



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
NÚCLEO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

Tese de Doutorado

**Modificação Eletroquímica da Superfície de
Filmes Finos de Ouro SERS e SPR ativos**

Por

André Oliveira Silva

São Cristóvão - SE

2011

ANDRÉ OLIVEIRA SILVA

Modificação Eletroquímica da Superfície de
Filmes Finos de Ouro SERS e SPR ativos

Tese de doutoramento apresentada ao
Departamento de Física da Universidade
Federal Sergipe como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutor em Física

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guilher-
me de Carvalho Cunha

São Cristóvão - SE

2011

“Se Deus tivesse na sua mão direita toda a Verdade e na sua mão esquerda somente o perpétuo impulso na direção da verdade, muito embora acrescido do fato de que estou destinado a errar sempre e eternamente, e me dissesse: Escolhe. Eu escolheria a sua mão esquerda e diria: Dá, ó Pai! A verdade pura, na verdade, é para Ti somente”.

(Soren Kierkegaard)

Dedico este trabalho a minha esposa Érica

Agradecimentos

A Deus e a Jesus Cristo pela oportunidade e presença em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Frederico Guilherme pela orientação, apoio, incentivo e confiança, e ao seu caráter humilde e generoso, e por possibilitar o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Camilo Angelucci pela amizade e grandiosa ajuda e orientação em diversas partes desse trabalho, principalmente na eletroquímica, e os bons conselhos durante este período.

Ao Prof. Dr. Osmar de Sousa e Silva Jr. pela iniciação a pesquisa e os ensinamentos durante a graduação e mestrado.

A minha esposa Érica pelo amor, dedicação e companheirismo nos momentos bons e nos difíceis.

Ao meu pai, mãe, irmão (Eric), irmã (Elaine) e cunhada (Priscila) pelo amor, apoio e paciência.

Ao meu sogro e sogra pelo apoio e incentivo.

Aos meus amigos especiais: Paulo (Super-PJ) e Márcia, e aos amigos de sempre: Marlon, Andréa, Fernanda, Lucas, Hugo, Hélio Marcos, Juliana, Mayline, Claílson, Elisângela e todos aqueles que contribuíram de alguma maneira.

Aos colegas de sala: Romeu-colega, Marquinhos, Bentovisc, Jomas, Maria, Carol e Suelen e aos do DFI: Rodrigo (rgomes), Paula, Gustavo, Fabiane e Pitas, pelo companheirismo

e amizade durante esses anos.

Aos alunos e colegas do laboratório: Elisandro, Luciene, Ísis, Tâmires, Francis, Renata, Abraão, Simone e Aline, pela ajuda e cooperação com os diversos trabalhos.

Agradeço a todos os professores do CODAP (UFS), em especial à Nemésio, Alessandra e Marlucy Gama, pela ajuda e força em todos os momentos.

Aos amigos da antiga Escola Agrotécnica, em especial a Marco Alindo, Ana Cecília, Márcio, Eliane, Selene, Reginaldo, Corrêia, Herivelton e Marinoé (esta em especial pela ajuda com as disciplinas).

Aos técnicos do DFI: Márcio Bitoca, Jorge e Cochiran.

A todos os Professores do DFI.

Abstract

Thin metal films have attracted much interest because they provide a way to produce surface plasmon resonance (SPR) in the Kretschmann configuration. This technique is a very sensitive for determining small changes at the interface between a metallic layer and a dielectric medium, and the metals generally used are silver and gold once their surface plasmon resonances are located in the visible range. Thin films of gold, due their stability and diversity applications, have been extensively studied by electrochemistry, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) and techniques of Microscopic such as AFM and STM. The Raman technique has been used to the analysis of organics compounds in determined system. However, in very low concentration levels is inefficient due to weak signal or interference from noise. A developed method to markedly increase the signal of a species presented at many levels is the SERS. One of the major considerations for the formation of a SERS-active surface is surface roughness, and this has been realized by various ways. In the present work, we analyzed the effects of various oxidation-reduction cycles (ORCs) on the surface of the thin films of gold using the techniques of cyclic voltammetry, microscopy, UV-Vis spectroscopy and SPR, which will be used to evaluate the efficiency of electrochemically modified substrates as SERS and SPR active. Initially, the film was cycling in a solution of H_2SO_4 to remove impurities from the surface. After this procedure, the 50 nm and 100 nm thick gold films, deposited on a glass substrate, were subjected to a series of ORCs in a solution of H_2SO_4 containing 0,005 M KCl electrolyte. As the number of ORCs is increased, the roughness of the film increased. We used techniques of microscopy, Spectroscopy UV-Vis, Resonance Plasmon Surface and Cyclic Voltammetry to characterize the surface of the film as a function of roughness. A “*home – made*” SPR system based on the configuration of Kretschmann was utilized

for analyzed the changes provoked in surface film before and after the electrochemically modified. The medium size of the gold islands deposited was analyzed for Atomic Force Microscopy (AFM) and Scanning Tunneling Microscopy (STM). This same metallic film, after passing for oxidation processes and reduction, was used to obtain a spectrum SER using an organic molecule the 2-thiouracil adsorbed on the surface of the film. The results observed for AFM, STM and cyclic voltammetry shows that surfaces electrochemically modified increase the roughness, and that the changes modified o depth of the signal SPR. These change provoked electrochemistry after various ORC improve significantly the Raman sign of molecules adsorbed on the surfaces of the metallic films. Finally, we conducted an evaluation of the roughness factor obtained through the techniques of AFM, STM and cyclic voltammetry.

Resumo

Filmes finos metálicos têm despertado muito interesse devido à possibilidade de produzir Ressonância de Plasmons de Superfície (SPR) utilizando uma configuração de Kretschmann. Esta técnica é muito sensível na determinação de pequenas mudanças na interface entre uma camada metálica e um meio dielétrico, e os metais usados geralmente são prata e ouro, uma vez que a ressonância de plasmon da superfície desses metais está localizada na região do visível. Esses filmes, devido à sua estabilidade e diversidade de aplicações, têm sido extensivamente estudados por técnicas eletroquímicas, espectroscopia Raman intensificada por superfície (SERS) e por técnicas de microscopia tais como o AFM e STM. A Espectroscopia Raman têm sido utilizada para a análise de compostos orgânicos em determinados sistemas. No entanto, em sistemas que possuem concentrações muito baixas, o sinal Raman é extremamente fraco e ineficiente, ou sofre interferências de ruídos. Um dos métodos desenvolvidos para aumentar significativamente o sinal de uma espécie adsorvida sobre uma superfície metálica em vários níveis é o SERS. Uma das considerações importantes para a formação de um substrato SERS ativo é a rugosidade da superfície, e a obtenção dessas superfícies tem sido realizado de diversas maneiras. No presente trabalho, analisamos o efeito de diferentes ciclos de oxidação-redução (ORCs) sobre a superfície de filmes finos de ouro, utilizando as técnicas de voltametria cíclica, microscopias, espectroscopia UV-Vis e SPR, que serão utilizadas para avaliar a eficiência dos substratos modificados eletroquimicamente como SERS e SPR ativos. Inicialmente, o filme é ciclado em uma solução de H_2SO_4 para remover as impurezas da superfície. Após este procedimento, os filmes com espessuras de 50 e 100 nm, depositados sobre um substrato de vidro, foram submetidos a uma série de ORCs em uma solução de H_2SO_4

contendo 0,005 M de *KCl*. Com o aumento do número de ORCs a rugosidade do filme aumenta, e as técnicas de microscopia, espectroscopia UV-Vis, SPR e Voltametria Cíclica foram utilizadas para caracterizar a superfície do filme em função da rugosidade. Um sistema “*home-made*” do SPR baseado na configuração de Kretschmann foi utilizado para analisar as alterações provocadas na superfície do filme antes e após as modificações eletroquímicas. O tamanho médio das ilhas metálicas que constituem a superfície do filme foram analisadas por microscopia de força atômica (AFM) e de tunelamento (STM). Este mesmo filme metálico, depois de passar para os processos de oxidação e redução, foi usado para a obtenção de espectros SER da molécula orgânica 2-Tiouracil adsorvida na superfície do filme. Os resultados observados através do AFM, STM e voltametria cíclica mostraram que as superfícies modificadas eletroquimicamente têm a rugosidade aumentada, e que as alterações modificam o mínimo de reflectância do sinal do SPR. Essas mudanças provocadas pela eletroquímica após vários ORC, melhoraram significativamente o sinal Raman de moléculas adsorvidas na superfície dos filmes metálicos. E finalmente, realizamos uma avaliação do fator de rugosidade obtido através das técnicas de AFM, STM e voltametria cíclica.

Conteúdo

1	Introdução	1
1.1	Objetivos gerais	7
2	Fundamentos Teóricos	9
2.1	Princípios Físicos da Ressonância de Plasmon de Superfície	9
2.2	Técnicas de Microscopia	13
2.2.1	Microscopia de Varredura por Tunelamento	13
2.2.2	Microscopia de Força Atômica	15
2.3	Espectroscopia Raman	17
2.3.1	Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície	19
2.4	Voltametria Cíclica	20
3	Procedimentos Experimentais	22
3.1	Experimental	22
3.1.1	Materiais e Reagentes	22
3.1.2	Preparação e Limpeza dos Substratos	23
3.1.3	Preparação dos Filmes Finos Metálicos	23
3.1.4	Adsorção do 2-tiouracil na superfície dos Filmes Finos de Ouro	25
3.2	Equipamentos	26
3.2.1	Arranjo do Sistema de Ressonância de Plasmon de Superfície	26
3.2.2	Microscópio de Força Atômica e de Tunelamento	28
3.2.3	Arranjo das Células Eletroquímicas para Caracterização e Modificação da Superfície dos Filmes Finos de Ouro	29

3.2.4	Espectrômetro Raman	33
3.2.5	Espectrometro UV-Vis	33
4	Resultados e Discussões	34
4.1	Estudo da Eficiência de Filmes Finos de Ouro como Substratos SERS ativos	36
4.1.1	Comportamento Eletroquímico do Filme de Ouro	36
4.1.2	Microscopia de Força Atômica e Tunelamento dos filmes finos de Au de 50 nm	43
4.1.3	Espectros UV-Vis do filme de 50 nm	47
4.1.4	Ressonância de Plasmon de Superfície	49
4.1.5	Espectro Raman da Molécula de 2-Tiouracil	53
4.1.6	SERS do 2-tiouracil em filmes finos com 50 nm	55
4.2	Estudo SERS de filmes finos de ouro com 100 nm de espessura	58
4.2.1	Caracterização eletroquímica dos filmes de 100 nm	58
4.2.2	Caracterização por Microscopia de Força Atômica e Tunelamento .	61
4.2.3	Espectros UV-Vis de filmes finos de ouro após diversos ORCs . . .	71
4.2.4	Ressonância de Plasmon de Superfície	73
4.2.5	SERS do 2-tiouracil adsorvidos em filmes finos com diferentes rugosidades	76
4.3	Avaliação do fator de rugosidade de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente	82
4.3.1	Avaliação da rugosidade de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente por técnicas de microscopia	83
4.3.2	Obtenção e análise da rugosidade de filmes finos por voltametria cíclica	93
5	Conclusões	96
A	Ressonância de Plasmon de Superfície	100
A.0.3	Conceitos fundamentais	100
A.0.4	Equação da onda eletromagnética	103

A.0.5	Condições de contorno na interface entre dois meios diferentes . . .	104
B	Espalhamento Raman	107
B.0.6	Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície	110

Lista de Figuras

1.1	SPR excitado por uma luz p-polarizada onde a luz é totalmente refletida na interface vidro/metal. Adaptado da Biacore.	4
2.1	Interação da radiação eletromagnética provocando uma oscilação da densidade de carga longitudinal.	10
2.2	(a) Configuração de Krestchmann para SPR. O dielétrico em contato com o metal permite a transferência de parte da energia da onda incidente para os elétrons livres da superfície do condutor. Adaptado de [41, 42].	11
2.3	Ponta metálica de um STM próxima a uma amostra. Os elétrons vencem o gap de energia e tunelam da ponta fina à amostra (condutora) fornecendo informações estruturais e eletrônicas a nível atômico.	14
2.4	Esquema de um microscópio de força atômica ilustrando a deflexão do feixe do laser para medir as forças entre a ponta e a superfície da amostra. . . .	15
2.5	Forças existentes entre a ponta e a amostra.	16
2.6	Diagrama de Níveis de Energia do Espalhamento Rayleigh e Raman: As linhas horizontais representam os diversos estados vibracionais e as transições entre os estados energéticos para diferentes interações luz-matéria. .	18
2.7	Esquema da célula eletroquímica utilizada.	21
3.1	Arranjo experimental do equipamento de <i>íon-sputtering</i>	24
3.2	Estrutura de uma monocamada auto-organizada de tiol sobre a superfície de ouro. Adaptado de [58].	26
3.3	Arranjo do aparato <i>home-made</i> do SPR.	27
3.4	Foto do aparato de Ressonância de Plasmon de Superfície.	28

3.5	Microscópio de força atômica e de Varredura por Tunelamento da Agilent 5500.	29
3.6	Foto das células eletroquímicas utilizadas nos experimentos. A célula (1) contendo a solução de H_2SO_4 para a caracterização da superfície do filme; e a célula (2) utilizada para modificar a superfície na solução de $H_2SO_4 + KCl$	31
3.7	Arranjo experimental para obtenção dos espectros SERS em filmes finos de ouro	33
4.1	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro em uma solução de H_2SO_4	37
4.2	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro em uma solução de H_2SO_4 obtido por Majda <i>et al.</i> [68].	38
4.3	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 50 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 (0,1 M) + KCl (0,005 M) após diversos ciclos de oxi-redução.	39
4.4	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 50 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 após diversos ciclos de oxi-redução.	40
4.5	Fator de rugosidade do filme fino de ouro com espessura inicial de 50 nm após diversos ORCs em uma solução de KCl	43
4.6	(a) Imagem do filme fino de Au ($50 \times 50\mu m$); (b)Interface entre filme de Au sem modificação e modificado em KCl ($4 \times 4\mu m$).	44
4.7	(a) Imagem da interface entre $Au/vidro$ ($5 \times 5\mu m$); (b) Imagem da interface entre Au modificado/ $vidro$ ($5 \times 5\mu m$).	45
4.8	(a) Imagem de STM da superfície de um filme de ouro de 50 nm de espessura: (a) $200\text{ nm} \times 200\text{ nm}$; (b) $50\text{ nm} \times 50\text{ nm}$	46
4.9	Espectro UV-Vis do filme fino de ouro puro (linha cheia) e modificado após 30 ciclos de oxi-redução (linha pontilhada).	47
4.10	Efeito da espessura do filme de ouro no sinal de SPR.	49
4.11	Mínimo de reflectância em função da espessura do filme fino de ouro.	50
4.12	Curva do SPR de um filme fino com espessura inicial de 50 nm antes e após 30 ORCs.	51

4.13	Espectro Raman do 2TU sólido obtido com $\lambda = 785$ nm.	53
4.14	Espectro SERS do 2TU adsorvido em um filme fino de ouro de 50 nm antes (curva escura) e após 20 ciclos de ORC (curva vermelha).	55
4.15	Espectro SERS do 2TU adsorvido no filme fino de ouro.	56
4.16	Adsorção do 2TU no ouro.	57
4.17	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 100 nm de espessura em uma solução de $H_2SO_4 + KCl$	59
4.18	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 100 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 após diversos ciclos de oxi-redução.	60
4.19	Gráfico da rugosidade obtido a partir do cálculo da área ativa eletroquímica.	61
4.20	Imagens de AFM de um filme de (a) 15 nm; (b) 50 nm e (c) 100 nm. Imagens de $1 \mu m \times 1 \mu m$	62
4.21	Imagem de AFM sa superfície de um monocristal de ouro. (a) $10 \mu m \times 10$ μm ; (b) $3 \mu m \times 3 \mu m$	63
4.22	Imagens de AFM de um filme com espessura inicial de 100 nm: (a) Au sem modificações; (b) após 15 ORCs; (c) após 45 ORCs e (d) após 60 ORCs. Imagens de $10 \mu m \times 10 \mu m$	64
4.23	Imagens de AFM de um filme com espessura inicial de 100 nm: (a) antes das modificações; (b) após 15 ORCs; (c) após 30 ORCs; (d) 45 ORCs; (e) após 60 ORCs. Imagens maior de $3 \mu m \times 3 \mu m$; imagem menor de $1 \mu m$ $\times 1 \mu m$	65
4.24	Geometria das ilhas de ouro sobre o vidro.	65
4.25	AFM do filme fino após 30 ciclos de oxi-redução. Imagem de $3 \mu m \times 3 \mu m$	67
4.26	Espessura do filme em função do número de ciclos.	68
4.27	Imagens de STM de um filme de 100 nm: (a) antes de ORCs ($100 \text{ nm} \times$ 100 nm))(b) e após 45 ORCs ($200 \text{ nm} \times 200 \text{ nm}$).	69
4.28	Imagens de STM de um filme de 100 nm após 45 ciclos de ORC. (a) $200 \times$ 200 nm ; (b) $100 \text{ nm} \times 100 \text{ nm}$	70
4.29	STM da região de um degrau do filme após 15 ciclos de ORC. Imagem de $500 \text{ nm} \times 500 \text{ nm}$	70

4.30	Espectro UV-Vis de um filme de ouro modificado após diversos ciclos de oxidação-redução.	71
4.31	Absorbância da superfície do filme em função do número de ORCs.	72
4.32	SPR da superfície de um filme fino após 30 ORCs.	73
4.33	(a) Mínimo de refletividade em função dos ORCs; (b) ângulo do Mínimo de reflectância em função dos ORCs.	74
4.34	Espectro SER da adsorção do 2TU. $\lambda = 785\text{nm}$. $P_{laser} = 50\text{ mW}$	76
4.35	Espectro SERS da adsorção do 2TU. (a) sem modificação; (b) após 15 ciclos; (c) após 30 ciclos; (d) após 45 ciclos; (e) após 60 ciclos. $\lambda = 633\text{ nm}$. $P_{laser} = 20\text{ mW}$	77
4.36	Intensidade SERS da banda a 920 cm^{-1} normalizada em função do ORCs.	79
4.37	Imagem de AFM de um filme fino de ouro modificado por diferentes ORCs. Imagens de $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$	84
4.38	Cantilevers (a) fabricado pela nanoScience Instruments; (b) fabricado pela μmasch	85
4.39	Rugosidade R_a e R_q utilizando <i>cantilevers</i> diferentes.	86
4.40	Rugosidade R_a e R_q (a) Modo não-contato; (b) Alterando a força de interação entre ponta e amostra.	87
4.41	Imagem de AFM da superfície de um filme fino rugosos após 45 ciclos de ORC. (a) perfil obtido com 2 nN; (b) perfil obtido com 7 nN.	88
4.42	(a) Perfil de varredura da ponta do AFM na superfície de um filme fino. Adaptado de [114]; (b) Geometria da ponta do AFM. Adaptado de [116].	89
4.43	Imagens de STM e perfil topográfico da superfície de filmes finos antes da modificação eletroquímica (a); após 15 ciclos (b); após 45 ciclos (c) e após 60 ciclos (d). Imagens de $300\text{ nm} \times 300\text{ nm}$	90
4.44	Rugosidade R_a e R_q obtidos das imagens de STM.	91
4.45	Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro antes e após 15, 45 e 60 ORC.	94
A.1	Representação de uma onda plana polarizada transversal incidente, e de suas componentes de reflexão e refração, na interface de um plano de meios dielétricos diferentes.	101

A.2	Configuração de Otto e Kretschmann para obtenção de plasmons de superfície	102
A.3	Plasmon de superfície em um metal. Curva de dispersão dos plasmons (linha preta)	106
B.1	Espalhamento da luz por um momento de dipolo induzido por uma onda eletromagnética incidente	108
B.2	Esquema simplificado do processo SERS. Adaptado de [123].	111
B.3	Diagrama de níveis de energia para uma molécula adsorvida em uma su- perfície metálica. Adaptado [128].	114

Lista de Tabelas

4.1	Atribuição das bandas do 2-Tiouracil de uma amostra sólida. (ν , Estiramento; δ , no plano inclinado; γ , fora do plano inclinado).	54
4.2	Dimensões das ilhas de Au após diversos ORCs	66
4.3	Rugosidade da superfície medida via AFM	66
4.4	Análise das bandas SERS do 2TU adsorvido na superfície de filmes de ouro modificados eletroquimicamente. (ν : Estiramento; δ : no plano inclinado; γ : fora do plano inclinado)	78
4.5	Fator de rugosidade de um filme de ouro	95

Capítulo 1

Introdução

A tecnologia do século 21 tem requerido a miniaturização de dispositivos eletrônicos para tamanhos nanométricos, que possibilitem um aumento significativo em sua performance. Materiais nanoestruturados têm despertado a atenção de diversas áreas da física, química e ciência dos materiais, devido ao seu alto potencial de aplicações em dispositivos da eletrônica [1], óptica [2], catálise [3], cerâmicas [4], armazenamento de dados magnéticos [5, 6] e nanocompósitos [7]. Nanomateriais são classificados como nanoestruturados quando possuem dimensões limitadas a 1-100 nm. Nesse regime quase molecular, os sistemas são regidos pelas leis da mecânica quântica e possuem novas propriedades físicas, químicas, mecânicas e ópticas únicas, que diferem do *bulk* do material, dependendo do tamanho e forma, devido aos efeitos de confinamento quântico [8, 9]. Uma das consequências, por exemplo, da redução da dimensionalidade de um material, são as mudanças drásticas em suas propriedades eletrônicas, que resultam na diminuição da densidade de estados eletrônicos numa partícula metálica. Outra consequência, devido ao aumento da razão entre a área e o volume do nanomaterial, é que os efeitos de superfície se tornam mais relevantes, conferindo a esses materiais uma eficiência em aplicações que sejam dependentes de sítios superficiais, tais como a catálise [10, 11].

Em se tratando de nanopartículas (NPs) metálicas em sistemas coloidais, estas tem obtido importância imprescindível na biologia, medicina, farmacêutica e em estudos de cosmologia e astronomia [12]. Estes sistemas coloidais apresentam propriedades ópticas

interessantes e possuem colorações variadas, dependendo do seu tamanho médio e vizinhança. No caso do ouro, Nps com 5 nm e 60 nm de diâmetro têm coloração vinho e rósea, respectivamente [13]. O trabalho do físico alemão Gustav Mie [14] foi um dos pioneiros a explicar teoricamente o fenômeno de coloração de nanopartículas de Au, em 1908, através da resolução das equações de Maxwell para a absorção e espalhamento da radiação eletromagnética por partículas esféricas. A origem física da absorção da luz por partículas metálicas depende da excitação dos plasmons de superfície e não da quantização dos níveis eletrônicos, como nos semicondutores. Então, a coloração está relacionada à largura e deslocamentos dos picos de absorção de plasmon, que variam de acordo com o tamanho e formato das partículas [11].

Atualmente, vários métodos físicos e químicos vêm sendo desenvolvidos na preparação de sistemas possuindo nanopartículas metálicas. Em geral, esses métodos são baseados em fenômenos de auto-montagem e auto-organização e levam em consideração aspectos como qualidade, rapidez e o custo da preparação. Os métodos físicos, conhecidos como *top down*, manipulam o material, quebrando as partículas até que fiquem em escala nanométrica. Um dos métodos, freqüentemente utilizado, é o de evaporação de um metal por aquecimento ou por ablação a laser de alta intensidade, formando um feixe de átomos que são depositados sobre uma superfície. Métodos litográficos para a obtenção de nanoestruturas têm despertado o interesse de diversos pesquisadores pela possibilidade de controlar o tamanho, forma e distância entre essas nanoestruturas criadas, com relativo sucesso [15, 16]. Entre os diversos métodos litográficos, rotineiramente usados, estão: litografia de feixe de elétrons; fotolitografia; nanolitografia *dip-pen*; litografia de raio-x e litografia por nanoesferas [17]. Esse último é um método bastante empregado por possuir eficiência e baixo custo em relação aos demais métodos [18, 19]. Os métodos químicos, conhecidos como *bottom up*, de síntese de NPs, são os mais utilizados, geralmente, necessitando de agentes redutores, para produzir NPs de um determinado material [20].

No entanto, para entender e explorar precisamente as características das NPs, bem como avaliar os processos interfaciais e superficiais que possuem grande relevância no entendimento dos mecanismos de interação de espécies sobre a superfície de eletrodos [21], uma variedade de técnicas têm sido utilizadas, tais como as de Espectroscopia, Micros-

copia, Elipsometria e a Interferometria. Devido à limitação de algumas dessas técnicas, a Espectroscopia de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR - *Surface Plasmon Resonance*) e a Espectroscopia Raman, têm recebido grande destaque, pois possibilitam a obtenção de um grande número de informações a partir de um único experimento e permitem o fácil acesso a regiões de número de onda mais baixo, além da possibilidade de trabalhar *in-situ* [22].

Plasmons de Superfície

Ondas de plasmons de superfície são oscilações longitudinais coletivas dos elétrons que se propagam ao longo da interface entre dois meios, um metal e outro dielétrico, com constantes dielétricas de sinais diferentes [23]. Essa propriedade exclusiva ocorre apenas em metais que possuam elétrons livres, e possibilita uma gama de aplicações práticas, tais como o desenvolvimento de sensores baseados em dispositivos ópticos, tal como a Espectroscopia Óptica de Ressonância de Plasmon de Superfície (SPR). Esta técnica é uma poderosa ferramenta, para análises físicas e químicas, na caracterização de interfaces sólido/líquido, utilizando a interação da luz com a matéria, cuja a intensidade depende da composição química e estrutural da interface.

A excitação óptica de plasmons de superfície foi demonstrada, nos anos sessenta, por Kretschmann [24] e por Otto [25], que desenvolveram técnicas experimentais, fazendo uso de campos evanescentes, isto é, a componente do campo eletromagnético da luz que não se propaga para longe das camadas (vidro/filme metálico/solução, por exemplo), chegando apenas até a parte externa da interface. Este campo decai exponencialmente com a distância das camadas. A técnica desenvolvida baseia-se no fenômeno de reflexão interna total, onde se faz incidir um feixe laser polarizado sobre um filme fino metálico, utilizando convenientemente um prisma de alto índice de refração como acoplador óptico, e observa-se a luz refletida pelo filme. Ao se atingir as condições de acoplamento da luz aos modos ópticos do filme, isto é, quando o vetor de onda de plasmon for igual ao vetor de onda do campo evanescente, parte da radiação se acopla aos elétrons livres oscilantes do filme metálicos ocasionando a ressonância de plasmons de superfície, e uma diminuição

na intensidade do sinal refletido é observada. Uma ilustração do fenômeno é ilustrada na Figura 1.1.

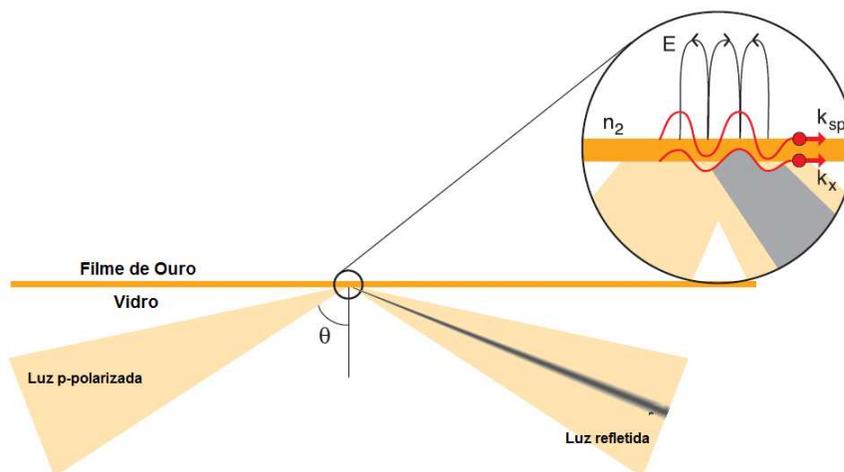


Figura 1.1: SPR excitado por uma luz p-polarizada onde a luz é totalmente refletida na interface vidro/metal. Adaptado da Biacore.

Então, plasmons de superfície de ondas excitadas por reflexão interna são uma ferramenta extremamente útil para aumentar, em muitas ordens de magnitude, os efeitos ópticos nas interfaces e nas camadas, devido ao aumento na amplitude do campo elétrico local em relação à amplitude de campo do feixe de luz incidente durante o acoplamento da luz ao modo óptico. Outra consequência interessante é a alta sensibilidade do efeito das variações minutas nas propriedades ópticas na vizinhança da interface metálica.

Essas propriedades têm sido exploradas para o desenvolvimento de dispositivos ópticos e biossensores. Por exemplo, sensores de SPR comerciais, como os produzidos pela BIACORE [26, 27] e a Texas Instruments [28], são usados para monitorar e quantificar interações biomoleculares em superfícies metálicas, através das mudanças que ocorrem no índice de refração, devido a essa interação. Plasmons de superfície também podem ser usados para monitorar processos químicos e físicos que ocorrem na interface entre metais e materiais orgânicos [29].

Intensificação do Sinal Raman pela Superfície

Outra técnica tradicionalmente utilizada para obtenção de informações sobre propriedades vibracionais de moléculas em fase sólida, líquida ou gasosa é a espectroscopia de espalhamento Raman. Os espectros vibracionais obtidos por esta técnica podem fornecer informações centrais no entendimento da estrutura, a conformação, as ligações químicas e reatividade da espécie molecular em estudo. Entretanto, o espalhamento Raman normal apresenta uma baixa secção de choque, da ordem de $10^{-30} \text{ cm}^2 \cdot \text{molecula}^{-1} \cdot \text{sr}^{-1}$, devido ao baixo número de fótons espalhados, tornando a técnica pouco eficiente na detecção de monocamadas de adsorbatos em superfícies, quando comparada, por exemplo, à espectroscopia no infravermelho ou à fluorescência, que apresentam secções de choque superiores em mais de 10 ordem de grandeza [30].

Na tentativa de superar essa limitação, estudos realizados por Fleischmann e colaboradores obtiveram espectros Raman da piridina, com excelente relação sinal/ruído, adsorvida em eletrodos de prata que sofreram um aumento em sua área superficial eletroquimicamente, através de vários ciclos de oxi-redução. Inicialmente, esse comportamento foi atribuído, pelos autores, como decorrente do aumento da área superficial do eletrodo de prata [31, 32]. Posteriormente, Duyne [33] e Creighton [34] mostraram que o fator de intensificação observado era muito maior do que o esperado pelo simples aumento da área e que o espectro da piridina adsorvida sobre a superfície de eletrodos de prata apresentou uma intensificação na ordem de 10^6 , enquanto que o aumento na área superficial do eletrodo era de apenas 10 vezes. Esse efeito foi denominado de Espectro Raman Intensificado pela Superfície (SERS).

Desde então, o efeito SERS tem sido grandemente estudado, seja na aplicação para outras moléculas diferentes da piridina, bem como no uso em diferentes metais como o ouro e o cobre, além da apresentação de diversos modelos teóricos na tentativa de elucidar as causas da intensificação do sinal Raman. A natureza exata do aumento do sinal Raman não é completamente entendida, mas aparenta ser causado pela contribuição de dois mecanismos, que podem ser classificados como Eletromagnético e Químico, ou de Transferência de Cargas.

Atualmente, sabe-se que o efeito SERS ocorre principalmente em metais como Au, Ag e Cu. Esses metais apresentam a propriedade de ressonância de plasmons de superfície, e que de acordo com o modelo Eletromagnético, é também responsável pelo aumento do campo local na superfície de filmes finos nanoestruturados. Essa propriedade pode ser explorada em aplicações no aumento da intensidade do espalhamento Raman (SERS) [35]. Então, técnicas espectroscópicas como o SPR e UV-Vis, e microscópicas tais como o AFM e STM, podem ser ferramentas úteis e complementares, entre si que certamente contribuem para elucidação do efeito SERS em determinadas estruturas metálicas.

1.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivo inicial uma análise da eficiência de filmes finos de ouro, submetidos a diversos ciclos de oxi-redução (ORCs) em uma solução contendo íons cloreto com espessura inicial de 50 nm, para serem utilizados como substratos para SPR e SERS.

Pretendemos analisar qual a contribuição da morfologia da superfície no comportamento do sinal de SPR e na qualidade espectral do sinal Raman. Para esta análise, utilizaremos a Microscopia de Força Atômica e de Tunelamento para avaliar a topografia dos filmes antes e após as modificações superficiais.

Caracterizaremos a superfície dos filmes finos utilizando a técnica de voltametria cíclica antes e após as modificações eletroquímicas, onde obteremos o fator de rugosidade em função da sua área eletroquímica ativa.

Em seguida, pretende-se analisar o sinal de SPR e SERS utilizando filmes com espessura de 100 nm. Através do número de ORCs conseguiremos o controle da espessura e rugosidade da superfície do filme, que são parâmetros críticos para o SPR e SERS, respectivamente.

Analisaremos a eficiência dos filmes finos de ouro como substratos SERS ativos utilizando a molécula de prova 2-tiouracil, devido à facilidade de adsorção na superfície do ouro e um grande número de trabalhos na literatura.

Por fim, faremos uma análise da confiabilidade das técnicas de AFM, STM e da voltametria cíclica na obtenção da rugosidade superficial, pois é um parâmetro de fundamental importância para a obtenção e compreensão do fenômeno SERS.

Organização da Tese

A tese está organizada em 5 capítulos e 2 anexos.

No capítulo 2, apresentaremos e discutiremos os fundamentos teóricos empregados em cada técnica utilizada neste trabalho.

No capítulo 3, mostraremos os procedimentos experimentais utilizados neste trabalho comparando com a teoria apresentada.

No capítulo 4 analisaremos e discutiremos os resultados obtidos no trabalho, no qual está dividido em 3 seções de resultados.

No capítulo 5 apresentaremos as conclusões do trabalho.

No anexo A, apresentaremos uma discussão matemática fundamentada nos princípios físicos da ressonância de plasmon de superfície.

E no anexo B, discutiremos brevemente sobre a Espectroscopia Raman e os modelos que explicam a intensificação do sinal.

Capítulo 2

Fundamentos Teóricos

Neste capítulo, inicialmente discutiremos os princípios teóricos da técnica de Ressonância de Plasmon de Superfície e das técnicas Espectroscópicas, Microscópicas e a Voltametria Cíclica. Na primeira seção, faremos uma descrição dos princípios teóricos que envolvem a Espectroscopia de Ressonância de Plasmon de Superfície. Na seção seguinte, analisaremos as técnicas de microscopia utilizadas para a caracterização da morfologia e topografia da superfície e obtenção dos parâmetros de rugosidade. Dedicamos uma seção para a discussão sobre a Espectroscopia Raman e o efeito SERS, técnica importante na caracterização da molécula orgânica e análise do seu comportamento após adsorvida na superfície do filme fino de ouro. Por fim, falaremos da voltametria cíclica e da sua importância na caracterização e modificação da superfície do eletrodo.

2.1 Princípios Físicos da Ressonância de Plasmon de Superfície

A Espectroscopia de Ressonância de Plasmon de Superfície foi uma técnica desenvolvida no início do século 20, por Robert W. Wood, após a observação de uma anomalia da reflexão da luz em grades de difração metálicas [36]. Desde então, inúmeros traba-

lhos têm surgido, analisando as propriedades fundamentais dos plasmons e as variedades de suas aplicações, tendo como foco o desenvolvimento de sensores ópticos [37, 38]. Entretanto, o maior avanço no estudo dos plasmons superficiais ocorreu em 1968, através de Andreas Otto, Erich Kretschmann e Heinz Raether ao apresentarem métodos para a excitação óptica de plasmons superficiais em filmes metálicos [24, 25].

Plasmons de Superfícies são ondas eletromagnéticas que se propagam ao longo da interface entre um metal e um dielétrico e possuem características fortemente dependentes dos parâmetros ópticos dos dois meios e da estrutura da interface. Quando a luz irradia um prisma óptico e atinge um filme fino metálico, geralmente de Au, Ag e Cu, sob condições ideais de acoplamento, o feixe de luz incidente interage com os elétrons livres do condutor. Como resultado, os elétrons respondem oscilando coletivamente em ressonância com a onda eletromagnética. A consequência é uma diminuição na intensidade da reflectividade da luz, tornando-se quase zero a um determinado ângulo de incidência. A ressonância entre a oscilação de cargas superficiais e o campo eletromagnético da luz constituem os plasmons superficiais e possuem propriedades únicas.

