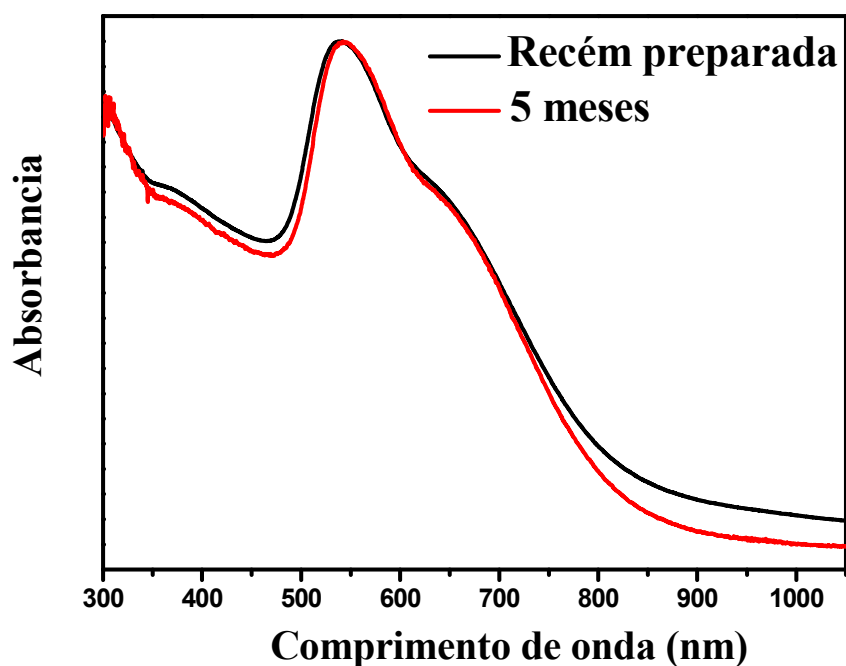
**Figura 21:** Microscopia eletrônica de transmissão das  $\text{Au@MnO}_2$  com espessuras de aproximadamente, (A) 1,2 nm; (B) 2,5; (C) 2,5 e (D) 1,5 nm.



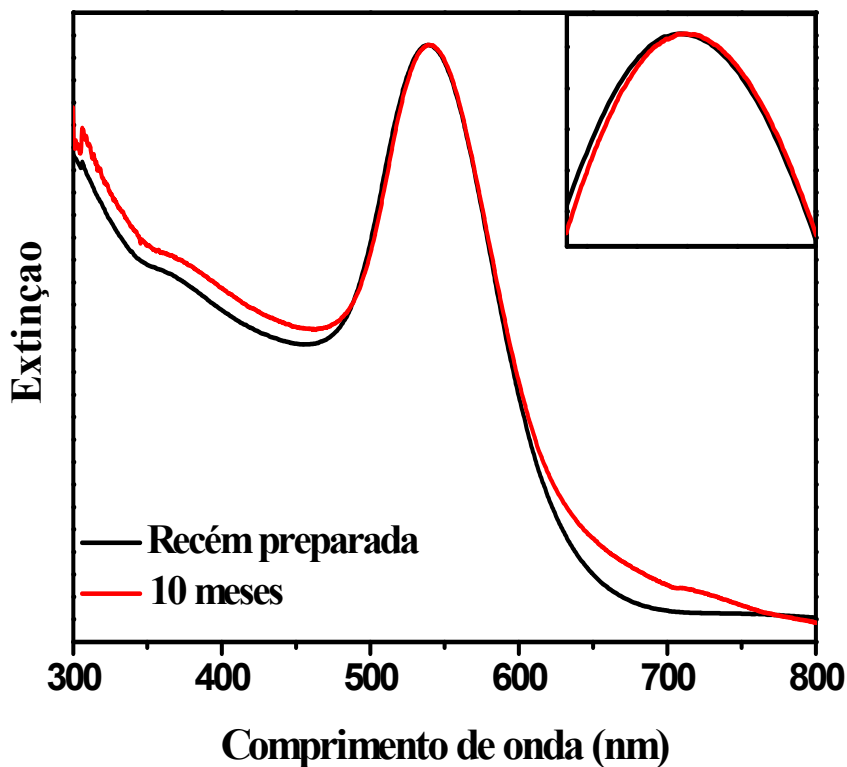
**Figura 22:** Microscopia eletrônica de transmissão das  $\text{Ag@MnO}_2$  com 2,5 nm de espessura.

#### 4.4 ESTABILIDADE DAS NPs COM O TEMPO

Uma das variações das propriedades mais interessantes melhoradas com a proteção das NPs com camadas dielétricas é o ganho em estabilidade que estas novas estruturas podem ter. Muitos desses coloides mantiveram-se visualmente inalterados ao longo de diversos meses quando conservados a 4°C; tal que a coloração continuava vermelha no caso das Au@MnO<sub>2</sub> ou levemente lilás para as Au@SiO<sub>2</sub> e sem qualquer indício de precipitação. Para verificar a estabilidade das SHINs com o tempo foram feitos os espectros no UV-visível de amostras de Au@SiO<sub>2</sub> e Au@MnO<sub>2</sub> após 5 e 10 meses do seu preparo, que estão dispostos nas Figuras 23 e 24, respectivamente. Os espectros referentes a Au@SiO<sub>2</sub> na Figura 23 mantêm o mesmo perfil de banda; entretanto a banda LSPR desloca *ca.* de 2 nm após 5 meses. O mesmo ocorre para as Au@MnO<sub>2</sub>, como pode ser visto na Figura 24: o perfil da banda LSPR é praticamente inalterado, mas há um deslocamento de *ca.* de 2 nm e um aumento na absorbância próximo a 300 nm característico do aumento de MnO<sub>2</sub> em solução.



**Figura 23:** Espectro de extinção das Au@SiO<sub>2</sub> recém-preparadas e após 5 meses do preparo.



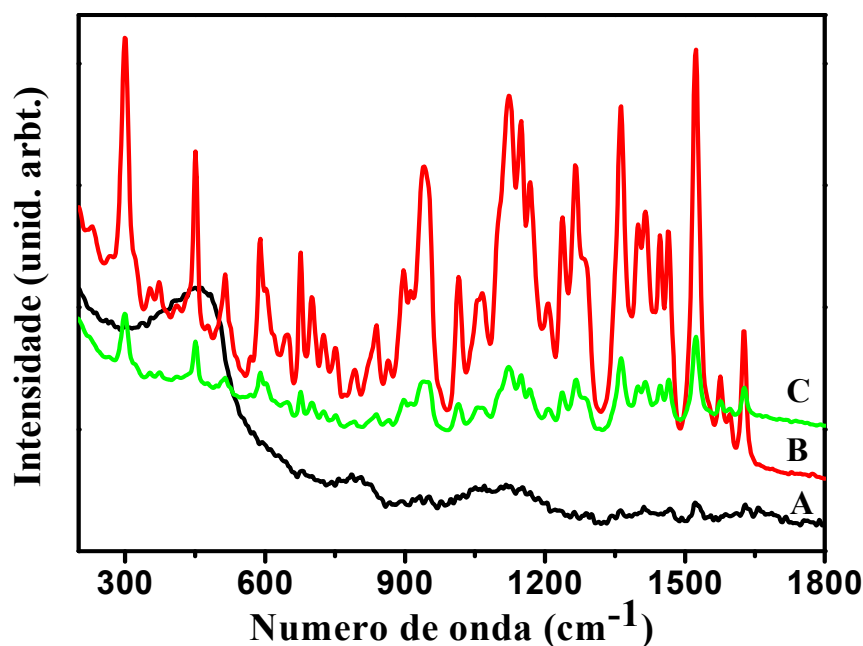
**Figura 24:** Espectro de extinção das Au@MnO<sub>2</sub> recém-preparada e após 10 meses do preparo.

