

Dalva L. A. de Faria, Marcia L. A. Temperini e Oswaldo Sala

Instituto de Química - Universidade de São Paulo - CP 26077 - 05599-970 - São Paulo

Recebido em 15/7/98; aceito em 25/8/98

**TWENTY YEARS OF SERS.** The Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) effect was observed for the first time in 1974, but it was only considered a new effect three years later, hence, nearly twenty years ago. Since its discovery, a significant amount of investigations have been performed aiming at to clarify the nature of the observed enhancement, to improve the surface stability and to establish applications which nowadays range from the study of biomolecules to catalysis. Some of the more relevant aspects of this effect which have been examined across the last two decades are summarized in this paper which presents the introductory aspects of SERS alongside with several of its applications.

**Keywords:** SERS; Raman; spectroscopy.

## INTRODUÇÃO

O efeito SERS consiste em uma intensificação significativa do espalhamento Raman<sup>1</sup> e foi descoberto casualmente por Fleischmann e outros<sup>2</sup> durante uma tentativa de estudar espécies adsorvidas em superfícies de eletrodos através da espectroscopia Raman.

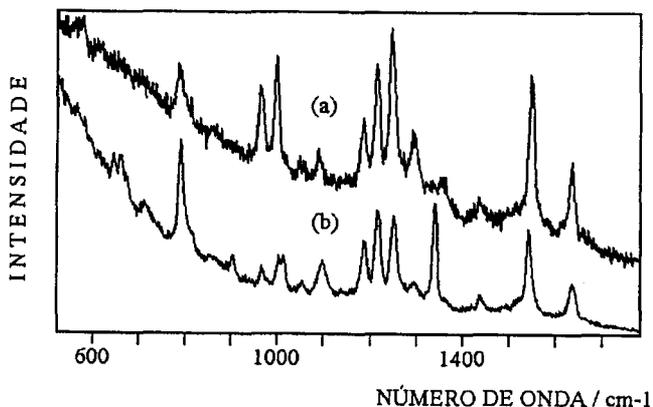
Como a densidade de moléculas adsorvidas é da ordem de  $10^{14}$  -  $10^{15}$  moléculas por centímetro quadrado e a secção de choque para espalhamento Raman da molécula livre também é pequena (cerca  $10^{-30}$   $\text{cm}^2 \cdot \text{Sr}^{-1} \cdot \text{molécula}^{-1}$ )<sup>3</sup>, a utilização do efeito Raman em condições normais não apresenta sensibilidade suficiente para a investigação de monocamadas. Ocorre que a intensidade de uma banda Raman depende (entre outros fatores) do número de espalhadores, assim, Fleischmann e outros<sup>2</sup> pensaram em aumentar a área superficial eletroquimicamente, através da aplicação de vários ciclos de óxido-redução em um eletrodo, o que permitiria a adsorção de um número maior de moléculas. Empregaram então uma solução aquosa de piridina ( $5 \times 10^{-2}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ ) em KCl ( $0,1$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ ) e aplicaram vários ciclos redox em um eletrodo de prata obtendo, após esse processo, um espectro da piridina com excelente relação sinal/ruído. Esse comportamento foi considerado pelos autores, naquela ocasião, como decorrente do aumento da área efetiva do eletrodo.

Posteriormente, dois trabalhos independentes<sup>4,5</sup> mostraram que o fator de intensificação observado era muito maior do que o esperado pelo simples aumento da área: enquanto o espectro da piridina era intensificado de um fator de ca.  $10^6$ , a contribuição por aumento de área avaliado eletroquimicamente se situava na faixa de uma a duas ordens de grandeza, dependendo da carga passada pelo eletrodo. Evidentemente a contribuição da superfície para a intensidade observada era maior do que a esperada através do aumento na rugosidade. Estava assim descoberto um novo efeito, batizado de *efeito SERS* ou *espalhamento Raman intensificado por superfície*.

Apesar do efeito SERS ter sido observado pela primeira vez em eletrodos, outros tipos de superfícies podem ser empregadas, como por exemplo colóides de alguns metais<sup>6</sup>, filmes metálicos depositados em ultra-alto vácuo<sup>7</sup>, além de outras possibilidades que, apesar de menos usuais, serão discutidas oportunamente neste texto. Além disso, esse efeito não é característico apenas de interfaces metal-eletrólito, ocorrendo também em interfaces metal-gás<sup>8</sup>, metal-vácuo<sup>9</sup> e sólido-sólido<sup>10</sup>.