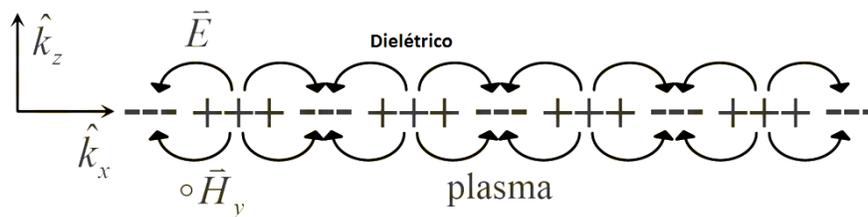


Figura 2.1: Interação da radiação eletromagnética provocando uma oscilação da densidade de carga longitudinal.

Para excitação dos plasmons superficiais, o sistema experimental desenvolvido por Krestchmann, em 1971, é normalmente o mais utilizado nos instrumentos de SPR, pois geralmente apresenta maior sensibilidade e resolução comparado aos dispositivos que operam por grades de difração [39, 40]. A configuração desenvolvida por Krestchmann, como mostra a Figura 2.2 (a), baseia-se no fenômeno de reflexão interna total.

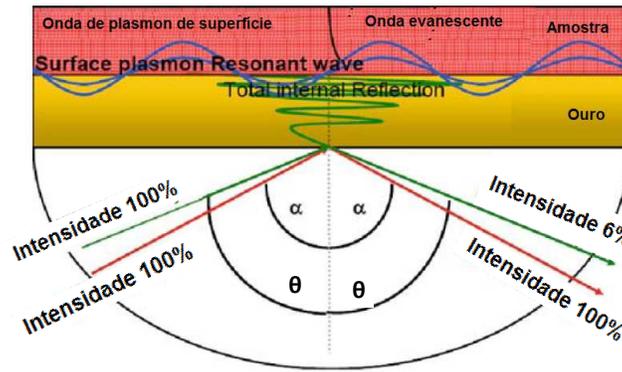


Figura 2.2: (a) Configuração de Krestchmann para SPR. O dielétrico em contato com o metal permite a transferência de parte da energia da onda incidente para os elétrons livres da superfície do condutor. Adaptado de [41, 42].

Esse fenômeno ocorre quando um feixe de luz, propagando-se através de um meio com alto índice de refração (n_1), como por exemplo, um prisma de vidro ou quartzo, encontra uma interface que apresenta baixo índice de refração (n_2). A lei de Snell para a refração da luz é definida por:

$$n_1 \cdot \text{sen}\theta_i = n_2 \cdot \text{sen}\theta_r \quad (2.1)$$

Se o feixe de luz é totalmente refletido internamente, para os ângulos incidentes maiores que um ângulo crítico θ_C , a lei de Snell pode ser reescrita como:

$$\theta_C = \sin^{-1} \left(\frac{n_1}{n_2} \right) \quad (2.2)$$

Embora a luz incidente seja totalmente refletida internamente, uma componente desta radiação, ou onda evanescente, penetra a uma distância pequena no segundo meio e propaga-se paralelamente ao plano da interface. Na configuração de Krestchmann, a relação de dispersão das ondas de plasmon superficiais é obtida resolvendo as equações de Maxwell em cada meio, com as respectivas condições de contorno¹. A componente paralela do fóton incidente tem vetor de onda (k_x), relacionado ao ângulo de incidência da luz, é dado por:

$$k_x = \frac{\omega}{c} \sqrt{\varepsilon_P} \sin \theta \quad (2.3)$$

onde θ é o ângulo de incidência da radiação com a superfície do metal, ε_P , é a constante dielétrica do prisma, ω é a frequência angular da luz incidente e c , a velocidade da luz.

O vetor de onda de propagação das ondas de plasmons superficiais (k_{PS}) na interface metal/dielétrico é expresso por:

$$k_{PS} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_a}{\varepsilon_a + \varepsilon_m}} \quad (2.4)$$

sendo ε_m a constante dielétrica do metal e ε_a a constante dielétrica da amostra (espécies que interagem com a superfície), ω é a frequência angular da onda.

No entanto, quando o vetor de onda da radiação incidente for de igual magnitude do vetor de onda dos plasmons superficiais, ocorre o fenômeno de ressonância de plasmon de superfície, ou seja, deve se verificar uma queda na reflectância, devido a formação da onda evanescente, caracterizando o ângulo de ressonância, que pode ser descrito matematicamente por:

$$\theta_R = \sin^{-1} \left(\sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_a}{(\varepsilon_a + \varepsilon_m) \varepsilon_P}} \right) \quad (2.5)$$

¹Cálculos apresentados no Apêndice A

Através da equação 2.5 pode-se observar que as propriedades ópticas do sistema são dependentes das constantes dielétricas do metal, do prisma e da amostra, e que qualquer mudança nestes parâmetros é acompanhada de mudanças no ângulo de ressonância, tornando possível o uso do SPR no monitoramento de alterações provocadas na superfície do filme fino metálico.

2.2 Técnicas de Microscopia

2.2.1 Microscopia de Varredura por Tunelamento

A técnica de microscopia de varredura por tunelamento foi desenvolvida nos anos 80 pelos físicos Gerd Binnig e Heinrich Rohrer [43, 44], nos laboratórios da IBM de Zurich em 1981. A pesquisa impulsionou o estudo de objetos em escala atômica e deu origem ao desenvolvimento de uma grande variedade de microscópios de varredura por sonda, tais como o microscópio de força atômica, o microscópio de força magnética (MFM), o microscópio de força eletrostática (EFM), microscópio óptico de campo próximo (SNOM) e outros derivados.

No STM, uma ponta fina metálica é usada para medir o valor da corrente que passa entre ela e a amostra, sendo a distância entre elas menor que 1 nm, mas não devendo tocar-se [45]. Essa pequena distância permite que elétrons passem da ponta para a amostra, ou vice-versa, por tunelamento, dependendo da polaridade da voltagem aplicada entre a sonda e a amostra. A corrente varia com a distância entre elas, sendo diretamente proporcional à voltagem V aplicada. Então, a corrente de tunelamento I pode ser expressa através do formalismo de Bardeen de primeira ordem [46], que é a probabilidade de tunelamento através da matriz de tunelamento $M_{\mu\nu}$ entre os estados ψ_μ da ponta e ψ_ν da superfície, expressa por:

$$I = \frac{2\pi e}{\hbar} \sum_{\mu\nu} |M_{\mu\nu}|^2 \delta(E_\mu - E_\nu) [f(E_\mu) - f(E_\nu)] \quad (2.6)$$

onde $f(E)$ é a função de Fermi, V é a voltagem aplicada, E_μ é a energia do estado ψ_μ na ausência de tunelamento, e a função δ indica que não pode haver perda de energia do elétron durante o percurso pela barreira.

A matriz de tunelamento é dada por:

$$M_{\mu\nu} = \frac{\hbar^2}{2m} \int dS \cdot (\psi_\mu^* \nabla \psi_\nu) - (\psi_\nu \nabla \psi_\mu^*) \quad (2.7)$$

A integral deve ser calculada sobre qualquer superfície confinada dentro da região da barreira que separa a ponta e a superfície.

A Figura 2.3 mostra um esquema básico de um STM. A ponta metálica varre a amostra com velocidade controlada pelo *software*, varrendo no plano x-y controlado por um *scanner* “piezoelétrico” que submetido a uma diferença de potencial tem a propriedade de contrair ou expandir provendo a movimentação precisa no processo de varredura da superfície da amostra.

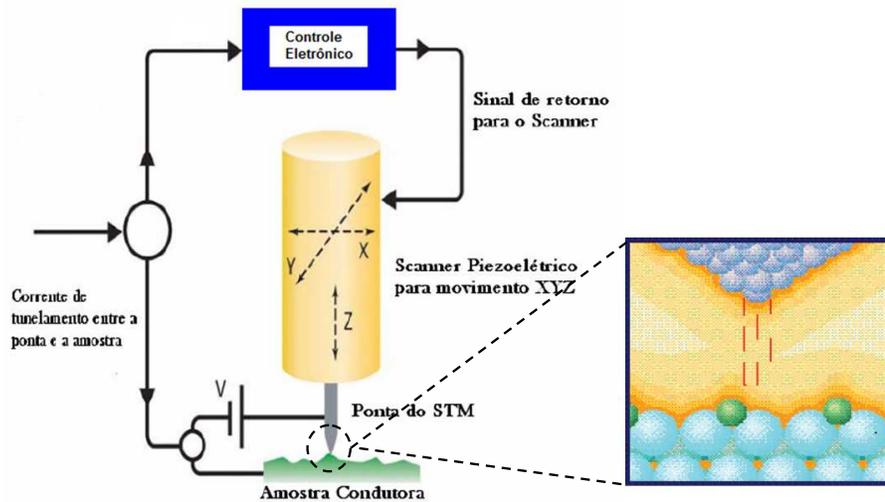


Figura 2.3: Ponta metálica de um STM próxima a uma amostra. Os elétrons vencem o gap de energia e tunelam da ponta fina à amostra (condutora) fornecendo informações estruturais e eletrônicas a nível atômico.

O computador monitora a corrente de tunelamento, mudando a posição da ponta ao longo do eixo-z e mantendo a corrente constante. Esse modo é chamado de *Modo de Corrente Constante*, pois o computador tenta manter a corrente de tunelamento constante. O STM também pode operar a varredura mantendo a altura da ponta constante em relação a amostra. Neste caso, a ponta de prova varre a amostra nas direções x-y e mantém fixo o eixo-z, permitindo varreduras rápidas e com um certo sacrifício da resolução vertical.

2.2.2 Microscopia de Força Atômica

O microscópio de força atômica pertence a uma série de microscópios de varredura por sonda inventado nos anos 80. Diferente do STM, o AFM permite a obtenção de imagens da topografia de superfícies condutoras e isolantes, e em alguns casos, com resolução atômica [47].

Na Figura 2.4, ilustra o princípio de funcionamento do AFM. A amostra é varrida por uma ponta de prova acoplada a um cantilever flexível, onde as forças entre a ponta e amostra são medidas pelo monitoramento da deflexão do cantilever. Essas forças dependem de diversos fatores, tais como a do material que compõe a amostra e a ponta de prova, a distância entre elas e a geometria da ponta.

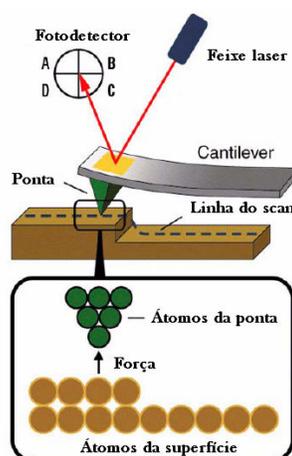


Figura 2.4: Esquema de um microscópio de força atômica ilustrando a deflexão do feixe do laser para medir as forças entre a ponta e a superfície da amostra.

O AFM pode ser utilizado no modo estático ou dinâmico. No modo estático, também conhecido como modo repulsivo ou *modo contato*, os átomos frontais da ponta entram em contato com a superfície da amostra, e durante este contato inicial, os átomos da ponta sofrem forças repulsivas muito fracas devido a sobreposição dos orbitais eletrônicos com os átomos da superfície da amostra. As forças que atuam na ponta causam uma deflexão no cantilever, no qual é medida por um fotodiodo detector. No modo dinâmico de operação do AFM, também conhecido como *modo não-contato*, a ponta e a amostra ficam separadas a uma distância de poucos nanômetros, e o cantilever oscila com uma amplitude ou frequência de modulação. Neste modo, forças de Van der Waals muito fracas surgem na interface entre a ponta e a amostra, e a pressão exercida nesta interface é nula, para evitar qualquer deformação superficial. O gradiente da força é obtido pela vibração da cantilever e o deslocamento da frequência de ressonância, e para obter a informação topográfica, a força de interação é armazenada, ou utilizada como um parâmetro de controle para um *feedback* do circuito para manter a força constante [48]. As forças de interação que surgem entre a ponta de prova e a superfície da amostra podem ser observadas no gráfico da Figura 2.5.

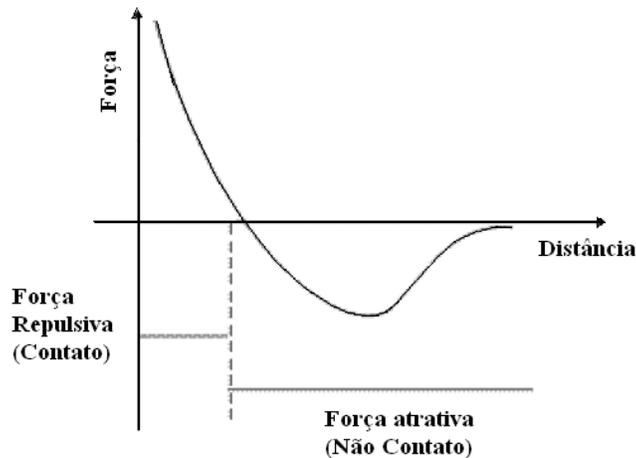


Figura 2.5: Forças existentes entre a ponta e a amostra.

2.3 Espectroscopia Raman

A descoberta do espalhamento Raman por Krishna e pelo físico indiano Chandrasekhara Venkata Raman, no ano de 1928 [49, 50], rendeu-lhe em 1931, o Prêmio Nobel de Física pela sua descoberta e exploração sistemática. Esta técnica espectroscópica tem ocupado uma posição de destaque na investigação da estrutura da matéria e obtenção de informações químicas de diversos compostos orgânicos e inorgânicos, permitindo, assim, a sua identificação através de informações vibracionais. Além de uma série de vantagens, tal como manter inalterada a superfície que é analisada, essa espectroscopia também permite a obtenção de espectros de substâncias em meios aquosos, além do uso de recursos especiais, como o efeito Raman Ressonante [51] e o efeito SERS.

No espalhamento Raman, quando uma radiação monocromática interage com um meio material (gás, sólido ou líquido), existe a probabilidade de que uma pequena parte da radiação espalhada tenha uma frequência diferente da radiação incidente. O fóton com energia $h\nu$, pode levar uma molécula, por exemplo, de um estado fundamental para um estado virtual, isto é, um estado não correspondente a um auto-estado da molécula, e imediatamente ocorrer um decaimento como consequência da reemissão do fóton. É possível que a molécula seja excitada do seu estado vibracional fundamental para um determinado estado virtual e retorne ao seu estado inicial com o fóton possuindo a mesma energia inicial recebida. Esse tipo de espalhamento elástico é chamado de espalhamento Rayleigh. No entanto, se a molécula no seu estado fundamental for excitada por $h\nu$ para um estado virtual, e decair em seguida para um estado vibracional excitado, distante por um ΔE do estado fundamental, o fóton será emitido com energia $h\nu - \Delta E$, ou seja, o fóton espalhado possui uma energia menor que a do fóton incidente, e esse tipo de espalhamento inelástico é conhecido como espalhamento Stokes. No espalhamento Raman Anti-Stokes o fóton colide com a molécula já no estado excitado e após a interação a molécula decai do estado virtual para o estado fundamental e o fóton espalhado $h\nu + \Delta E$ tem energia maior do que o incidente. A interação do fóton com um determinado meio material pode ser observada de forma simplificada por um diagrama de energia apresentado na Figura 2.6.

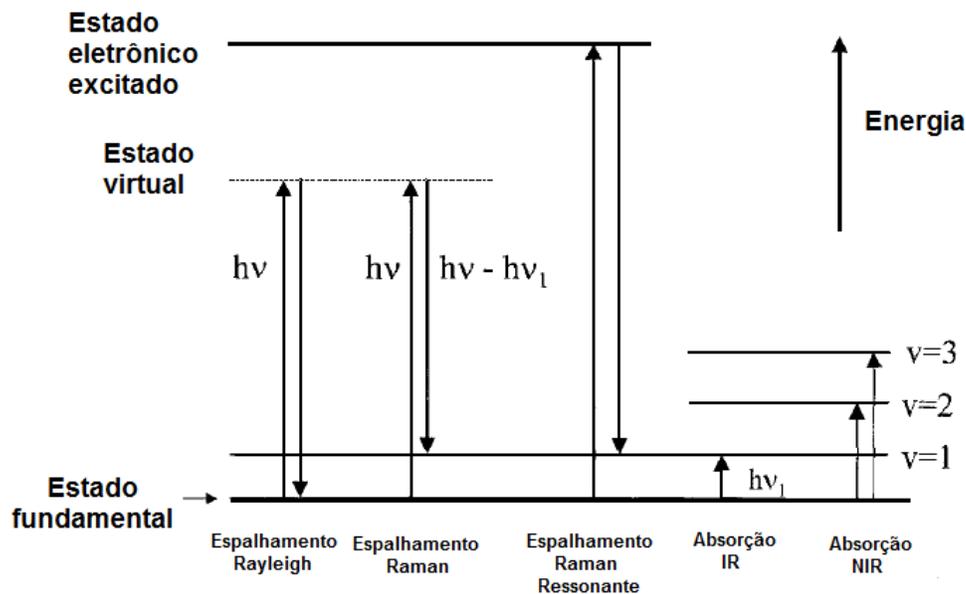


Figura 2.6: Diagrama de Níveis de Energia do Espalhamento Rayleigh e Raman: As linhas horizontais representam os diversos estados vibracionais e as transições entre os estados energéticos para diferentes interações luz-matéria.

O espalhamento Raman é um fenômeno intrinsecamente fraco, correspondendo à fração de cerca de 10^{-7} da intensidade incidente, sendo necessário para sua observação o uso de detectores de radiação muito sensíveis e sistemas ópticos eficientes. O baixo sinal Raman ocorre quando um fóton espalhado possuir maior energia que o fóton incidente, e devido à distribuição de Boltzman, existe um número finito de moléculas que, nas condições ambientes, já estão vibracionalmente excitadas e quando a molécula retorna ao estado fundamental a partir de um estado virtual, um fóton com maior energia do que o fóton incidente é criado. Então, como apenas uma fração reduzida de moléculas se encontra no estado vibracional excitado, e o espalhamento Anti-Stokes será bem mais fraco que os outros espalhamentos. E mesmo sendo o espalhamento Stokes mais intenso que o Anti-Stokes, observa-se que apenas uma reduzida fração da radiação incidente sofre espalhamento inelástico, sendo o espalhamento Rayleigh preponderante.

2.3.1 Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície

O espalhamento Raman possui um baixo número de fótons espalhadores (seção de choque em torno de $10^{-30} \text{cm}^2 \cdot \text{molecula}^{-1} \cdot \text{sr}^{-1}$), o que torna esta espectroscopia ineficiente para a detecção de espécies em sistemas diluídos. Para contornar essa limitação, nos anos 70 foi descoberto o efeito de intensificação do espalhamento por meio da superfície (SERS). Esta técnica tem sido usada com relativo sucesso para o aumento do sinal Raman de uma molécula adsorvida na superfície de eletrodos rugosos. O aumento do sinal Raman nessa superfície é estimado ser da ordem de 10^6 [33, 34]. Este efeito foi descoberto casualmente por Fleischmann e outros, durante uma tentativa de estudar espécies adsorvidas em superfícies de eletrodos de Ag ativados por ciclos de oxidação e redução do metal [52].

Inicialmente esse efeito foi considerado pelos autores como decorrente do aumento da área efetiva do eletrodo após o tratamento eletroquímico, o que permitiria a adsorção de um maior número de moléculas. Posteriormente, trabalhos de Duyne e Creighton [53, 54] mostraram que o fator de intensificação observado era muito maior do que o esperado pelo simples aumento da área. Nesses trabalhos, o espectro da piridina foi intensificado de um fator de 10^6 . Então, concluíram que o aumento da rugosidade, o tipo de radiação incidente e o tipo de metal utilizado como substrato tinham um papel importante no SERS. Entretanto, a natureza exata do motivo do aumento do sinal Raman através do SERS não é completamente entendida. Mas dois modelos teóricos buscam elucidar esse efeito: o Eletromagnético e o Químico, ou de transferência de cargas.

O modelo de intensificação eletromagnética está associado ao aumento do campo eletromagnético próximo à superfície do metal, devido ao aumento do campo local resultante da ressonância de plasmon, que é a excitação da oscilação coletiva dos elétrons da banda de condução, localizado em uma superfície metálica devido a de radiação eletromagnética. A ressonância de plasmon de superfície gera um alto campo de energia na superfície metálica, que decai rapidamente longe dela. No entanto, o campo eletromagnético incidente, atuando em uma molécula adsorvida em uma superfície metálica, é aumentado devido à adição do campo de energia da partícula metálica. Então, uma molécula pode

experimentar uma intensificação do seu sinal quando comparado a molécula livre, ou sem estar adsorvida na superfície de metais tais como Au, Ag ou Cu. O modelo químico, ou de transferência de cargas, supõe que um elétron do nível de Fermi do metal é excitado por um fóton incidente criando um par elétron-lacuna. O elétron (ou lacuna) é transferido para um nível eletrônico da molécula adsorvida, a qual tende a adquirir uma nova configuração de equilíbrio. O elétron voltando ao metal deixaria a molécula adsorvida excitada vibracionalmente e quando o par elétron-lacuna é aniquilado origina o fóton espalhado. Atualmente, observações experimentais fornecem evidências que o efeito SERS é uma combinação dos dois modelos citados ².

2.4 Voltametria Cíclica

A voltametria é uma técnica eletroanalítica que possibilita informações qualitativas e quantitativas dos fenômenos que ocorrem na interface entre a superfície do eletrodo de trabalho e a camada fina de solução adjacente a essa superfície. Essas informações são obtidas através da medida da intensidade da corrente elétrica que atravessa o eletrodo de trabalho ao se aplicar um potencial entre um eletrodo de trabalho e um eletrodo auxiliar.

Das diversas técnicas eletroquímicas, a voltametria cíclica é amplamente empregada para estudar as reações que ocorrem na superfície de eletrodos. É uma técnica excelente para pesquisar a reatividade de novos materiais ou compostos, além de fornecer informações sobre o potencial no qual ocorre os processos de oxidação ou redução, os estados de oxidação de espécies redox, a taxa de transferência de elétrons, possíveis processos químicos associados com transferência de elétrons, efeitos de adsorção, etc [55].

A voltametria cíclica consiste em variar linearmente um potencial aplicado ao eletrodo em função do tempo, ocasionando reações de oxi-redução de espécies eletroativas na solução, e também permitindo o surgimento de uma corrente capacitiva devida à dupla camada. Na voltametria cíclica, a direção da voltagem é invertida após um dado limite de potencial [56].

²Estes dois modelos serão discutidos com mais detalhes no Apêndice B

Célula Eletroquímica

Durante um experimento eletroquímico as reações de interesse na interface ocorrem em um sistema chamado de célula eletroquímica, contendo uma solução eletrolítica e três eletrodos, como mostra o sistema representado na Figura 2.7.

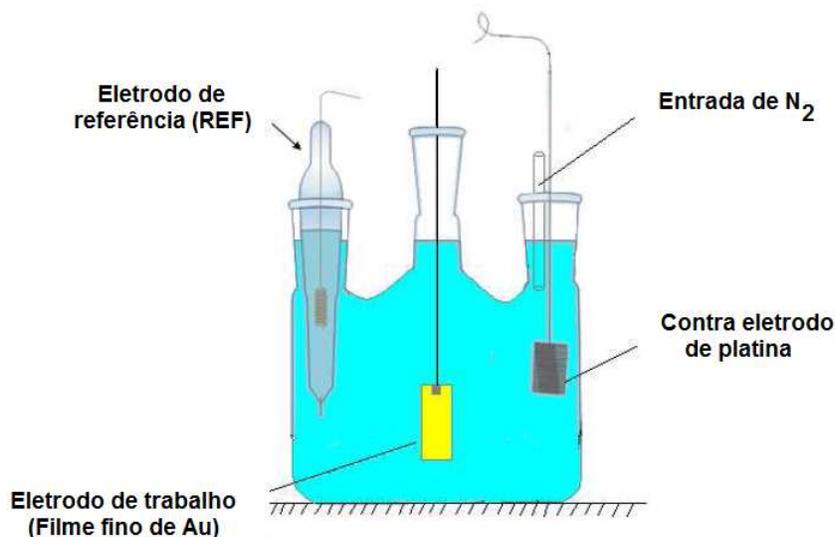


Figura 2.7: Esquema da célula eletroquímica utilizada.

No eletrodo de trabalho (WE - *Working Electrode*) ocorrem as reações de interesse. Para uma determinada reação, um potencial é estabelecido entre o eletrodo de trabalho e o contra-eletrodo (CE), que consiste de um material inerte na faixa do potencial utilizado, geralmente de platina, possuindo uma grande área para não se constituir em um fator limitante nas reações, principalmente as de oxidação-redução.

O potencial do eletrodo de trabalho é medido em relação a um eletrodo de referência, que tem como função manter seu potencial padrão inalterado durante todo o processo eletroquímico. O eletrodo de referência amplamente utilizado é o eletrodo de hidrogênio, considerado como o eletrodo primário de referência, constituído de um fio de platina em contato com um eletrólito saturado de H_2 .

Capítulo 3

Procedimentos Experimentais

Neste capítulo, iniciaremos apresentando os materiais e o processo de limpeza dos substratos de vidro e preparação dos filmes finos metálicos por *ion-sputtering*. Na seção seguinte, demonstraremos o arranjo experimental montado para a obtenção do sinal de ressonância de plasmon de superfície e o arranjo eletroquímico utilizado para caracterização e modificação da superfície dos filmes de ouro. Apresentaremos as especificações dos equipamentos de microscopia de força atômica e de tunelamento e os espectrômetros Raman e UV-Vis. E Por fim, demonstraremos a metodologia utilizada para a adsorção da molécula orgânica sobre a superfície dos filmes de ouro.

3.1 Experimental

3.1.1 Materias e Reagentes

As soluções utilizadas, todas foram feitas com água deionizada, purificada com um sistema de água Milli-Q (Deionizador Permutation) a $18\text{M}\cdot\Omega\cdot\text{cm}$ a 25°C . As soluções de H_2SO_4 e H_2O_2 foram fabricadas pela Quimex e Quemis, respectivamente, e usadas conforme recebidas.

A molécula de prova para os experimentos SERS é o 2-tiouracil (2TU), e foi obtida da

Sigma-Aldrich e dissolvida em uma solução de etanol a uma concentração de 5 mM.

O KCl foi adquirido da Sigma-Aldrich e usado conforme recebido. Os gases de argônio (Ar) e nitrogênio (N_2) foram obtidos da White-Martins. Os alvos metálicos de ouro e cromo foram adquiridos da Kurt J. Lesker, com diâmetros de 5 cm. Utilizamos como substratos, lâminas de vidro de microscópio cortadas com dimensões de 1,8 cm \times 1,2 cm, para a deposição do cromo e dos filmes finos metálicos de ouro com espessura controlada.

3.1.2 Preparação e Limpeza dos Substratos

O processo de limpeza é um dos procedimentos mais importantes na obtenção dos filmes finos metálicos de Au, pois a presença de contaminantes na superfície do substrato diminui a aderência do filme depositado.

Os slides de vidro foram cortados, lavados com água ultra-pura, deixados em uma solução de permanganato de potássio ($KMnO_4$) durante 12h e, após serem retirados da solução, foram lavados abundantemente em água Milli-q e imersos em uma solução piranha $H_2SO_4:H_2O_2$, numa proporção de 3:1, onde permaneceram por 1h. Depois foram novamente enxaguados com água ultra-pura e levados para um banho ultra-sônico, durante 30 minutos, para a retirada de resíduos na superfície. Os substratos foram novamente lavados com água ultra-pura e secos, utilizando um jato de argônio. Após a secagem os substratos foram armazenados no interior de um dessecador com sílica, até o momento da deposição.

3.1.3 Preparação dos Filmes Finos Metálicos

Após o tratamento de limpeza, as lâminas foram transferidas para um sistema de *ion - sputtering*, como o esquematizado na Figura 3.1, para a deposição de um filme fino metálico, realizada a uma pressão de 10^{-1} mbar e corrente de 35 mA. O sistema de *sputtering* utilizado neste trabalho foi desenvolvido pela Kurt J. Lesker (Company 108). A taxa de deposição para o Cr é de 0,01 nm/s e, para o filme de ouro, é de aproximadamente

0,2 nm/s.

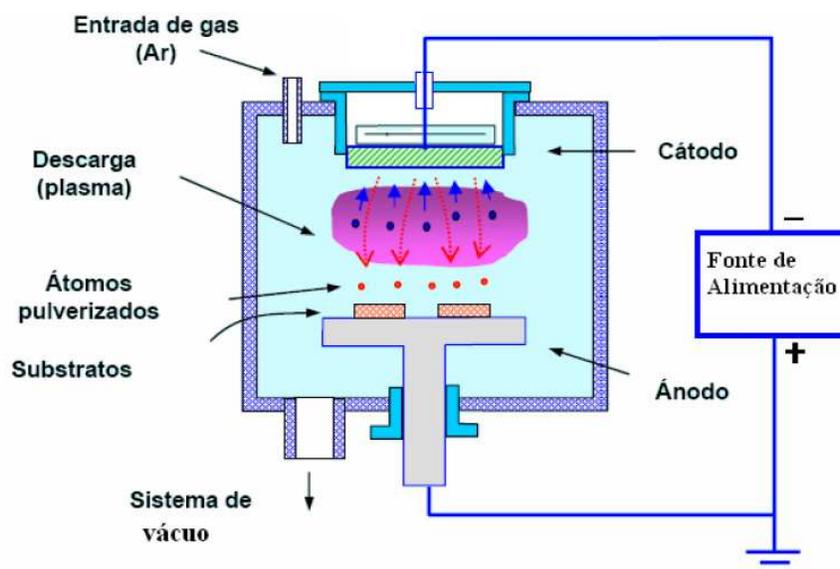


Figura 3.1: Arranjo experimental do equipamento de *ion-sputtering*.

No aparato utilizado para a preparação dos filmes, gás de argônio é injetado na câmara e, após a aplicação de uma diferença de potencial, os íons do gás ganham energia e colidem com o alvo metálico retirando átomos desse alvo, que são depositados sobre os substratos, formando um filme fino metálico com espessura controlada por uma micro-balança de cristal de quartzo.

Metais nobres como Au e Ag não possuem boa aderência em slides de vidro, que pode ser um fator limitante para o uso como eletrodos em sistemas eletroquímicos, e portanto, para aumentar a adesão do Au no substrato, inicialmente depositamos uma camada de 3 - 5 nm de espessura de cromo. Essa pequena camada de Cr assegura a estabilidade dos metais nobres na superfície do vidro.

Após a deposição observamos que o aumento da espessura provoca uma nítida mudança na coloração dos filmes, que estão diretamente relacionadas com o tamanho e forma dos grãos nanoparticulados do filme, influenciando diretamente nas propriedades mecânicas e ópticas do filme de Au [57]. Essas informações podem ser observadas através das técnicas de microscopia e espectroscopia apresentadas no capítulo seguinte.

3.1.4 Adsorção do 2-tiouracil na superfície dos Filmes Finos de Ouro

Uma das técnicas utilizadas para estudar as modificações que ocorrem na superfície de eletrodos metálicos é através da adsorção de moléculas orgânicas. A adsorção espontânea de apenas monocamadas de moléculas que exibam uma alta organização são conhecidas como Monocamadas Auto-Montadas (SAM - “*Self-assembled monolayer*”)[58]. A adsorção deste tipo de moléculas, tais como derivados alquil, álcoois, aminas, tióis, etc, deve-se à alta afinidade de um grupo funcional como adsorvente, que apresenta certa especificidade para interagir com a superfície do substrato, como por exemplo, na superfícies de metais tais como Au, Ag, Pt e Cu, etc, [59, 60].

O estudo das SAMs de tióis e alcanotióis em superfícies metálicas e na superfície de semicondutores, são um dos sistemas mais estudados de filmes moleculares orgânicos. O átomo de enxofre da molécula permite a ligação de uma cadeia de hidrocarbonetos de variados comprimentos na superfície do metal, através de uma ligação covalente, enquanto forças de van der Waals entre moléculas vizinhas contribuem para estabilizar a estrutura [61, 62]. Então, moléculas de tióis apresentam alta afinidade com superfícies de metais como o ouro, devido à estabilidade da ligação Au-S. A Figura 3.2 apresenta um esquema do emparelhamento perfeito entre uma molécula de tiól e a superfície metálica do ouro, resultando numa estrutura altamente ordenada.

Para a adsorção da molécula de 2-tiouracil na superfície dos filmes finos de ouro, utilizamos o seguinte procedimento: (a) Os filmes de ouro são lavados previamente em uma solução piranha diluída (7:3) e enxaguados em água ultra-pura; (b) Logo após este procedimento, os filmes são imersos em uma solução etanólica de 2-tiouracil ($5 \times 10^{-3} \text{M}$) e retirados da solução após permanecerem por 12 h, e (c) Após serem retirados da solução, são lavados e secos com um jato de N_2 .

Os filmes são imersos na solução etanólica com o 2-tiouracil com o pH neutro e estável para a obtenção do sinal SERS.

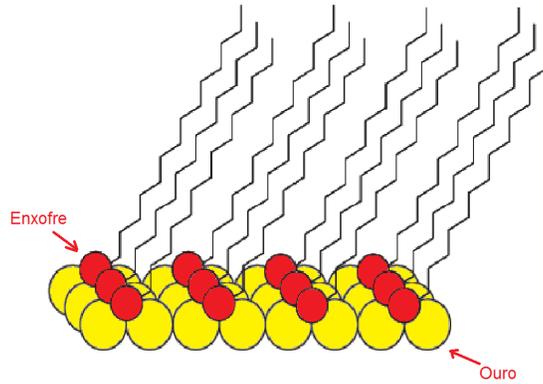


Figura 3.2: Estrutura de uma monocamada auto-organizada de tiol sobre a superfície de ouro. Adaptado de [58].

3.2 Equipamentos

3.2.1 Arranjo do Sistema de Ressonância de Plasmon de Superfície

A construção do aparato para a obtenção da ressonância de plasmon de filmes finos de ouro foi baseada na configuração de Kretschmann, que é a configuração mais implementada na maior parte dos instrumentos de SPR. Seguimos o modelo desenvolvido por Tao *et al.* [63].

Um feixe de laser diodo (3 mW e $\lambda = 632$ nm) incide em um prisma de vidro BK7 semi-cilíndrico, de índice de refração $n = 1,516$, e com o auxílio de um líquido casador de índices, o substrato de vidro com um filme fino de ouro é acoplado na base do prisma. O líquido acoplador possui índice de refração de $n_P = 1,51$, necessário para a continuidade da onda evanescente na interface dos meios devido a não uniformidade das duas superfícies. A intensidade da luz refletida é obtida em função do ângulo de incidência, medida por um goniômetro, sobre o qual o prisma está montado.

O laser atinge diretamente o prisma e penetra na interface, onde encontra-se o filme metálico. A luz refletida é coletada por um fotodiodo, montado sobre um trilho de translação linear (New Focus), que serve para deslocar o detector a cada nova medida de ângulos de reflexão.

Uma componente dessa radiação (campo evanescente) penetra na interface até a distância de um comprimento de onda e, em um determinado ângulo de incidência, quando o vetor de onda de plasmon é igual ao vetor de onda do campo evanescente, parte da radiação acopla-se aos elétrons livres do filme metálico, ocorrendo a ressonância de plasmon de superfície. Neste ângulo, ocorre uma perda de energia da luz incidente para o filme metálico, resultando na redução da intensidade da luz refletida, detectada por um fotodiodo de dois quadrantes (A e B), onde o sinal medido é a intensidade máxima $A+B$ que é recebida por um osciloscópio (Tektronix TDS 1002 - 60 MHz), que converte e amplifica o sinal em função de uma ddp em mV.

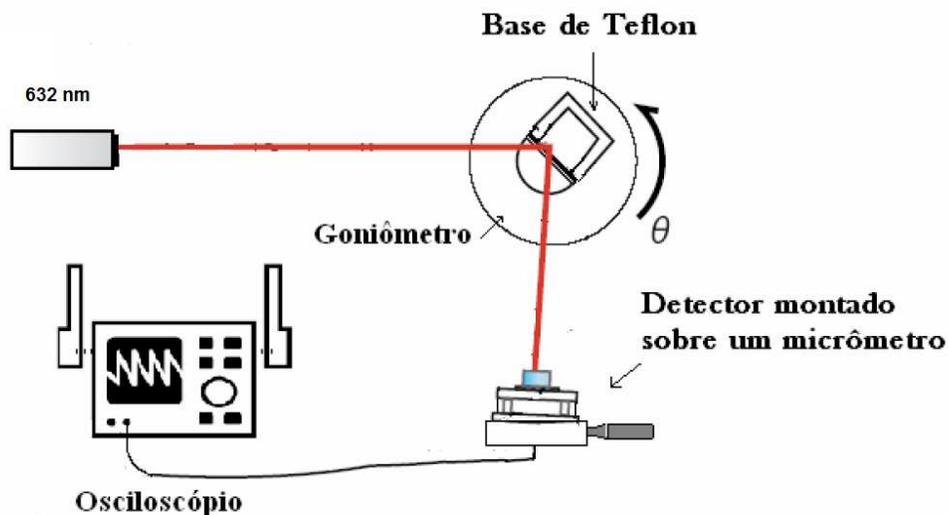


Figura 3.3: Arranjo do aparato *home-made* do SPR.