O deslocamento da banda LSPR com o tempo indica que a reação de recobrimento pode ter continuado lentamente após a retirada do banho reacional. Isso ocorreu porque as nanopartículas recobertas não foram separadas da solução de recobrimento e mudanças nas espessuras das camadas podem ocorrer devido a reagentes remanescentes nesta solução após a preparação. Após levar em conta a possível variação de espessura com o tempo de armazenamento, verifica-se, por outro lado, que o resultado apresentado é indicativo da alta estabilidade das NPs recobertas com o tempo, já que não se observam indícios de agregação.

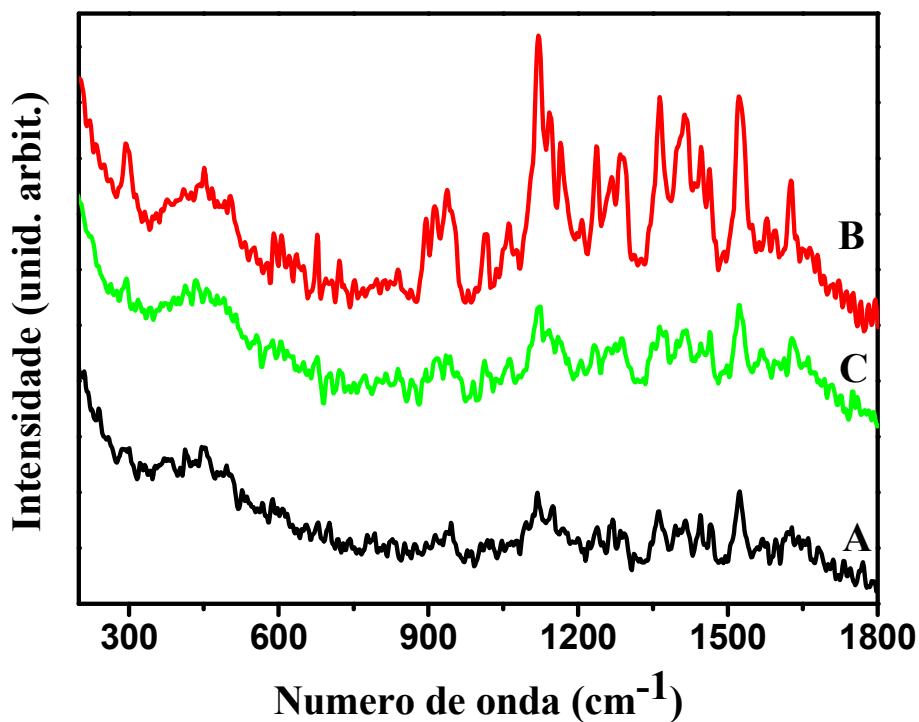
#### 4.5 SHINERS X RAMAN

As camadas dielétricas dos óxidos de silício e manganês minimizam a interação química dos analitos com as NPs; por esta razão, espera-se que o mecanismo químico não seja muito relevante neste caso e, portanto, que não haja variações significativas nos espectros da molécula livre. Sabe-se ainda que a intensificação provocada pelo campo eletromagnético diminui com a distância em relação à superfície (Pieczonka, Aroca, 2005), mas para camadas ultrafinas a diminuição pode ser menos significativa e o aumento do sinal Raman é observado (Li *et al*, 2010).

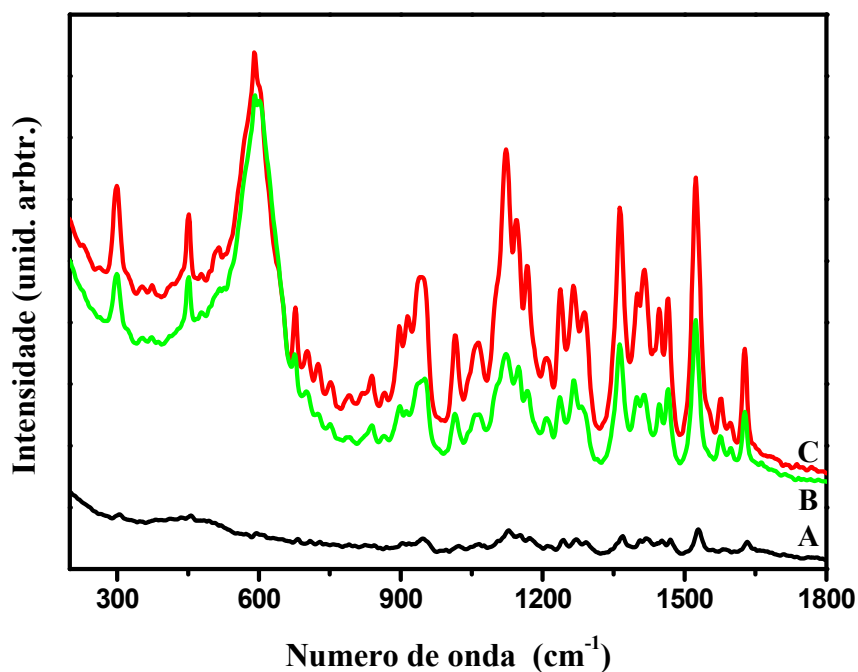
Nas Figuras 25 e 26 são mostrados os espectros SHINERS do IR-820 adsorvido em Ag@SiO<sub>2</sub> e Au@SiO<sub>2</sub>, respectivamente, com tempos de reação correspondentes a 1 e 1,5 horas, que sugerem diferentes espessuras para as camadas de óxidos. As Figuras 27 e 28 apresentam os espectros SHINERS do IR-820 sobre Ag@MnO<sub>2</sub> e Au@MnO<sub>2</sub> com camadas de espessuras nominais de 1,2 e 2,5 nm, respectivamente. Comparando os espectros Raman do IR-820 com o SHINERS, em todos os substratos testados, não são observadas fortes variações tanto de número de onda quanto de intensidade relativa em relação aos espectros SERS do corante em concentrações mais altas (maiores que 100 μmol L<sup>-1</sup>). Em soluções mais diluídas, as diferenças espectrais tornam-se mais acentuadas, pois o sinal Raman do IR-820, neste caso, é pouco intenso e muitas bandas não são observadas nos espectros SHINERS.



**Figura 25:** Espectros (A) Raman do IR-820 multiplicado por 5 e SHINERS do corante (10 μmol L<sup>-1</sup>) em Ag@SiO<sub>2</sub> com (B) 1 h e (C) 1,5 h de reação.  $\lambda_0 = 1064$  nm.