A Figura 1 exemplifica esse tipo de intensificação, comparando o espectro Raman ressonante obtido de uma solução

aquosa  $10^{-4}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$  de 5,10,15,20-tetrakis(1-metil-4-piridil)-21H,23H-porfirina (TMPyP), excitada em 457,9 nm (Fig. 1a) com o espectro SERS da mesma substância, porém na concentração de  $10^{-7}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ , feito em colóide de prata e excitado em 488,0 nm (Fig. 1b). Deve ser notado que apesar da concentração da porfirina ser 3 ordens de grandeza menor, o espectro mostrado na Fig. 1b apresenta relação sinal/ruído significativamente melhor do que o da Fig. 1a<sup>11</sup>.



**Figura 1.** Espectros Raman de TMPyP (a) em solução aquosa ( $10^{-4}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ ) e excitado em 457,9 nm; (b) em colóide de prata ( $10^{-7}$  mol.  $\text{dm}^{-3}$ ) e excitado em 488,0 nm. As diferenças em termos de posição de picos são explicadas pelo fato de que, neste caso em particular, além da intensificação do espectro ocorre também a metalação da porfirina<sup>77</sup>, formando  $\text{Ag(II)TMPyP}$ , como será discutido adiante no texto.

Nesses 20 anos de efeito SERS pode-se dizer que desde sua descoberta até o final da década de 70 os textos publicados ocupavam-se principalmente da verificação do fenômeno, ao passo que na década de 80 consolidaram-se os modelos teóricos que buscavam elucidar os seus mecanismos. Em que pese o fato de ainda haver muita controvérsia em termos dos modelos que o descrevem, nos anos 90 tem-se observado uma grande ênfase às aplicações do efeito.

No Brasil, as investigações foram introduzidas por O. Sala que, logo após a descoberta do efeito, já realizava estudos sobre seus aspectos conceituais, avaliando e quantificando a

importância de diversos fatores experimentais nas intensificações observadas. A significativa contribuição nesse campo gerada, desde então, por seu grupo de pesquisa (Laboratório de Espectroscopia Molecular do IQUSP) será abordada no decorrer deste texto.

O efeito SERS, tanto em eletrodo como em colóides, vem sendo extensivamente utilizado, por exemplo, na investigação de sistemas de interesse biológico<sup>12</sup>, principalmente pela peculiaridade de que, muitas vezes, a interação da substância com a superfície provoca a supressão da emissão fluorescente que ela eventualmente apresenta. Essa particularidade pode ser comprovada, por exemplo, no caso da rodamina: apesar desse corante emitir intensamente quando excitada em 514,5 nm, seu espectro Raman feito em colóide de prata<sup>13</sup> nesse comprimento de onda não apresenta qualquer fundo.

No que diz respeito aos modelos teóricos que buscam descrever o efeito SERS, não está entre os objetivos deste texto sua apresentação detalhada. Nos parágrafos seguintes será apresentada uma abordagem qualitativa dos mesmos e detalhes podem ser encontrados em diversos artigos de revisão disponíveis na literatura<sup>14</sup>.

Existem dois modelos principais que buscam elucidar o mecanismo responsável pelo aparecimento do efeito SERS: o eletromagnético e o molecular. A origem desses dois modelos pode ser simplificada apresentada, considerando que a intensidade da radiação espalhada é proporcional ao quadrado do momento de dipolo induzido na molécula espalhadora pela radiação incidente. Por outro lado, esse momento de dipolo induzido pode ser escrito como o produto da polarizabilidade molecular ( $\alpha$ ) pelo campo elétrico da radiação incidente ( $E$ ).

O *modelo eletromagnético* considera a intensificação do campo eletromagnético próximo à superfície do metal devido à ressonância com o plasma de superfície (ou *surface plasmon*<sup>15</sup>). Essa teoria explica intensificações a longas distâncias (*long-range enhancement*) e o espectro obtido deve ser similar àquele obtido das moléculas em solução, isso porque o efeito do campo elétrico tem uma dependência com a distância que separa a molécula da superfície ( $1/r^{12}$ ), não dependendo, portanto, do contato entre elas; além disso, nesse tipo de mecanismo não se espera uma perturbação substancial na molécula espalhadora.