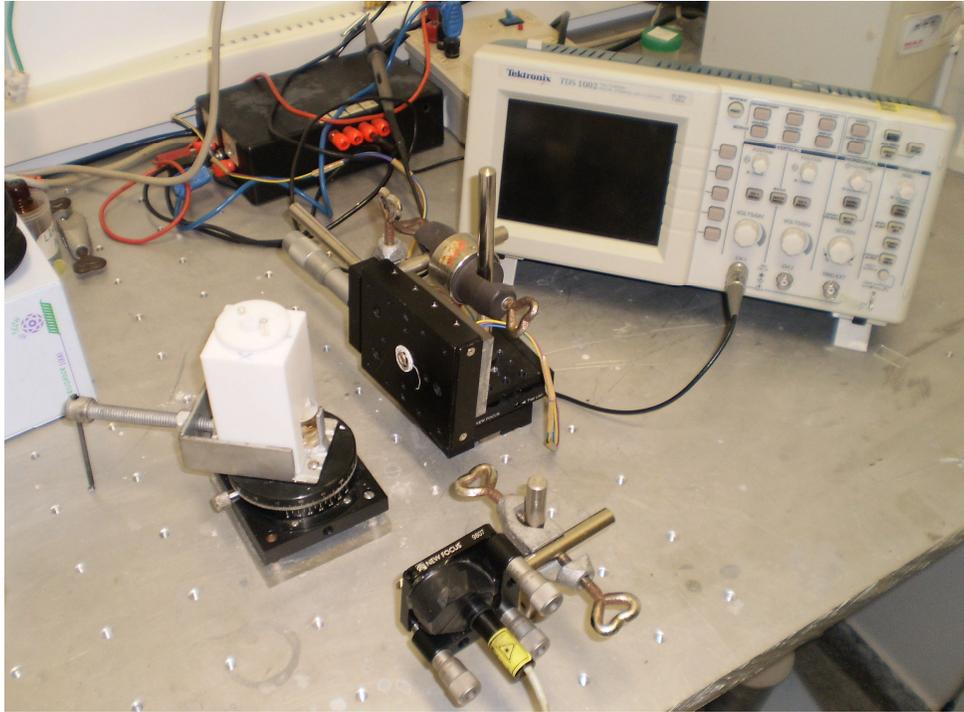


Figura 3.4: Foto do aparato de Ressonância de Plasmon de Superfície.

3.2.2 Microscópio de Força Atômica e de Tunelamento

A caracterização morfológica dos filmes finos de ouro foi realizada através de Microscopia de Força Atômica e Microscopia de Varredura por Tunelamento, utilizando um Agilent 5500 Scanning Probe Microscope, controlado pelo software PicoScan versão 1.4. Todas as imagens foram obtidas em condições ambiente, e no modo de operação contato para a obtenção das imagens de AFM, e no modo de corrente constante para as imagens de STM. As imagens de AFM foram obtidas utilizando cantilevers de Si_3N_4 de curvatura em torno de 50 nm. Para a obtenção das imagens de STM, usamos pontas cortadas mecanicamente de Pt-Ir (10% de Ir). A Figura 3.5 ilustra o microscópio utilizado e as partes que o compõe.

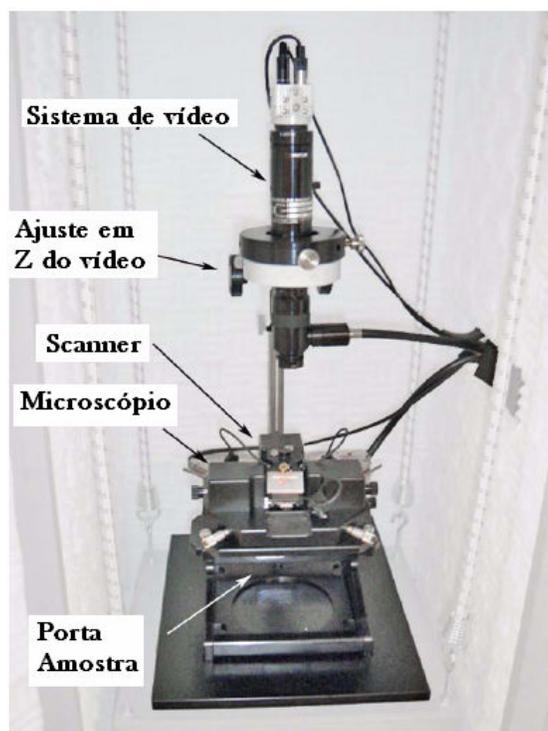


Figura 3.5: Microscópio de força atômica e de Varredura por Tunelamento da Agilent 5500.

3.2.3 Arranjo das Células Eletroquímicas para Caracterização e Modificação da Superfície dos Filmes Finos de Ouro

Todos os experimentos eletroquímicos foram realizados em duas células eletroquímicas, como mostrado na figura 3.6. Uma das células foi utilizada para a caracterização da superfície do filme fino de Au antes e após as modificações superficiais, contendo uma solução de 0,1 M de H_2SO_4 , enquanto a outra, para provocar modificações na superfície do filme utilizando uma solução de H_2SO_4 (0,1 M) + KCl ($5 \times 10^{-3} M$). As células eletroquímicas foram conectadas a um sistema de desoxigenação, no qual efetuamos um borbulhamento com nitrogênio, para manter uma atmosfera inerte durante a realização do experimento. Em todos os experimentos eletroquímicos foi utilizado o potenciostato μ Autolab Type III fabricado pela Autolab, e controlado pelo software GEAP.

O filme fino de Au, onde ocorre a reação de interesse, é chamado de eletrodo de trabalho (WE). A superfície do filme, antes da caracterização e modificação da superfície, é envolvido com uma fita de teflon para delimitar a área geométrica de aproximadamente 1 cm^2 .

O eletrodo de referência utilizado foi um eletrodo padrão de hidrogênio (SHE) constituído de um fio de platina em contato com o gás hidrogênio e com uma solução contendo íons hidrogênio. O SHE utilizado neste trabalho tem como eletrólito suporte o H_2SO_4 (0,1 M), que preenche todo o corpo do eletrodo. Como o hidrogênio e os íons estão presentes na interface eletrodo/eletrólito, a reação nesse eletrodo é dada por:



Considerando que a platina atua como um reservatório de elétrons, mas não faz parte da reação.

O contra-eletrodo (CE) utilizado foi uma placa de platina com uma área de aproximadamente de 1 cm^2 . O eletrodo é limpo utilizando a técnica de *flame-annealing*, para a eliminação de contaminantes orgânicos na superfície que possam interferir nos resultados dos voltamogramas.

O arranjo experimental das células eletroquímicas utilizadas para a caracterização e modificação da superfície dos filmes fino de ouro é mostrado na figura 3.6.

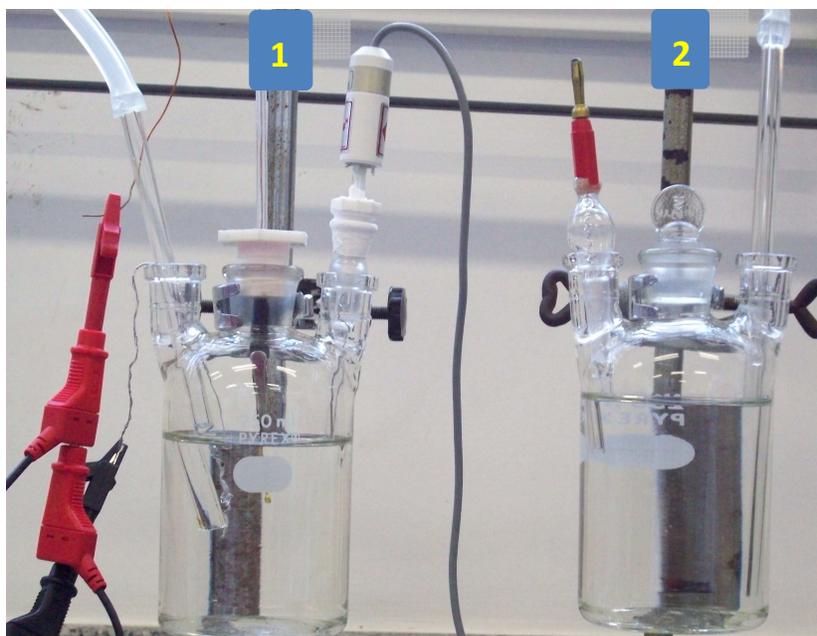


Figura 3.6: Foto das células eletroquímicas utilizadas nos experimentos. A célula (1) contendo a solução de H_2SO_4 para a caracterização da superfície do filme; e a célula (2) utilizada para modificar a superfície na solução de $H_2SO_4 + KCl$.

O protocolo para a realização dos experimentos eletroquímicos pode ser descrito da seguinte maneira:

1. Os filmes finos de ouro são introduzidos em uma célula eletroquímica contendo uma solução de H_2SO_4 desoxigenada com uma concentração de 0,1 M.
2. É obtido um primeiro voltamograma do filme de ouro a uma velocidade de 100 mVs^{-1} , entre a faixa de potencial de 0 a 1.6 V, para análise inicial da superfície.
3. Após a análise, os filmes são submetidos a uma série de ciclos contínuos a uma velocidade de 700 mV/s até observarmos pouca variação na curva do voltamograma. Esse procedimento é realizado para limpar a superfície do eletrodo de possíveis contaminantes.

4. Após esse procedimento de limpeza, obtemos o que consideramos, o perfil voltamétrico inicial do filme fino de ouro livre de impurezas.
5. Para realizar as modificações superficiais, os filmes são transferidos para outra célula eletroquímica contendo uma solução purgada de H_2SO_4 (0,1 M) + KCl (0,005 M).
6. Nessa solução, o filme é submetido a diversos ciclos controlados de oxi-redução, a uma velocidade de 100 mV/s, para provocar mudanças significativas na superfície do filme de ouro.
7. O filme é retirado da célula contendo a solução com KCl , lavado com água ultra-pura para retirar o excesso de íons de Cl^- da superfície e novamente transferido para a célula que possui somente a solução de H_2SO_4 para a sua caracterização.
8. Para obter o perfil voltamétrico após as modificações na superfície, os procedimentos 2,3 e 4, são repetidos. Esse novo voltamograma é comparado com o voltamograma ciclico inicial em H_2SO_4 .

3.2.4 Espectrômetro Raman

Os espectros Raman e SER foram obtidos utilizando um Espectrômetro Raman Bruker dispersivo modelo Senterra, equipado com um microscópio Olympus, utilizando uma objetiva de 50x. Os espectros SER foram obtidos por um feixe laser de 785 nm de argônio, utilizando uma potência de 50 mW sobre a superfície do filme e um laser de He/Ne de 633 nm com potência de 20 mW, ambos com abertura de 2 mm e utilizando 30 s de integração e 10 co-adições.

O esquema para a obtenção dos espectros SERS é apresentado na figura abaixo.

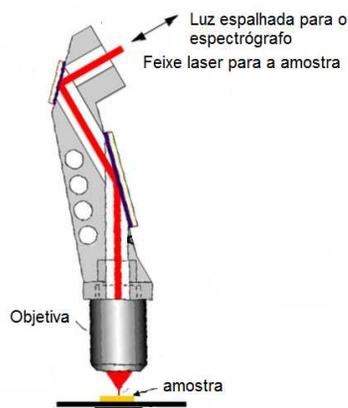


Figura 3.7: Arranjo experimental para obtenção dos espectros SERS em filmes finos de ouro

3.2.5 Espectrometro UV-Vis

Os espectros UV-Vis dos filmes finos de ouro foram obtidos por um espectrômetro UV-Vis Varian Cary - 100, usando uma lâmpada de xenônio de alta intensidade fornecendo iluminação na faixa do UV ao infravermelho próximo. As lâminas são dispostas perpendicularmente ao feixe de luz dentro do equipamento, usando uma lâmina limpa como referência. Os espectros foram obtidos na faixa entre 180 - 900 nm.

Capítulo 4

Resultados e Discussões

Neste capítulo apresentaremos em três seções os resultados obtidos neste trabalho.

Na primeira seção, apresentaremos as análises iniciais realizadas na superfície de filmes finos de ouro com espessura de 50 nm, que possuem um melhor sinal de ressonância de plasmon de superfície. Neste estudo inicial, identificamos a influência do cromo na superfície desses filmes através do comportamento eletroquímico utilizando a técnica de voltametria cíclica. Esta técnica também foi aplicada para provocar modificações na superfície do filme em uma solução contendo íons Cl^- . Imagens de AFM e STM apresentam o perfil topográfico desses filmes antes e após as modificações induzidas eletroquimicamente, onde também apresentaremos o sinal de SPR e UV-Vis. Mostraremos o espectro Raman da molécula de prova 2-tiouracil e, por fim, o espectro SER da molécula adsorvida sobre a superfície do substrato antes e após o tratamento eletroquímico.

Na seção seguinte de resultados, apresentaremos a influência de uma série de ciclos de oxidação-redução na superfície de filme finos de ouro com uma espessura inicial de 100 nm. A superfície foi caracterizada por voltametria cíclica, onde obtivemos o fator de rugosidade em função da sua área eletroquímica ativa. Discutiremos como as técnicas de microscopia de força atômica e de tunelamento auxiliaram na obtenção de parâmetros como o tamanho e altura das ilhas de ouro e na obtenção da rugosidade da superfície. Analisaremos as curvas obtidas pelo UV-Vis e SPR antes e após o tratamento eletroquímico sofrido pela superfície do filme fino de 100 nm de espessura. No final desta seção, apresentaremos o

espectro SER do 2TU adsorvido sobre a superfície dos filmes finos com diferentes rugosidades.

Na última seção de resultados, apresentaremos uma avaliação das técnicas de microscopia de força atômica e de tunelamento na obtenção do fator de rugosidade. Faremos uma discussão sobre os problemas apresentados por estas técnicas e uma análise do fator de rugosidade obtido pela voltametria cíclica.

4.1 Estudo da Eficiência de Filmes Finos de Ouro como Substratos SERS ativos

Iniciamos o estudo com filmes finos de ouro com espessura de 50 nm, pois nesta espessura os resultados do sinal do SPR apresentam uma melhor definição comparado a filmes com outras espessuras. Desejamos analisar a relação entre SERS e o sinal de SPR nessa espessura. Para este objetivo, caracterizamos a superfície através das técnicas de voltametria cíclica e de microscopia.

4.1.1 Comportamento Eletroquímico do Filme de Ouro

Diversos trabalhos mencionam a técnica de voltametria cíclica como uma valiosa ferramenta para a caracterização da superfícies de eletrodos e análise da pureza de uma solução, bem como para estabelecer a região de potenciais onde não ocorrem processos de transferência de carga [64, 65, 66].

A superfície dos filmes foi inicialmente submetida a 40-50 ciclos de oxidação-redução (ORCs) na solução de H_2SO_4 a uma velocidade de $700 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. Este procedimento é realizado para oxidar qualquer adsorbato que possa influenciar o voltamograma do ouro.

Após este tratamento, obtivemos um voltamograma da superfície do filme a $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$. A Figura 4.1 apresenta o perfil voltamétrico da superfície do filme de ouro. As características apresentadas pelo voltamograma estão de acordo com as de um eletrodo de ouro policristalino na solução eletrolítica de H_2SO_4 [67].

Os voltamogramas para os filmes de ouro sempre foram obtidos na faixa de potencial de 0.0 a 1,6 V (SHE), e está dividido com um comportamento característico: uma região capacitiva da dupla camada entre 0,05 a 1,00V; a região onde ocorre o processo de oxidação onde dois picos podem ser observados em 1.4 e 1,6 V, que correspondem ao processo de formação de monocamadas de óxidos reversíveis do ouro; e a região onde as camadas de óxido sofrem redução durante as varreduras negativas em torno de 1,15 V.

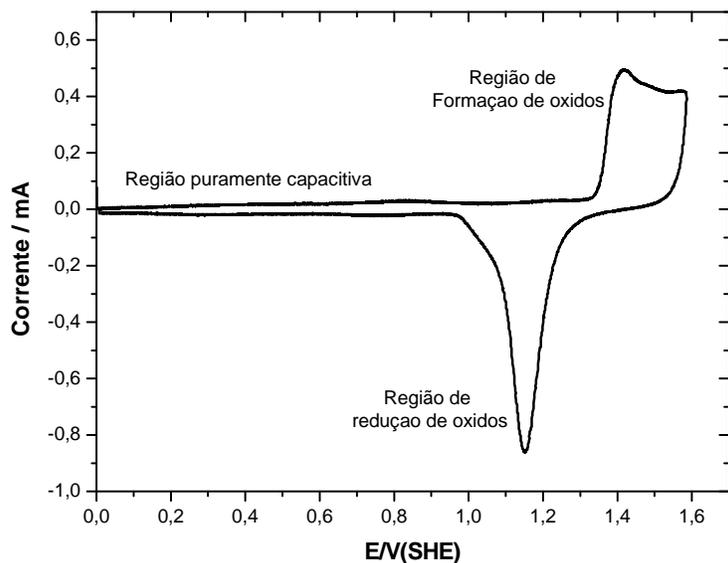


Figura 4.1: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro em uma solução de H_2SO_4 .

Para manter a estabilidade do filme de ouro sobre o substrato de vidro, algumas técnicas são utilizadas, como o uso de “colas” moleculares orgânicas, tais como o silanos organo funcionais, ou a deposição de uma camada metálica de cromo, titânio ou tungstênio [68, 69].

Entretanto, diversos trabalhos argumentam que o uso desses metais depositados com a finalidade de aumentar a adesão de metais como o ouro e prata sobre a superfície de substratos de vidro, podem apresentar uma série de problemas na utilização dos filmes, principalmente em experimentos eletroquímicos. O principal problema apresentado é a difusão de átomos desses metais através dos contornos de grãos ao longo da superfície, ocasionando, inevitavelmente, alterações nas propriedades da superfície dos metais, afetando processos de transferências de elétrons e de adsorção, e conseqüentemente tornando esses filmes inviáveis em experimentos eletroquímicos e como substratos para SERS [70].

O gráfico da Figura 4.2 foi obtido por Majda *et al.*[68], e apresenta o voltamograma cíclico do ouro em uma solução aquosa de H_2SO_4 , e compara o perfil voltamétrico de um filme de ouro depositado sobre silano (MPS/Au) com o perfil do ouro depositado sobre cromo (Cr/Au).

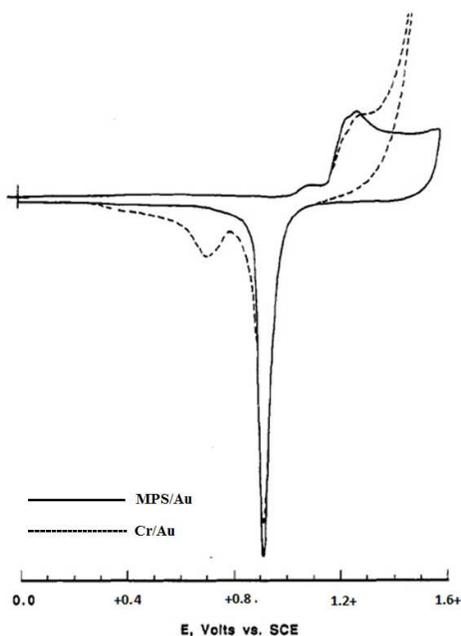


Figura 4.2: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro em uma solução de H_2SO_4 obtido por Majda *et al.* [68].

A curva sólida da Figura 4.2 mostra um voltamograma do MPS/Au na faixa de potencial entre 0.0 a 1.6 V (SCE), e apresenta um comportamento consistente com a superfície de Au policristalino [66, 71]. O gráfico da curva tracejada é a resposta típica de um filme Cr/Au na mesma solução. Os autores, alertam para a mudança na forma da corrente de oxidação, tendo um aumento na corrente anódica a 1.4 V, atribuída à oxidação do cromo presente na interface eletrodo/solução. A redução anômala que ocorre a 0.7 V, foi atribuída à redução das espécies de Cr na superfície. Os filmes com espessura entre 70-200 nm, estocados por semanas, tiveram o mesmo comportamento nos experimentos eletroquímicos, indicando que a difusão do Cr através do filme é extremamente rápida e independente da espessura do filme. O aumento da espessura da camada de ouro, em torno de 3-6 μm , também não foi considerado como opção viável, pois mesmo com esta espessura, detectaram a presença de Cr_2O_3 na superfície.

Para os filmes finos de ouro utilizados neste trabalho, foi realizada uma análise do comportamento eletroquímico da superfície dos filmes antes e após as modificações eletroquímicas. Estes filmes serão utilizados como substratos para SERS, e a influência do

cromo pode se caracterizar em um obstáculo na adsorção de moléculas orgânicas em sua superfície.

O voltamograma cíclico apresentado na Figura 4.1, foi obtido após uma série de varreduras para a limpeza da superfície de possíveis orgânicos. E mesmo após uma série de varreduras a diferentes velocidades, o perfil voltamétrico permaneceu inalterado, apresentado as mesmas características da superfície do ouro policristalino na solução de H_2SO_4 sem traços de cromo.

Para provocar mudanças na superfície do filme, tais como um aumento da rugosidade superficial, o eletrodo foi submetido a diversos ORCs em uma solução de $H_2SO_4(0,1M) + KCl(0,005M)$. Esse procedimento também provoca um afinamento da camada de ouro que recobre o substrato de vidro e, conseqüentemente, aproximando-se da camada de cromo, podendo facilitar a difusão do metal para a superfície. O comportamento eletroquímico de um filme fino de ouro nessa solução contendo íons Cl^- é apresentado nos voltamogramas da Figura 4.3.

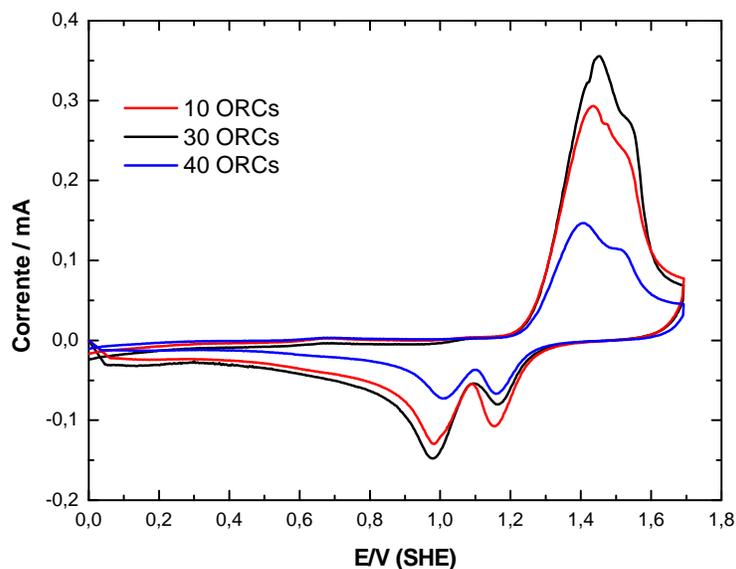


Figura 4.3: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 50 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 (0,1 M) + KCl (0,005 M) após diversos ciclos de oxi-redução.

Pode-se observar que o início da oxidação do ouro ocorre a 1,20 V, e o potencial em que a corrente possui o valor máximo é atingido a 1,45 V. A corrente de oxidação do ouro na solução de KCl é muito maior que na solução de H_2SO_4 , o que indica que os íons Cl^- aceleram a eletrodissolução do ouro e aumentam a difusão do ouro da superfície para a solução [72]. Em 1,56 V inicia-se rapidamente um declínio da corrente de oxidação. O potencial e a direção de varredura é revertido em 1,70 V e inicia-se o processo de redução do ouro. Neste processo, observa-se a formação de dois picos de redução a 0,98 V e 1,15 V, que correspondem a dissolução e a redução de óxidos de ouro, respectivamente. O pico a 0,98 V, muito mais pronunciado, demonstra que a eletrodissolução do ouro é a maior reação que ocorre durante a varredura em potenciais negativos em uma solução contendo íons Cl^- [73].

A cada 10 ciclos de varredura na solução contendo KCl , o filme de ouro é transportado para outra célula eletroquímica contendo apenas a solução de H_2SO_4 , onde foi obtido o perfil voltamétrico da superfície do ouro após as modificações. O resultado do voltamograma, na solução de H_2SO_4 , após cada 10 ORCs na solução contendo KCl é apresentado na Figura 4.4.

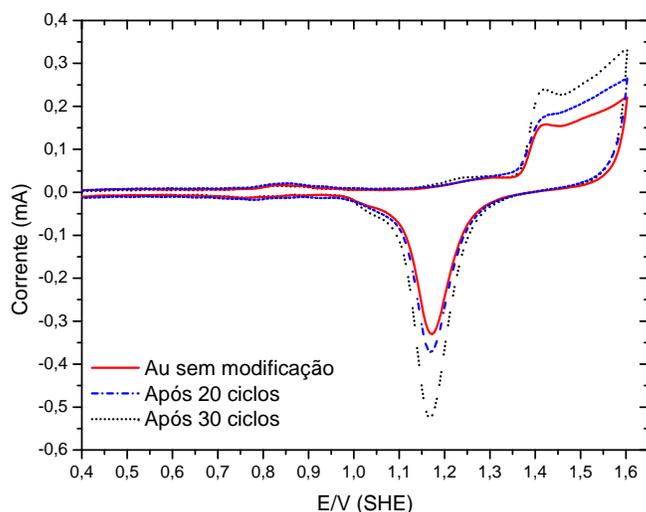


Figura 4.4: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 50 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 após diversos ciclos de oxi-redução.

A curva referente a “Au puro” (curva vermelha) corresponde ao filme fino de ouro logo após o processo de deposição por *sputtering*, ou seja sem sofrer modificações. As demais curvas, referem-se a esse mesmo filme após ser submetido a 20 ciclos (curva azul) e 30 ciclos (curva tracejada) na solução contendo íons Cl^- .

Podemos observar que ocorreu um aumento da área da curva do voltamograma, tanto na região de oxidação, quanto na região de redução. Essa alteração no voltamograma do ouro representa que a área eletroquímica ativa ($A(Au)_{ativa}$) do eletrodo de ouro mudou consideravelmente e, conseqüentemente, ocorreu um aumento significativo na rugosidade da superfície do filme. Observamos através do voltamograma que para filmes finos com espessura de 50 nm, a rugosidade máxima foi obtida após a superfície sofrer 30 ciclos de oxi-redução, e após 40 ORCs a área do voltamograma começa a decrescer, indicando que a rugosidade do filme também começa a diminuir. Esse decréscimo na área da curva do voltamograma representa que grande parcela do ouro foi dissolvido para a solução.

Também observamos que mesmo após diversos ciclos de oxi-redução, o filme apresentou o mesmo comportamento voltamétrico, não revelando nenhum vestígio de cromo na superfície. Essa observação é importante, pois através dos experimentos eletroquímicos podemos atestar que filmes finos de ouro depositados via *ion-sputtering* com uma sub-camada de cromo para a aderência do ouro podem ser usados como substratos para SERS.

Cálculo da rugosidade do filme fino após o processo de oxi-redução

A utilização de uma solução eletrolítica contendo cloreto foi escolhida por facilitar o processo de deposição e dissolução do ouro que ocorre durante o processo voltamétrico nos potenciais positivos e negativos, acarretando um aumento do fator de rugosidade do eletrodo [74]. Para valores altos de potencial ($<1,35$ V) ocorre a dissolução de ouro, e a formação de $AuCl_4$. Quando a varredura é invertida para o sentido negativo, as espécies de cloreto de ouro que permanecem perto da superfície do eletrodo são reduzidas, produzindo fragmentos de aglomerados de ouro na superfície [75]. Realizando uma varredura seqüencial de ciclos de oxidação-redução, o tamanho desses aglomerados aumenta, levando

a um aumento do fator de rugosidade.

O voltamograma da Figura 4.4 revela que o processo de diversos ORCs ocasiona um aumento contínuo na corrente de oxidação, e este aumento indica um aumento da área eletroquímica ativa.

O fator de rugosidade do filme fino de ouro após sucessivos ciclos de oxi-redução será calculado da relação entre a área eletroquímica ativa e a área geométrica do eletrodo. O fator de rugosidade (f_{rug}) pode ser obtido por através da expressão:

$$f_{rug} = \frac{A(Au)_{ativa}}{A_{geom}} = \frac{Q_{AuO}}{390\mu Ccm^{-2} A_{geom}} \quad (4.1)$$

A área eletroquímica ativa da superfície do ouro ($A(Au)_{ativa}$) é calculada a partir da carga de dessorção de oxigênio, assumindo-se que a dessorção de uma monocamada de oxigênio gera uma carga de $390 \pm 10 \mu C cm^{-2}$. Esta densidade de carga corresponde a transferência de um elétron para cada $1,3 \times 10^{15}$ átomos de ouro por $1 cm^2$ desta superfície [76, 77]. A área geométrica (A_{geom}) dos filmes finos de ouro imersos na solução é $1,2 cm^2$. A área eletroquímica ativa foi obtida pela integração da carga usada na oxidação do ouro entre 1,3 V e 0,9 V vs. SHE [76].

O gráfico da Figura 4.5 apresenta a evolução do fator de rugosidade do filme fino de ouro, com espessura inicial de 50 nm, após diversos ciclos de oxi-redução. O f_{rug} foi obtido a cada 10 ciclos em uma solução contendo íons cloreto e caracterizado na solução de H_2SO_4 .

Podemos observar que após 30 ciclos, o fator de rugosidade do filme de ouro é máximo, e após 40 ciclos o fator de rugosidade diminui, e como já foi discutido, a redução é atribuída a perda de Au para a solução contendo íons Cl^- , ocasionando uma diminuição da rugosidade.

O cálculo do fator de rugosidade em função da área ativa foi usado como parâmetro para ativar os eletrodos para serem usados nos experimentos de SERS, sabendo que a rugosidade é um dos fatores primordiais na intensificação do sinal Raman de uma molécula orgânica adsorvida em uma superfície metálica ativa [78].

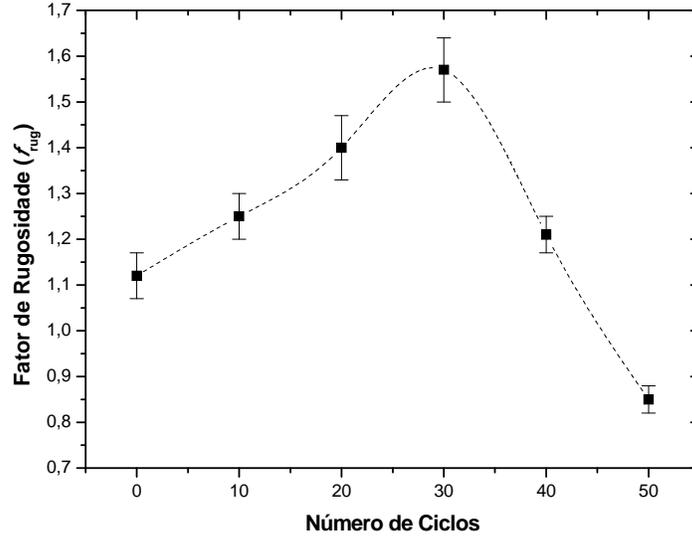


Figura 4.5: Fator de rugosidade do filme fino de ouro com espessura inicial de 50 nm após diversos ORCs em uma solução de KCl .

4.1.2 Microscopia de Força Atômica e Tunelamento dos filmes finos de Au de 50 nm

Imagens de AFM e STM mostram as mudanças significativas sofridas na superfície dos filmes de ouro após o tratamento eletroquímico. Na Figura 4.6 (a) é apresentada uma imagem da interface entre a região não modificada e da região submetida a diversos ORCs na solução contendo íons Cl^- .

Filmes finos de ouro depositados sobre o vidro a temperatura ambiente apresentam estruturas de pequenas ilhas e também de poucos e grandes aglomerados espalhados aleatoriamente sobre a superfície e em estágio inicial de crescimento [79]. Esses grandes aglomerados ocorrem durante o processo de coalescência, ou seja, da fusão de pequenas ilhas com alta mobilidade. Nesse caso, os átomos de ouro estão fracamente ligados ao substrato isolante, o que permite o crescimento das ilhas [80, 81].

A Figura 4.6 (b) apresenta uma imagem de AFM da interface Au/Au modificado, onde nitidamente podemos observar as mudanças ocorridas na superfície do filme de ouro. A região do filme fino de ouro submetida a diversos ciclos de oxi-redução em uma solução de KCl apresenta um aumento significativo na rugosidade da superfície, e este aumento é relevante para o efeito SERS, que é um fenômeno superficial, no qual a morfologia e a limpeza da superfície são de extrema importância na intensificação do sinal Raman.

A imagem de AFM da topografia da interface entre Au/Au modificado, evidencia a rugosidade da superfície do filme após o tratamento eletroquímico. A rugosidade da superfície antes e após a eletrodissolução do filme obtida via AFM é 2,50 e 6,60 nm, respectivamente. O aumento da rugosidade do filme já foi explicado pelo difusão de átomos de ouro da superfície do filme para a solução devido a presença de íons Cl^- , e o grau de difusão do Au depende da concentração de íons cloreto da solução [72, 82].

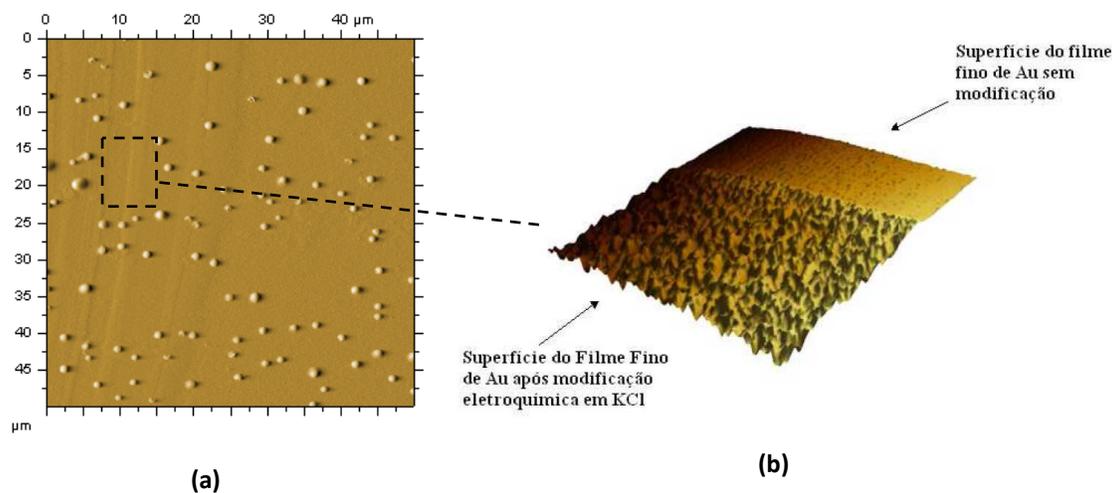


Figura 4.6: (a) Imagem do filme fino de Au ($50 \times 50 \mu m$); (b) Interface entre filme de Au sem modificação e modificado em KCl ($4 \times 4 \mu m$).

Para determinar aproximadamente a espessura do filme, antes e após os ciclos de oxidação-redução, utilizamos o seguinte procedimento: provocamos um dano na superfície do filme até o substrato de vidro ficar exposto, e na interface entre o filme e o vidro, a ponta de prova é posicionada para a obtenção do perfil topográfico e, conseqüentemente, a altura entre a superfície do filme e o substrato de vidro.

A Figura 4.7 (a) apresenta o perfil topográfico da interface entre o filme de ouro e o substrato de vidro. Através do gráfico observamos que o degrau entre ouro e o vidro é de aproximadamente 60 nm. Este valor está de acordo com as nossas previsões, pois além dos 50 nm depositados de Au, temos entre 3 a 5 nm de deposição de cromo. Na Figura 4.7 (b), apresentamos o degrau de um filme de ouro após o processo de eletrodissolução e o substrato de vidro. Como afirmado anteriormente, podemos perceber, através do gráfico, que a espessura do filme diminuiu consideravelmente, após 30 ORCs, e apresentou uma perda de Au entre 15 a 20 nm da sua espessura inicial.