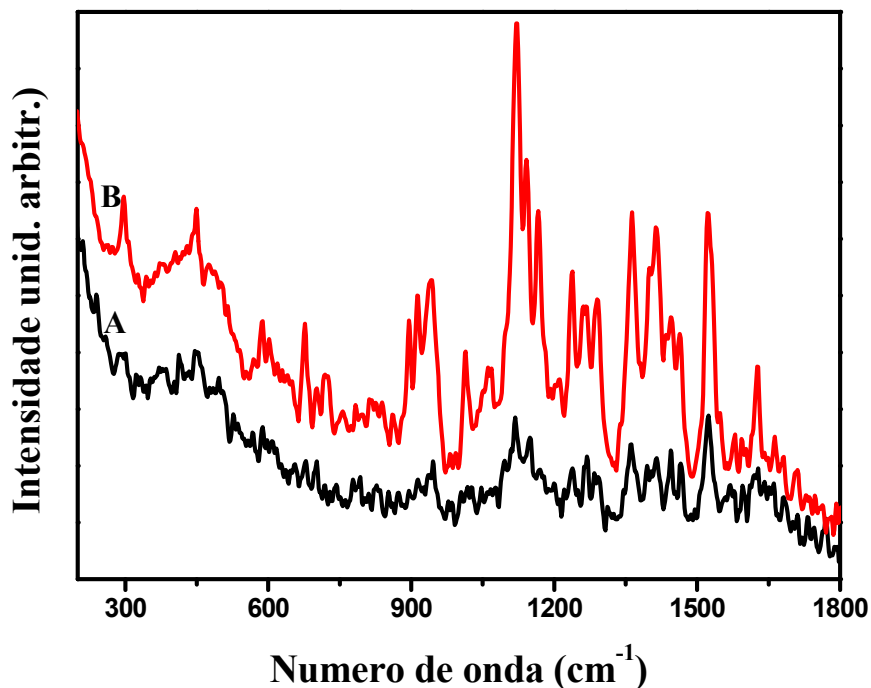


**Figura 26:** Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e SHINERS do corante  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  em  $\text{Au@SiO}_2$  com (B) 1 h e (C) 1,5 h de reação.  $\lambda_0 = 1064 \text{ nm}$ .



**Figura 27:** Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e SHINERS do corante adsorvido em  $\text{Ag@MnO}_2$  com camadas nominais de 1,2 nm em diferentes concentrações (B)  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e (C)  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ .  $\lambda_0 = 1064 \text{ nm}$ .





**Figura 28:** Espectros (A) Raman do IR-820 em solução aquosa  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  e (B) SHINERS do corante  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  adsorvido em  $\text{Au@MnO}_2$  com camadas nominais de 2,5 nm.  $\lambda_0 = 1064 \text{ nm}$ .

As nanopartículas de prata recobertas apresentam relação sinal/ruído bem maior que respectivas sínteses de ouro. Nos espectros em discussão, observa-se que algumas bandas praticamente não aparecem ou são muito fracas nas AuNPs recobertas e são bastante intensas nas AgNPs@Óxidos. Assim, quando comparamos o espectro do corante em solução com a resposta aos diferentes substratos SHINERS, observamos algumas variações pontuais.

Na região de  $450 \text{ cm}^{-1}$ , aparece uma banda bastante larga e bem pouco intensa nas Figuras 26 e 28, a qual aparece nas Figuras 25 e 27 com intensidade relativa maior. Algumas mudanças nas intensidades relativas também ocorrem. No espectro do IR-820 em solução aquosa na concentração de  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$  a banda mais forte do aparece próxima a  $1522 \text{ cm}^{-1}$ ; o mesmo observa-se nos espectros de  $\text{Ag@SiO}_2$ , na Figura 26. Entretanto, quando comparamos os espectros referentes às  $\text{Au@SiO}_2$  e  $\text{Au@MnO}_2$  a banda mais intensa em ambos ocorre em  $1122 \text{ cm}^{-1}$ . No caso das  $\text{Ag@MnO}_2$ , Figura 27, a banda em  $590 \text{ cm}^{-1}$  aparece como a mais forte, ao passo que, em nenhum dos outros espectros isto é observado. O perfil da banda em  $590 \text{ cm}^{-1}$  também é muito alterado quando comparado aos outros espectros do IR-820 apresentados. Esta região,

aproximadamente  $580\text{ cm}^{-1}$ , é característica do estiramento Mn-O (Buciuman *et al*, 1999) para o  $\beta$ -MnO<sub>2</sub>; desta forma, este modo pode estar acoplado à deformação angular dos anéis e, por isso, o perfil da banda é consideravelmente modificado.

Apesar de serem observadas algumas mudanças nos espectros, em geral, não há deslocamentos das bandas correspondentes à molécula livre ou surgimento de novas bandas exceto as citadas e atribuídas à camada de MnO<sub>2</sub>, oriundas da interação do adsorbato com a superfície. As diferenças percebidas são pequenas variações nos perfis das bandas como:  $590$ ,  $1122$  e  $1238\text{ cm}^{-1}$  que são mais intensificadas nas superfícies de Ag@MnO<sub>2</sub>, Au@SiO<sub>2</sub>, Ag@SiO<sub>2</sub>. Estas alterações podem ser derivadas de pequenas variações da geometria de adsorção, pois o sinal depende da orientação da molécula sobre a superfície, tal que os modos vibracionais perpendiculares ao plano da superfície são os mais intensificados; como as variações de intensidade relativa são pequenas, as modificações nas geometrias de adsorção são consideradas pequenas.

O sinal Raman do corante aumenta em relação ao espectro da solução na presença de todas as NPs recobertas, como mostram as Figuras 25, 26, 27 e 28. As AgNPs recobertas apresentam maior desempenho do que as AuNPs com excitação em  $1064\text{ nm}$ ; esse melhor desempenho das nanopartículas de Ag@Óxidos pode ser interpretado considerando que a formação de uma parcela apreciável de partículas maiores que a média na suspensão de prata favorece a ressonância com a radiação excitante, assim implicando em maior intensidade SERS para a IR-820. Na presença das AgNPs@SiO<sub>2</sub> e AgNPs@MnO<sub>2</sub> foi possível a detecção do sinal do IR-820 na concentração de  $10,0\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ , mostrando-se mais sensíveis que as respectivas sínteses que envolveram AuNPs, cuja menor concentração detectável por SHINERS foi  $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$ . Comparando as sínteses recobertas com SiO<sub>2</sub> com as recobertas com MnO<sub>2</sub>, referentes aos mesmos metais, nota-se que nas primeiras o sinal é ainda mais intenso.

Nas Figuras 25 e 26 são apresentados os espectros SHINERS para sínteses com 1 e 1,5 horas de reação. É importante perceber que ocorre uma queda da intensidade Raman da primeira para a segunda, indicando que o aumento da espessura da camada nominal provoca perda do sinal. É interessante reportar que os espectros referentes às sínteses com 1,5; 2,0 e 2,5 horas são praticamente idênticos, tal que não são observadas mudanças apreciáveis em intensidade ou perfil espectral. Este resultado corrobora a hipótese de que o recobrimento é mais efetivo no início da reação e, em dado momento, esta é tão lenta que as mudanças não são observadas com aumento do tempo de reação.