O *modelo molecular* ou *modelo químico* considera as modificações na polarizabilidade molecular,  $\alpha$ , geradas pela interação da molécula espalhadora com a superfície. Essa interação pode se dar pela formação de complexos de transferência de carga, ligações químicas convencionais com a superfície, ou ainda através de interações eletrostáticas (par iônico). Neste caso, o contato com a superfície é essencial (*short-range enhancement*) e os espectros obtidos dessa maneira podem divergir daqueles registrados de solução, seja por mudanças em intensidades relativas, meia-larguras, deslocamentos de frequências ou mesmo pelo aparecimento de novas bandas. Grosseiramente, um desses modelos<sup>16</sup> supõe que um elétron do nível de Fermi do metal é excitado por um fóton incidente criando um par elétron-lacuna. O elétron (ou a lacuna) é transferido, por efeito túnel, 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 (Fig. 2).

Dentro do âmbito desta Introdução vale frisar que:

- i) Dentre todos os modelos que surgiram ao longo do tempo para explicar o efeito SERS, os que tiveram maior aceitação da comunidade científica foram os modelos eletromagnético e químico. Isso não significa em hipótese alguma que haja um consenso na literatura sobre as contribuições relativas de cada um deles.
- ii) A observação do efeito parece depender da existência de rugosidade adequada na superfície. Em superfícies lisas a contribuição devida à ressonância eletromagnética é nula e

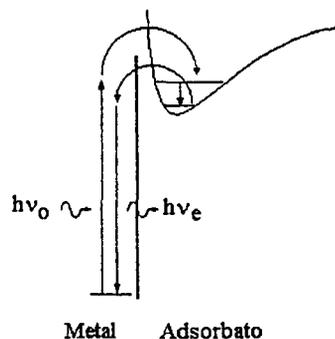


Figura 2. Diagrama ilustrando o mecanismo de intensificação SERS através do modelo químico.

apenas a contribuição química geralmente é insuficiente para que se atinja o limite mínimo de detecção. Apesar disso, foram recentemente reportados na literatura os espectros SERS de piridina e pirazina adsorvidas em Au (210)<sup>17</sup> e anidrido piromelítico adsorvido sobre Cu (100)<sup>18</sup>.

- iii) O efeito é registrado com maior intensidade em prata, ouro e cobre, apesar de ter sido reportado também em outros metais, como Pt, Pd etc. e outras superfícies como, por exemplo, TiO<sub>2</sub>. O tipo de superfície escolhida define também qual a melhor frequência de excitação dos espectros, devido ao fato de que cada metal apresenta a absorção do plasma de superfície em uma frequência diferente.
- iv) O efeito SERS depende ainda da natureza do adsorbato: moléculas contendo átomos de enxofre e nitrogênio, por exemplo, são particularmente promissoras na observação do efeito. A necessidade deste requisito é clara dentro do modelo químico, quando a interação direta com a superfície depende da existência de átomos ou grupos de átomos que tenham afinidade química com a mesma. Apesar de menos claro no caso do mecanismo eletromagnético, deve ser considerado que quanto mais polarizável for uma molécula, maior será sua sensibilidade ao campo elétrico intensificado pela superfície.

O papel desempenhado pela rugosidade da superfície na intensificação SERS suscita, certamente, a possibilidade de se explorar a natureza fractal dessas superfícies. Apesar da geometria fractal ter sido invocada anteriormente por diferentes autores<sup>19,20</sup> para descrever superfícies SERS ativas, foi somente nesta década que estudos mais sistemáticos a esse respeito foram realizados<sup>21</sup>. Douketis e outros<sup>22</sup> encontraram evidências de relação entre a atividade SERS de uma superfície e seu caráter fractal, constatando que os filmes depositados em UHV a 100 K são auto-recursivos com dimensão de Hausdorff-Besicovitch  $D=2,5$  e tem atividade SERS, o que não ocorre com filmes depositados em temperaturas mais altas que apresentam pequena fractalidade e não são SERS ativos.

O uso combinado do efeito Raman ressonante e do efeito SERS, resultou no efeito SERRS (*Surface Enhanced Resonance Raman Scattering*), o qual permite que espectros possam ser obtidos em concentrações da ordem de nanomolar ou até menos, uma vez que os fatores de intensificação de cada técnica se somam. Esse efeito ocorre quando o espectro SERS é excitado por uma radiação que seja absorvida pela molécula.