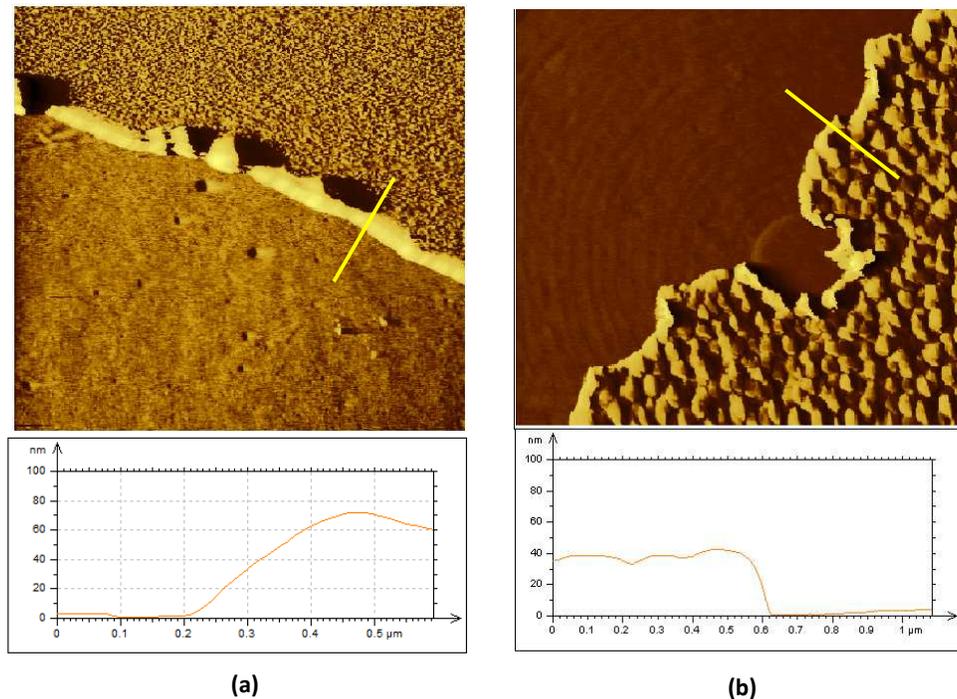


Figura 4.7: (a) Imagem da interface entre *Au/vidro* ($5 \times 5 \mu\text{m}$); (b) Imagem da interface entre *Au modificado/vidro* ($5 \times 5 \mu\text{m}$).

Na Figura 4.8, apresentamos imagens de microscopia de varredura por tunelamento (STM) da superfície do filme de ouro com espessura de 50 nm, ou seja, antes de sofrer qualquer modificação superficial. As imagens de STM podem fornecer informações importantes tais como a morfologia do filme em escala nanométrica, tornando-se uma poderosa ferramenta para inferir, além da rugosidade, o tamanho e alturas das estruturas formadas. É importante observar que na escala utilizada, medimos a topografia, e não a densidade de estados típicas do STM em alta resolução.

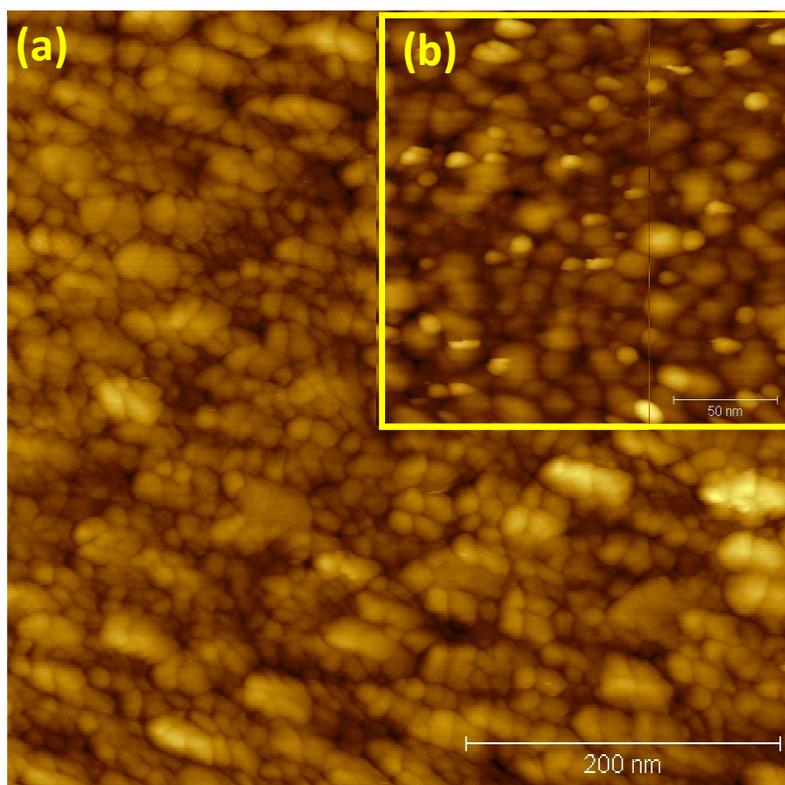


Figura 4.8: (a) Imagem de STM da superfície de um filme de ouro de 50 nm de espessura: (a) 200 nm \times 200 nm; (b) 50 nm \times 50 nm.

Podemos observar que para esta espessura, o filme é formado por pequenas ilhas esféricas que cobrem toda a área da superfície. As ilhas possuem altura e tamanho médio em torno de 20 a 30 nm. O aumento da espessura do filme de ouro depositado muda consideravelmente o aspecto e o tamanho das ilhas, como veremos na seção seguinte de resultados.

4.1.3 Espectros UV-Vis do filme de 50 nm

A espectroscopia UV-Vis é uma técnica capaz de monitorar o crescimento de partículas na superfície de um filme fino metálico, fornecendo informações relativas ao comprimento de onda e o comprimento da banda de ressonância de plasmon de superfície, que é dependente do tamanho e forma das partículas metálicas ou agregados.

O trabalho de Harris *et al.* [69] mostrou que superfícies que possuem uma pequena camada de partículas coloidais de ouro apresentam uma fraca banda a 528 nm e como o aumento da quantidade de ouro esta banda sofre deslocamentos para comprimentos de onda maiores.

Esta mesma tendência foi observada por Leitner *et al.* para filmes evaporados sobre ITO [83], e observamos o mesmo comportamento para os filmes finos de ouro utilizados neste trabalho. No gráfico da Ffigura 4.9, é apresentado o espectro UV-Vis de um filme fino de ouro antes e após 30 ciclos de ORCs. A curva vermelha representa o espectro do filme de 50 nm de espessura sem modificações em sua superfície. A curva traceja foi obtida após a superfície do filme ser submetida a 30 ORCs na solução de $H_2SO_4 + KCl$.

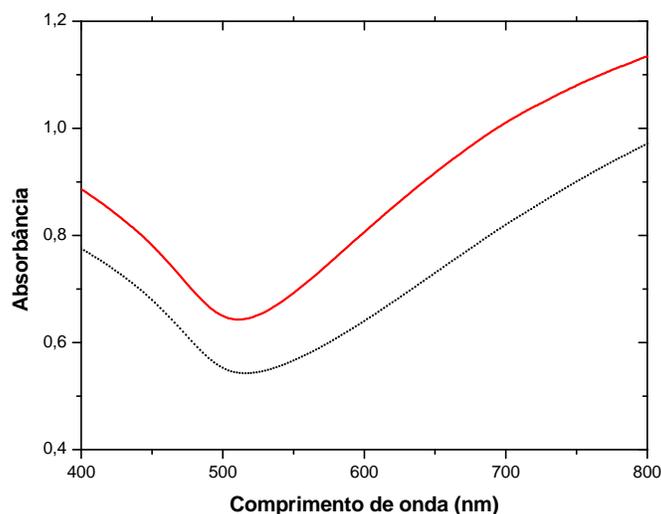


Figura 4.9: Espectro UV-Vis do filme fino de ouro puro (linha cheia) e modificado após 30 ciclos de oxi-redução (linha pontilhada).

Podemos observar apenas uma diminuição na intensidade da absorbância, que pode ser explicada em função da diminuição na espessura do filme de ouro após os ORCs, sendo que a banda de ressonância de plasmon do filme de ouro, na região entre 600–800 nm, não sofre deslocamentos após as modificações na superfície do filme. Esta banda está diretamente relacionada com o tamanho e forma das partículas na superfície do filme, e também com o volume dos agregados e com as distâncias inter-partículas [84].

O ouro pode apresentar dois padrões em seu espectro de absorção: um para pequenas ilhas de ouro espalhadas sobre o substrato, onde a banda de plasmon está na região de pequenos comprimentos de onda; e outro para agregados maiores, no qual a banda de plasmon desloca-se para a região do infravermelho, que é uma característica dos filmes de ouro obtidos neste trabalho. A relação entre o tamanho e forma dos agregados será discutida na seção seguinte de resultados para filmes com espessura de 100 nm.

Esse espectro é de extrema importância, pois a informação da região do espectro aonde ocorre a excitação dos plasmons de superfície em filmes de ouro norteará a escolha do comprimento de onda do laser utilizado na obtenção do sinal de SPR e do SERS, além de servir como um indicador da espessura do filme fino, e conseqüentemente, das estruturas que constituem o filme.

4.1.4 Ressonância de Plasmon de Superfície

A técnica de ressonância de plasmon de superfície (SPR) é eficiente na determinação de pequenas variações na interface de um filme fino metálico e um dielétrico. Essas variações, podem alterar significativamente a forma e a posição da curva do SPR. Nesse trabalho, estamos interessados em obter o sinal do SPR que forneçam informações sobre o comportamento da curva de reflectância para filmes finos antes e após um tratamento eletroquímico.

A intensidade do mínimo de reflectância do sinal de SPR, é uma informação de extrema relevância, pois é um parâmetro controlado pela espessura do filme metálico, e quando a espessura do filme é maior do que 50 nm a intensidade do mínimo do SPR diminui.

A Figura 4.10 apresenta o efeito da espessura do filme de ouro no sinal de SPR. O controle da espessura do filme foi realizado através da balança de cristal de quartzo do sistema de *ion-sputtering*. A curva foi obtida utilizando o aparato de SPR apresentado no capítulo anterior, relacionado a reflectância com o ângulo de incidência ($R-\theta$). O gráfico demonstra a eficiência do aparato em determinar variações na espessura do filme.

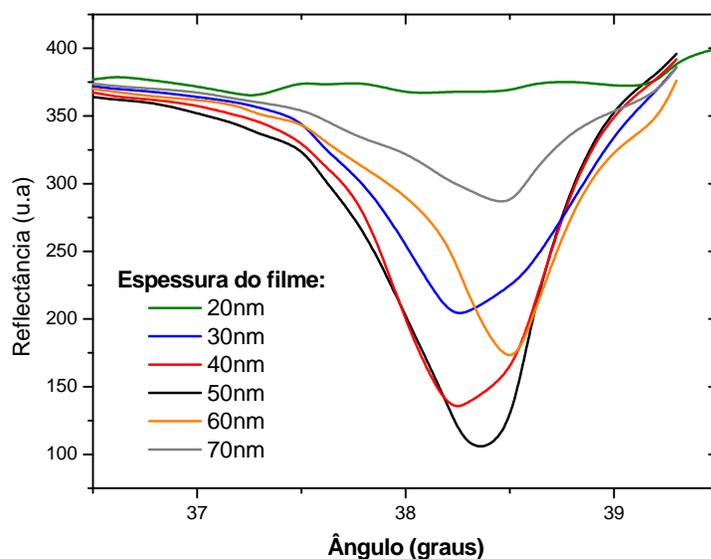


Figura 4.10: Efeito da espessura do filme de ouro no sinal de SPR.

A dependência do mínimo de reflectividade com a espessura do filme fino depositado está explicitado no gráfico da Figura 4.11.

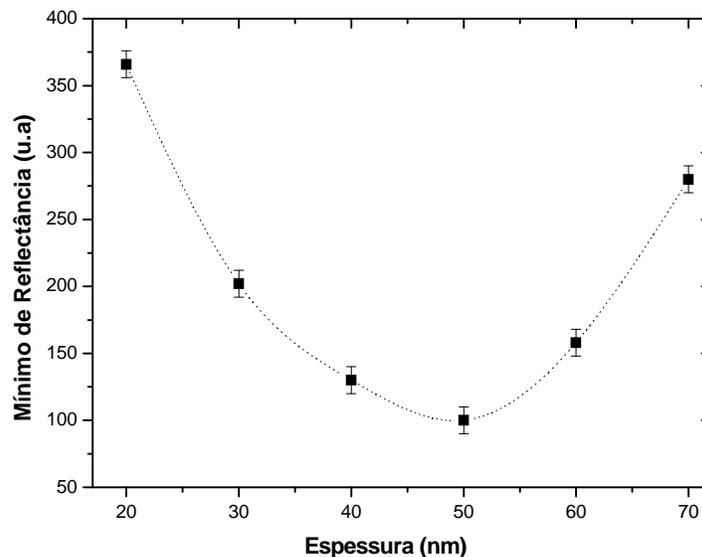


Figura 4.11: Mínimo de reflectância em função da espessura do filme fino de ouro.

Este resultado indica de forma mais evidente que um filme com a espessura de 50 nm apresenta a menor intensidade na reflectância, e experimentalmente verificamos que apresenta o melhor sinal na excitação de plasmons de superfície, utilizando a configuração de Kretschmann, ou seja, obtemos o máximo de excitação da ressonância de plasmon. Essa característica do filme de 50 nm é atribuída à homogeneidade da superfície nessa espessura.

Diversos trabalhos têm demonstrado que no espectro de SPR, a posição da ressonância é principalmente uma função do coeficiente de extinção (K); da largura da curva de ressonância que é determinada pelo índice de refração (n); do mínimo de reflectividade que é um parâmetro controlado pela espessura do filme (d). O índice de refração e a espessura do filme fino são parâmetros que podem ser obtidos através da resolução das equações de Maxwell ou dos coeficientes de Fresnel [85, 86].

Comparamos o sinal do SPR de um filme de ouro com espessura de 50 nm sem modificações superficiais (curva escura) com o sinal do SPR do filme fino após 30 ORCs (curva

vermelha). O gráfico dessa comparação é apresentado na Figura 4.12.

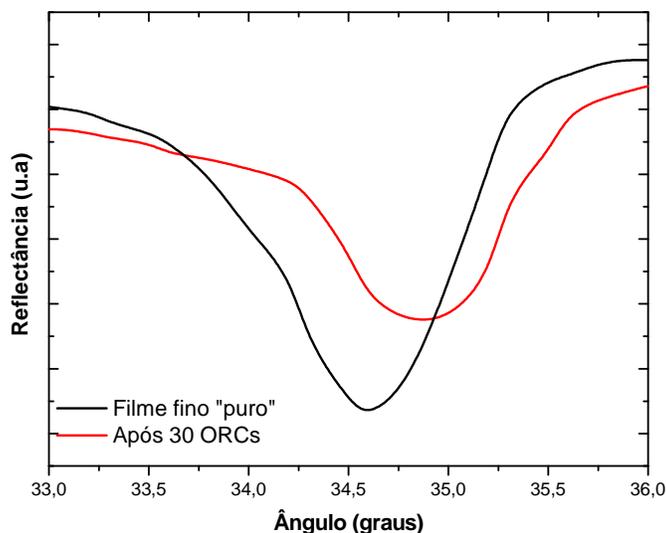


Figura 4.12: Curva do SPR de um filme fino com espessura inicial de 50 nm antes e após 30 ORCs.

Através das técnicas de voltametria cíclica e microscopia de força atômica observamos que filmes finos após diversos ORCs na solução contendo íons cloreto tem a sua rugosidade aumentada. O sinal SPR do filme após 30 ORCs revela modificações na intensidade do mínimo de reflectância e um deslocamento para ângulos maiores.

O aumento na intensidade do mínimo de reflectância se deve à diminuição da espessura do filme devido à eletrodissolução de átomos de ouro da superfície para a solução. Esse resultado está de acordo com o gráfico da Figura 4.11, no qual revela que os filmes com espessuras menores que 50 nm apresentam maiores valores na intensidade da reflectância.

O deslocamento da curva para ângulos maiores, é previsto em outros trabalhos teóricos e experimentais [87, 88], e pode ser consequência de dois fatores.

Um dos fatores que explicam o deslocamento angular, é a possível adsorção de haletos de ouro e íons Cl^- na superfície do ouro [82, 89], reduzindo a área efetiva do filme fino de ouro sensível ao SPR e dificultando a obtenção de constantes óticas, tais como: as que controlam a espessura do filme, e a constante dielétrica que controla a posição do mínimo.

Então, adsorbatos na superfície do filme podem influenciar diretamente na curva do SPR [90], tornando esta técnica um excelente biosensor.

Outro fator que pode explicar o deslocamento angular e o aumento na largura da curva de ressonância é o aumento da rugosidade da superfície do filme fino de ouro, que ocasiona uma variação das propriedades ópticas do filme devido à mudança no tamanho e forma das estruturas da superfície, influenciando em parâmetros ópticos, tais como: o índice de refração (n), que controla a largura da ressonância; e as constantes dielétrica do filme (ϵ), responsáveis pela posição do mínimo de ressonância.

Então, o SPR é uma técnica óptica interessante para analisar propriedades de superfícies e fornecer informações sobre a espessura de um filme fino ou a variação da rugosidade superficial. Essas informações são de extrema importância, pois o sinal SERS possui uma correlação direta com a rugosidade da superfície, e o entendimento das propriedades dielétricas de filmes metálicos é uma das chaves para explicar a intensificação do espalhamento Raman de moléculas adsorvidas em superfícies rugosas [91].

4.1.5 Espectro Raman da Molécula de 2-Tiouracil

A molécula 2-tiouracil (2TU) pertencente ao grupo dos tióis, que contém o grupo $-SH$ derivada da base do uracil, que é uma das bases nucleotídicas. O 2TU possui significativa importância biológica e farmacológica, como por exemplo, na ação inibidora da produção ou utilização do hormônio da tireóide [92], ou como agente antiviral [93] e como agente anticancerígeno [94].

O SERS dos derivados do uracil têm sido estudado por diversos pesquisadores [95, 96, 97] na tentativa de determinar a orientação molecular das bases dos ácidos nucleicos e de seus derivados quando adsorvidos em superfícies de metais, tais como os de Au, Ag e Cu. Esses estudos demonstraram que a orientação molecular depende do potencial da superfície em condições eletroquímicas, do pH e da concentração de adsorbatos [98].

O espectro Raman da amostra sólida do 2-tiouracil obtido com um laser de 785 nm é apresentada na Figura 4.13 e está de acordo com os espectros encontrados na literatura [99, 100].

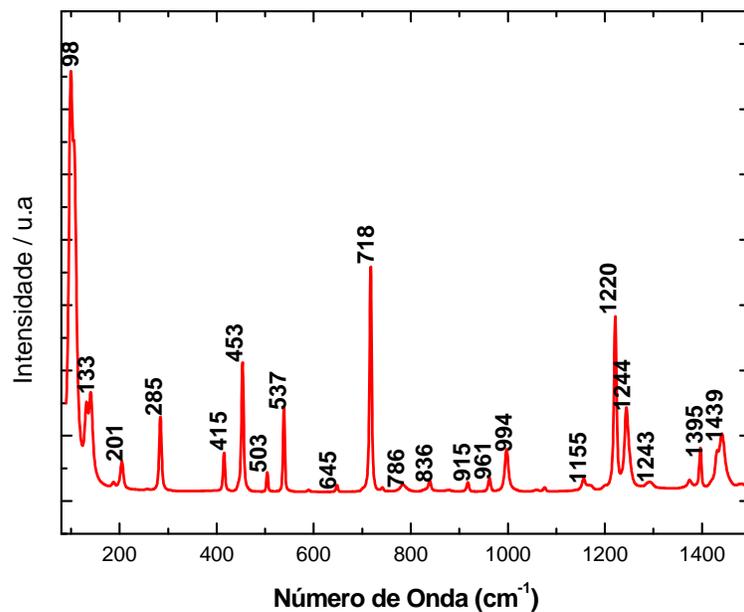


Figura 4.13: Espectro Raman do 2TU sólido obtido com $\lambda = 785$ nm.

A Tabela 4.1 apresenta as atribuições de algumas bandas do espectro Raman do 2TU. A interpretação das bandas espectrais e dos modos normais na região de 200 - 1800 cm^{-1} é considerada de extrema dificuldade, e dependemos das atribuições fornecidas por Rostokowska *et al.* baseados em estudos *ab initio* [101]. A discussão dessas bandas será realizada no próximo capítulo juntamente com os resultados dos espectros SERS do 2-tiouracil.

Tabela 4.1: Atribuição das bandas do 2-Tiouracil de uma amostra sólida. (ν , Estiramento; δ , no plano inclinado; γ , fora do plano inclinado).

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição
285	$\delta(\text{SCNCO}) + \delta$ (anel)
415	γ (C=C-H) + γ (anel)
453	δ (C=S) + δ (anel)
915	δ (N3CC) + δ (anel)
1155	ν (C=S)
1220	δ (C5-H) + δ (C6-H)
1625	ν (C=C) + ν (anel)
1680	ν (C=O) + δ (C5-H)

4.1.6 SERS do 2-tiouracil em filmes finos com 50 nm

A Figura 4.14 apresenta o espectro SER da molécula de 2TU adsorvida na superfície de um filme fino de ouro antes do tratamento eletroquímico (curva preta) e após 30 ORCs (curva vermelha).

As posições das bandas e as intensidades relativas observadas serão discutidas na seção seguinte de resultados. O SERS da molécula de 2TU adsorvida na superfície do ouro está de acordo com o apresentado na literatura [98, 99].

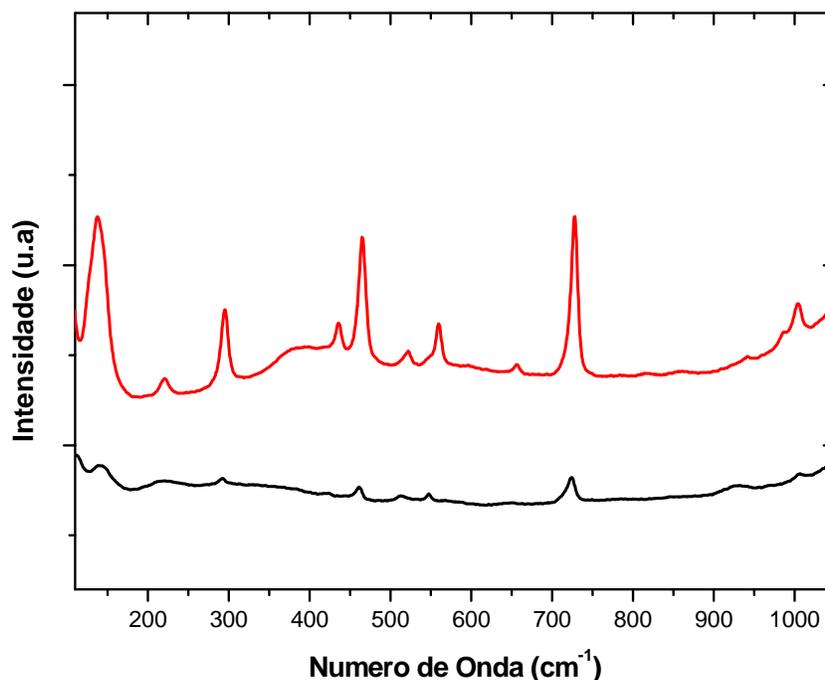


Figura 4.14: Espectro SERS do 2TU adsorvido em um filme fino de ouro de 50 nm antes (curva escura) e após 20 ciclos de ORC (curva vermelha).

Podemos observar uma significativa intensificação das bandas do 2TU adsorvido na superfície após 30 ORCs na solução de $H_2SO_4 + KCl$.

Esse resultado confirma que filmes finos depositados via *ion-sputtering* com uma subcamada de cromo para promover a adesão do filme de ouro podem ser utilizados como

substratos SERS ativos, e a superfície do filme se torna mais ativa após as modificações eletroquímicas com ciclos de ORCs controlados..

A intensificação do sinal raman da molécula de 2TU adsorvida na superfície do filme fino de ouro após o aumento da rugosidade confirma que o SERS é verdadeiramente um fenômeno superficial, e que pode ser obtido até mesmo em filmes de alguns nanômetros de espessura.

O trabalho de Joy e Srinivasan *et al.* [99] sugere que a banda em 3086 cm^{-1} está relacionada com a adsorção da molécula no substrato. A Figura 4.15 apresenta a banda do 2TU adsorvido na superfície dos filmes de ouro após serem submetidos a 30 ORCs. Esta banda corresponde ao estiramento modo vibracional do C-H.

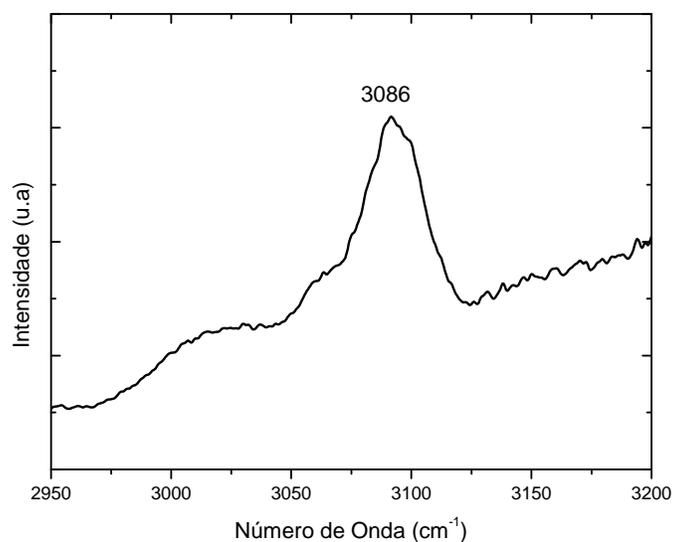


Figura 4.15: Espectro SERS do 2TU adsorvido no filme fino de ouro.

De acordo com as regras de seleção baseadas na teoria eletromagnética [102], a intensidade máxima do modo C-H é obtida quando a ligação é perpendicular à superfície, e esta intensidade cai rapidamente quando o ângulo é menor que 90° .

A proposta da geometria da molécula adsorvida na superfície de um eletrodo metálico, realizada por Joy e Srinivasan é apresentado na Figura 4.16, que indica que a molécula de 2TU adsorve como um íon oxotiol, com a mesma orientação e forma que se adsorve

em eletrodos de prata.

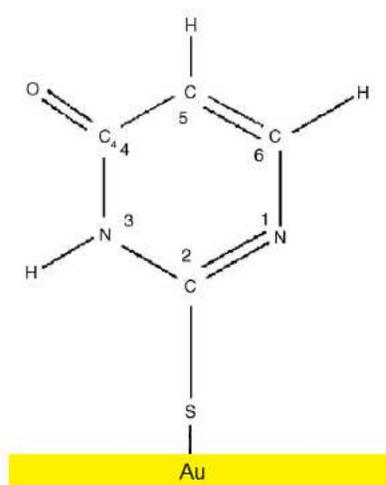


Figura 4.16: Adsorção do 2TU no ouro.

No entanto, o uso de filmes de 50 nm modificados eletroquimicamente possuem algumas limitações em decorrência dos diversos ORCs que a superfície do filme é submetida na solução contendo cloreto. A primeira limitação observada é decorrente da diminuição da espessura do filme, pois ocorre dissolução do ouro para a solução. Como já discutido anteriormente e apresentado na Figura 4.11, o sinal do SPR possui uma dependência direta com a espessura do filme, e para espessuras menores que 50 nm, o sinal perde o seu mínimo de reflectância, impossibilitando a obtenção do sinal de SPR para filmes submetidos a mais de 30 ORCs.

Outra limitação refere-se a exposição da sub-camada de cromo devido aos diversos ciclos de ORCs, pois pode ocorrer a dissolução total da camada de ouro, impossibilitando o uso desses filme em experimentos SERS.

Sabendo que os filme finos podem ser utilizados com substratos SERS ativos, contornamos essas limitações utilizando um filme com espessura inicial de 100 nm. Assim, nessa espessura, mesmo após diversos ORCs, teremos uma espessura viável dos filmes para os experimentos de SPR, e ainda, com diferentes rugosidades para serem utilizados com substratos SERS ativos.

4.2 Estudo SERS de filmes finos de ouro com 100 nm de espessura

Em um trabalho recente, Dong *et al.* [82] demonstraram que o afinamento da camada de ouro devido a repetitivos ORCs é um procedimento confiável e de baixo custo para a obtenção de substratos para SPR de boa qualidade.

Como foi apresentado na seção anterior de resultados, um filme fino de ouro em uma solução contendo KCl sofre uma dissolução anódica em função dos diversos ciclos de oxidação-redução. Esse procedimento pode ser realizado até que o filme atinja a espessura desejada, geralmente em torno de 50 nm. O trabalho de Dong demonstrou que essa técnica funciona e que o sinal de SPR é mais intenso nessa espessura.

No entanto, os resultados de Dong demonstraram que o aumento do número de ciclos de oxidação-redução ocasiona deslocamentos nos ângulos do mínimo de reflectância. Uma discussão para o deslocamento angular foi apresentada, mas nenhuma razão clara foi apresentada.

Nessa seção do trabalho, apresentaremos evidências de que o deslocamento angular deriva do aumento da rugosidade da superfície do filme após os ORCs. Para tal comprovação, caracterizaremos a superfície através da técnica de voltametria cíclica e das técnicas de microscopia, tais como o AFM e STM. Por fim, analisaremos como as mudanças provocadas na superfície do filme fino de ouro influenciam na qualidade do sinal SERS.

4.2.1 Caracterização eletroquímica dos filmes de 100 nm

O filme fino de ouro com espessura de 100 nm foi submetido a repetidos ciclos de oxidação-redução em um solução de $H_2SO_4(0,1M)+KCl(0,005M)$ para induzir um aumento da rugosidade superficial. Para esta espessura, a caracterização da superfície do filme na solução de H_2SO_4 foi realizada após cada 15 ORCs na solução contendo íons Cl^- .

O voltamograma cíclico do filme fino de ouro na solução H_2SO_4 contendo KCl é apre-

sentado no gráfico da Figura 4.17. O voltamograma possui um comportamento idêntico apresentado pela superfície com 50 nm de espessura, e a discussão do que representa os picos de oxidação e os de redução já foi realizada na seção anterior de resultados. O voltamograma apresenta uma corrente de oxidação iniciando em aproximadamente 1,22 V, e a formação dos dois mínimos de redução característicos estão em 1,20 V e 1,05 V.

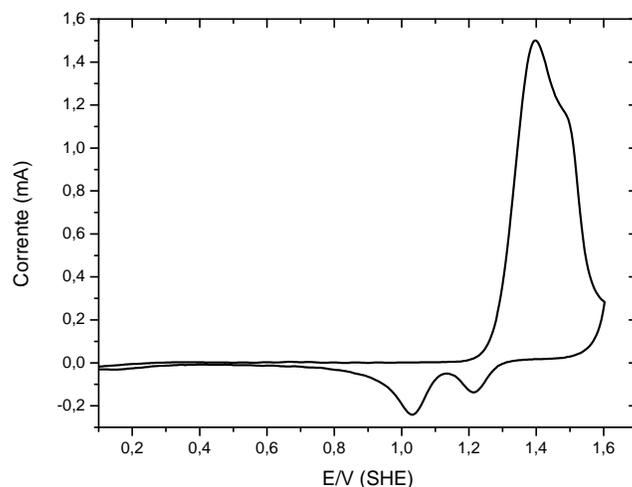


Figura 4.17: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 100 nm de espessura em uma solução de $H_2SO_4 + KCl$.

Após o filme sofrer modificações em sua superfície através de diversos ORCs na solução contendo íons Cl^- , o filme é transferido para outra célula eletroquímica contendo apenas a solução de H_2SO_4 para a caracterização da superfície do filme. Os voltamogramas cíclicos das diversas modificações são apresentados no gráfico da Figura 4.18. O gráfico apresenta o voltamograma da superfície do filme de ouro antes das modificação eletroquímicas (linha escura) e após 15, 30, 45 e 60 ciclos de ORCs. Observa-se um aumento contínuo da área dos picos da corrente de oxidação, onde o máximo é atingido após o filme sofrer 45 ciclos. Como já discutido anteriormente, esse aumento representa um aumento na área eletroquímica ativa. Como a área geométrica permanece constante, podemos concluir que está ocorrendo um aumento na rugosidade do filme. Também podemos observar que após 60 ORCs a corrente de oxidação volta a diminuir, em consequência do excesso de ouro

dissolvido para a solução devido aos diversos ORCs, e conseqüentemente, diminuindo a área da superfície.

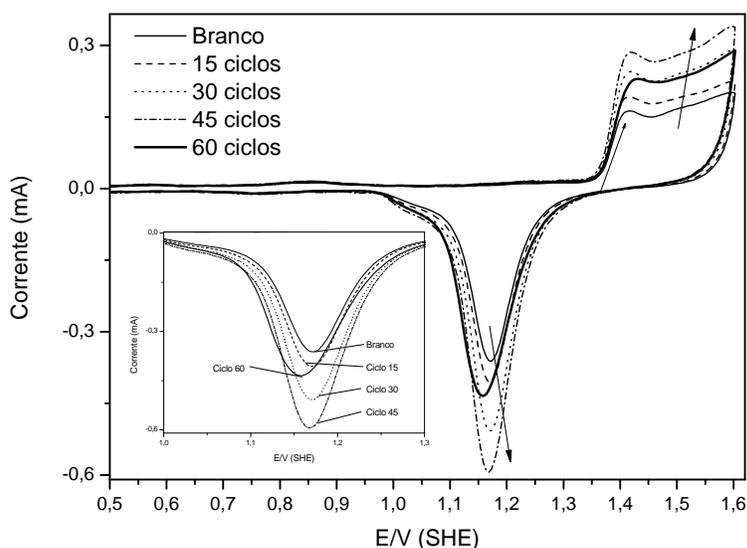


Figura 4.18: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro com 100 nm de espessura em uma solução de H_2SO_4 após diversos ciclos de oxi-redução.

O fator de rugosidade (f_{rug}) em função do número de ciclos de ORC é apresentado no gráfico da Figura 4.19, e foi calculado utilizando o mesmo procedimento da seção anterior, obtido da relação entre a superfície real e a área geométrica do eletrodo.

A taxa de redução de monocamadas de óxidos (Q_{AuO}) pode ser convertida na área real do eletrodo de ouro, no qual envolve uma carga efetiva do ouro de 390 ± 10 microcoulombs/ cm^2 . A superfície eletroquímica ativa é estimada a partir da integração da carga utilizada na oxidação dos óxidos do ouro entre 1,3 V e 0,9 V vs SHE [76].

Do gráfico da Figura 4.19 podemos observar que após 15 e 30 ORCs o fator de rugosidade aumenta, e se torna máximo após de 45 ORCs, voltando a diminuir após 60 ORCs. Imagens de AFM realizadas na superfície dos filmes antes e após os diversos ORCs concordam com os resultados obtidos pela caracterização eletroquímica. Entretanto, para superfícies que foram submetidas a 60 ORCs, aos valores da rugosidade obtida via AFM

não estão de acordo com obtidas através da voltametria cíclica.

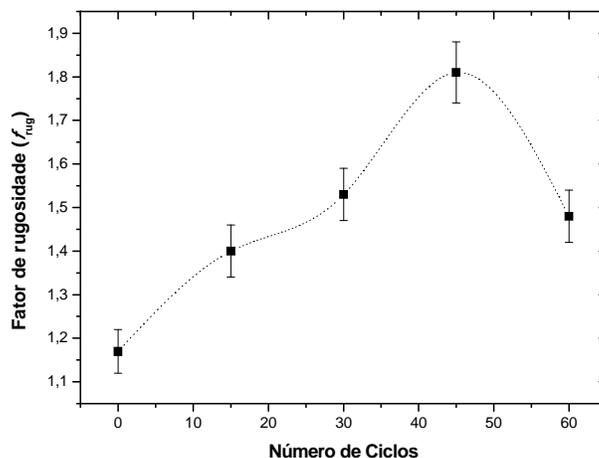


Figura 4.19: Gráfico da rugosidade obtido a partir do cálculo da área ativa eletroquímica.