As Tabelas 4 e 5 apresentam os fatores de intensificação SHINERS para as NPs@SiO<sub>2</sub> e NPs@MnO<sub>2</sub>, respectivamente. Quando comparamos os AEF para as sínteses recobertas com óxido de silício, observa-se uma diminuição considerável dos valores com o aumento do tempo de reação de 1 hora para 1,5 horas, *ca.* de 75% para as Ag@SiO<sub>2</sub> e 30% para as Au@SiO<sub>2</sub>, devido às perdas em intensidade provocadas pelo distanciamento da superfície. Também não há variações apreciáveis dos AEF das sínteses com tempo superior a 1,5 horas de reação; estas mudanças são em torno de 10% e são relativamente baixas frente à queda de 75% para as sínteses de 1 e 1,5 horas.

**Tabela 4:** Fatores de intensificação analíticos para as NPs@SiO<sub>2</sub>

<i>SHINERS</i>	<i>Tempo de reação (horas)</i>	<i>Número de onda (cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>Fator de Intensificação (x100)</i>
<i>Ag@SiO<sub>2</sub> + IR-820 10,0 μmol L<sup>-1</sup></i>	1	943	0,46
		1121	0,34
		1522	0,40
	1,5	943	1,2
		1121	7,4
		1522	9,6
	2	943	1,0
		1121	6,3
		1522	8,2
2,5	943	1,0	
	1121	6,6	
	1522	8,4	
<i>Au@SiO<sub>2</sub> + IR-820 100 μmol L<sup>-1</sup></i>	1	943	4,7
		1121	5,2
		1522	4,4
	1,5	943	1,3
		1121	1,5
		1522	9,0

Em diversos experimentos realizados, o desempenho SHINERS das NPs recobertas com óxido de silício foi maior do que as de óxido de manganês. Devido às

dificuldades na metodologia experimental, a otimização das NPs@MnO<sub>2</sub> foi dificultosa; apesar dos resultados apresentados serem reprodutíveis, não foi possível avaliar com detalhes os efeitos da espessura da camada deste óxido e otimizar o desempenho SHINERS para esse tipo de recobrimento.

**Tabela 5:** Fatores de intensificação analíticos para as NPs@MnO<sub>2</sub>

<i>SHINERS</i>	<i>Número de onda (cm<sup>-1</sup>)</i>	<i>Fator de intensificação SHINERS</i>
<i>Ag@MnO<sub>2</sub> 1,2 nm +IR-820 100 μmol L<sup>-1</sup></i>	943	14
	1121	10
	1522	14
<i>Ag@MnO<sub>2</sub> 1,2 nm + IR-820 10,0 μmol L<sup>-1</sup></i>	943	28
	1121	21
	1522	30
<i>Au@MnO<sub>2</sub> 2,5 nm + IR-820 100 μmol L<sup>-1</sup></i>	943	6,0
	1121	6,0
	1522	5,0

É interessante observar que os valores de AEF das três bandas nas Tabelas 4 e 5 apresentam valores com diferenças de até *ca.* 40%, o que implica em uma dependência com o modo vibracional para a intensificação SERS; por outro lado, todas as bandas apresentam fatores de intensificação na mesma ordem de grandeza para cada espessura de óxido. Nas Ag@SiO<sub>2</sub> a banda mais intensificada em todos os tempos de reação descritos é a de 943 cm<sup>-1</sup>; nas Au@SiO<sub>2</sub> a maior intensificação ocorre em 1121 cm<sup>-1</sup>; Ag@MnO<sub>2</sub> e Au@MnO<sub>2</sub>, as variações são sutis, mas as maiores intensificações ocorrem em 1522 e 1121 cm<sup>-1</sup>, respectivamente. As bandas em 943 e 1121 cm<sup>-1</sup> são atribuídas a deformações angulares do CH da cadeia conjugada e dos anéis, respectivamente; enquanto que a banda em 1522 cm<sup>-1</sup> é atribuída ao estiramento CC dos anéis. Possivelmente, os grupos associados à ressonância da cadeia carotenoide com os anéis são preferencialmente adsorvidos perpendicularmente às superfícies metálicas em questão, uma vez que as bandas atribuídas os modos vibracionais no plano desses grupos foram as que sofreram maior intensificação SERS.

Pequenos distanciamentos da superfície provocam uma queda substancial da intensificação do sinal Raman, uma vez que existe uma dependência com  $d^{-10}$  (Pieczonka, Aroca, 2005); para avaliar a perda provocada pela camada dielétrica, podemos comparar os valores obtidos para o SERS com os dados descritos nesta seção. As Au e AgNPs sem recobrimento mostraram-se mais sensíveis, tal que, as concentrações detectadas, como 1 e 0,1  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , são ainda inimagináveis para as NPs recobertas. A Tabela 6 mostra uma comparação entre os resultados SERS e SHINERS do IR-820 100  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . Neste caso, o que se observa é que o desempenho da NPs@SiO<sub>2</sub> são surpreendentes; nas condições discutidas os maiores fatores de intensificação são obtidos nestas superfícies.

**Tabela 6:** Comparação entre os AEF SHINERS e SERS

	<i>Número de onda</i> ( $\text{cm}^{-1}$ )	<i>Fator de</i> <i>Intensificação</i>
<i>AgNP</i> + <i>IR-820 10 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	271
	1121	173
	1522	257
<i>Ag@SiO<sub>2</sub></i> + <i>IR-820 10 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	463
	1121	343
	1522	396
<i>Ag@MnO<sub>2</sub></i> + <i>IR-820 10 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	28,0
	1121	21,0
	1522	30,0
<i>AuNP</i> + <i>IR-820 100 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	11,0
	1121	9,00
	1522	9,00
<i>Au@SiO<sub>2</sub></i> + <i>IR-820 100 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	47,0
	1121	52,0
	1522	44,0
<i>Au@MnO<sub>2</sub></i> + <i>IR-820 100 <math>\mu\text{mol L}^{-1}</math></i>	943	6,00
	1121	6,00
	1522	5,00

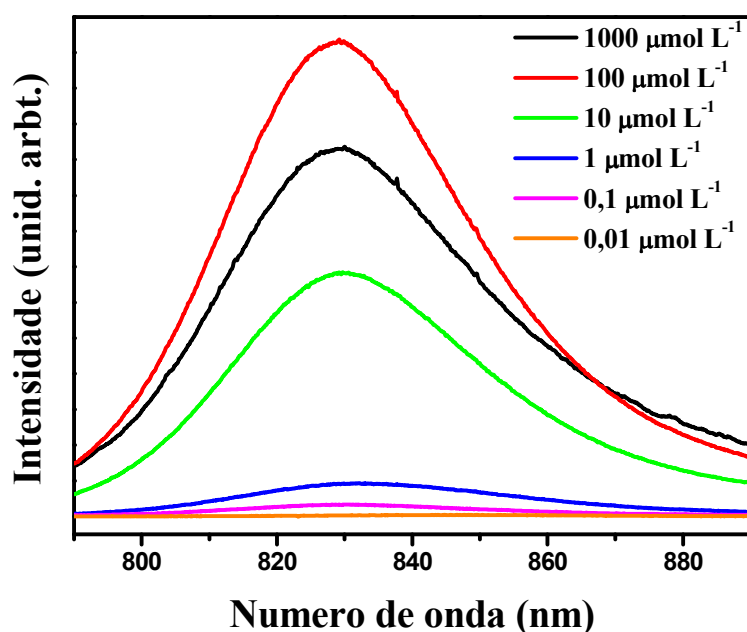
Não era de se esperar, em qualquer condição, que o sinal SHINERS fosse maior do que o SERS. Contudo, esta observação pode estar relacionada a vários efeitos, como a agregação dos colóides durante o recobrimento e, sobretudo à maior adsorção de corante nas superfícies recobertas, já que a rugosidade da camada de óxido é maior do que das NPs metálicas. O desempenho SERS é muito mais intenso do que o SHINERS em concentrações mais baixas, mas em soluções mais altas, o SHINERS é maior. O recobrimento das nanopartículas metálicas pode favorecer a formação de *clusters* de tamanhos maiores e as camadas de óxido são mais rugosas do que as superfícies do metal; assim, a área superficial real das NPs@Óxidos é maior e apresenta mais sítios de adsorção. Desta maneira, o número de moléculas adsorvidas nestas superfícies é maior do que nas AuNPs e AgNPs sem recobrimento e a saturação dos sítios de adsorção ocorre em concentrações mais altas nas NPs@Óxidos, que evita perda do sinal oriunda de fatores como reabsorção das moléculas livres em solução.