Além da excitação no visível, há cerca de 10 anos surgiu na literatura um artigo reportando pela primeira vez a observação do efeito SERS com excitação na região do infravermelho próximo (1064 nm) através de equipamento FT-Raman, então recentemente desenvolvido<sup>23</sup>. Essa técnica tem encontrado aplicação no estudo de sistemas biológicos, por eliminar a interferência de fluorescência<sup>24</sup>.

Um outro efeito decorrente da interação com a superfície é a intensificação do espalhamento hiper-Raman (efeito SEHRS).

O espalhamento hyper-Raman é um processo ótico não linear no qual o fóton espalhado ( $\nu$ ) apresenta um deslocamento na frequência em relação à segunda harmônica do fóton de excitação ( $\nu_0$ ) e foi descoberto por Terhune e outros em 1965<sup>25</sup>. A diferença  $2h\nu_0 - h\nu$  corresponde à energia retida do espalhador e como se trata de um efeito muito fraco (para uma potência de  $10^{11}$  W.cm<sup>-2</sup>, a razão entre as intensidade do espalhamento hiper-Raman e Raman é  $10^{-5}$ )<sup>26</sup> pensou-se em empregar o efeito SERS para aumentar sua eficiência, como já havia sido feito anteriormente usando o efeito Raman ressonante<sup>27</sup>.

## PREPARAÇÃO DE SUBSTRATOS

Nesses vinte anos de descoberta do efeito vários tipos de substratos foram testados, sendo que os mais empregados são colóides, eletrodos e filmes depositados a vácuo. Seja qual for o método de amostragem empregado, a alta sensibilidade da técnica exige que se trabalhe com vidraria extremamente limpa, assim como água e reagentes de elevada pureza, pois os espectros de impurezas podem ser grandemente intensificados.

Tanto colóides como eletrodos oferecem o atrativo de serem facilmente preparados, sendo que as dispersões dispensam equipamentos adicionais. Os filmes depositados a vácuo, por outro lado, oferecem como vantagem o fato de serem superfícies quimicamente limpas e poderem ser geradas com alto grau de reprodutibilidade. Abaixo é apresentada uma descrição sucinta dos substratos mais empregados.

### Colóides

Como foi dito anteriormente, os metais que apresentam maior interesse em termos de efeito SERS são prata, ouro e cobre, sendo que todos eles produzem dispersões coloidais intensamente coloridas. Uma revisão das propriedades óticas de tais colóides pode ser encontrada na referência 28.

Colóides de prata podem ser preparados através de diversas formas de redução dos íons metálicos e, para que apresentem atividade SERS apreciável, suas partículas devem ter tamanho de 20 a 100 nm<sup>29</sup>. Novamente, a limpeza da vidraria empregada e a pureza dos reagentes é fundamental para evitar a agregação das partículas, o que leva à deposição do metal.

Os métodos mais empregados de preparação desses colóides são os de Creighton e o de Lee-Meisel. O método de Creighton<sup>30</sup> consiste no uso de borohidreto de sódio como agente redutor e a monodispersão das partículas é obtida com a agitação vigorosa da dispersão, à medida em que as soluções resfriadas dos reagentes são misturadas. O sol assim preparado tem coloração que varia do amarelo intenso ao marrom e seu espectro ótico apresenta banda centrada ao redor de 390 nm e meia largura de ca. 50 nm, referente à absorção do plasma de superfície. A posição do máximo está relacionada com o tamanho médio das partículas enquanto que a meia largura pode ser associada à distribuição de tamanhos das mesmas.

O procedimento de Lee e Meisel<sup>31</sup>, por sua vez, emprega redução com citrato e as dispersões assim preparadas têm coloração amarelo-esverdeadas, aparência turbida, apresentam máximo de absorção em ca. 410 nm e meia largura de ca. de 60 nm, indicando tanto um tamanho médio maior quanto uma distribuição mais ampla de tamanhos de partículas<sup>32</sup>.

A Figura 3 mostra os espectros óticos de colóides preparados de acordo com as duas metodologias descritas e ilustra as diferenças mencionadas.