Os diversos ciclos de oxi-redução realizados na superfície de filmes finos de ouro com espessura inicial de 100 nm foram eficazes na produção de filmes finos de ouro com espessuras ideais e controladas para serem utilizados em aparatos para SPR.

4.2.2 Caracterização por Microscopia de Força Atômica e Tunelamento

Como já observamos anteriormente, a microscopia de força atômica e de tunelamento são ferramentas importantes na caracterização da superfície dos filmes antes e após as modificações eletroquímicas. Estas técnicas microscópicas podem fornecer informações importantes de diversos fatores tais como: tamanho e altura de grãos, rugosidade, espessura. Estas informações auxiliaram no entendimento e elucidação do fenômeno SERS.

Iniciaremos a análise da morfologia da superfície obtendo imagens de AFM que revelam o efeito da espessura do filme no tamanho e forma das ilhas de ouro sobre a superfície do substrato.

As imagens da Figura 4.20 apresentam a morfologia dos filmes metálicos de ouro com espessuras de (a) 15 nm; (b) 50 nm e (c) 100 nm, sem nenhum procedimento de ORCs. Observamos que a rugosidade média quadrática da superfície do filme aumenta com o aumento da espessura do filme, iniciando em 0,43, 1,35 e 2,89 nm, respectivamente.

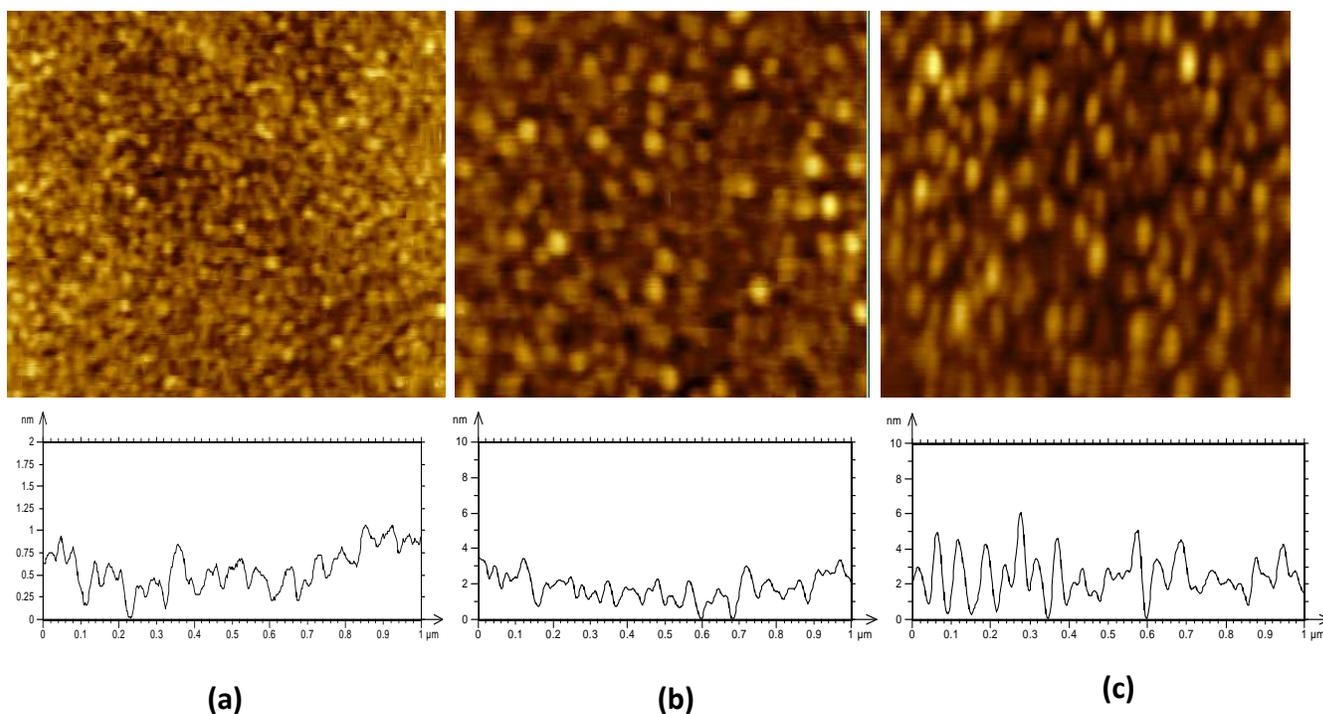


Figura 4.20: Imagens de AFM de um filme de (a) 15 nm; (b) 50 nm e (c) 100 nm. Imagens de $1 \mu m \times 1 \mu m$.

A altura média dos grãos sofrem significativas alterações, aumentando gradativamente de 1,43, 2,87 até 5,36 nm, com o aumento da espessura do filme. Os valores foram obtidos da média das secções de corte de diversas imagens (não apresentado). Também podemos observar que o filme é formado por oblatos arredondados que cobrem a totalidade da superfície. A determinação do tamanho e forma dessas estruturas é de fundamental

importância no entendimento do efeito SERS.

A superfície de filmes finos de ouro depositados via *ion-sputtering* possuem uma notável diferença quando comparada a superfície de um filme fino de ouro depositado sobre um substrato de mica e submetido a um processo de recozimento (*annealing*). Essa superfície pode ser observada na imagem de AFM da Figura 4.21. As imagens revelam a presença de grandes e largos terraços monocristalinos com tamanho médio em torno de $1,5 \mu m$ e atômicamente planos.

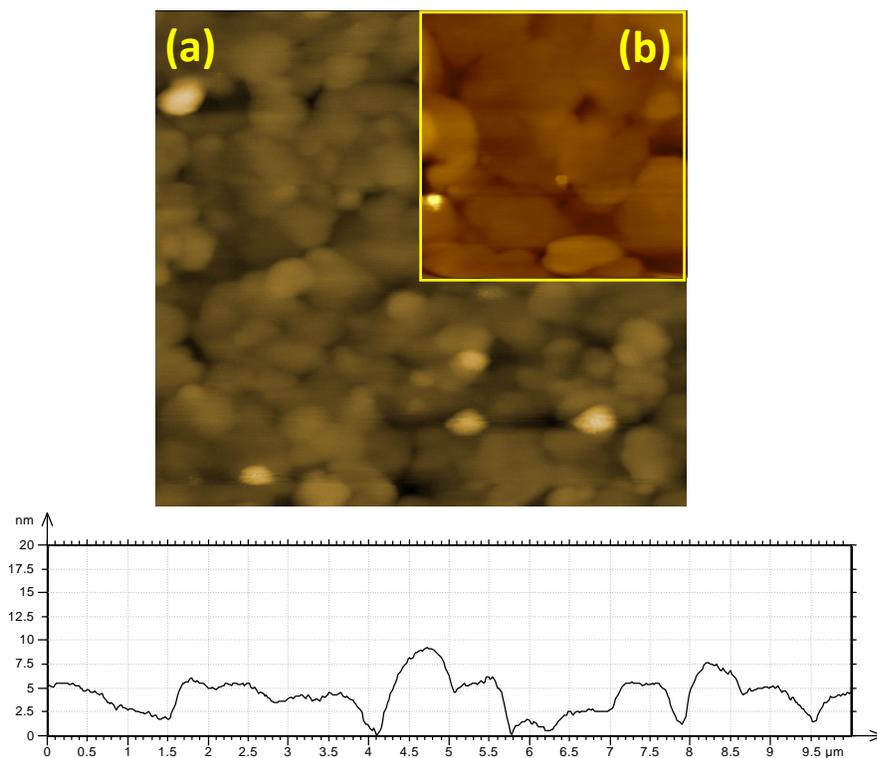


Figura 4.21: Imagem de AFM sa superfície de um monocrystal de ouro. (a) $10 \mu m \times 10 \mu m$; (b) $3 \mu m \times 3 \mu m$.

A imagem da Figura 4.22 apresenta a superfície de um filme de ouro revelando que a superfície possui grandes aglomerados de ouro. A figura (a) é referente ao filme antes de ser submetido aos ciclos de oxi-redução, e os aglomerados nessa superfície possuem um tamanho médio de $2,4 \mu m$. As figuras (b), (c) e (d), são referentes a superfície do filme fino de ouro após 15, 45 e 60 ORCs, respectivamente. Observamos que após os diversos

ciclos os grandes aglomerados diminuem de tamanho, passando a ter o tamanho de $1,9 \mu m$ e $1,5 \mu m$, após 15 e 45 ciclos, respectivamente. E após 60 ORCs não foram mais encontrados os grandes aglomerados.

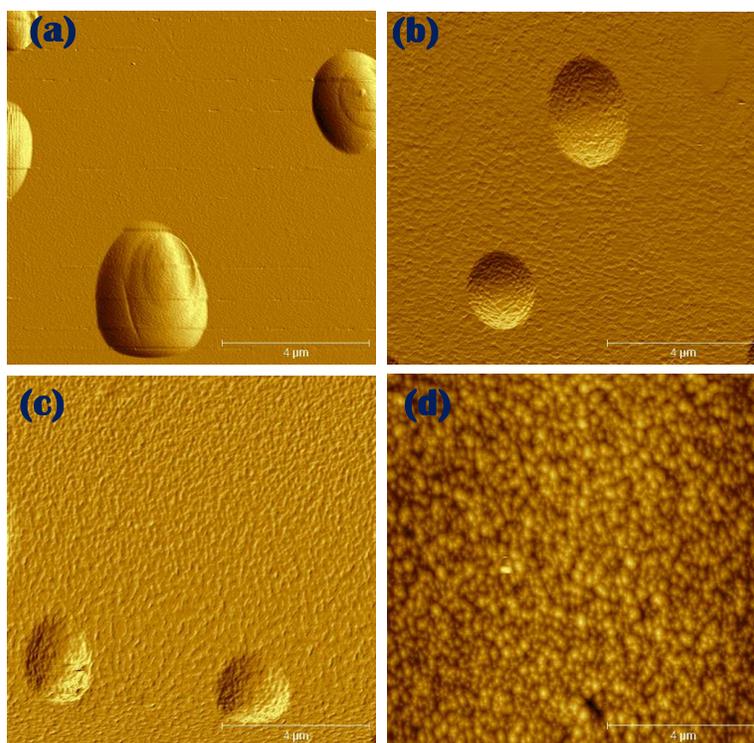


Figura 4.22: Imagens de AFM de um filme com espessura inicial de 100 nm: (a) Au sem modificações; (b) após 15 ORCs; (c) após 45 ORCs e (d) após 60 ORCs. Imagens de $10 \mu m \times 10 \mu m$.

O grau de difusão é um parâmetro que depende fortemente da concentração de íons Cl^- na solução, e para concentrações menores do que 10^{-4} mol/L, pequenos defeitos são formados na superfície do filme, e para concentrações maiores, uma grande quantidade de átomos de ouro dissolvem-se para a solução [72].

A Figura 4.23 mostra imagens de AFM da superfície do filme fino de ouro antes e após 15, 30, 45 e 60 ORCs. A figura (a) apresenta a superfície antes do tratamento eletroquímico. Após 15 ciclos (b), observa-se a presença de ilhas de ouro maiores, e o aumento do número de ciclos provoca uma aumento significativo no tamanho e altura das

ilhas de ouro. O tamanho máximo das ilhas é atingido quando a superfície é submetida a 60 ORCs. Também é possível observar que as ilhas na superfície dos filmes após 45 e 60 ORCs são formadas por pequenos aglomerados com tamanho na ordem de 15-20 nm.

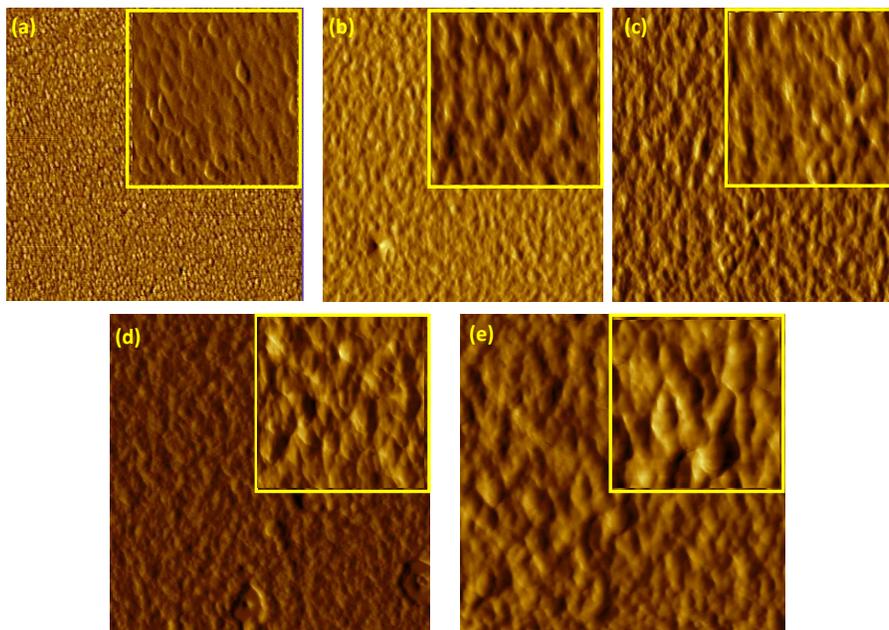


Figura 4.23: Imagens de AFM de um filme com espessura inicial de 100 nm: (a) antes das modificações; (b) após 15 ORCs; (c) após 30 ORCs; (d) 45 ORCs; (e) após 60 ORCs. Imagens maior de $3 \mu m \times 3 \mu m$; imagem menor de $1 \mu m \times 1 \mu m$.

As estruturas das ilhas de ouro observadas pelas imagens de AFM possuem o formato de ablatos [103], como mostrado na representação da Figura 4.24.

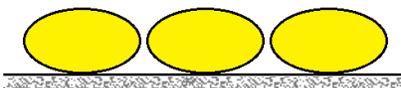


Figura 4.24: Geometria das ilhas de ouro sobre o vidro.

A Tabela 4.2 apresenta o tamanho e altura das ilhas de ouro, antes e após os ciclos de oxi-redução obtidas via AFM.

Tabela 4.2: Dimensões das ilhas de Au após diversos ORCs

Número de ciclos	Tamanho dos grãos (nm)	Altura dos grãos (nm)
0	30 ± 5	5 ± 1
15	62 ± 7	11 ± 2
30	83 ± 6	18 ± 4
45	104 ± 10	25 ± 3
60	153 ± 15	40 ± 5

A Tabela 4.3 apresenta a rugosidade obtida via AFM da superfície dos filmes antes e após os ORCs, onde podemos observar um aumento significativo da rugosidade da superfície do filme. Este aumento está de acordo com os resultados obtidos através da voltametria cíclica, e difere apenas para superfícies que foram submetidas a 60 ORCs. Essa discrepância será discutida na próxima seção de resultados.

Tabela 4.3: Rugosidade da superfície medida via AFM

Número de ciclos	Rugosidade (nm)
0	0,63
15	3,94
30	4,10
45	4,23
60	5,34

Através do AFM podemos analisar as modificações ocorridas na superfície dos filmes finos de ouro após sucessivos ciclos de oxi-redução, possibilitando a compreensão do efeito SERS em superfícies metálicas rugosas.

O AFM também foi utilizado para determinar a espessura do filme fino de ouro após diversos ciclos de oxi-redução. Para obter este parâmetro, os filmes foram danificados manualmente até a superfície do vidro ficar exposta. Então, obtêm-se diversas imagens da interface entre o filme de ouro e a região onde o dano foi causado. A imagem da Figura 4.25 apresenta a interface entre o filme de ouro e a região danificada por 30 ORCs.

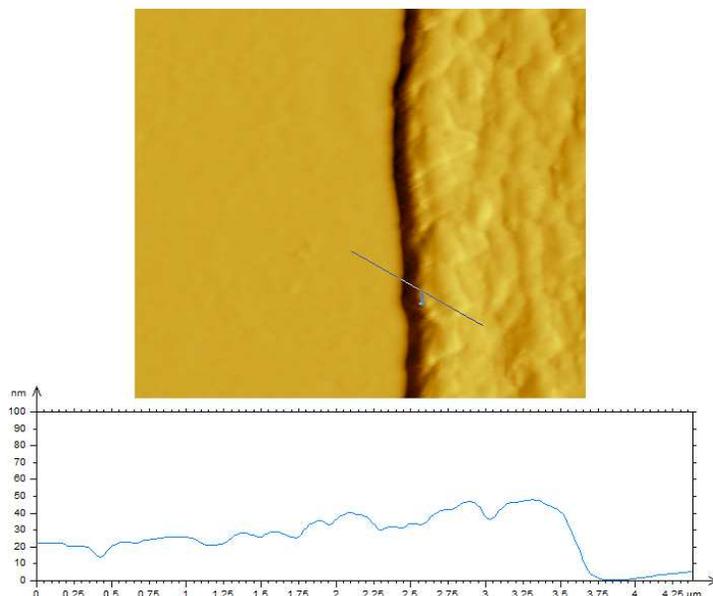


Figura 4.25: AFM do filme fino após 30 ciclos de oxi-redução. Imagem de $3 \mu m \times 3 \mu m$.

Observamos que após 30 ciclos a camada de ouro sobre a superfície do filme possui uma espessura média de 50 nm. O modo como a espessura do filme varia em função do número de ORCs é apresentada na Figura 4.26, onde percebemos que ocorre uma diminuição contínua e linear da espessura do filme de ouro.

Uma análise cuidadosa do gráfico indica que para atingirmos a espessura desejada de 50 nm, na qual é a melhor espessura do sinal de SPR, é necessário a superfície do filme sofrer 30 ORCs. De acordo com os nossos resultados, a dissolução do ouro foi de 1,5 - 3 nm após cada ciclo de oxi-redução. Esse controle é importante para a obtenção de substratos para SPR com espessuras controladas.

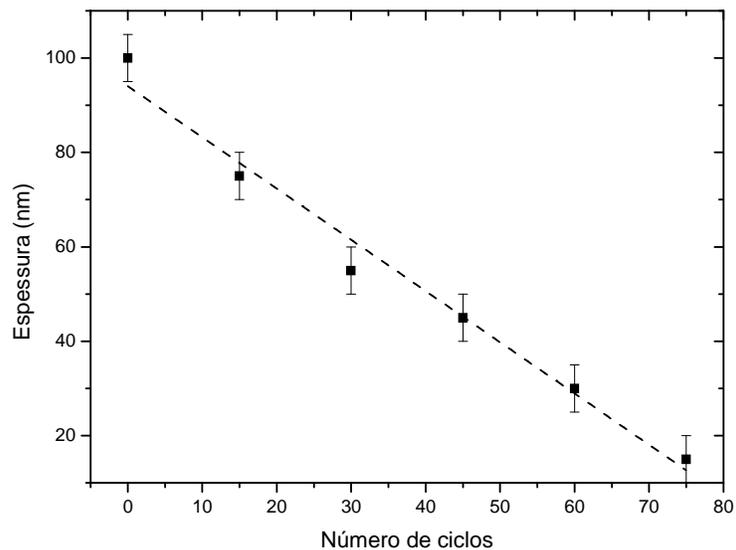


Figura 4.26: Espessura do filme em função do número de ciclos.

Microscopia de Varredura por Tunelamento

O STM é uma ferramenta capaz de analisar a superfície de eletrodos metálicos em escala atômica, podendo investigar de forma mais eficiente o crescimento, dissolução, ou rearranjo de superfícies cristalinas devido a reações eletroquímicas. O STM será utilizado para obtermos imagens da topografia da superfície dos filmes finos de ouro antes e após serem submetidos ao processo eletroquímico de oxidação e redução na solução eletrolítica de $H_2SO_4 + KCl$.

Na Figura 4.27 apresentamos imagens de microscopia de varredura por tunelamento de um filme fino antes (a) e após 45 ORCs (b).

A imagem da superfície do filme de ouro com 100 nm espessura, sem sofrer modificações eletroquímicas, revela ilhas de ouro com tamanho e altura de 28 nm e 7 nm, respectivamente. Após 45 ORCs as ilhas de ouro crescem consideravelmente, atingindo o tamanho aproximado de 100 nm e são formadas por pequenos grãos com tamanho médio de 10-15 nm.

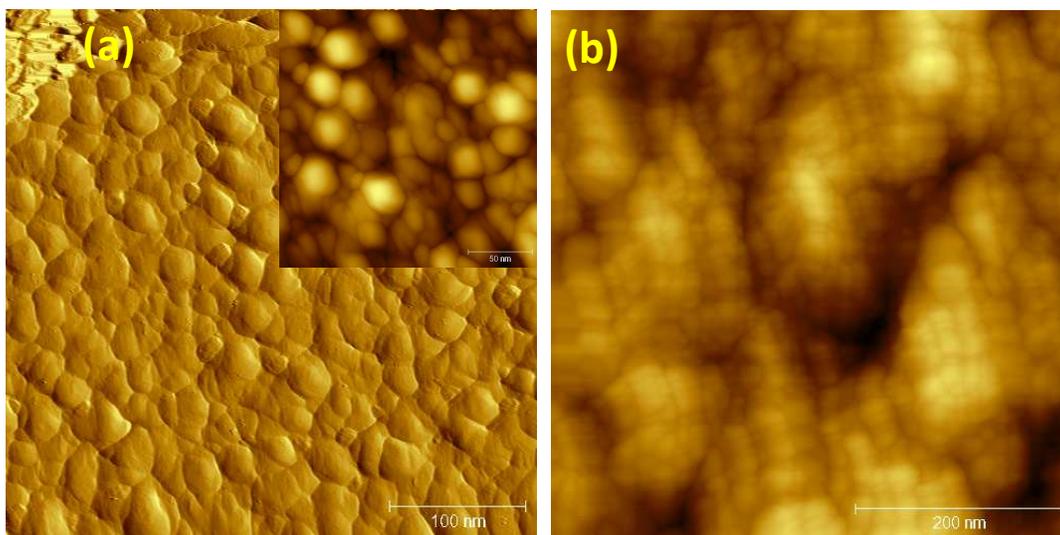


Figura 4.27: Imagens de STM de um filme de 100 nm: (a) antes de ORCs (100 nm \times 100 nm))(b) e após 45 ORCs (200 nm \times 200 nm).

As imagens da Figura 4.28 (a) e (b) evidenciam os pequenos grãos que formam as ilhas de 100 nm de um filme após 45 ORCs. Também observamos que, após os ciclos de oxi-redução, surgem regiões com diferentes alturas sobre a superfície do filme (Figura 4.29). A quantidade de defeitos superficiais e a não homogeneidade podem influenciar a qualidade da adsorção de moléculas orgânicas, devido ao aumento da densidade de defeitos moleculares [104].

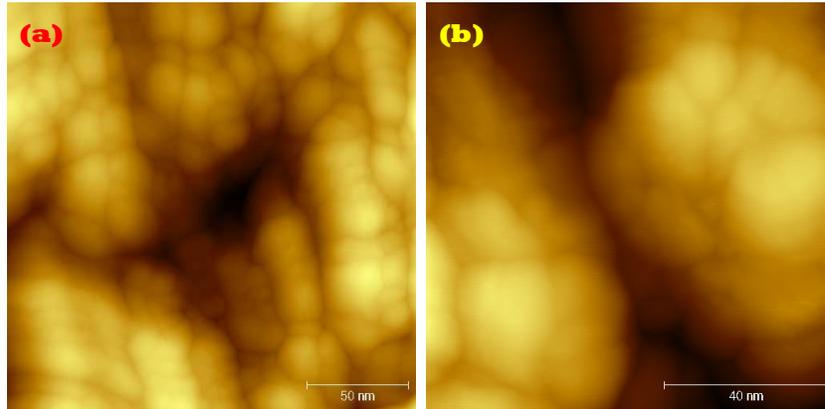


Figura 4.28: Imagens de STM de um filme de 100 nm após 45 ciclos de ORC. (a) 200×200 nm; (b) $100 \text{ nm} \times 100$ nm.

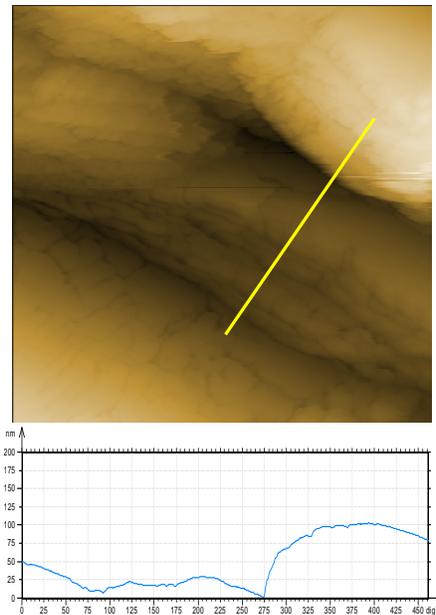


Figura 4.29: STM da região de um degrau do filme após 15 ciclos de ORC. Imagem de $500 \text{ nm} \times 500$ nm.

4.2.3 Espectros UV-Vis de filmes finos de ouro após diversos ORCs

O espectro UV-Vis de filmes finos de ouro depositados sobre vidro possui uma forte dependência com a espessura do filme depositado. Essa dependência afeta drasticamente a posição das bandas dos plasmons de superfície devido à mudança no tamanho e aglomeração das ilhas de ouro [84].

Analisamos o espectro UV-Vis de um filme de ouro com uma espessura inicial de 100 nm e as mudanças na curva após o tratamento da superfície por diversos ORCs. O gráfico da Figura 4.30 apresenta o espectro UV-Vis do filme antes (curva preta) e após 10 (curva vermelha), 20 (curva azul), 30 (curva verde), 40 (curva rosa), 50 (curva cinza), 60 (curva amarela) e 70 (curva marrom) ciclos de oxi-redução.

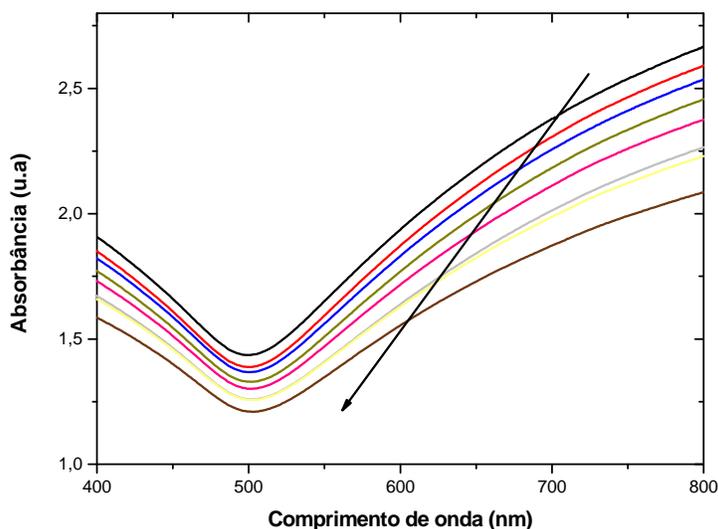


Figura 4.30: Espectro UV-Vis de um filme de ouro modificado após diversos ciclos de oxi-redução.

Observa-se que com o aumento dos ORCs a absorbância diminui gradativamente. Este efeito está diretamente relacionado com a diminuição da espessura do filme de filme de

ouro devido a dissolução do ouro para a solução.

A banda da excitação dos plasmos de superfície aparece em torno de 650 nm, e está de acordo com diversos trabalhos analisados na literatura [84, 105], e a banda não sofre deslocamentos com os diversos ORCs, apenas diminui de intensidade linearmente como mostra o gráfico Figura 4.31.

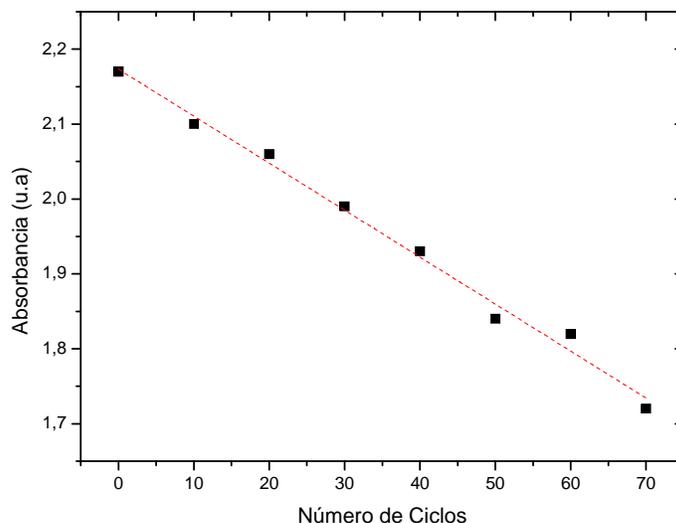


Figura 4.31: Absorbância da superfície do filme em função do número de ORCs.

Este resultado demonstra que as mudanças na espessura do filme após as modificações eletroquímicas, provocaram um aumento no tamanho médio das ilhas de ouro, além de provocar uma diminuição da distância entre as ilhas formando maiores aglomerados. Essas modificações na morfologia da superfície permitem que o espectro de extinção sempre esteja na região de grandes comprimentos de onda, entre 600 - 800 nm. Este resultado está de acordo com os obtidos através da microscopia de força atômica que demonstra o crescimento das ilhas em função do número de ORCs.

4.2.4 Ressonância de Plasmon de Superfície

As modificações eletroquímicas na superfície dos filmes de ouro, em uma solução contendo íons Cl^- , provocam uma mudança na rugosidade e na espessura do filme. Utilizando o aparato do SPR para obter o sinal de reflectância em função do ângulo de incidência ($R-\theta$), analisaremos o comportamento do sinal $R-\theta$ em função dessas modificações.

Como já discutido na seção acima, a imagem da interface entre a superfície do filme e o substrato de vidro, após o filme fino ser submetido a 30 ORCs, apresentou uma espessura de aproximadamente 50 nm. Esta espessura corresponde ao melhor sinal de SPR, ou seja, com o menor mínimo de reflectância quando comparado as demais espessuras e, conseqüentemente, onde ocorre o máximo da ressonância de plasmon. A Figura 4.32 apresenta o sinal de SPR de um filme de ouro após 30 ORCs.

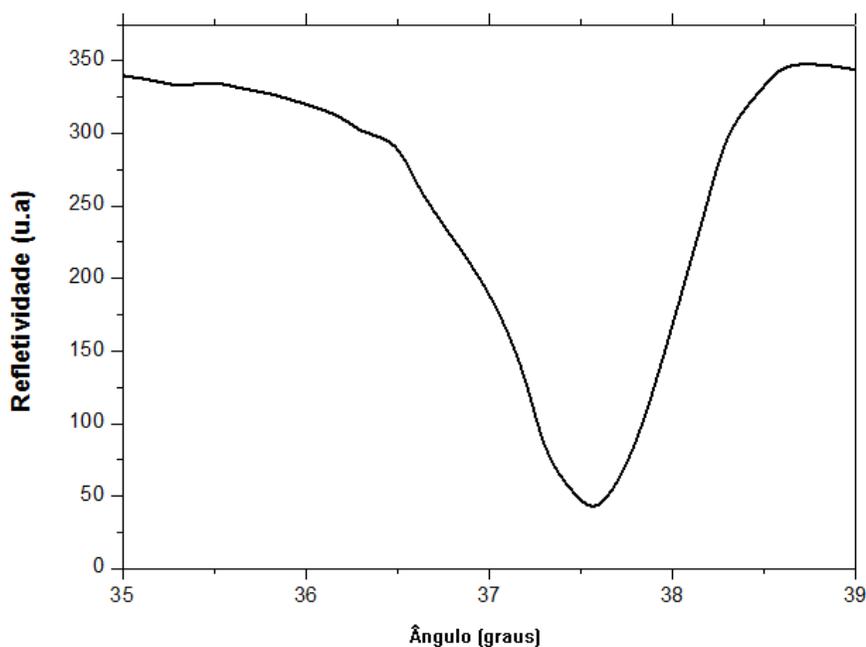


Figura 4.32: SPR da superfície de um filme fino após 30 ORCs.

O gráfico revela que o aumento da rugosidade da superfície, além de provocar um deslocamento angular, causa um alargamento da curva de ressonância. Este resultado

está completamente de acordo com os resultados de Hoffmann *et al.* [106].

O gráfico da Figura 4.33 (a) e (b) apresenta a influência do número de ciclos de oxidação-redução no deslocamento angular e na posição angular do mínimo de reflectância.

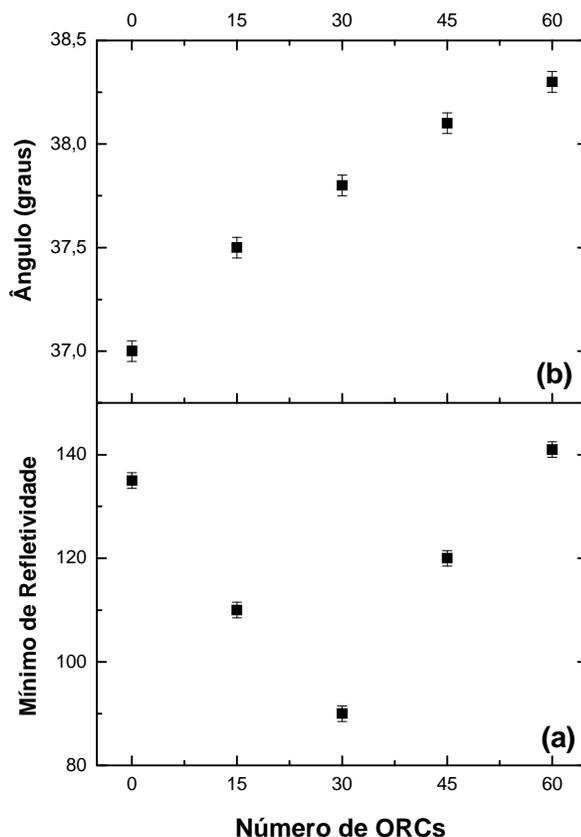


Figura 4.33: (a) Mínimo de refletividade em função dos ORCs; (b) ângulo do Mínimo de reflectância em função dos ORCs.

O gráfico indica que o melhor sinal de SPR ocorre após 30 ORCs, pois apresenta o menor valor no mínimo de reflectância, correspondente a um filme com a espessura de 50 nm, como indica o resultados de AFM, e seu sinal $R-\theta$ foi apresentado na Figura 4.32. Observa-se que 30 ciclos de oxidação-redução não corresponde ao máximo de rugosidade do filme, que ocorre com 45 ORCs. Então, mesmo sabendo que a análise através da voltametria cíclica e AFM já tenham indicado o comportamento da rugosidade superficial

do filme em função do número de ORCs, o deslocamento do mínimo de reflectância para valores maiores pode fornecer mais uma evidência da rugosidade do filme.

O mínimo de reflectância é um parâmetro que depende da espessura do filme fino, e pode ser calculado através das equações de Fresnel. Para o sistema prisma/metal/ar, a equação que calcula o mínimo da reflectância é dada por:

$$R_{012} = \left(\frac{r_{01} + \exp(2ik_{z1}d_1)}{1 + r_{01}r_{12}\exp(2ik_{z1}d_1)} \right)^2 \quad (4.2)$$

onde os índices 0, 1 e 2 são referentes ao prisma, metal e ar, respectivamente, e d_1 é a espessura do filme depositado sobre o substrato.

A Figura 4.33 (b) apresenta a posição angular do mínimo de reflectância após diversos ORCs. Podemos observar que o deslocamento angular aumenta com o número de ciclos. Este resultado está de pleno acordo com os resultados encontrados por Hoffmann [106], que observa que o deslocamento indica o espalhamento dos plasmons de superfície, e o seu vetor $\vec{k} = k_r + ik_i$ sofre uma mudança drástica com o aumento da rugosidade, pois, k_r passa a assumir grandes valores, e k_i , que é proporcional a largura da curva de ressonância, também aumenta, indicando uma diminuição do “tempo de vida” dos plasmons superficiais.

A análise do resultado de SPR de filmes de ouro que sofrem modificações na rugosidade da superfície é de extrema importância e ainda muito pouco estudada, e apesar da simplicidade em observar que a rugosidade da superfície dos filmes influencia diretamente nas curvas de SPR, até o momento, não conhecemos nenhuma teoria que discuta o comportamento do espalhamento dos plasmons de superfície em superfície rugosas aplicada nas equações de Fresnel.

O entendimento das características da superfície de eletrodos rugosos, em aparatos de SPR, podem auxiliar a elucidar o efeito SERS e, conseqüentemente, contribuir na elaboração de biosensores mais eficientes, pois filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente podem servir como substratos ativos a SERS em um aparato que combinem um SPR-RAMAN, tais como os desenvolvidos por Xu *et al.* [107].