#### 4.6 SHINEF X FLUORESCÊNCIA

Ao contrário do espalhamento Raman, que intensifica o sinal do adsorbato em contato direto com materiais plasmônicos, a fluorescência é suprimida nesta situação, tal que a intensidade, quando não é extinta, é bem menos intensa na presença de nanopartículas de Au e Ag. Dessa maneira, para que ocorra a intensificação deste fenômeno pela superfície metálica, é fundamental que haja uma separação entre o metal e o adsorbato, tal que a distância ideal sugerida na literatura é próxima a 5nm (Anger *et al*, 2006). A distância também não pode ser muito grande, pois a intensidade do campo local diminui com a distância em relação à superfície a uma razão de  $d^{-10}$  (Guerrero, Aroca, 2011). Por esta razão, as SHINs com alto controle da espessura das camadas podem ser bastante promissoras para o SEF, uma vez que obrigam um distanciamento entre as nanopartículas metálicas e adsorbato que pode ser controlada pelas condições de recobrimento.

A Figura 29 apresenta os espectros de fluorescência do IR-820 em solução aquosa para diferentes concentrações, que variaram de 1000 a 0,01  $\mu\text{mol L}^{-1}$ . As medidas de fluorescência foram obtidas com excitação em 785 nm e todas as amostras foram preparadas no dia das medidas, para evitar a formação de dímeros (Hildebrandt, Stockburger, 1984). Os espectros de fluorescência apresentam uma banda intensa e sem subestruturas em 847 nm. É interessante perceber que na concentração referente a 100

$\mu\text{mol L}^{-1}$  a intensidade do sinal de fluorescência é maior que para  $1 \text{ mmol L}^{-1}$ ; este resultado é bastante frequente em algumas espécies de corante como, por exemplo, a rodamina-6G (Hildebrandt, Stockburger, 1984). A queda do sinal é oriunda da reabsorção das moléculas em solução (Hildebrandt, Stockburger, 1984), ou seja, como a concentração de partículas é alta, as moléculas podem absorver a luz emitida e, com isso, a intensidade fótons que chega ao detector é menor do que a dos fótons efetivamente emitidos por fluorescência.

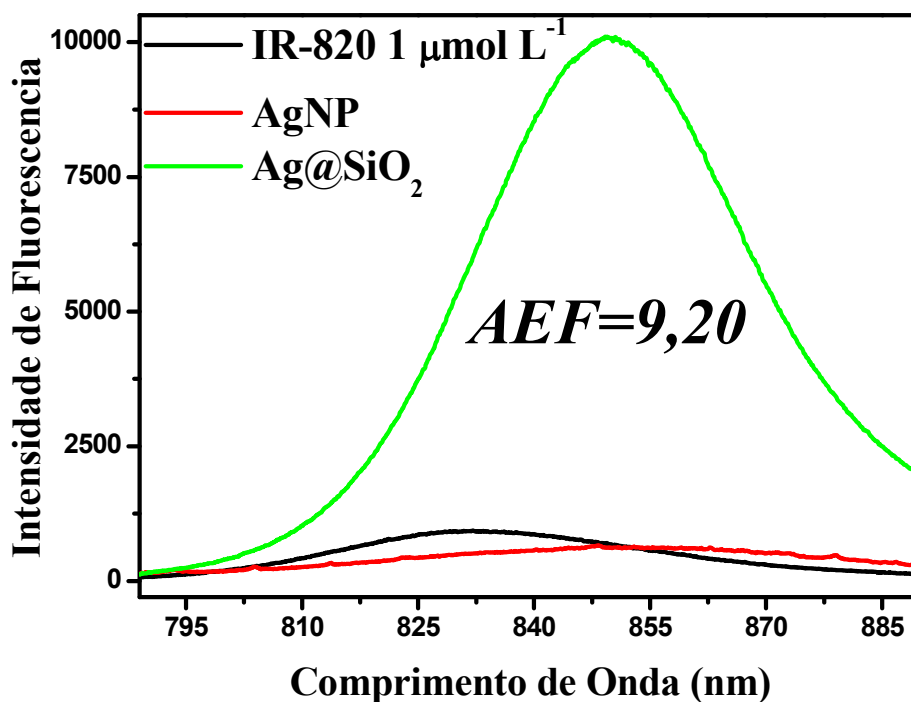


**Figura 29:** Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa. As concentrações estão discriminadas na figura.  $\lambda_0 = 785 \text{ nm}$

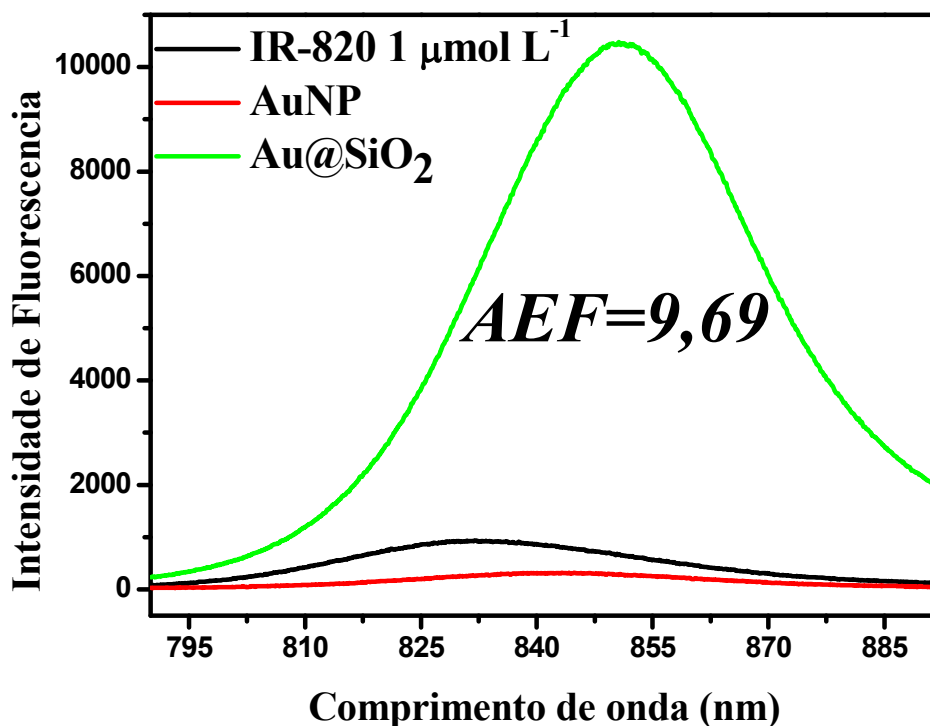
As Figuras 30 e 31 apresentam os espectros SHINEF do IR-820 a  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  em solução aquosa e adsorvido em  $\text{Ag@SiO}_2$  e  $\text{Au@SiO}_2$ , respectivamente. As NPs utilizadas na obtenção dos espectros SHINEF foram recobertas com óxido de silício com 2 horas de aquecimento, ou seja, a espessura da camada nominal é próxima a 6 nm (Guerrero, Aroca, 2011), condição ideal para visualização do fenômeno (Anger *et al*, 2006). Nas Figuras 30 e 31 constam, ainda, os espectros do IR-820  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  nas NPs sem proteção.