Mais recentemente, foi proposta a preparação de um tipo de colóide de prata sem a utilização de reagentes que podem potencialmente interferir na adsorção das substâncias em estudo<sup>33</sup>. Nessa preparação emprega-se um laser pulsado de Nd-YAG (1064 nm), cujo feixe é focalizado sobre uma placa de prata imersa em água, produzindo pequenos fragmentos que ficam dispersos no líquido. Segundo os autores, não somente a

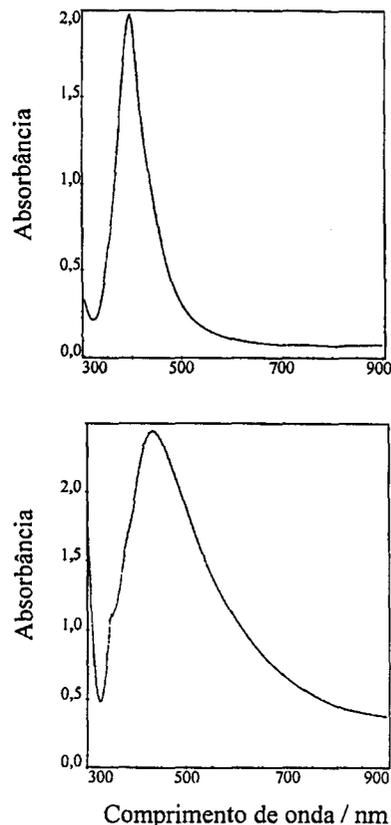


Figura 3. Espectros de absorção no UV-VIS de colóide de Ag: (a) preparado de acordo com método de Creighton<sup>30</sup>; (b) preparado de acordo com o método de Lee e Meisel<sup>31</sup>.

dispersão coloidal pode ser empregada como superfície SERS ativa, como também a própria placa que sofreu ação do laser.

Analogamente à prata, colóides de ouro também podem ser preparados com facilidade pela redução em meio aquoso de íons do metal por borohidreto ou citrato. A dispersão resultante apresenta máximo de absorção em ca. 530 nm, o que lhes confere coloração púrpura intensa e suas partículas têm tamanho estimado em ca. 10 nm<sup>34,35</sup>; há no mercado colóide de ouro comercial com tamanho de partícula entre 5 e 15 nm.

### UHV (*ultra high vacuum*)

Filmes de prata também podem ser preparados por deposição de quantidades adequadas de vapor do metal em pressões da ordem de  $10^{-8}$  bar, sendo que a espessura da camada depositada é usualmente controlada por uma balança de quartzo (*mass thickness*)<sup>36</sup>.

### Eletrodos

A observação do efeito SERS em sistemas eletroquímicos está condicionada à ativação da superfície do eletrodo de trabalho. Essa ativação consiste na oxidação-redução do metal, através da variação do potencial aplicado ao eletrodo. Durante essa ativação pode se formar um composto insolúvel ou solúvel, dependendo do cátion do metal que constitui o eletrodo e do ânion eletrolítico. O tipo de composto formado durante a ativação e as características do programa de potencial darão uma rugosidade própria à superfície que permitirá a observação do efeito SERS.

Para o caso da prata existem diversas maneiras (varredura ou salto) de variação do potencial, sendo a região de potencial dependente da solução eletrolítica empregada. Em geral a ativação

do eletrodo de prata é feita em soluções eletrolíticas aquosas de cloretos, brometos ou iodetos. Soluções eletrolíticas de percloratos, nitratos ou sulfatos, e mesmo soluções não aquosas contendo qualquer tipo de ânion oferecem maior problema para ativação da superfície de prata. Isto se deve em parte à formação de compostos de prata solúveis e a uma menor estabilidade dos centros ativos que proporcionarão o efeito.