4.2.5 SERS do 2-tiouracil adsorvidos em filmes finos com diferentes rugosidades

As ferramentas utilizadas para analisar a superfície de filmes finos de ouro após as modificações em uma solução contendo *KCl*, mostraram que a rugosidade da superfície aumenta significativamente com o número de ORCs. Sabendo que esses filmes podem ser utilizados como substratos ativos a SERS, analisaremos a influência dos diversos ORCs na intensificação do sinal Raman da molécula de 2-tiouracil.

Os gráficos das Figuras 4.34 e 4.35 apresentam os espectros SER do 2TU, obtidos com o feixe de excitação de 785 nm e 633 nm, respectivamente.

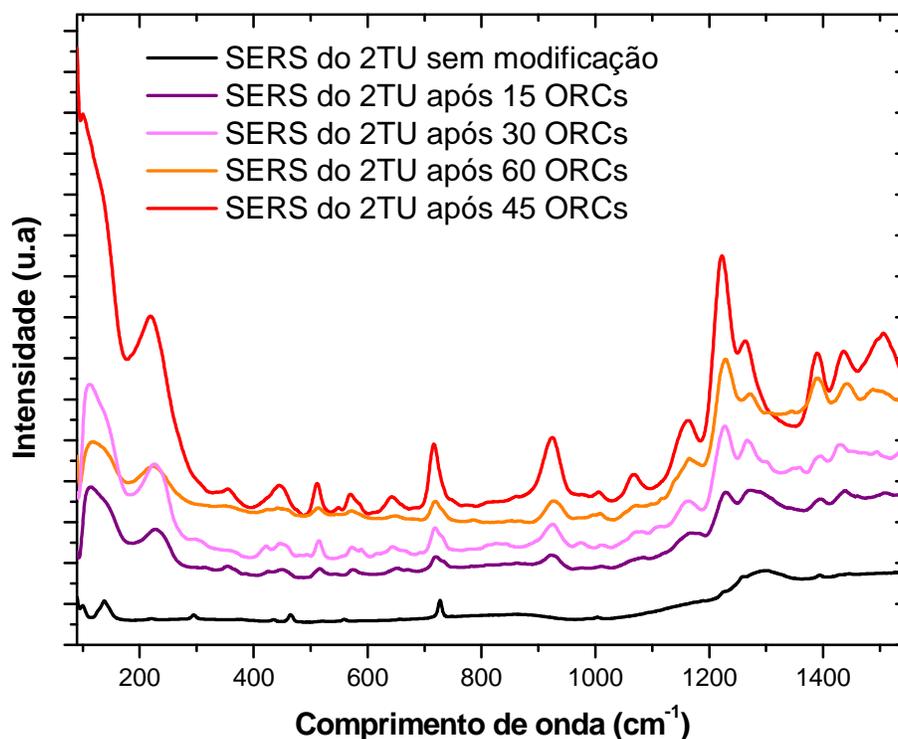


Figura 4.34: Espectro SER da adsorção do 2TU. $\lambda = 785\text{nm}$. $P_{laser} = 50\text{ mW}$.

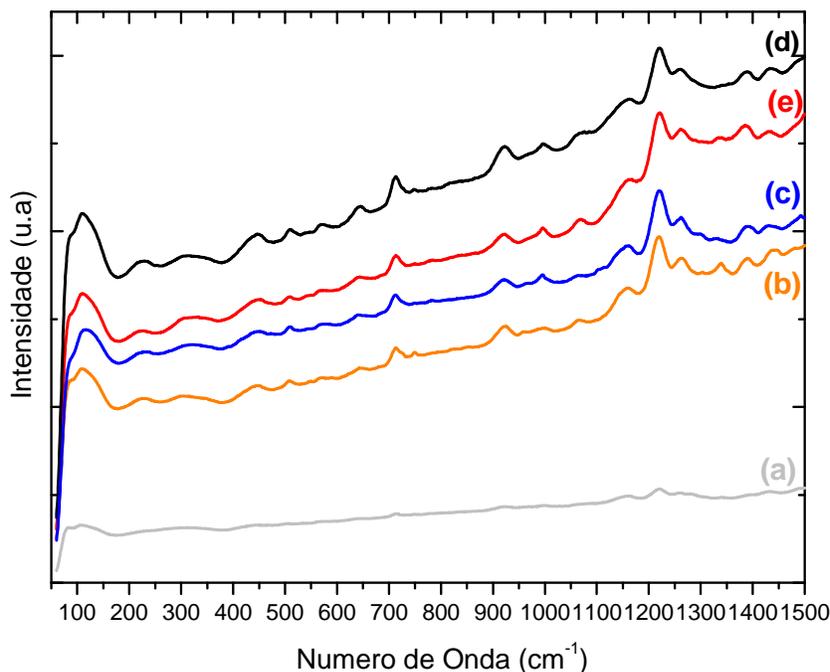


Figura 4.35: Espectro SERS da adsorção do 2TU. (a) sem modificação; (b) após 15 ciclos; (c) após 30 ciclos; (d) após 45 ciclos; (e) após 60 ciclos. $\lambda = 633 \text{ nm}$. $P_{laser} = 20 \text{ mW}$.

Os espectros obtidos, mesmo sem a normalização, apresentam visivelmente uma intensificação nas bandas com o aumento do número de ciclos de oxi-redução. Nos dois espectros, a superfície submetida a 45 ORCs apresenta o melhor espectro SER. Esta superfície possui o maior fator de rugosidade como mostrou os resultados de voltametria cíclica e AFM.

A intensidade e resolução do espectro do 2TU, adsorvido na superfície do filme após 45 ciclos, é muito melhor que os espectros de superfícies polidas mecanicamente e obtidos sob o controle de um potencial eletroquímico [98].

Podemos observar pequenas e significativas diferenças que aparecem no espectro quando comparado com os da literatura [98, 99]. Na tabela 4.4 são listadas as bandas presentes no espectro da figura 4.34, e suas respectivas atribuições vibracionais para diferentes ORCs.

Tabela 4.4: Análise das bandas SERS do 2TU adsorvido na superfície de filmes de ouro modificados eletroquimicamente. (ν : Estiramento; δ : no plano inclinado; γ : fora do plano inclinado)

Número de Ciclos de Oxi-redução (ORC)					Atribuição
0 ORC	15 ORC	30 ORC	45 ORC	60 ORC	
221	227	227	219	223	ν (Au-S)
298	296	307	-	-	δ (C-S-N-C=O)
435	451	440	446	444	ν (C=S)
559	574	571	570	571	γ (N-H)
730	720	717	718	716	Respiração do anel
-	924	924	927	924	δ (N3-C-C)
-	1168	1165	1164	1162	ν (C-S)
-	1229	1228	1228	1223	ν (C5-H)
1292	1271	1273	1271	1264	Estiramento do plano anel

A tabela acima permite a análise de algumas bandas do espectro SER do 2TU. Observamos que diferentemente dos espectros obtidos em filmes de prata por Joy e Srinivasan [99], os espectros obtidos nesse trabalho não apresentaram bandas para números de onda acima de 1600 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento das ligações duplas de carbono, devido a uma alta fluorescência nesta faixa.

Observa-se inicialmente, que as bandas a 1160 , 1216 e 1265 cm^{-1} intensificam-se continuamente com o aumento do número de ORC's.

A banda em 924 cm^{-1} muda drasticamente a sua intensidade na superfície modificada após 45 ORCs. Palafox *et al.* atribuem a esta banda ao estiramento das ligação entre N3 com os átomos vizinhos de carbono [100].

No espectro Raman do 2TU puro, a banda em 718 cm^{-1} é normalmente atribuída à respiração do anel aromático. Na superfície do filme fino de ouro, esta banda sofre

deslocamentos e intensifica-se com os ciclos de oxi-redução.

A figura 4.36 apresenta a intensificação da banda a 920 cm^{-1} em função do número de ORCs, obtida utilizando um fator de normalização para a banda usando a mesma linha de base para a altura de todos os picos.

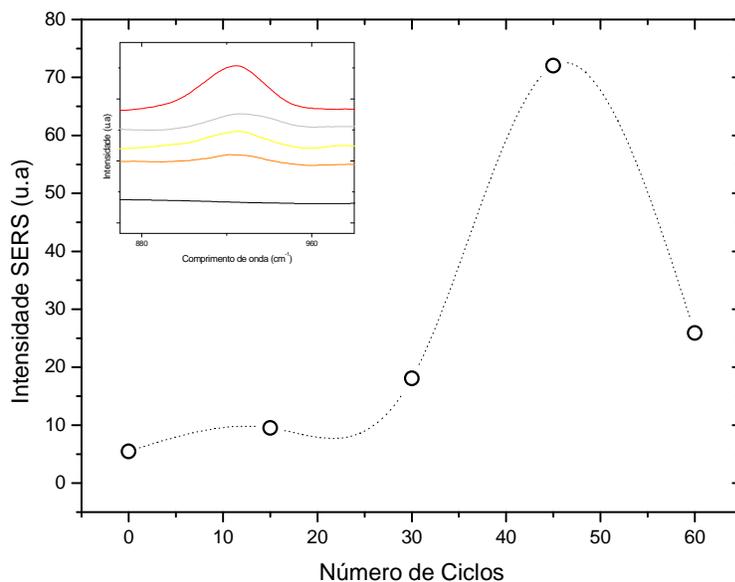


Figura 4.36: Intensidade SERS da banda a 920 cm^{-1} normalizada em função do ORCs.

Podemos observar que a intensidade da banda SERS aumenta com o número de ciclos, atingindo o máximo após 45 ORCs, onde através das técnicas de microscopia e voltametria cíclica revelaram possuir o valor máximo de rugosidade superficial. Após 60 ORCs a intensidade SERS volta a diminuir consideravelmente. A voltametria cíclica revela que esta superfície possui um fator de rugosidade menor, diferente dos resultados de AFM e STM, parecendo ser capaz de mensurar com uma maior precisão a rugosidade superficial. Resultados similares foram obtidos por Gaoa *et al.* para a adsorção do tiocianato e da benzonitrila em substratos de ouro rugosos [74].

Diversos trabalhos têm demonstrado que existe uma relação direta entre a morfologia da superfície e suas propriedades ópticas, com a intensificação do sinal Raman de adsorbatos sobre superfícies metálicas. Esses trabalhos revelam que estas propriedades dependem de fatores como a natureza do substrato e as condições experimentais de de-

posição [108, 109, 110].

A intensidade SERS demonstrou possuir uma forte dependência com a morfologia da superfície do filme fino de ouro modificado por ORCs em uma solução contendo íons cloreto. As análises de AFM e STM revelaram que a morfologia da superfície desses filmes após diversos ciclos de oxi-redução tiveram um aumento significativo no tamanho e altura das ilhas de ouro (ver tabela 4.2).

Observamos que independente da radiação utilizada, o espectro SER sempre foi mais intenso sobre a superfície submetida 45 ORCs. Isso demonstra que existe um tamanho ideal das ilhas de ouro para a intensificação do sinal SERS independente da radiação incidente, não sendo necessário uma otimização do substrato utilizado em relação à radiação. Este resultado está de acordo com o obtido por Natan *et al.* [111], que demonstrou que existe um tamanho crítico de aglomerado para a obtenção espectros SER. Também observamos através das imagens de STM, que as ilhas de ouro de 100 nm obtidas após 45 ORCs são formadas por pequenos grãos com tamanho em torno de 30 nm. No entanto, ainda não podemos estimar se estes grãos contribuem efetivamente para o efeito SERS.

Também podemos observar que após 60 ORCs a intensidade SERS diminui. As imagens de AFM e STM mostraram que esta superfície possui aglomerados da ordem de 150-200 nm, onde podemos concluir que o tamanho destes aglomerados podem influir na perda do sinal raman.

Os pequenos grãos esféricos agregados que formam as grandes ilhas de ouro de tamanho de 100 nm podem provocar uma mudança na frequência dos plasmons de superfície intensificando o efeito SERS devido aos campos elétricos localizados gerados pela excitação dos plasmons. A teoria de espalhamento da luz por pequenas partículas esféricas é eficiente para explicar o fenômeno, e é descrita pela equação [112]:

$$E_{total} = \frac{1}{\varepsilon(\omega) + 2} E_0 \quad (4.3)$$

onde $\varepsilon(\omega)$ é a parte real da função dielétrica do metal, ω a frequência da luz incidente. E_0 é o campo elétrico, E_{total} o campo elétrico local devido à polarização da partícula metálica.

A teoria considera que um aspecto de extrema importância é a rugosidade da superfície, ou seja, o tamanho e a forma das partículas da superfície, sendo que o tamanho ideal, dependente do comprimento de onda do laser incidente, pode ser encontrado na faixa entre 5-100 nm, do visível ao IR.

A espectroscopia UV-Vis forneceu que a banda de plasmons dos filmes finos de ouro está localizada entre 600-800 nm, e não sofre alterações após as modificações eletroquímicas, ou seja, o filme continua com estruturas agregadas e com ilhas maiores que 5 nm sobre a superfície do filme.

O SPR revelou uma mudança na reflectividade do filme, utilizando um laser de 633 nm, em função da rugosidade superficial, provocando deslocamentos para valores maiores de θ , e um alargamento da curva de ressonância ($R-\theta$). Essas mudanças na curva indicam que ocorre um espalhamento dos plasmons de superfície devido a rugosidade superficial, ocasionadas pelas estruturas formadas pelos diversos ORCs. Dos resultados obtidos e os apresentados pela literatura, percebemos que, até o momento, ainda não existe um consenso na explicação do fenômeno do espalhamento plasmons por superfícies rugosas, mas acreditamos que seria uma contribuição importante para o entendimento do efeito SERS.

Por fim, é interessante ressaltar que em nossos resultados, a rugosidade máxima e a melhor espessura para o SPR, não são obtidos com o mesmo número de ciclos, o que indica que os melhores parâmetros para a SPR e para filmes SERS ativos podem não ser os mesmos, necessitando de uma investigação mais apurada para entender uma possível relação entre SPR e SERS.

4.3 Avaliação do fator de rugosidade de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente

As técnicas microscópicas, tais como o AFM e STM, têm sido ferramentas úteis na análise topográfica e morfológica da superfície de eletrodos metálicos, além da capacidade de fornecer diversos parâmetros tais como a rugosidade superficial. Como observado nas seções anteriores de resultados, a rugosidade é o parâmetro fundamental na intensificação do sinal Raman de moléculas adsorvidas sobre a superfície de eletrodos metálicos. Essa intensificação está diretamente relacionada com o aumento do campo eletromagnético da luz incidente devido aos plasmons de superfície das estruturas metálicas, e isso se deve à rugosidade da superfície.

Então, sabendo que a rugosidade de eletrodos metálicos SERS ativos é um parâmetro relevante, a avaliação das técnicas de obtenção desse parâmetro se torna fundamental para um melhor controle e entendimento do fenômeno SERS, além de possibilitar uma melhoria nas condições experimentais.

Ao longo deste trabalho nos deparamos com algumas divergências entre os resultados fornecidos pelo AFM e os da voltametria cíclica, em relação ao parâmetro da rugosidade superficial, principalmente para filmes finos de ouro que sofreram mais de 45 ciclos de oxidação-redução. Observamos que as imagens de AFM da superfície de diferentes áreas do filme fino, dependendo das condições experimentais, podem fornecer valores distorcidos de rugosidade.

Nesta seção de resultados, analisaremos as técnicas microscopia de força atômica e de tunelamento, e a voltametria cíclica na tentativa de avaliar quais destas técnicas podem fornecer uma maior confiabilidade na obtenção da rugosidade da superfície dos filmes finos de ouro após serem submetidos a modificações eletroquímicas.

4.3.1 Avaliação da rugosidade de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente por técnicas de microscopia

Muitos processos interfaciais e superficiais dependem diretamente da morfologia, tais como os de adsorção, fricção ou propriedades de contato elétrico. Nesses e em vários outros processos, a rugosidade possui um papel de fundamental relevância.

Neste trabalho, os parâmetros de rugosidade da superfície dos filmes finos de ouro têm despertado grande interesse devido à possibilidade investigar e compreender diversos fenômenos superficiais, tais como o fenômeno da ressonância de plasmon que ocorre apenas na superfície de alguns metais.

A rugosidade quadrática média (rms), R_q , e a rugosidade média, R_a , são os parâmetros frequentemente utilizados por diversas técnicas. Estes parâmetros são calculados através das seguintes equações:

$$R_q = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (z_i - \bar{z})^2 \right]^{1/2} \quad (4.4)$$

$$R_a = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |z_i - \bar{z}|; \quad (4.5)$$

onde N é o número de pontos do perfil, z_i é o número de pontos que descreve a altura vertical relativa da superfície, e \bar{z} é a altura média da superfície obtida pela equação:

$$\bar{z} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N z_i. \quad (4.6)$$

A rugosidade quadrática média é geralmente o parâmetro mais obtido pelos *softwares* de manipulação de imagens do AFM e STM, pois qualquer mudança na variação da altura média da superfície, devido à distorção entre ponta-amostra, influenciará nas imagens do AFM e STM, e conseqüentemente, no cálculo de R_q [113].

Análise da Rugosidade através de Microscopia de Força Atômica

Para determinar a rugosidade média (R_a), e a média quadrática (R_q), obtivemos imagens de AFM de filmes finos antes e após as modificações eletroquímicas ocorridas em uma solução contendo íons de Cl^- . A Figura 4.37 apresenta as imagens de AFM da superfície de um filme antes (a), após 15 ciclos (b), após 45 ciclos (c), e após 60 ciclos (d) de oxi-redução.

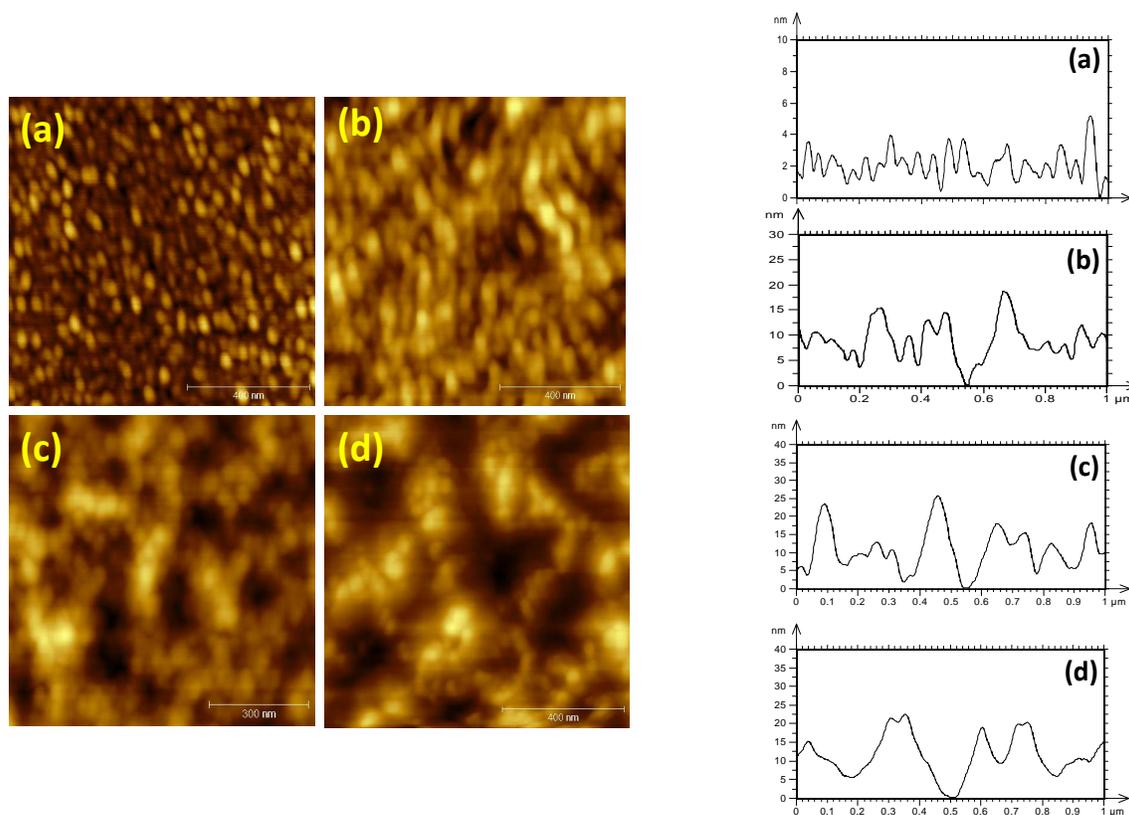


Figura 4.37: Imagem de AFM de um filme fino de ouro modificado por diferentes ORCs. Imagens de $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$.

As mudanças que ocorrem na superfície do filme decorrentes do aumento da rugosidade já foram exaustivamente discutidas nas seções anteriores de resultados. Então, podemos apenas observar as mudanças significativas do perfil topográfico, provocadas pelos ORCs,

alterando parâmetros tais como: a utilização de diferentes *cantilevers*, modo de operação para *contato* ou *não-contato* e a mudança na força de interação entre a ponta de varredura e a amostra. As mudanças desses parâmetros podem influenciar diretamente os valores de \bar{z}_i .

Os valores de rugosidade R_a e R_q foram obtidos das imagens de diferentes áreas da superfície do filme, para obtermos uma média e o erro relativo das medidas. Utilizamos dois cantilever de fabricantes diferentes, na tentativa de avaliar se a rugosidade possui uma dependência com o tipo e formato da ponta utilizada. A imagem das pontas utilizadas é mostrada na figura 4.38.

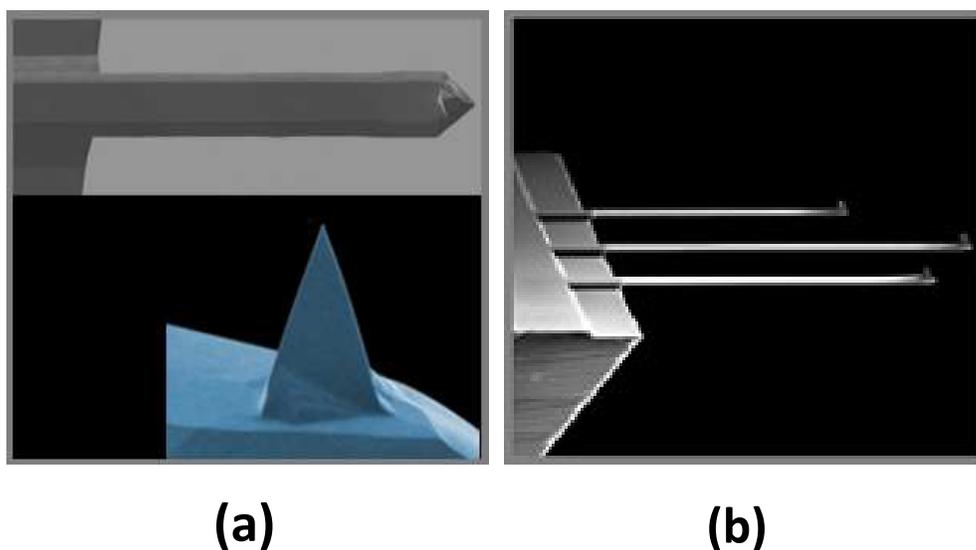


Figura 4.38: Cantilevers (a) fabricado pela nanoScience Instruments; (b) fabricado pela μ masch.

Os valores de R_a e R_q utilizando diferentes cantilevers é apresentado no gráfico da Figura 4.39 (a) e (b). Podemos observar que os valores de R_a e R_q diferem muito pouco, e como o esperado, a rugosidade aumenta com o aumento do número de ORCs. Todavia, o erro da medida também aumenta consideravelmente para superfícies mais rugosas.

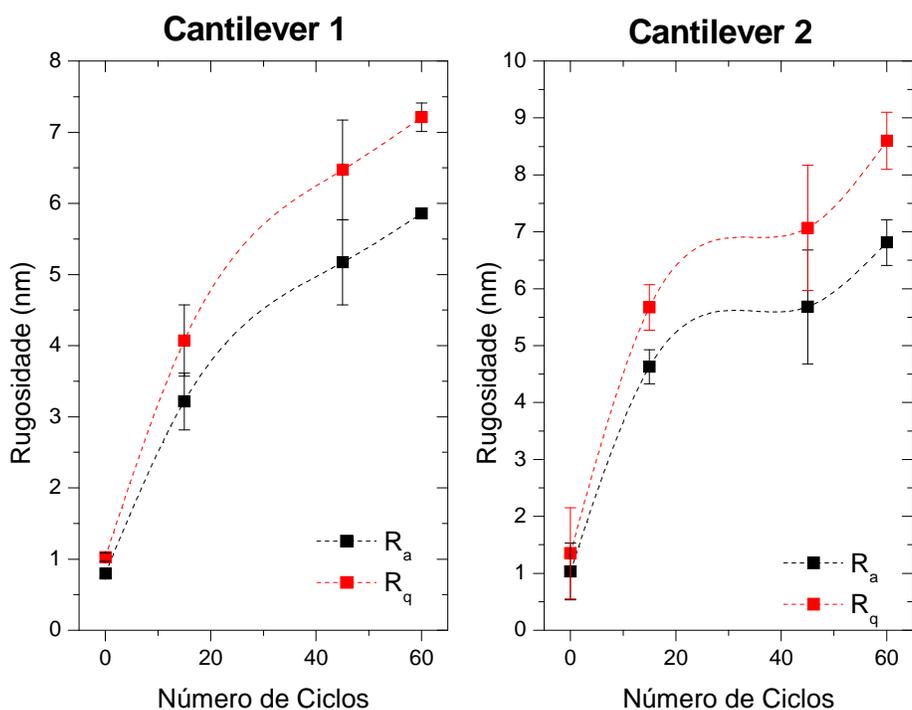


Figura 4.39: Rugosidade R_a e R_q utilizando *cantilevers* diferentes.

Os valores de rugosidade alterando o modo de varredura para o *modo não-contato* é apresentado no gráfico da Figura 4.40 (a), e na Figura (b) é apresentado o resultado da variação da força de interação entre a ponta do *cantilever* e a amostra. Os gráficos foram obtidos de imagens de um filme fino após 45 ORCs.

A mudança do modo de varredura *contato* para o modo não-contato também não alterou de forma significativa os valores da rugosidade como mostrado em (a), mas o erro para superfícies mais rugosas também aumenta de forma significativa. O gráfico (b) evidencia que o aumento da força de interação entre a ponta e a amostra ocasiona uma diminuição considerável no valor da rugosidade superficial.

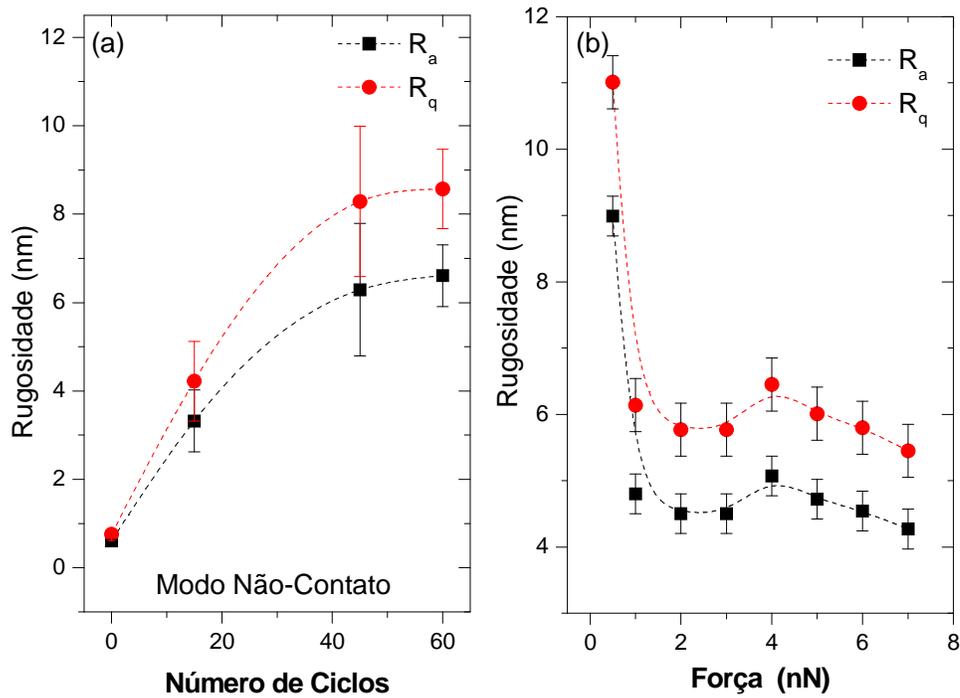


Figura 4.40: Rugosidade R_a e R_q (a) Modo não-contato; (b) Alterando a força de interação entre ponta e amostra.

A Figura 4.41 apresenta uma imagem de AFM da superfície de um filme fino de ouro após a superfície ser submetida a 45 ORCs. Alterando os valores da força de interação entre a ponta e a amostra, obtivemos o perfil topográfico da mesma região, e o resultado é apresentado na figura é referente a varredura da ponta sobre a amostra com os valores de 2 nN (a) e 7 nN (b).

Podemos observar que o perfil muda de forma significativa, ocorrendo um alargamento do tamanho e forma dos grãos com o aumento da força de interação. Também ocorre uma mudança nos picos e nos mínimos do perfil topográfico. Essa alteração pode influenciar nos valores da rugosidade, pois R_a e R_q possuem uma dependência direta com a altura média (\bar{z}_i).

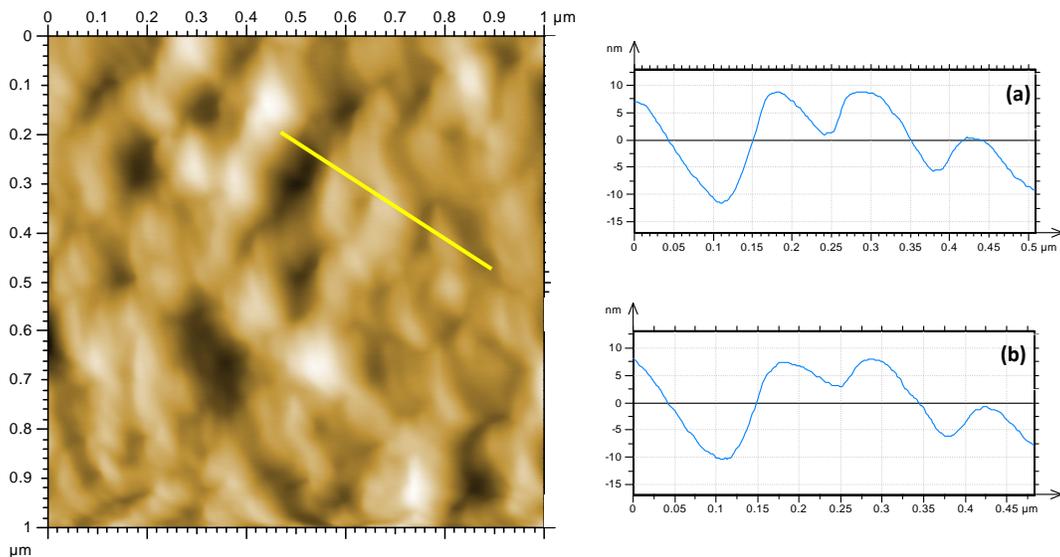


Figura 4.41: Imagem de AFM da superfície de um filme fino rugoso após 45 ciclos de ORC. (a) perfil obtido com 2 nN; (b) perfil obtido com 7 nN.

Atribuímos as alterações que ocorrem no perfil topográfico às mudanças no formato e tamanho da ponta de prova após os diversos scans sobre a superfície do filme fino. Essas alterações afetam os valores de rugosidade, como já previsto por diversos trabalhos [114, 115].

A figura 4.42 apresenta uma ilustração da distorção que a imagem de AFM pode sofrer em função da geometria da ponta. Em superfícies rugosas, o ponto onde a ponta e a superfície estão em contato não é necessariamente o ápice da ponta, podendo ocorrer significativas diferenças entre o ponto de contato e o ápice da distorção. O raio da ponta de prova, em torno de 10 - 50 nm, não é capaz de representar o perfil topográfico da superfície real [113, 114].

A análise de superfícies rugosas de filmes finos modificados eletroquimicamente, mostraram que diversos fatores influenciam na obtenção da rugosidade do filme. Fa-

tores como o tamanho e a forma da ponta do AFM, a variação da intensidade da força de interação entre a ponta e a amostra, influenciam diretamente no cálculo dos parâmetros utilizados pelos softwares.

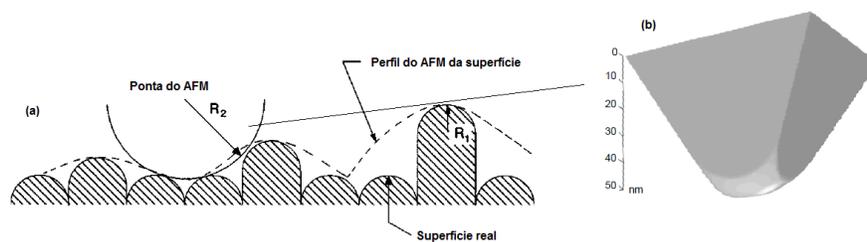


Figura 4.42: (a) Perfil de varredura da ponta do AFM na superfície de um filme fino. Adaptado de [114]; (b) Geometria da ponta do AFM. Adaptado de [116].

Diante de todos estes fatores limitantes, também existe a impossibilidade da ponta do AFM obter imagens de grãos na ordem de dezenas de nanômetros, pois a ponta possui um ápice de aproximadamente de 50 nm. Na tentativa de superar essas limitações, analisaremos o fator de rugosidade obtido a partir das imagens de STM, sabendo que a ponta de varredura do STM possui um diâmetro menor quando comparado a ponta do AFM.

Análise da Rugosidade através de Microscopia de Varredura por Tunelamento

Das diversas técnicas existentes para mensurar a rugosidade superficial, os instrumentos comumente utilizados são o profilômetro de superfície e o AFM [114, 117]. Entretanto, estas duas técnicas possuem a limitação de sua sonda de varredura possuir um diâmetro em torno de $1\ \mu\text{m}$ a $50\ \text{nm}$, impossibilitando a reprodução real da topografia de superfícies rugosas em escala nanométrica. Diante desta dificuldade, o STM torna-se uma técnica promissora de varredura por sonda, devido ao arranjo de poucos átomos “frontais” da ponta de varredura.

Na Figura 4.43 apresentamos as imagens e o perfil topográfico obtidos do STM.

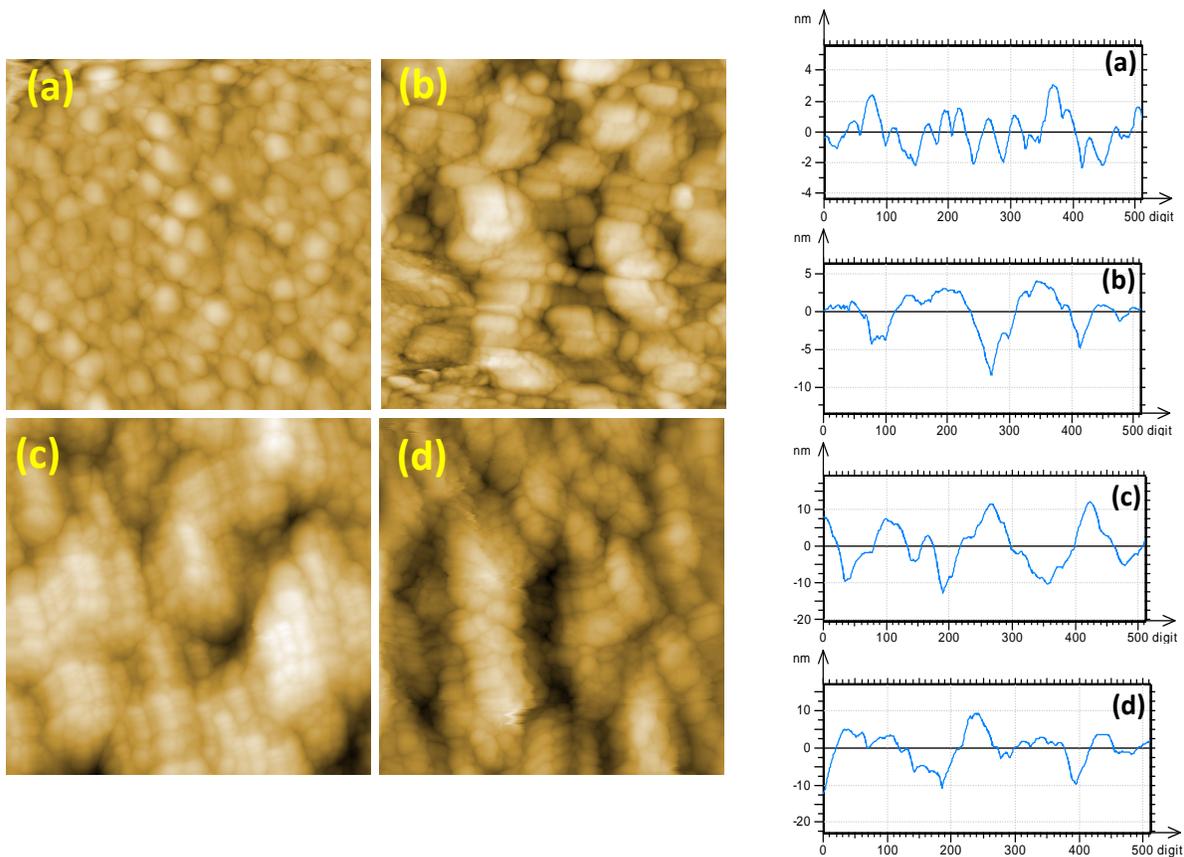


Figura 4.43: Imagens de STM e perfil topográfico da superfície de filmes finos antes da modificação eletroquímica (a); após 15 ciclos (b); após 45 ciclos (c) e após 60 ciclos (d). Imagens de $300\ \text{nm} \times 300\ \text{nm}$.