Analisando os espectros é possível observar que a intensidade da emissão de fluorescência diminui quando o corante está em contato direto com o metal. A interação dos níveis eletrônicos das NPs com os do adsorbato permite que a energia em excesso no fluoróforo seja transferida para os estados disponíveis do metal e, desta forma, os

fótons de fluorescência não são emitidos. Quando a superfície está protegida com o dielétrico, a interação metal-molécula é minimizada e o fenômeno observado é intensificação da fluorescência, como mostram as Figuras 30 e 31.



**Figura 30:** Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa e adsorvido em AgNP e Ag@SiO<sub>2</sub>. A concentração final de todas as soluções foi  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ .  $\lambda_0=785\text{nm}$ .



**Figura 31:** Espectro de fluorescência do IR-820 em solução aquosa e adsorvido em AuNP e Au@SiO<sub>2</sub>. A concentração final de todas as soluções foi  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ .  $\lambda_0=785\text{nm}$ .



Os fatores de intensificação foram calculados para quantificar o desempenho SHINEF dos nanomateriais em estudo segundo a Equação 14. Os AEF obtidos para o SHINEF das  $\text{Ag@SiO}_2$  e  $\text{Au@SiO}_2$  obtidos foram: 9,20 e 9,69, respectivamente, como mostrado nas

Figura 30 e 31. Estes resultados ainda podem ser otimizados, mas foram bastante significativos para estes experimentos e comparáveis a alguns resultados reportados por Guerrero e Aroca, em que são obtidos AEF de 5,96 para cristal violeta  $12 \mu\text{mol L}^{-1}$  adsorvido em  $\text{Ag@SiO}_2$  e excitado com uma linha laser em 514,5 nm (Guerrero, Aroca, 2011).

Quando o IR-820 está adsorvido sobre as Au e AgNPs recobertas por óxido de silício há um deslocamento do máximo de emissão de 832 para 843 e 853 nm, respectivamente; ocorre ainda, diminuição na intensidade de fluorescência ocasionada pela supressão da emissão provocada pela interação dos níveis moleculares com os estados eletrônicos do metal. Na presença das  $\text{NPs@SiO}_2$  o máximo de fluorescência é observado em 850 nm e há intensificação do sinal. Muitos fatores podem interferir nas características do espectro, devido à complexidade do fenômeno (Ru, Etchegoin, 2008). Todavia, alguns fatores são muito importantes nestes corantes e podem interferir fortemente no perfil do espectro, como: a formação de dímeros em concentrações mais altas; reabsorção ou geometria de adsorção (Hildebrandt, Stockburger, 1984), que são atribuídas como as principais causas das variações observadas nos espectros SHINEF do IR-820.

## 5 CONCLUSÃO

No presente trabalho desenvolveram-se nanopartículas de Au e Ag recobertas com óxidos de silício e manganês para aplicação nas espectroscopias intensificadas por superfície; o maior objetivo do trabalho foi a otimização destes nanomateriais para observação dos efeitos SHINERS e SHINEF. Além das suas propriedades plasmônicas, o recobrimento com óxidos inertes confere alta estabilidade às NPs de Ag e Au e evitam um dos maiores problemas das suspensões coloidais: a agregação.

O corante utilizado como molécula prova foi IR-820, devido às suas propriedades fluorescentes, secção de choque Raman alta e fraca interação com as suspensões coloidais. Vislumbrando as aplicações do corante para estudos mais detalhados das NPs, foi feita a caracterização do IR-820 através das espectroscopias vibracionais Raman e no infravermelho. A atribuição vibracional do composto é inédita na literatura e foi feita com o auxílio de simulações utilizando DFT.

Os espectros de extinção apresentaram deslocamentos progressivos da banda LSPR, indicando a formação da camada de óxido. As imagens de TEM confirmaram a formação das camadas dos óxidos de silício e manganês sobre NPs e detectaram que o recobrimento é compacto ao redor das NPs. As espessuras foram modificadas a fim de otimizar os tamanhos ideais para os dielétricos, para que o sinal Raman e de fluorescência sejam máximos e o decaimento do sinal com o distanciamento da superfície, provocado pela camada, não seja significativo perante as vantagens que as SHINs podem apresentar.

Foram obtidos os espectros SERS e SHINERS do IR-820. Houve uma melhora substancial do sinal na presença dos coloides de Ag e Au sem recobrimento, sendo possível a detecção de concentrações bastante baixas,  $1 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. Os espectros SHINERS também apresentaram aumento apreciável na relação sinal/ruído; neste caso, as concentrações mais baixas foram  $10 \mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ , para as sínteses de Ag e Au, respectivamente, recobertas com os óxidos de silício e manganês. As AgNPs, recobertas ou não, mostraram alto desempenho SERS e SHINERS com excitação em 1064 nm para o corante tipo-indocianina IR-820 como molécula-prova, devido à formação de partículas maiores nas sínteses das AgNPs que favorecem a ressonância com a radiação excitante.

Devido às fracas interações eletrostáticas com as superfícies, o espectro Raman do corante não sofreu muitas variações após a adsorção nas NPs recobertas ou não. Em

nenhum dos resultados discutidos houve o aparecimento de bandas oriundas da ligação da molécula com a superfície nem grandes deslocamentos da frequência de vibração. Apenas observou-se uma variação apreciável no perfil da banda em  $590\text{ cm}^{-1}$ , no espectro das  $\text{Ag@MnO}_2$ , que foi atribuída ao estiramento Mn-O. Algumas intensidades relativas também variaram em relação ao espectro do IR-820 em solução aquosa, cuja banda mais forte do espectro aparece próxima a  $1522\text{ cm}^{-1}$ , assim como nos espectros de  $\text{Ag@SiO}_2$ . Este resultado foi diferente para as  $\text{Au@SiO}_2$  e  $\text{Au@MnO}_2$ , sendo a banda mais intensa em ambos os espectros em  $1122\text{ cm}^{-1}$ . Estas mudanças ocorrem pela geometria de adsorção; dependendo de como a molécula adsorve na superfície, alguns modos serão intensificados preferencialmente e as intensidades relativas são ligeiramente distintas. Os fatores de intensificação confirmam estes resultados; os cálculos mostraram que algumas bandas são mais intensificadas que outras.