O sistema Ag/piridina foi um dos mais estudados, talvez pelo fato da piridina ser uma molécula relativamente simples, adsorver fortemente em eletrodo de prata e ter seu espectro vibracional extensivamente estudado. Vários dos trabalhos empregando esse sistema buscaram relacionar a intensificação SERS da piridina com a quantidade de carga durante a redução dos íons de prata em diferentes soluções eletrolíticas<sup>37</sup> com a presença da piridina durante a ativação (ativação *in situ*)<sup>38</sup> e com a incidência do laser na superfície do eletrodo durante a ativação<sup>39</sup>. Desses resultados pode-se afirmar que a intensificação é independente do íon eletrolítico, desde que a mesma quantidade de íons de prata seja reduzida e que os espectros SERS sejam obtidos em potenciais não muito negativos (por exemplo -0,4V/ECS). A presença de piridina durante a ativação causa sua oclusão na superfície ou sua complexação com íons de prata, portanto, para estudos de orientação de moléculas na superfície, isoterma de adsorção ou estudos de cinética de adsorção é aconselhável fazer a ativação *ex-situ*, isto é, na ausência do composto. A intensificação SERS aumenta quando a ativação é feita com o laser incidindo sobre o eletrodo e a explicação proposta é a fotoredução do composto de prata formado, produzindo mais centros ativos e mudando a morfologia da superfície SERS ativa.

A ativação de eletrodos de ouro não é tão simples quanto no caso da prata. Por muito tempo acreditou-se que o fator de intensificação SERS, utilizando radiações excitantes no vermelho, fosse menor que o da prata. Um dos métodos mais utilizados para ativação do eletrodo de ouro, que leva a uma intensificação comparável à da prata, consiste em aplicar-lhe 25 ciclos de oxidação-redução, em solução de KCl 0,1 mol.dm<sup>-3</sup>, entre os potenciais -300 a 1200 mV (ECS). A velocidade de varedura anódica é de 100 mV.s<sup>-1</sup> e a catódica de 500 mV.s<sup>-1</sup>, com tempo de permanência no potencial mais positivo e mais negativo de 1,3 s e 30 s, respectivamente<sup>40</sup>.

A utilização de eletrodos de platina SERS ativados também exige um tratamento especial. O tratamento proposto por Bilmes e outros<sup>41</sup> consiste em submeter o eletrodo de platina a repetidas ondas quadradas de potencial entre -0,24 e 2,2V (ECS) com largura de pulso de 0,2 a 1 ms durante aproximadamente 10 min. Em seguida o potencial é mantido constante em -0,24V até que todas as camadas de óxido de platina aquoso formadas sejam reduzidas. O eletrodo assim preparado apresenta um fator de intensificação SERS de cerca de sessenta vezes.

## Outros

Principalmente devido ao interesse analítico, buscou-se a criação de substratos que fossem estáveis, fáceis de preparar e manipular. Algumas das proposições reportadas na literatura estão relacionadas abaixo.

i) Filme sobre vidro:- Filmes de prata que apresentam atividade SERS podem ser preparados pela redução química de Ag<sup>+</sup> que se deposita sobre lâminas de vidro. Várias amostras podem ser preparadas simultaneamente e alguns métodos diferentes podem ser usados<sup>42</sup>, sendo que a espessura do filme é geralmente controlada através da concentração da solução de prata.

A Figura seguinte mostra o espectro Raman ressonante de um filme de ftalocianina de cobalto tetrasulfonada (CoPcTs) adsorvido sobre vidro e excitado em 632,8 nm (Fig. 4a). No espectro da Figura 4b, a lâmina de vidro foi previamente recoberta com um filme de prata, empregando

o procedimento descrito na referência 42b. A comparação dos espectros evidencia a expressiva melhora na relação sinal/ruído quando a superfície de Ag é empregada, apesar da excitação em 632,8 nm não favorecer a observação do efeito SERS em prata (a excitação em 514,5 nm ou 488,0 nm é mais adequada).

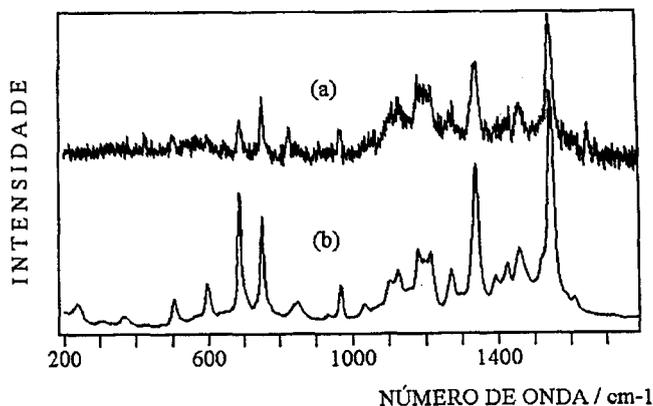


Figura 4. Espectros Raman de Ftalocianina de cobalto tetrasulfonada excitados em 632,8 nm (condição de ressonância): (a) ftalocianina adsorvida diretamente sobre vidro; (b) ftalocianina adsorvida sobre lâmina de vidro recoberta com filme de prata.