O STM também é capaz de analisar o perfil topográfico e calcular a rugosidade da superfície através dos mesmos parâmetros utilizados pelo AFM. O gráfico da Figura 4.44 apresenta o fator de rugosidade R_a e R_q obtidos da superfície de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente obtidos através das imagens de STM.

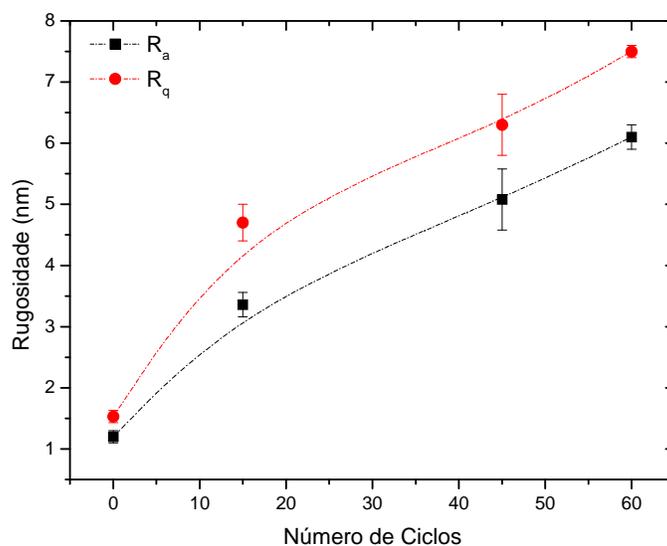


Figura 4.44: Rugosidade R_a e R_q obtidos das imagens de STM.

O gráfico mostra que os valores de rugosidade são próximos dos obtidos através das imagens de AFM. No entanto, o erro relativo das medidas de R_a e R_q é significativamente menor quando comparado com os valores obtidos das imagens de AFM, mas também aumenta para superfícies mais rugosas. A sonda metálica do STM possui um tamanho menor do que 50 nm, devido aos seus poucos átomos frontais, possibilitando uma análise de superfície com rugosidade na escala nanométrica.

No entanto, o raio (r) e a forma da ponta da sonda também podem causar distorções nas imagens obtidas e alterar os valores de rugosidade. Alguns trabalhos apresentam técnicas para diminuir o raio da ponta, geralmente em torno de 0,2 a 0,5 μm , tais como a imersão da ponta em soluções de NaOH ou KOH , ou procedimentos eletroquímicos em soluções tricloroetileno- NaOH , garantido um afinamento da ponta na ordem de nanômetros [118, 119]. Mesmo com esses esforços, os trabalhos revelaram que as imagens de STM,

sempre apresentam distorções e podem fornecer interpretações equivocadas de alargamentos e limite de grãos, e conseqüentemente, essas limitações podem influenciar e distorcer o cálculo dos parâmetros de R_a e R_q .

Diante das limitações apresentadas pelo AFM e STM, a voltametria cíclica pode ser uma técnica que forneça uma maior confiabilidade na obtenção de um fator de rugosidade da superfície dos filmes finos de ouro.

4.3.2 Obtenção e análise da rugosidade de filmes finos por voltametria cíclica

A técnica de voltametria cíclica é uma técnica *in situ* capaz de determinar a área eletroquímica ativa ($A(Au)_{ativa}$) da superfície de eletrodos metálicos [76].

A superfície de eletrodos rugosos possui uma corrente de oxidação muito maior quando comparada a superfícies de eletrodos lisos, e esse efeito pode ser estimado em função da área eletroquímica ativa, obtida através do voltamograma. Este método se baseia na medida da adsorção de monocamadas de oxigênio na superfície do eletrodo e a medida da carga correspondente a esta monocamada. A área sobre o pico catódico no voltamograma é proporcional à área da superfície do ouro e é, entretanto, uma indicação da rugosidade da superfície [120]. O fator de rugosidade é calculado da razão entre a área dos picos catódicos e a área obtida da superfície do eletrodo de ouro sem modificação. O valor da carga necessária para a redução da camada de oxigênio quimissorvido no ouro, depende da camada da estrutura cristalina do ouro, e utilizamos o valor de $390 \mu C cm^{-2}$ como a carga padrão de referência do ouro policristalino.

Obtivemos o perfil voltamétrico de filmes finos de ouro em uma solução de H_2SO_4 a 0,1 M antes e após a indução da rugosidade superficial. Em outra célula eletroquímica, contendo H_2SO_4 (0,1 M) + KCl ($5 \times 10^{-3} M$), a superfície do eletrodo é modificada após sucessivos ciclos de oxi-redução a uma velocidade de $100 mV.s^{-1}$ na faixa de potencial entre 0,1 V a 1,6 V (vs. SHE).

Nas seções anteriores, explicamos exaustivamente como a presença do cloreto facilita o processo de dissolução/deposição do Au durante as diversas varreduras em potenciais positivos e negativos, ocasionando um aumento na rugosidade da superfície do filme devido ao aumento do tamanho e altura dos aglomerados.

O voltamograma cíclico obtido apresentado na Figura 4.45, é o resultado da caracterização da superfície do filme antes e após 15, 45 e 60 ciclos de oxi-redução.

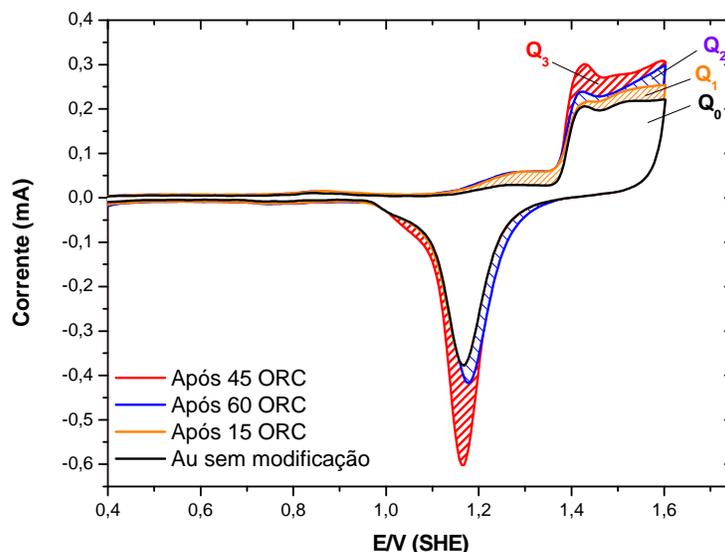


Figura 4.45: Voltamograma cíclico de um filme fino de ouro antes e após 15, 45 e 60 ORC.

O gráfico revela que após diversos ORCs ocorre um aumento contínuo da corrente de oxidação/redução, quando comparado com o voltamograma do filme antes de qualquer modificação superficial (curva preta). Após 15 ORCs (curva laranja), já observamos um aumento na corrente de oxidação, e o máximo é atingido após 45 ORCs (curva vermelha), e após 60 ORCs já observamos que a corrente sofreu um decréscimo (curva azul). Esta variação na corrente indica um aumento na área eletroquímica ativa.

Para determinar a $(A(Au)_{ativa})$ realizamos a integração dos picos de oxidação dos óxidos das curvas dos voltamogramas obtidas a 25°C entre 0,9 a 1,35 V (vs. SHE). Então, a $(A(Au)_{ativa})$ é calculada da relação entre a carga da corrente de oxidação, Q_0 , Q_1 , Q_2 e Q_3 de cada voltamograma, e da carga padrão. Usualmente, o cálculo de $A(Au)_{ativa}$ é expressa como um fator de rugosidade (f_{rug}).

O fator de rugosidade do filme para diferentes ORCs é apresentado na tabela 4.5, e como previsto, a rugosidade da superfície do filme aumenta em função do número de ciclos de oxi-redução.

Tabela 4.5: Fator de rugosidade de um filme de ouro

Número de ciclos	Rugosidade	Erro relativo
0	1,15	0,05
15	1,39	0,06
45	1,75	0,08
60	1,62	0,08

Todavia, para superfícies submetidas a 60 ORCs, o fator de rugosidade obtido através do voltamograma cíclico apresenta um valor de rugosidade menor que o de superfícies submetidas a 45 ORCs, e estes resultados contradizem os resultados apresentados pelas microscopias.

Podemos afirmar que a técnica de voltametria cíclica foi capaz de fornecer uma maior confiabilidade na tentativa de avaliar o fator de rugosidade da superfície de filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente, devido a algumas constatações: Como a área geométrica do eletrodo de ouro foi mantida constante durante todo o experimento, e os diversos ORCs ocasionaram um aumento na área eletroquímica ativa, esse aumento significa que o cloreto ao induzir as modificações na superfície do filme, aumentou a quantidade de átomos para a formação das monocamadas de óxidos, e a técnica de voltametria cíclica é capaz de avaliar átomo a átomo da superfície modificada do filme, e fornecer uma maior confiabilidade na obtenção do fator de rugosidade superficial; e também podemos afirmar que as técnicas de AFM e STM, apesar de serem comumente utilizadas para a obtenção da rugosidade superficial, apresentaram flutuações significativas nos valores de R_a e R_q em função de diversos fatores tais como: impossibilidade de avaliar rugosidades nanométricas devido ao tamanho e forma da sonda de varredura, e provavelmente ocorre modificações no perfil topográfico das imagens pela mudança da força de interação entre ponta e amostra, além de observarmos aumentos do erro relativo na análise de superfícies que possuíam um maior grau de rugosidade. Além desses fatores, as técnicas de microscopias fornecem apenas valores “localizados” da rugosidade da superfície, diferentemente da voltametria cíclica que é capaz de avaliar toda a área da superfície do eletrodo.

Capítulo 5

Conclusões

Na primeira seção de resultados avaliamos a eficiência de filmes finos de ouro, que foram submetidos a diversos ciclos de oxi-redução em uma solução contendo cloreto, para a utilização como substratos para SPR e SERS.

Iniciamos a investigação utilizando filmes finos de ouro com espessura inicial de 50 nm, pois nessa espessura, o filme de ouro apresenta as melhores propriedades ópticas para o SPR. Uma análise preliminar sobre uma possível influência da sub-camada de cromo nas propriedades superficiais do filme fino, utilizando a técnica de voltametria cíclica, revelou que mesmo após o filme ser submetido a diversos ciclos de oxi-redução em uma solução de H_2SO_4 , ou na solução de $H_2SO_4 + KCl$, os voltamogramas cíclicos permaneciam inalterados, apresentando sempre o perfil voltamétrico do ouro policristalino, sem detectarmos traços de difusão de cromo para a superfície do filme. Essa investigação inicial foi importante, pois tivemos a garantia que a superfície está livre da influência do cromo, e pode ser utilizada como substrato para SERS sem dificultar a adsorção de uma molécula orgânica na superfície do ouro.

Os filmes finos de ouro submetidos a diversos ORCs na solução contendo KCl , apresentaram um aumento significativo na sua corrente de oxidação e de redução, quando a superfície foi caracterizada na solução de H_2SO_4 . Esse aumento na área da curva do voltamograma ocorre devido ao aumento da área eletroquímica ativa, significando que houve um aumento da rugosidade da superfície do filme após os ORCs. Os filmes com

diferentes rugosidades foram utilizados como substratos para SERS.

Os ciclos de oxi-redução provocaram modificações na superfície do filme de ouro que foram acompanhadas utilizando as técnicas de Microscopia de força Atômica (AFM) e de Tunelamento (STM). O AFM demonstrou um aumento considerável da rugosidade da superfície do filme fino após diversos ORCs na solução contendo cloreto. No entanto, observamos que a espessura do filme diminui gradativamente com o aumento do número de ciclos de oxi-redução, devido à diluição do ouro para a solução. O AFM foi utilizado para obter a espessura do filme, inicialmente de 50 nm, e após os 30 ORCs constatamos que o filme apresenta uma espessura em torno de 30 nm. O controle da espessura do filme de ouro após diversos ORCs é importante para o aparato de SPR que possui uma dependência direta com a espessura do filme.

O espectro UV-Vis do filme, antes e após as modificações eletroquímicas, apresentou uma banda em torno de 600-800 nm, significando que as ilhas de ouro estão agregadas, e o espectro sofre mudanças apenas na intensidade após os ORCs.

O aparato de SPR montado demonstrou sensibilidade para mensurar diferentes espessuras do filme. E após 30 ORCs, o mínimo tem um aumento no sinal de reflectância, que foi explicado em função da diminuição da espessura do filme. O deslocamento do mínimo para maiores valores do ângulo de reflexão, foi explicado pela possível adsorção de haletos de ouro e íons Cl^- na superfície, ou, o mais provável, devido ao aumento da rugosidade superficial que modifica os parâmetros ópticos.

Obtivemos o espectro SER da molécula de 2-tiouracil adsorvida na superfície de um filme de ouro após ser submetida a 30 ORCs, confirmando que os filmes de ouro, com espessura e rugosidade controlada, podem ser utilizados como substratos SERS ativos. No entanto, observamos que o filme fino de ouro com a espessura de 50 nm possuem a limitação dos ORCs dissolver, após poucos ciclos, a camada de ouro e expor a sub-camada de cromo ou o substrato de vidro.

Na seção seguinte de resultados trabalhamos com os filmes com espessura inicial de 100 nm, onde conseguimos obter diversas espessuras e rugosidades, utilizando as modificações eletroquímicas, e nesta espessura minimizamos a possibilidade de atingir a sub-camada de cromo ou o substrato de vidro.

A voltametria cíclica mostrou que utilizando a concentração de $5 \times 10^{-3} M$ de *KCl* adicionada na solução a $0,1M$ de H_2SO_4 , após 45 ORCs obtemos a rugosidade máxima do filme fino de ouro.

As imagens de AFM e STM confirmaram que a rugosidade da filme fino aumenta com o número de ciclos de oxi-redução. As microscopias revelaram um aumento da ilhas de ouro após os diversos ORCs, e o filme submetido a 45 ORCs, possui o maior valor de rugosidade, e apresentou ilhas com tamanho em torno de 100 nm formado por pequenos grãos. O STM mostrou com alta resolução o tamanho e altura das ilhas de ouro formadas após os ORCs. O AFM foi utilizado para medir a espessura do filme após o processo de eletrodissolução do ouro, e observamos um comportamento linear na diminuição da espessura da camada do ouro. Na espessura inicial de 100 nm foi possível obtermos substratos para SPR e SERS com diversas espessuras e diferentes valores de rugosidade.

Os espectros UV-Vis mostraram que ocorre apenas uma diminuição na intensidade da absorbância após os diversos ciclos de oxi-redução. Também não foi observado deslocamentos da banda de plasmon, confirmando que as ilhas de ouro continuam aglomeradas, no entanto, o tamanho dessas ilhas aumentou gradativamente.

Os resultados de SPR demonstraram que o aumento da rugosidade da superfície dos filme finos de ouro provocam um deslocamento angular e alargamento da curva de ressonância. Essas modificações na curva do SPR estão relacionadas com o espalhamento dos plasmons de superfície. Deste resultado, constatamos a necessidade de um modelo teórico matemático que discuta o comportamento dessas curvas.

De acordo com os resultados apresentados pelos espectros SER do filme com espessura inicial de 100 nm, observamos que os filmes de ouro após serem submetidos aos ORCs intensificam o sinal Raman da molécula do 2-tiouracil adsorvido sobre a superfície. A superfície após 45 ORCs, fornece os melhores substratos para SERS. Esses substratos possuem a rugosidade e tamanho ideal das ilhas de ouro para que ocorra a intensificação do sinal Raman.

Por fim, devido às inconsistências apresentadas entre os valores de rugosidade obtidas via AFM, STM e através da voltametria cíclica. Observamos que as microscopias apresentaram variações nos valores da rugosidade devido aos problemas de convolução entre

a ponta e a superfície, e que para filmes de ouro com rugosidade nanométrica, o fator de rugosidade obtido através dos voltamogramas cíclicos apresentaram resultados mais confiáveis, pois a voltametria permite uma caracterização total da superfície dos filmes finos após as modificações eletroquímicas.

O controle da espessura do filme e a obtenção de uma rugosidade ideal, tornam os filmes finos de ouro modificados eletroquimicamente como substratos de grande potencial para serem utilizados em aparatos que combinem SPR-SERS, na tentativa de contribuir na elucidação do efeito SERS.

Apêndice A

Ressonância de Plasmon de Superfície

A.0.3 Conceitos fundamentais

Considerando uma radiação eletromagnética incidindo em um plano de características ideais com um ângulo de incidência θ_i e ângulo de refração θ_r , em relação a normal Z, como esquematizado na figura A1, na interface dos dois meios dielétricos, a onda incidente fica sujeita ao fenômeno de reflexão e refração. Observa-se que parte do feixe que é refratada propaga-se para dentro do vidro.

Uma característica importante é a conservação do vetor paralelo ao plano k_{\parallel} , isto é, o vetor paralelo a interface, e pode ser escrita como:

$$k_i \text{sen} \theta_i = k_r \text{sen} \theta_r = k_t \text{sen} \theta_t \quad (\text{A.1})$$

Entretanto, observa-se que a ressonância de plasmon só é possível para alguns ângulos, e de acordo com a equação 2.3, a reflexão e a refração são determinadas pela lei de Snell-Descartes, dada por:

$$n_1 \text{sen} \theta_i = n_2 \text{sen} \theta_t \quad (\text{A.2})$$

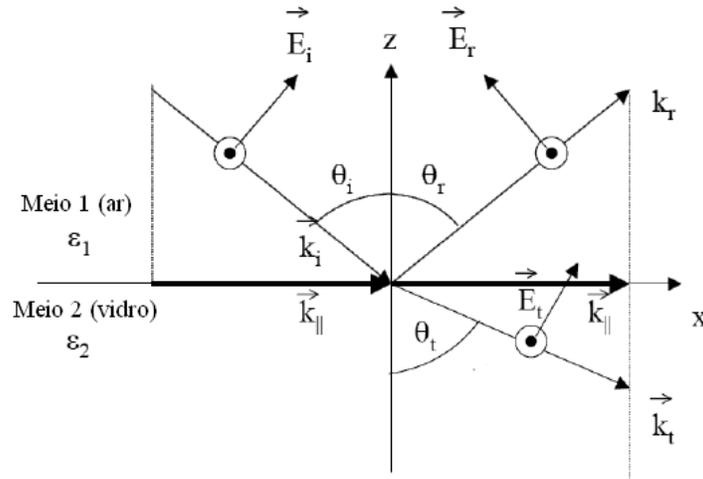


Figura A.1: Representação de uma onda plana polarizada transversal incidente, e de suas componentes de reflexão e refração, na interface de um plano de meios dielétricos diferentes.

Quando a luz passa de um meio de maior índice de refração (n_1) para outro meio de menor índice de refração (n_2), pode ocorrer o fenômeno de reflexão interna total. Sabendo que se $n_1 > n_2$, para ângulos $\theta_1 \geq \theta_C$, o raio transmitido deixa de existir, e toda a luz é refletida na superfície que separa os meios, sendo θ_C o ângulo crítico de reflexão interna total como descrito na equação 2.2.

Em 1968, Otto e Kretschmann desenvolveram um sistema, utilizando uma configuração de prismas acoplados a filmes metálicos, para excitar plasmons de superfícies baseados no conceito da reflexão interna atenuada (ATR). Na configuração de Otto, Figura A.3(a), o prisma e a superfície metálica são separadas por um dielétrico, geralmente o ar. A configuração de Kretschmann, Figura A.3(b), coloca-se o filme metálico entre o dielétrico e o prisma.

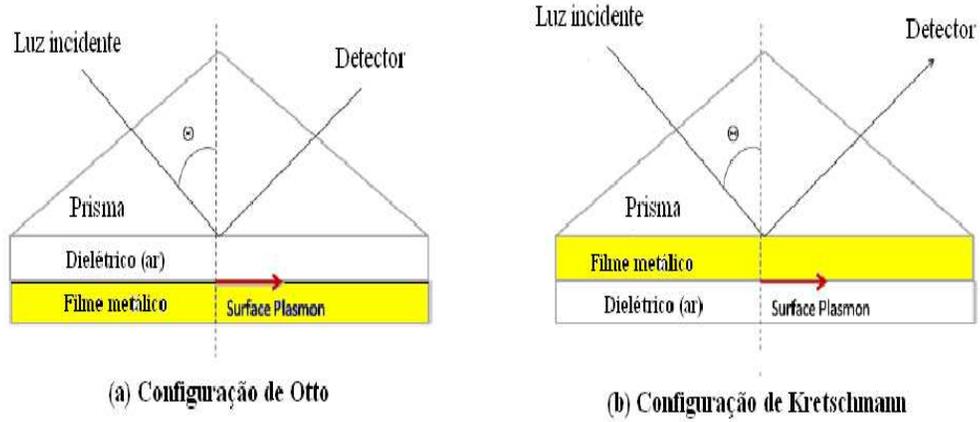


Figura A.2: Configuração de Otto e Kretschmann para obtenção de plasmons de superfície

Uma onda eletromagnética em um meio pode ser descrita por um vetor campo elétrico \vec{E} e um vetor campo magnético \vec{B} . As equações de Maxwell descrevem esses campos em um meio homogêneo, isotrópico, linear e estacionário (CGS), essas equações são dadas por:

$$\nabla \cdot \vec{D} = \rho \quad (\text{A.3})$$

$$\nabla \cdot \vec{B} = 0 \quad (\text{A.4})$$

$$\nabla \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (\text{A.5})$$

$$\nabla \times \vec{H} = J + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \quad (\text{A.6})$$

onde o vetor deslocamento elétrico \mathbf{E} e o vetor indução magnética \mathbf{H} estão relacionados com a interação do campo com a matéria, e a grandeza ρ é a densidade de carga livre. Estas equações são estão relacionadas por:

$$J = \sigma \mathbf{E} \quad (\text{A.7})$$

$$D = \epsilon \epsilon_0 \mathbf{E} \quad (\text{A.8})$$

$$B = \mu \mu_0 \mathbf{H} \quad (\text{A.9})$$

A.0.4 Equação da onda eletromagnética

Das equações de Maxwell é possível obtermos a componente do campo elétrico (\mathbf{E}) e do vetor indução magnética (\mathbf{H}). Substituindo A.5 em A.9, e em A.6 substituímos A.7 e A.8, teremos:

$$\nabla \times \mathbf{E} = -\mu \mu_0 \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} \quad (\text{A.10})$$

$$\nabla \times \vec{H} = \sigma \mathbf{E} + \epsilon \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (\text{A.11})$$

Aplicando o rotacional nas equações A.10 e A.11, e assumindo que as densidades de carga elétrica ρ e de corrente J são nulas, teremos:

$$\nabla^2 \mathbf{E} = \sigma \mu \mu_0 \frac{\partial \mathbf{E}}{\partial t} + \mu \mu_0 \epsilon \epsilon_0 \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} \quad (\text{A.12})$$

Da mesma forma teremos:

$$\nabla^2 \mathbf{H} = \sigma \mu \mu_0 \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t} + \mu \mu_0 \epsilon \epsilon_0 \frac{\partial^2 \mathbf{H}}{\partial t^2} \quad (\text{A.13})$$

A solução para o campo elétrico na forma de onda plana pode ser escrita como:

$$\mathbf{E} = \mathbf{E}_0 e^{i(\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}-\omega t)} \quad (\text{A.14})$$

sendo \mathbf{E}_0 o vetor polarização e \mathbf{k} o vetor unitário na direção e sentido da propagação da onda.

A solução para a equação A.13 é dada por:

$$\mathbf{H} = \mathbf{H}_0 e^{i(\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}-\omega t)} \quad (\text{A.15})$$

onde ω é a frequência da onda, e \mathbf{k} tem magnitude $k = n\mathbf{k}_0$, sendo $\mathbf{k}_0 = 2\pi/\lambda_0$ o vetor de onda no vácuo e $n = \sqrt{\epsilon}$ o índice de refração do meio.

A.0.5 Condições de contorno na interface entre dois meios diferentes

As equações de Maxwell são válidas apenas para meios cujas propriedades físicas sejam contínuas. Então, na região de interface entre dois meios, Figura A.1, teremos uma descontinuidade nos vetores \mathbf{E} , \mathbf{H} , \mathbf{D} e \mathbf{B} , a conexão entre as soluções é possível através de relações de continuidade entre algumas das componentes dos campos. As condições de continuidade podem ser obtidas diretamente das equações de Maxwell. Essas relações de conservação dos vetor campo elétrico e indução magnética são dadas por:

$$\mathbf{B}_{1N} = \mathbf{B}_{2N} \quad (\text{A.16})$$

$$\mathbf{E}_{1T} = \mathbf{E}_{2T} \quad (\text{A.17})$$

Tomando a Figura A.1, os campos incidente, refletido e transmitido na interface entre os meios 1 e 2 são dados por:

$$\mathbf{E}_i = \mathbf{E}_{1i} e^{i(\mathbf{k}_i\cdot\mathbf{r}-\omega t)} \quad (\text{A.18})$$

$$\mathbf{E}_r = \mathbf{E}_{1r} e^{i(\mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} - \omega t)} \quad (\text{A.19})$$

$$\mathbf{E}_t = \mathbf{E}_{2i} e^{i(\mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} - \omega t)} \quad (\text{A.20})$$

sendo \mathbf{k}_i , \mathbf{k}_r e \mathbf{k}_t os vetores de propagação das ondas incidente, refletida e transmitida e ω a frequência da onda. Podemos escrever os vetores de propagação da onda como sendo:

$$|\mathbf{k}_i| = |\mathbf{k}_r| = \frac{\omega}{c} n_1 \quad (\text{A.21})$$

$$|\mathbf{k}_t| = \frac{\omega}{c} n_2 \quad (\text{A.22})$$

onde n_1 e n_2 são os índices de refração do meio 1 e 2.

Aplicando as condições de contorno de Maxwell, considerando na interface $z = 0$, teremos:

$$\mathbf{k}_i \cdot \mathbf{r} = \mathbf{k}_r \cdot \mathbf{r} = \mathbf{k}_t \cdot \mathbf{r} \quad (\text{A.23})$$

Então, aplicando A.6, considerando $\mathbf{J} = 0$, nas equações e considerando as componentes nas direções x e z , obtemos:

$$\mathbf{k}_{z1} \mathbf{H}_{y1} = \frac{\omega}{c} \varepsilon_2 \mathbf{E}_{x1} \quad (\text{A.24})$$

$$\mathbf{k}_{z2} \mathbf{H}_{y2} = \frac{\omega}{c} \varepsilon_2 \mathbf{E}_{x2} \quad (\text{A.25})$$

Das condições de contorno obtemos as relações de dispersão dos plasmons de superfície, como sendo:

$$\frac{k_{z1}}{\varepsilon_1} + \frac{k_{z2}}{\varepsilon_2} = 0 \quad (\text{A.26})$$

Isto mostra que os plasmons de superfície podem somente existir na interface entre dois materiais que possuam constantes dielétricas diferentes, como por exemplo, a interface metal/dielétrico.

Da equação A.23, podemos escrever o vetor k_i da seguinte forma:

$$k_x^2 + k_{zi}^2 = \varepsilon_i \left(\frac{\omega}{c} \right)^2 \quad (\text{A.27})$$

Dessas equações obtemos a equação 2.4 do vetor de onda de propagação das ondas de plasmons superficiais numa interface metal/dielétrico que chamamos de k_{PS} .

Podemos observar da figura A.3 que a curva de dispersão dos plasmons, está abaixo da curva de dispersão dos fótons propagando no dielétrico “ar”. Então, para aumentar o momento do vetor de onda da luz incidente, de forma que os plasmon de superfície recebam energia da onda incidente, geralmente utiliza-se prismas como acopladores ópticos.

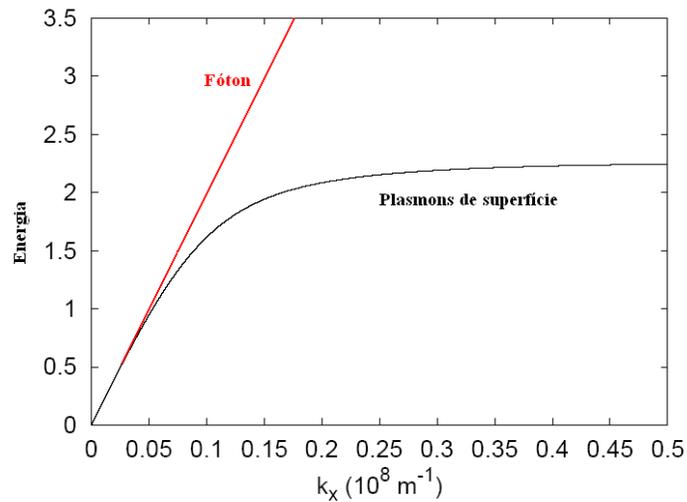


Figura A.3: Plasmon de superfície em um metal. Curva de dispersão dos plasmons (linha preta)

A relação de dispersão do fóton livre é dado pela equação 2.3, no qual sempre é menor que o vetor de plasmon de superfície (k_{PS}). Como já foi exposto no capítulo 2, em um determinado ângulo a componente paralela do fóton será equivalente ao vetor k_{PS} , então, observamos uma queda na reflectância devido a formação da onda evanescente. Esse ângulo de ressonância do sistema é dado pela equação 2.5, que depende diretamente das propriedades ópticas do sistema, como as constantes dielétricas do metal, prisma e da amostra.

Apêndice B

Espalhamento Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica que tem recebido grande destaque na investigação de estruturas moleculares de espécies adsorvidas de compostos orgânicos ou inorgânicos permitindo assim sua identificação.

Esta técnica apresenta algumas vantagens em relação as demais técnicas vibracionais, por permitir fácil acesso a regiões de número de onda mais baixo e possibilitar a obtenção de espectros em soluções aquosas, devido ao fato de que a água não causa interferência.

Os espectros Raman são obtidos quando uma amostra é irradiada com uma fonte laser de radiação monocromática no visível ou no infravermelho próximo. Durante a irradiação, o espectro da radiação espalhada é medida em um certo ângulo com um espectrômetro apropriado. Entretanto, a secção de choque para o espalhamento Raman é muito pequena, como consequência, sua detecção e medida são mais difíceis do que em um espectro no infravermelho [121].

Quando uma onda eletromagnética incide com a matéria, ela pode causar uma perturbação periódica, nos elétrons que continuam as moléculas, com a mesma frequência ν_0 do campo elétrico da onda incidente. Nesse processo, pode ocorrer absorção da radiação incidente e causar modos de vibração da molécula ou causar excitações de transições eletrônicas do alvo.

O espalhamento da luz por uma molécula, pode ser elástico se a luz espalhada tiver a mesma frequência da luz incidente. No entanto, se uma fração da luz espalhada difere da

frequência da radiação incidente, esse processo é chamada de espalhamento inelástico. O espalhamento Raman é um exemplo de espalhamento inelástico.

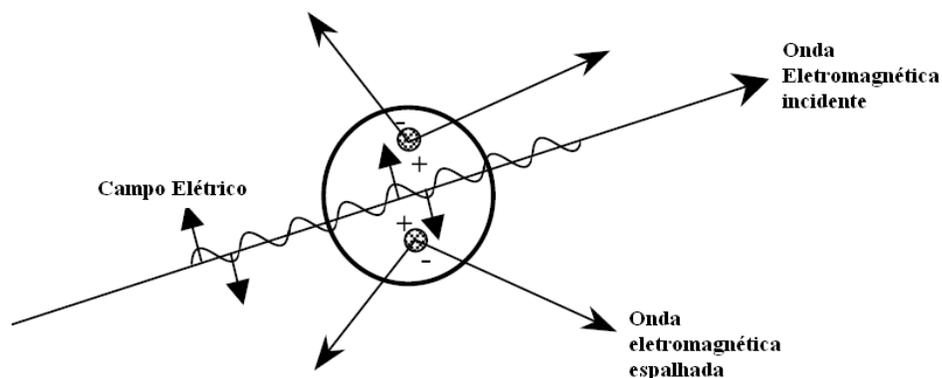


Figura B.1: Espalhamento da luz por um momento de dipolo induzido por uma onda eletromagnética incidente

Quando a radiação interage com a matéria, a oscilação ou perturbação da nuvem eletrônica resulta em uma separação periódica de cargas que é chamado de momento de dipolo induzido, e pode ser dado por:

$$P = \alpha E \tag{B.1}$$

onde α é chamado de polarizabilidade da ligação e E o campo elétrico da onda incidente de uma radiação com frequência ν_0 incidindo sobre um analito, podendo ser descrito pela equação:

$$E = E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \tag{B.2}$$

onde E_0 é a amplitude da onda. Substituindo a equação B.2 em B.1, teremos o

momento de dipolo com dependencia temporal:

$$P = \alpha E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \quad (\text{B.3})$$

Devido a perturbação da nuvem eletrônica de uma estrutura molecular depender da localização dos seus átomos individuais, então a polarizabilidade é uma função da posição dos átomos constituintes. Para qualquer ligação molecular, os átomos individuais estão confinados a modos vibracionais específicos, e os níveis de energia vibracional são quantizados de maneira similar as energias eletrônicas. A energia vibracional de um modo particular é dado por:

$$E_v = \left(j + \frac{1}{2} \right) \hbar\nu_v \quad (\text{B.4})$$

onde j é o número quântico vibracional e ν_v é a frequência do modo vibracional, e \hbar a constante de Planck. O deslocamento físico dQ dos átomos das suas posições de equilíbrio devido aos modos de vibração particular pode ser expresso por:

$$dQ = Q_0 \cos(2\pi\nu_v t) \quad (\text{B.5})$$

sendo Q_0 o deslocamento máximo sobre a posição de equilíbrio. Para deslocamento pequenos, a polarizabilidade α pode aproximada para uma expansão da série de Taylor de acordo com a equação:

$$\alpha = \alpha_0 + \frac{\partial\alpha}{\partial Q} dQ \quad (\text{B.6})$$

onde α_0 é a polarizabilidade da ligação na posição de equilíbrio.

Então, substituindo B.5 na equação acima, a polarizabilidade pode ser escrita como:

$$\alpha = \alpha_0 + \frac{\partial\alpha}{\partial Q} Q_0 \cos(2\pi\nu_v t) \quad (\text{B.7})$$

Substituindo a equação B.7 em B.3, a equação para o momento de dipolo induzido terá a forma:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \frac{\partial\alpha}{\partial Q} Q_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) \cos(2\pi\nu_v t) \quad (\text{B.8})$$

Aplicando uma identidade trigonométrica na equação acima, vemos que:

$$P = \alpha_0 E_0 \cos(2\pi\nu_0 t) + \left(\frac{\partial\alpha}{\partial Q} \frac{Q_0 E_0}{2} \right) \{ \cos[2\pi(\nu_0 - \nu_v)t] + \cos[2\pi(\nu_0 + \nu_v)t] \} \quad (\text{B.9})$$

O primeiro termo dessa expressão corresponde a espalhamentos com a mesma frequência da onda incidente, ou seja o espalhamento é elástico (Rayleigh ou Mie). O segundo e terceiro termo, correspondente a espalhamentos inelásticos, é referente ao espalhamento Raman, com frequências $\nu_0 - \nu_v$ referente ao espalhamento Stokes, e $\nu_0 + \nu_v$ ao espalhamento anti-Stokes.