Os fatores de intensificação obtidos para as  $\text{Ag@SiO}_2$  e  $\text{Au@SiO}_2$ , nas concentrações  $10\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  e  $100\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  do IR-820, respectivamente, foram maiores que os valores encontrados para as Ag e AuNPs sob as mesmas condições experimentais. Este resultado foi inesperado, devido à queda do sinal com o distanciamento da superfície. A causa mais provável dessa observação é o efeito de primeira camada. No SHINERS a saturação da superfície ocorre em concentrações maiores que no SERS; nesta condição, a maior parte das moléculas envolvidas no espalhamento contribui efetivamente com a intensificação do sinal e os resultados são mais favoráveis.

Os espectros SHINEF do IR-820  $1\text{ }\mu\text{mol L}^{-1}$  foram obtidos com excitação em 785 nm. Foram realizados experimentos com o corante adsorvido às NPs metálicas, com e sem. É interessante perceber que nas AuNPs e AgNPs sem recobrimento a intensidade da emissão de fluorescência da solução do corante diminui, devido às transferências de carga entre o metal e o adsorbato; ao passo que, na presença das SHINs observa-se a intensificação do efeito, pois a camada minimiza as interações metal-molécula. Os fatores de intensificação encontrados para  $\text{Au@SiO}_2$  e  $\text{Ag@SiO}_2$  foram, respectivamente, 9,69 e 9,20. Estes resultados são compatíveis a alguns resultados já descritos na literatura e, por isso, são bastante significativos.

Os espectros de extinção mantiveram um mesmo perfil para as sínteses submetidas às mesmas condições experimentais, com pequenos deslocamentos dos máximos de extinção com o recobrimento pelas camadas de óxidos. Houve o aparecimento de uma banda LSPR no espectro de algumas sínteses de  $\text{Au@SiO}_2$  em

maior comprimento de onda, característica de NPs maiores, formadas pela agregação das partículas durante o recobrimento; este dado foi observado algumas vezes, garantindo ainda a reprodutibilidade dos resultados. Foram feitos espectros de extinção das NPs alguns meses após a feitura de algumas sínteses, sem que fossem percebidas mudanças significativas, apenas alguns deslocamentos da banda LSPR para maior comprimento de onda. Este deslocamento é atribuído ao aumento na espessura das camadas oriunda dos reagentes remanescente em solução. Por isso, pode-se assegurar a alta estabilidade das NPs@Óxidos com o tempo.

## 6 PERSPECTIVAS FUTURAS

As nanopartículas recobertas com óxidos de silício e manganês são bastante promissoras como substratos SHINERS e SHINEF. Devido à alta estabilidade, estas estruturas podem apresentar diversas aplicações. Os resultados SHINERS e SHINEF discutidos foram motivadores, entretanto, ainda são necessários alguns ajustes.

Um dos maiores desafios na síntese das NPs@SiO<sub>2</sub> e NPs@MnO<sub>2</sub> é o controle da espessura da camada nominal, bem como a homogeneidade do recobrimento. No presente trabalho, foram apresentadas estruturas com camadas compactas e espessuras controladas; entretanto, nem sempre este controle era exato ou de fácil obtenção. Por esta razão ainda são necessários alguns estudos sobre os fatores que interferem na formação destes óxidos sobre as NPs, como: pH, temperatura, concentração de reagentes e tempo de reação. As nanopartículas recobertas se mostraram estáveis com relação ao tempo, mas é preciso saber se as camadas são sensíveis a outras modificações do meio, como: mudanças de solvente, pH, outras moléculas provas, substâncias reconhecidamente agregantes etc.

As sínteses de óxido de manganês apresentaram um recobrimento mais homogêneo do que as de óxido de silício; contudo sua obtenção foi mais complicada e suas aplicações também ficaram comprometidas. Neste caso, os procedimentos de síntese ainda devem ser otimizados e é necessária a obtenção dos espectros SHINEF com as NPs@MnO<sub>2</sub> e otimização do SHINERS.

É interessante realizar experimentos com outras radiações excitantes; alguns testes preliminares foram feitos em 532 nm e observou-se um perfil de fluorescência muito diferente do que foi obtido para  $\lambda_0=785$  nm. Estes resultados podem favorecer a caracterização do composto IR-820 e inferir sobre as propriedades ópticas destas nanoestruturas frente a diferentes condições. As AuNPs recobertas não apresentaram um desempenho SHINERS tão bom quanto as AgNPs com excitação em 1064 nm; contudo, o ouro tem um bom fator de qualidade no 633 nm e as nanopartículas de ouro podem apresentar maiores fatores de intensificação nesta região.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Albrecht, M. G. and Creighton, J. A., *Anomalously intense Raman-spectra of pyridine at a silver electrode*. Journal of the American Chemical Society, 1977. **99**(15): p. 5215-5217.

Andrade, G. F. S., *Caracterização Espectroscópica da TFF através das técnicas SERS e Raman Ressonante*, in Instituto de Química. 2003, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo: São Paulo. p. 109.

Anema, J. R., Li, J. F., Yang, Z.L., Ren, B., Tian, Z.Q., *Shell-Isolated Nanoparticle-Enhanced Raman Spectroscopy: Expanding the Versatility of Surface-Enhanced Raman Scattering*. Annual Review of Analytical Chemistry, 2011. **4**(1): p. 129-150.

Anger, P., Bharadwaj, P., Novotny, L., *Enhancement and quenching of single-molecule fluorescence*. Physical Review Letters, 2006. **96**(11).

Aroca, R., *Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy*. 2006, New York: John Wiley & Sons. 260.

Augusto, R. A., *Espectroscopia Vibracional, Raman Ressonante e Eletrônica de Nitroderivados em Sistemas Conjugados* in Instituto de Química. 2005, Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo: São Paulo. p. 137.

Becke, A. D., *Density-Functional ThermoChemistry .3. The Role of Exact Exchange*. Journal of Chemical Physics, 1993. **98**(7): p. 5648-5652.

Brolo, A. G., Kwok, S. C., Moffitt, M. G., Gordon, G., Riordon, J., Kavanagh, K.L., *Enhanced fluorescence from arrays of nanoholes in a gold film*. Journal of the American Chemical Society, 2005. **127**(42): p. 14936-14941.

Buciuman, F., Patcas, F., Craciun, R., Zahn, D. R. T., *Vibrational spectroscopy of bulk and supported manganese oxides*. Physical Chemistry Chemical Physics, 1999. **1**(1): p. 185-190.

Cao, P. G., Yao, J. L., Bin, R., Gu, R. N., Tian, Z. Q., *Surface-enhanced Raman scattering spectra of thiourea adsorbed at an iron electrode in NaClO<sub>4</sub> solution*. Journal of Physical Chemistry B, 2002. **106**(39): p. 10150-10156.

Collier, W. B., Magdo, I., Klots, T. D., *Infrared and Raman spectra of bicyclic molecules using scaled noncorrelated and correlated ab initio force fields*. Journal of Chemical Physics, 1999. **110**(12): p. 5710-5720.

Corio, P., *A Contribuição do Mecanismo de Transferência de Carga para o Efeito SERS em Interfaces Eletroquímicas*, in Instituto de Química. 1998, Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo: São Paulo. p. 131.

Corio, P., Temperini, M. L. A., Santos, P. S., Rubim, J. C., *Contribution of the Charge Transfer Mechanism to the Surface-Enhanced Raman Scattering of the Binuclear Ion Complex [Fe<sub>2</sub>((Bpe)(CN)<sub>10</sub>]<sup>6-</sup> Adsorbed on a Silver Electrode in Different Solvents*. Langmuir, 1999. **15**: p. 2500-2507.

de Faria, D. L. A., Temperini, M. L. A., Sala, O., *Twenty years of SERS*. Quimica Nova, 1999. **22**(4): p. 541-552.

Fleischmann, M., Hendra, P. J., McQuillan, A. J., *Raman-Spectra of Pyridine Adsorbed at a Silver Electrode*. Chemical Physics Letters, 1974. **26**(2): p. 163-166.

Frens, G., *Controlled Nucleation for Regulation of Particle-Size in Monodisperse Gold Suspensions*. Nature-Physical Science, 1973. **241**(105): p. 20-22.

Gagni, P., Sola, L., Cretich, M., Chiari, M., *Development of a high-sensitivity immunoassay for amyloid-beta 1-42 using a silicon microarray platform*. Biosensors & bioelectronics, 2013. **47**: p. 490-495.

Gómez, J., Aya-Ramírez, O., *Efectos Espectroscopicos de Plasmones Superficiales*. 2009. **41**(2): p. 385-387.

Guerrero, A. R. Aroca, R. F., *Surface-Enhanced Fluorescence with Shell-Isolated Nanoparticles (SHINEF)*. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2011. **50**(3): p. 665-668.

Hildebrandt, P., Stockburger, M., *Surface-Enhanced Resonance Raman-Spectroscopy of Rhodamine-6g Adsorbed on Colloidal Silver*. *J. Phys. Chem.*, 1984. **88**(24): p. 5935-5944.

Jeanmaire, D. L., Van Duyne, R. P., *Surface Raman spectroelectrochemistry. 1. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic-amines adsorbed on anodized silver electrode*. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1977. **84**(1): p. 1-20.

Kelly, K., Coronado, E., Zhao, L., Schatz, G. C., *The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment*. *The journal of physical chemistry. B*, 2003. **107**(3): p. 668-677.

Kneipp, J., Kneipp, H., Kneipp, K., *Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)*. *Physical Review Letters*, 1997. **78**(9): p. 1667-1670.

Kneipp, J., Kneipp, H., Rice, W. L., Kneipp, K., *Optical Probes for Biological Applications Based on Surface-Enhanced Raman Scattering from Indocyanine Green on Gold Nanoparticles*. *Analytical Chemistry*, 2005. **77**(8): p. 2381-2385.

Kovacs, G. J., Loutfy, R. O., Vincett, P. S., *Distance Dependence of SERS Enhancement Factor from Langmuir-Blodgett Monolayers on Metal Island Films - Evidence for the Electromagnetic Mechanism*. *Langmuir*, 1986. **2**(6): p. 689-694.

Krishnan, R., Binkley, J. S., Seeger, R., Pople, J. A., *Self-Consistent Molecular-Orbital Methods .20. Basis Set for Correlated Wave-Functions*. *Journal of Chemical Physics*, 1980. **72**(1): p. 650-654.

Lakowicz, J. R., Geddes, C. D., Gryczynski, I., Malicka, J., Gryczynski, Z., Aslan, K., Lukomska, J., Matveeva, E., Zhang, J., Badugu, R., Huang, J., *Advances in surface-enhanced fluorescence*. *Journal of Fluorescence*, 2004. **14**(4): p. 425-441.



Le Ru, E. C., Etchegoin, P. G., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects*. 2009, Amsterdam: Elsevier. 688.

Lee, C. T., Yang, W. T., Parr, R. G., *Development of the Colle-Salvetti Correlation-Energy Formula into a Functional of the Electron-Density*. *Physical Review B*, 1988. **37**(2): p. 785-789.

Lee, P. C., Meisel, D., *Adsorption and Surface-Enhanced Raman of dyes on silver and gold sols*. *Journal of Physical Chemistry*, 1982. **86**(17): p. 3391-3395.

Li, J. F., Huang, Y. F., Ding, Y., *et al.*, *Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy*. *Nature*, 2010. **464**(7287): p. 392-395.

Lin, X. D., Uzayisenga, V., Li, J. F., Fang, P. P., Wu, D. Y., Ren, B. Tian, Z. Q., *Synthesis of ultrathin and compact Au@MnO<sub>2</sub> nanoparticles for shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy (SHINERS)*. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2012. **43**(1): p. 40-45.

Mayo, D. W., Miller, F. A., Hannah, R. W., *Course Notes on the Interpretation of Infrared and Raman Spectra*. 2003, Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. 567.

McLean, A. D., Chandler, G. S., *Contracted Gaussian-Basis Sets for Molecular Calculations .I. 2ND Row Atoms, Z=11-18*. *Journal of Chemical Physics*, 1980. **72**(10): p. 5639-5648.

Miehlich, B., Savin, A., Stoll, H., Preuss, H., *Results Obtained with the Correlation-Energy Density Functionals of Becke and Lee, Yang and Parr*. *Chemical Physics Letters*, 1989. **157**(3): p. 200-206.

Morton, S. M., Silverstein, D. W., Jensen, L., *Theoretical Studies of Plasmonics using Electronic Structure Methods*. *Chemical Reviews*, 2011. **111**(6): p. 3962-3994.

Nie, S. M., Emery, S. R., *Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering*. *Science*, 1997. **275** (5303): p. 1102-1106.

Paula, P. A. J. D., *Físico-Química*, ed. 8. Vol. 2. 2006, Rio de Janeiro: LTC.

Pieczonka, N. P. W., Aroca, R. F., *Inherent complexities of trace detection by surface-enhanced Raman scattering*. *Chemphyschem*, 2005. **6**(12): p. 2473-2484.

Ru, E. C. L., Blackie, E., Meyer, M., Etchegoin, P. G., *Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: a comprehensive study*. *Journal of Physical Chemistry C*, 2007. **111**(37): p. 13794-13803.

Ru, E. L, Etchegoin, P. G., *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy: and related plasmonic effects*. Elsevier ed. Elsevier, ed. Elsevier. Vol. 1. 2008, New Zealand: Elsevier. 663.

Sala, O., *Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho*. 2 ed. 2008, São Paulo: Unesp. 276.

Stewart, M. E., Anderton, C. R., Thompson, L. B., Maria, J., Gray, S. K., Rogers, J. A., Nuzzo, R.G, *Nanostructured plasmonic sensors*. *Chemical Reviews*, 2008. **108**(2): p. 494-521.

Temperini, M. L. A., Rubim, J. C., Andrade, G. F. S., *Efeito SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering)*. Artigo de revisão.

Torres, E. F., *Fotoquímica e Caracterização Espectroscópica de Novos Corantes Cianínicos*, in *Centro de Química-Física Molecular*. 2010, Universidade Técnica de Lisboa: Lisboa. p. 156.

Vogel, A. I., *Química Analítica Qualitativa*, ed. 6. 1981, São Paulo: Mestre Jou.  
Willems, K. A. and Van Duyne, R. P., *Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing*. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 2007. **58**: p. 267-297.

Xia, Y., Xiong, Y., Lim, B., Skrabalak, S. E., *Shape-Controlled Synthesis of Metal Nanocrystals: Simple Chemistry Meets Complex Physics?* *Angewandte Chemie-International Edition*, 2009. **48** (1): p. 60-103.