Deve-se observar que a condição necessária para que ocorra o espalhamento Raman é que a polarizabilidade varie em função da distância, isto é, o termo $\partial\alpha/\partial Q$ deve ser maior que zero. É importante observar que os deslocamento Raman dependem apenas ν_v e é independente do comprimento de onda da radiação incidente.

Geralmente, o espalhamento Rayleigh tem uma probabilidade maior de ocorrer que o espalhamento Raman, devido a probabilidade maior de ocorrer eventos de transferência de moléculas no estado fundamental e a reemissão e retorno dessas moléculas ao estado fundamental. Uma representação do diagrama dos níveis de energia é apresentado e explicado no capítulo 2 dessa tese.

B.0.6 Espectroscopia Raman Intensificada por Superfície

O espalhamento Raman normal apresenta baixa seção de choque na tentativa de obter espectros Raman de adsorbatos sobre uma superfície lisa, tornando o maior obstáculo dessa técnica para diversas aplicações científicas. Para superar essa limitação, Fleischmann e colaboradores, observaram que monocamadas de moléculas não ressonantes, tais como a piridina, quando adsorvidas sobre a superfície da prata exibe uma grande aumento no sinal Raman, aproximadamente da ordem de 10^6 . Inicialmente, esse comportamento foi atribuído ao aumento da área efetiva do eletrodo após a aplicação de vários ciclos de óxido-redução, o que permitiria um número maior de moléculas adsorvidas. [32]. Posteriormente, dois trabalhos independentes mostraram que o aumento da intensidade

obtida não podia ser atribuída apenas ao aumento na área do eletrodo, e que os espectros apresentavam intensidade muito maior do que a esperada através do aumento na rugosidade. O efeito foi denominado de Espalhamento Raman intensificado por superfície ou efeito SERS. [122].

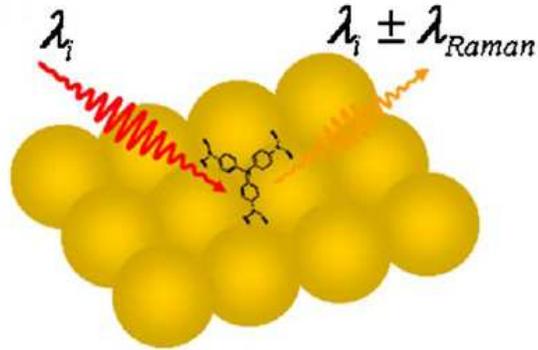


Figura B.2: Esquema simplificado do processo SERS. Adaptado de [123].

A natureza exata do aumento da intensificação do sinal Raman ainda não é completamente compreendida, mas aparenta ser ocasionada pela contribuição de dois mecanismos, o mecanismo Eletromagnético e o mecanismo químico, como pode ser observada pela equação abaixo [124]:

$$I_k(SERS) \propto |E_0|^2 |E_s|^2 (\nu_0 - \nu_v) \sum \bar{\alpha}_{i,j} \quad (\text{B.10})$$

sendo E_0 e E_s o campo elétrico das radiações incidente e espalhadas, respectivamente. As frequências das radiações ν_0 e ν_v , são da radiação excitante e do modo vibracional, e $\bar{\alpha}_{i,j}$ é o tensor polarizabilidade de transição no modo vibracional.

Mecanismo Eletromagnético

Nesse mecanismo considera-se uma intensificação do campo elétrico próximo a superfície do metal devido à ressonância de plasmon de superfície, que é a excitação coletiva dos elétrons da banda de condução localizadas em partículas metálicas pela ação da radiação eletromagnética incidente. Os metais típicos usados para SERS são ouro, prata e cobre, apesar do efeito também ter sido relatado também em outros metais como platina, Pd, e em outras superfícies, tais como a de TiO_2 .

O efeito da ressonância de plasmon de superfície gera um campo elétrico na partícula metálica que decai rapidamente com a distância ($1/r^2$). Entretanto, o campo eletromagnético incidente atuando na molécula adsorvida pela superfície da partícula metálica é aumentado devido a adição do campo elétrico da partícula metálica. Então, o molécula próxima a uma nanopartícula metálica experimentará um aumento no campo quando comparado essa molécula em uma superfície lisa ou não metálica. Este aumento na intensidade do campo experimentado pela molécula levará ao aumento do sinal Raman.

A figura B.2 mostra uma ilustração esquemática do conceito da intensificação do sinal Raman de uma molécula adsorvida sobre uma superfície metálica. Uma molécula ativa Raman colocada a uma distância d da superfície metálica e irradiada com uma onda eletromagnética incidente com comprimento de onda λ_0 e campo E_0 . Este campo eletromagnético incidente induzirá um momento de dipolo induzido na nanopartícula metálica de campo E_{sp} . A molécula Raman experimentará um campo E_M dada pela equação:

$$E_M = E_0 + E_{sp} \quad (\text{B.11})$$

A equação acima representa a suposição do campo elétrico incidente e o campo do dipolo induzido na partícula metálica.

Então, a molécula se encontra na vizinha de uma esfera metálica e sob a ação de um campo E_M , o fator de aumento do campo representado por $A(\nu)$ é definido como sendo a relação do campo da molécula ao campo incidente, que é dado por [125]:

$$A(\nu) = \frac{E_M(\nu)}{E_0(\nu)} \approx \frac{\varepsilon - \varepsilon_0}{\varepsilon + 2\varepsilon_0} \left(\frac{r}{r + d} \right)^3 \quad (\text{B.12})$$

A equação acima mostra que $A(\nu)$ é forte quando a parte real $E(\nu)$ for igual a $-2\varepsilon_0$. Adicionalmente, a parte imaginária $\varepsilon(\nu)$ também necessita ser pequena. Esta condição ocorre durante a excitação ressonante dos plasmons de superfície de uma nanopartícula metálica. Então, a superfície metálica atua amplificando o campo eletromagnético incidente experimentado pela molécula e a radiação Raman espalhada, e levando em consideração ambas intensificações, o fator de intensificação eletromagnético total para a intensidade do sinal Raman de uma banda Raman com frequência ν_s pode ser definida como:

$$G_{em}(\nu_s) = |A\nu_L|^2 |A\nu_s|^2 \approx \left| \frac{\varepsilon(\nu_L) - \varepsilon_0}{\varepsilon(\nu_L) + 2\varepsilon_0} \right|^2 \left| \frac{\varepsilon(\nu_s) - \varepsilon_0}{\varepsilon(\nu_s) + 2\varepsilon_0} \right|^2 \left(\frac{r}{r + d} \right)^{12} \quad (\text{B.13})$$

A equação demonstra que a escala aumenta à quarta potência do campo local da nanopartícula metálica e é dependente fortemente dos campos incidentes e espalhados em ressonância com os plasmons de superfície da nanopartícula metálica. O SERS não requer o contato direto entre a molécula e a superfície metálica, e o campo de um dipolo diminui fortemente com o aumento da distância de $(1/d)^3$ para à quarta potência resultando em uma dependência de $(1/d)^{12}$ [125].

Mecanismo Químico

Através de observações experimentais, tem-se evidências que o mecanismo eletromagnético não é o único a contribuir para o efeito SERS, ou seja, existem outros mecanismos envolvidos no fenômeno. Os resultados experimentais indicam que a interação química entre a superfície e o adsorbato tem papel importante na intensificação do sinal Raman [126, 127]. A intensificação prevista pela contribuição do mecanismo químico em superfícies de metais como Ag, Au e Cu corresponde a 1-2 ordens de grandeza.

Em suma, quando ocorre uma interação específica de um adsorbato com a superfície de uma nanopartícula metálica, os níveis eletrônicos da molécula adsorvida interagem com os elétrons do metal sofrendo um alargamento devido essa interação. Dependendo

da proximidade entre os níveis de energia dos orbitais de fronteira da molécula e do nível de Fermi do metal, transições de carga do tipo molécula-superfície podem ocorrer.

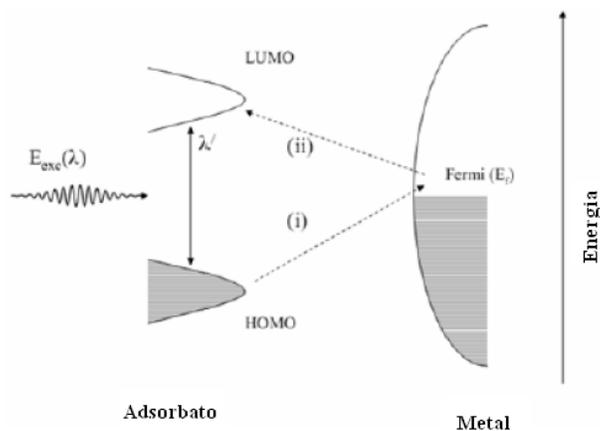


Figura B.3: Diagrama de níveis de energia para uma molécula adsorvida em uma superfície metálica. Adaptado [128].

Baseado no acomplamento elétron-fóton, o primeiro modelo do espalhamento Raman induzido pelo adsorbato foi proposto por Otto e colaboradores [127]. O mecanismo de transferência de carga pode ser entendido observando o diagrama da figura B. e através dos seguintes passos [128]:

- (a) Um fóton incidente com energia λ induz uma transição intrabandas criando uma lacuna;
- (b) Uma transferência eletrônica entre o metal e o nível eletrônico excitado do adsorbato ocorre por tunelamento;
- (c) A Emissão de fótons com energia λ' ocorre quando o par elétron-lacuna é aniquilado, deixando a molécula adsorvida excitada vibracionalmente.

Desde o orbital mais ocupado (HOMO) e o orbital menos ocupado (LUMO), os adsorbatos são simetricamente dispostos energeticamente em relação a energia de Fermi do metal, a transferência de carga pode ocorrer cerca da metade da energia de excitação molecular intrínica dos adsorbatos.

Bibliografia

- [1] KASTNER, M.A. *Artificial Atoms*. 1993, 46, 24.
- [2] BRUS, L. *Quantum crystallites and nonlinear optics*. Applied Physics A, 1991, 53, 465.
- [3] LEWIS, L.N. *Chemical catalysis by colloids and clusters*. Chemical Reviews, 1993, 93, 2693.
- [4] FREER, R. *Nanoceramics*. London, Institute of Materials, 1993.
- [5] AWSCHALOM, D.D.; DI VINCENZO, D.P. *Complex dynamics of mesoscopic magnets* . Physics Today, 1995, 48, 43.
- [6] SMYTH, J. F. *Macroscopic Quantum Effects in Nanometer-Scale Magnets*. Science, 1992, 258, 414.
- [7] GANGOPADHYAY, R.; DE, AMITABHA. *Conducting Polymer Nanocomposites: A Brief Overview*. Chemistry Materials, 2000, 12, 608.
- [8] WANG, Z. L. *Characterization of Nanophase Materials* . Wiley-VCH Verlag GmbH, 2000.
- [9] POOLE, C. P. J.; OWENS, F. J. *Introduction to Nanotechnology*. Wiley-Interscience, 2003.
- [10] WILLIAM, A. G.; BRENNER, D. W; LYSHEVSKI, S.E. *Handbook of Nanoscience, Engineering, and Nanotechnology*. CRC PRESS, 2002.

- [11] SAYED, E.; MOSTAFA, S. L. *Spectral Properties and Dynamics of Surface Plasmon Electronic Oscillations in Gold and Silver and Nanorods*. The Journal Physical Chemistry B, 1999, 103, 8410.
- [12] JANSA, I.L. *Experimental Study of the Optical and Structural Properties of Carbon Nanoparticles*. Shaker Verlag GmbH (Germany), 2006.
- [13] CORAIN, B.; SCHMID, H. *Metal Nanoclusters in Catalysis and Materials Science: The Issue of Size Control*. European Journal Inorganic Chemistry, 2003, 17, 3081.
- [14] MIE, G. *Beitrage zur Optik truber Medien, speziell kolloidaler Metallosungen*. Annals of Physics, 1908, 25, 377.
- [15] PINER, R. D.; ZHU, J.; XU, F.; HONG, S.; MIRKIN, C. *"Dip-Pen" Nanolithography*. Science, 1999, 283, 29.
- [16] JENSEN, T.R.; MALINSKY, M.D.; HAYNES, C.L.; DUYNE, R.P.; *Nanosphere Lithography: Tunable Localized Surface Plasmon Resonance Spectra of Silver Nanoparticles*. Journal Physics Chemistry B, 2000, 104, 10549.
- [17] WALLRAFF, G. M.; HINSBERG, W. D. *Lithographic Imaging Techniques for the Formation of Nanoscopic Features*. Chemical Reviews, 1999, 99, 1801.
- [18] DUYNE, P. R.; HAYNES, C. L. *Nanosphere Lithography: A Versatile Nanofabrication Tool for Studies os Size-Dependent Nanoparticles Optics* . The Journal Physical Chemistry B, 2001, 105, 5599.
- [19] HISNSBERG, W. D.; WALLRAFF, G. M. *Lithographic Imaging Techniques for the Formation of Nanoscopic Features*. Chemical Reviews, 1999, 99, 18801.
- [20] KLABUNDE, K. J. *Nanoscale Materials in Chemistry*. Wiley Interscience, 2001.
- [21] SWALEN, J. D.; ALLARA. D. L.; *Molecular monolayers and films. A panel report for the Materials Sciences Division of the Department of Energy*. Langmuir, 1987, 3, 932.

- [22] GREEN, R.J.; FRAZIER, R.A.; SHAKESHEFF, K.H.; DAVIES, M.C.; ROBERTS, C.J.; TENDLER, S.J.B. . *Surface plasmon resonance analysis of dynamic biological interactions with biomaterials*. Biomaterials, 2000, 21, 1823.
- [23] PISARCHICK, M. L.; GESTY, D.; THOMPSON, N. L. *Binding kinetics of an anti-dinitrophenyl monoclonal Fab on supported phospholipid monolayers measured by total internal reflection with fluorescence photobleaching recovery*. Biophysical Journal, 1992, 63, 215.
- [24] KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. *Radiative decay of non-radiative surface plasmons excited by light*. Zeitschrift für Naturforschung A , 1968, 23, 2135.
- [25] OTTO, A. *Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by method of frustrated total reflection*. Z. Phys, 1968, 216, 398.
- [26] www.biacore.com.
- [27] WEAR, M.A.; WALKINSHAW, M.D. *Thermodynamics of the cyclophilin-A/cyclosporin-A interaction: A direct comparison of parameters determined by surface plasmon resonance using BIACORE T100 and isothermal titration calorimetry*. Analytical Biochemistry, 2006, 359:2, 285.
- [28] CHINOWSKY, T.M.; SOELBERG, S.D.; BAKER, P.; SWANSON, N.R.; KAUFFMAN, P.; MACTUTIS, A.; GROW, M.S.; ATMAR, R.; YEE, S.S.; FURLONG, C.E. *Portable 24-analyte surface plasmon resonance instruments for rapid, versatile biodetection*. Biosensors and Bioelectronics, 2007, 22, 2268.
- [29] ZHOU, M.; OTOHO, A.; YOKOYAMA, S.; MASHIKO, S. *Estimulation of organic molecular film structures using surface-plasmon resonance spectroscopy*. Thin Solid Films, 2001, 393, 114.
- [30] STEVENSON, C.L.; DINH, V.T. *Sinal Expressions in Raman spectroscopy*. Ed. J.J. Laserna, John Wiley and Sons Publishers, West Sussex, England, 1 - 39, 1996.
- [31] FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; MCQUILLAN, A. J. *Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode*. Chemical Physics. Letters, 1974, 26, 163.

- [32] FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; MCQUILLAN, A. J. *Raman-spectra from electrodes surface*. Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1973, 3, 80.
- [33] JEANMARIE, D. L.; VAN DUYNE, R. P. *Surface Raman spectroelectrochemistry, part 1: Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1977, 84, 1.
- [34] ALBRECHT, M. G.; CREIGHTON, J. A. *Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode*. Journal of the American Chemical Society, 1977, 99, 5215.
- [35] SHATZ, G.C.; DUYNE, V. *Electromagnetic mechanism of surface-enhanced spectroscopy*. *Handbook of Vibrational Spectroscopy*. Ed. J.M. Chalmers and P.R. Griffiths, John Wiley e Sons Ltd, Chichester, England, 2002.
- [36] WOOD, R. W. *On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum*. Proceedings of the Physical Society, 1902, 4, 396.
- [37] GARLAND, P. B. *Optical evanescent wave methods for the study of biomolecular interactions*. Annual Review of Biophysics, 1996, 29, 91.
- [38] HOMOLA, J.; YEE, S. S.; GAUGLITZ, G. *Surface plasmon resonance sensors: review*. Sensors Actuators B, 1999, 54, 3.
- [39] OKUMURA, S.; AKAO, T.; MIZUKI, E.; OHBA, M.; INOUE, K. J. *Screening of the Bacillus thuringiensis Cry1Ac δ -endotoxin on the artificial phospholipid monolayer incorporated with brush border membrane vesicles of Plutella xylostella by optical biosensor technology*. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 2001, 47, 177.
- [40] CARVALHO, R. M.; RATH, S.; KUBOTA, L. L. *SPR - Uma nova ferramenta para Biossensores*. Quimica Nova. 2003, 26, 97.
- [41] MOL, N.J.; FISCHER, Marcel, J. E. *Surface Plasmon Resonance - Methods and Protocols*. Springer (New York), 2010.

- [42] HOMOLA, J. *Surface Plasmon Resonance Based Sensors*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2006.
- [43] BINNING, G.; ROHRER, H.; GERBER, C.; WEIBEL, E. *Tunneling through a controllable vacuum gap*. Applied Physics Letters, 1982, 40, 178.
- [44] BINNING, G.; ROHRER, H.; GERBER, CH.; WEIBEL, E. *Surface Studies by Scanning Tunneling Microscopy*. Physical Review Letters, 1982, 49, 57.
- [45] DE ROSE, J. A.; LEBLANC, R. M. *Scanning tunneling and atomic force microscopy studies of Langmuir-Blodgett films*. Surface Science Report. 1995, 22, 73-126.
- [46] HAMANN, D.R.; TERSOFF, J. *Theory of the scanning tunneling microscope*. Physical Review B, 1984, 31, 805.
- [47] BINNING, G.; QUATE, C. F.; GERBER, CH. *Atomic Force Microscope*. Physical Review Letters, 1986, 9, 56.
- [48] BUTT, H. J.; CAPPELLA, B.; KAPPL, M. *Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications*. Surface Science Reports. 2005, 59, 1.
- [49] CLARK, R. J. H.; DINES, T. J. *Resonance Raman Spectroscopy, and Its Application to Inorganic Chemistry. New Analytical Methods*. Angewandte Chemie International Edition. Ed. Engl. 1986, 25, 131.
- [50] RAMAN, C. V.; KRISHNAN, K. A. *The optical analog of the Compton effect*. Nature. 1928, 121, 711.
- [51] RAMAN, C. V.; KRISHNAN, K. A. *The production of new radiations by light scattering*. Proceedings of the Royal Society (London). 1929, 122, 23.
- [52] FLEISCHMANN, M.; HENDRA, P. J.; MCQUILLAN, A. J. *Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode*. Chemical Physics Letters, 1974, 26, 163.

- [53] JEANMARIE, D. L.; VAN DUYNE, R. P. *Surface Raman spectroelectrochemistry, part 1: Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1977, 84, 1.
- [54] ALBRECHT, M. G.; CREIGHTON, J. A. *Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode*. Journal of the American Chemical Society, 1977, 99, 5215.
- [55] BARD, A. Bard.; INZELT, G. SCHOLZ, F. *Electrochemical Dictionary*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.
- [56] TICIANELLI, E.A.; GONZALEZ, E.R. *Eletroquímica: Princípios e Aplicações*. Ed. Edusp, 1998.
- [57] BENDAVID, A.; MARTIN, P.J.; WIECZOREK. *Morphology and Optical of gold thin films prepared by filtered are deposition*. Thin Solid Films, 1999, 354, 169.
- [58] ULMAN, A. *Formation and Structure of Self-Assembled Monolayer*. Chemical Reviews, 1996, 96, 1533.
- [59] MANDLER, D.; TURRYAN, I.; *Applications of self-assembled monolayers in electroanalytical chemistry*. Electroanalysis, 1996, 8, 207.
- [60] FREIRE, S.R.; PESSOA, C.A.; KUBOTA, L. *Emprego de Monocamadas Auto-Organizadas no Desenvolvimento de Sensores Eletroquímicos*. Química Nova, 2003, 381.
- [61] VERICAT, C.; BENITEZ, G.A.; GRUMELLI, D. E.; VELA, M. E.; SALVAREZZA, R. C. *Thiol-capped gold: from planar to irregular surfaces*. Journal of Physics Condensed Matter, 2008, 20, 184004.
- [62] SCHEIBER, F. *Self-assembled monolayers: from 'simple' model systems to biofunctionalized interfaces*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2004, 16, R881.

- [63] TAO, N.; BOUSSAAD, J. S.; HUANG, W.L.; ARECHABALETA, R.A.; D'AGNESE, J. *High resolution surface plasmon resonance spectroscopy*. Review Scientific Instruments. 1999, 70, 4656.
- [64] HAMELIN, A.; CONWAY, B.E; WHITE, R.E, BOCKRIS, O'M. *Modern Aspects of Electrochemistry*. 1985, Plenum Press, New York. Vol. 16.
- [65] HAMELIN, A.; WEAVER, M.J. *Metal substrate effects upon the kinetics of simple electrochemical reactions: the reduction of cobalt (III) ammines at single-crystal gold faces*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1986, 209, 109.
- [66] HAMELIN, A. *Cyclic Voltammetry at gold single-crystal surface. Part 1. Behaviour at low-index faces*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1996, 407, 1.
- [67] PIELA, B.; WRONA, P. *Capacitance of the gold electrode in 0.5 M H₂SO₄ solution: a.c. impedance studies*. Journal Electroanalytical Chemistry, 1995, 388, 96.
- [68] GOSS, C.A.; CHARYCH, D.H.; MAJDA, M. *Application of (3-Mercaptopropyl)trimethoxylane as a Molecular Adhesive in the Fabrication of Vapor-Deposited Gold Electrodes on Glass Substrates*. Analytical Chemistry, 1991, 63, 85.
- [69] OLSON, L.G.; LO, Y-S.; BEEBE, T.P.; HARRIS, J.M. *Characterization of silane-modified immobilized gold colloids as a substrate for surface-enhanced Raman spectroscopy*. Analytical Chemistry, 2001, 73, 4268.
- [70] JOSOWICZ, M.; JANATA, J.; LEVY, J. *Electrochemical Pretreatment of Thin Film Platinum Electrodes*. Journal of The Electrochemical Society, 1988, 135, 112.
- [71] HAMELIN, A. *Cyclic Voltammetry at gold single-crystal surface. Part 1. Behaviour at high-index faces*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1996, 407, 13.
- [72] H, HIDETOSHI, S, SHIZUO, I, KINGO. *Detailed in-situ scanning tunneling microscopy of single crystal planes of gold(111) in aqueous solutions*. Analytical Chemistry, 1990, 62, 2424.

- [73] JIN, Y.; KANG, X.; ZHANG, B.; CHENG, G.; DONG, S. *Controlled Nucleation and Growth of Surface-Confined Gold Nanoparticles on a (3-aminopropyl)trimethoxysilane-Modified Glass Slide: A Strategy for SPR substrates*. Analytical Chemistry, 2001, 73, 2843.
- [74] GAO, P.; GOSZTOLA, D.; LEUNG, L-W H.; WEAVER, J. M. *Surface-enhanced Raman scattering at gold electrodes: dependence on electrochemical pretreatment conditions and comparisons with silver*. Journal of Electroanalytical Chemistry, 1987, 233, 211.
- [75] HOOGLIET, J.C.; DIJKSMA, M.; KAMP, B.; VAN BENNEKOM, W.P. *Electrochemical Pretreatment of Polycrystalline Gold Electrodes To Produce a Reproducible Surface Roughness for Self-Assembly: A Study in Phosphate Buffer pH 7.4*. Analytical Chemistry, 2000, 72, 2016.
- [76] TRASATTI, S; PETRII, O.A. *Real Surface Area Measurements in Electrochemistry*. Pure and Applied Chemistry, 1991, 5, 711.
- [77] CARVALHAL, R.F.; FREIRE, R.S.; KUBOTA, L.T. *Polycrystalline Gold Electrodes: A Comparative Study of Pretreatment Procedures Used for Cleaning and Thiol Self-Assembly Monolayer Formation*. Electroanalysis, 2005, 17, 14.
- [78] LIU, Y.C.; WANG, C.C.; TSAI, C.E. *Effects of electrolytes used in roughening gold substrates by oxidation-reduction cycles on surface-enhanced Raman scattering*. Electrochemistry Communications, 2005, 7, 1345.
- [79] NEUGEBAUER, C. A. *Structural Disorder Phenomena in Thin Metal Films*. Physics of Thin Films, Vol. 2, Ed. Academic Press, New York, 1964.
- [80] OHRING, M. *The Materials Science of Thin Films*. Elsevier Science and Technology Books, 2ª Edição, 2001.
- [81] VANDAMME, N.; JANSSENS, E.; VANHOUTTE, F.; LIEVENS, P.; VAN HAESENDONCK, C. *Scanning probe microscopy investigation of gold clusters deposited on atomically flat substrates*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2003, 15, S2983.

- [82] WANG, J.; SHAO, Y.; JIN, Y.; WANG, F.; DONG, S. *Electrochemical Thinning of Thicker Gold Film with Qualified for Surface Plasmon Resonance Sensing*. Analytical Chemistry, 2005, 77, 5760.
- [83] GOTSCHY, W.; VONMETS, K.; LEITNER, A.; AUSSENEK, F. R. *Thin films by regular patterns of metal nanoparticles: tailoring the optical properties by nanodesign*. Applied Physics B, 1996, 63, 381.
- [84] UNG, T.; MARZAN, L.M.; MULVANEY, P. *Optical Properties of Thin Films of Au@SiO₂*. Journal Physics Chemistry B, 2001, 105, 3441.
- [85] RAN, B.; LIPSON, S.G. *Comparison between sensitivities of phase and intensity detection in surface plasmon resonance*. Optics Express, 2006, 14, 5641.
- [86] FURMAN, S.A.; TIKHONRAVOV, A.V. *Basics of Optics of Multilayer Systems*. Editions Frontieres, 1992.
- [87] MARADUDIN, A.A. *Surface Polaritons*. North-Holland, 1982, 470.
- [88] FONTANA, E.; PANTELL, R. H. *Characterization of multilayer rough surfaces by use surface-plasmon spectroscopy*. Physical Review B, 1988, 37, 7.
- [89] LOO, B.H. *In Situ Identification of Halides Complexes on Gold Electrodes by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*. Journal Physics Chemistry, 1982, 86, 433.
- [90] KUBOTA, L.T.; LUZ, R. C.S.; DAMOS, F.S. *Determination of Thickness, Dielectric Constant of Thiol Films, and Kinetics of Adsorption Using Surface Plasmon Resonance*. Langmuir, 2005, 21, 602.
- [91] BERGMAN, J.G.; CHEMLA, D.S.; LIAO, P.F.; GLASS, A.M.; PINCZUK, A.; HART, R.M.; OLSON, D.H. *Relationship between surface-enhanced Raman scattering and the properties of aggregated silver films*. Optics Letters, 1981, 6, 1.
- [92] BAVIN, E.M.; GOODCHILD, D.A. *Antithyroid Activity of Thiouracil Derivatives*. Nature, 1946, 659.

- [93] SHIGETA, S.; MORI, S.; WATANABE, F.; TAKAHASHI, K.; NAGATA, T.; KOIKE, N.; WAKAYAMA, T.; SANEYOSHI, M. *Synthesis and antiherpesvirus activities of 5-alkyl-2-thiopyrimidine nucleoside analogues*. Antiviral Chemistry and Chemotherapy, 2002, 13, 67.
- [94] BRETNER, M.; KULIKOWSKI, T.; DZIK, J. M.; BALINSKA, M.; RODE, W.; SHUGAR, D. *2-Thio derivatives of dUrd and 5-fluoro-dUrd and their 5'-monophosphates: synthesis, interaction with tumor thymidylate synthase, and in vitro antitumor activity*. Journal Medicinal Chemistry, 1993, 36, 3611.
- [95] GIESE, B.; McNAUGHTON, D. *Surface-Enhanced Raman Spectroscopic Study of Uracil. The Influence of the Surface Substrate, Surface Potential, and pH*. The Journal of Physical Chemistry B, 2002, 19, 1461.
- [96] GIESE, B.; McNAUGHTON, D. *Surface-Enhanced Raman Spectroscopic and Density Functional Theory Study of Adenine Adsorption to Silver Surfaces*. The Journal of Physical Chemistry B, 2002, 13, 101.
- [97] CUNHA, F. .; GARCIA, J. R.; NART, F. C.; CORIO, P.; TEMPERINI, M. *Surface enhanced Raman spectroscopy study of the potential dependence of thymine on silver electrodes*. Journal of Solid State Electrochemistry, 2003, 7, 576.
- [98] AGUIAR, H.B.; SANT'ANA A.C.; TEMPERINI, P.C.; CUNHA, F. *Surface enhanced Raman spectroscopy analysis of the adsorption of 2-thiouracil to Au, Ag and Cu electrodes: Surface potential dependence*. Vibrational Spectroscopy, 2006, 40, 127.
- [99] JOY, V.T.; SRINIVASAN, T.K.K. *Ft-SERS studies on 1,3-thiazolidine-2-thione, 2,5-dimercapto-1,3,4-thiadiazole and 2-thiouracil adsorbed on chemically deposited silver films*. Journal of Raman Spectroscopy, 2001, 32, 9, 785.
- [100] PALAFOX, M. A.; RASTOGI, V. K.; TANWAR, R.P.; MITTAL, L. *Vibrational frequencies and structure of 2-thiouracil by Hartree-Fock, post-Hartree-Fock and density functional methods*. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2003, 59, 2473.

- [101] ROSTKOWSKA, H.; SZCZEPANIAK, K.; NOWAK, M. J.; LESZCZYNSKI, J.; KUBULAT, K.; PERSON W.B. *Tautomerism and infrared spectra of thiouracils. Matrix-isolation and ab initio studies.* Journal of the American Chemical Society, 1990, 112, 2147.
- [102] DILELLA, D.P.; MOSKOVITS, M.; MAYNARD, K.J. *Surface Raman spectroscopy of a number of cyclic aromatic molecules adsorbed on silver: selection rules and molecular reorientation.* Langmuir, 1988, 4, 67.
- [103] VAN DUYN, R. P.; HULTEEN, J. C.; TREICHEL, D. A. *Atomic force microscopy and surface-enhanced Raman spectroscopy. I. Ag island films and Ag film over polymer nanosphere surfaces supported on glass.* Journal of Chemical Physics, 1993, 99, 2101.
- [104] LOSIC, D.; SHAPTER, J. G.; GOODING, J.J. *Influence of Surface Topography on Alkanethiol SAMs Assembled from Solution and by Microcontact Printing.* Langmuir, 2001, 17, 3307.
- [105] HUANG, H.; ZHANG, S.; QIA, L.; YUA, X.; CHENA, Y. *Microwave-assisted deposition of uniform thin gold film on glass surface.* Surface and Coatings Technology, 2006, 200, 4389.
- [106] HOFFMANN, A.; LENKEFI, Z.; SZENTIRMAY, Z. *Effect of roughness on surface plasmon scattering in gold films.* Journal Physics Condensed Matter, 1998, 10, 5503.
- [107] LIU, Y.; XU, S.; TANG B.; WANG, Y.; ZHOU, J.; ZHENG, X.; ZHAO, B.; XU, W. *Note: Simultaneous measurement of surface plasmon resonance and surface-enhanced Raman scattering.* Review of Scientific Instruments, 2010, 81, 036105.
- [108] CALDWELL, W. B.; CHEN, K.; HERR, B.R.; CHAD, A. M.; HULTEEN, J.C.; VAN DUYN, R.P. *Self-Assembled Monolayers of Ferrocenylazobenzenes on Au(111)/Mica Films: Surface-Enhanced Raman Scattering Response vs Surface Morphology.* Langmuir, 1994, 10, 4109.

- [109] CHEN, M.C.; TSAI, S.D.; CHEN, M.R.; OU, S.Y.; LI, W-H.; LEE, K.C. *Effect of silver-nanoparticles aggregation on surface-enhanced Raman scattering from benzoic acid*. Physical Review B, 1995, 51, 7.
- [110] SHANE, E.R; ROWLEN, K.L. *Thin Ag Films: Influence of Substrate and Post-deposition Treatment on Morphology and Optical Properties*. Analytical Chemistry, 1994, 66, 261.
- [111] FREEMAN, R. G.; GRANBAR, K. C.; ALLISON, K. J.; BRIGHT, R.M.; DAVIS, J.A.; GUTHRIE, A. P.; HOMMER, M. B.; JACKSON, M. A.; SMITH, P. C.; WALTER, D.G.; NATAN, M.J. *Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates*. Science, 1995, 267, 17.
- [112] WEIGENBACHER, N.; GOBEL, R.; KELLNER, R. *Ag-layers on non-ferrous metals and alloys. A new substrate for Surface Enhanced Raman scattering (SERS)*. Vibrational Spectroscopy, 1996, 12, 189.
- [113] SEDIN, L.D.; ROWLEN, K.I. *Influence of tip size on AFM roughness measurements*. Applied Surface Science, 2001, 182, 40.
- [114] WESTRA, K.L.; THONSON, D.J. *Effect of tip shape on surface roughness measurements from atomic force microscopy images of thin films*. Journal of Vacuum Science and Technology B, 1995, 13(2), 344.
- [115] VILAS, A.M.; BRUQUE, J.M.; MARTÍN, G.M.L. *Sensitivity of surface roughness parameters to changes in the density of scanning point in multi-scale AFM studies. Applications to a biomaterial surface*. Ultramicroscopy, 107, 2007, 617.
- [116] MANDELQUIST, A.; ALMQVIST, N.; FREDRIKSSON, S. *Influence of tip geometry on fractal analysis of atomic force microscopy images*. Applied Physics A, 1998, 66, S891.
- [117] BENNETT, J. M.; DANCY, J. H. *Stylus profiling instrument for measuring statistical properties of smooth optical surfaces*. Applied Optics, 1981, 20, 1785.

- [118] REISS, G.; VANCEA, J.; WITTMANN, H.; ZWECK, J. HOFFMAN, H. *Scanning tunneling microscopy on rough surfaces: Tip-shape-limited resolution*. Journal Applied Physics, 1990, 67, 3.
- [119] GIMZEWSKI, J.K.; J. HUMBERT, A.; BEDNORZ, J. G.; REIHL, B. *Silver Films Condensed at 300 and 90 K: Scanning Tunneling Microscopy of Their Surface Topography*. Physical Review Letters, 1985, 55, 951.
- [120] HOOGLIET, J. C.; DIJKSMA, M.; KAMP, B.; VAN BENNEKOM, W. P. *Electrochemical Pretreatment of Polycrystalline Gold Electrodes To Produce a Reproducible Surface Roughness for Self-Assembly: A Study in Phosphate Buffer pH 7.4*. Analytical Chemistry, 2000, 72, 2016.
- [121] KOOG, D. A.; HOLLER.; F. J.; NIEMAN, A.T. *Princípios de Análise Instrumental*. 5ª EDIÇÃO Editora Bookman, 2002,
- [122] DUYNE, P. R. *Chemical and Biological Applications of Lasers*. Academic Press: New York, vol 4, 101, 1979.
- [123] HOSSAIN, M. K.;KITAHAMA, Y.; HUANG, G. G.; HAN, X.; OZAKI, Y. *Surface-enhanced Raman scattering: realization of localized surface plasmon resonance using unique substrates and methods*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2009, 394, 7, 1747.
- [124] MOSKOVITS, M. *Surface Raman Spectroscopy: a brief retrospective*. Journal Raman Spectroscopy, 2005, 36, 485.
- [125] KNEIPP, K.; KNEIPP, H.; ITZKAN, I.; DASARI, R.R.; FELD, M. S. *Surface-enhanced Raman scattering and biophysics*. Journal of Physics: Condensed Matter, 2002, 14, 597.
- [126] GERSTEN, J.I.; BIRKE, R.L.; LOMBARDI, J.R. *Theory of enhanced light-scattering from molecules adsorbed at the metal-solution interface*. Physical Review Letters, 1979, 43, 147.

- [127] OTTO, A. *Surface-enhanced Raman scattering of adsorbates*. Journal Raman Spectroscopy, 1991, 22, 743.
- [128] HOSSAIN, K. M.; OZAKI, Y. *Surface-enhanced Raman scattering: facts and inline trend*. Current Science, 2009, 97, 2.