- ii) Filmes metálicos formados em interfaces líquidas (metal liquid-like films, MELLFS):- Filmes de prata podem ser preparados também nas interfaces de solventes orgânicos com soluções aquosas de íons de prata<sup>43</sup>, que posteriormente são removidos através de uma lâmina de vidro e utilizados de forma análoga ao filme sobre vidro descrito anteriormente.
- iii) Colóide de AgCl e AgBr:- Preparado pela precipitação do haleto a partir de soluções equimolares do sal de haleto e de nitrato de prata<sup>44</sup>. Esse tipo de colóide, entretanto, não produz intensificações equivalentes às observadas nos colóides do metal.
- iv) Metal finamente dividido<sup>45</sup>:- Partículas de prata de tamanho da ordem de 50 µm quando misturadas a um analito reduzem substancialmente sua fluorescência, porém, os próprios autores relutam em denominar esse efeito de SERS. Um comportamento similar foi reportado também para carbono grafítico<sup>46</sup>.
- v) Colóide sobre papel e micropartículas recobertas de prata:- As partículas de prata são depositadas sobre papel ou sobre alumina. Em termos da preparação do substrato, o reagente de Tollens pode ser empregado para papel de filtro em um procedimento que pode fornecer resultados ainda melhores se o papel for previamente impregnado com alumina<sup>47</sup>; a própria alumina pode ser usada também como suporte para as partículas metálicas<sup>48</sup>.

Outras possibilidades também têm sido exploradas, como a dopagem de filmes de acetato de celulose com partículas de prata metálica<sup>49</sup>, a incorporação de partículas de Au em silicato poroso<sup>50</sup> e em polímeros<sup>51</sup>.

## ALGUMAS APLICAÇÕES

### Sistemas biológicos

Cotton e colaboradores publicaram em 1991 uma ótima revisão sobre aplicações do efeito SERS em sistemas biológicos<sup>52</sup>. Biosistemas têm como características gerais a baixa concentração da espécie de interesse (tipicamente de 10<sup>-4</sup> mol.dm<sup>-3</sup> a 10<sup>-5</sup> mol.dm<sup>-3</sup>) e a forte emissão fluorescente. Ambos os fatores são

altamente restritivos ao uso da espectroscopia Raman, porque a pequena seção de choque da técnica exige que amostras concentradas sejam utilizadas e, pelo mesmo motivo, a intensidade da fluorescência apresentada pelas mesmas costuma suplantar em muito a intensidade do espalhamento inelástico. Assim, o uso da técnica ficou limitado aos sistemas onde esses dois fatores não interferissem como, por exemplo, na caracterização de córneas por espectroscopia Raman com excitação no visível<sup>53</sup>.

A questão da concentração pode ser contornada através do uso do efeito Raman ressonante, desde que a substância de interesse tenha uma banda de absorção intensa. Nesse caso ocorre aumento de 3 ou 4 ordens de grandeza na seção de choque para espalhamento Raman e amostras diluídas podem ser facilmente estudadas.

No que diz respeito à fluorescência, a situação é um pouco mais complexa. A emissão pode ser inerente à amostra ou decorrer da presença de pequenas quantidades de impurezas. Há uma série de procedimentos que procuram minimizar os efeitos da fluorescência e viabilizar a obtenção do espectro Raman, porém se a emissão é própria da amostra essa é uma tarefa muito difícil de ser alcançada.

A potencialidade apresentada pelo efeito SERS no estudo de sistemas de interesse biológico foi logo percebida porque, além do aumento da sensibilidade, a interação com a superfície também promove a supressão de fluorescência, mesmo no caso de substância com alto rendimento quântico, como rodamina por exemplo. A emissão de moléculas mais distantes da superfície ou em solução podem, entretanto, impedir a obtenção dos espectros Raman e tornar necessário o uso do FT-SERS.

Biosistemas começaram a ser investigados através do efeito SERS no início dos anos 80, com os trabalhos de Séquaris e Koglin<sup>54</sup>, como por exemplo a investigação da interação entre cis-Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e [Pt-(dien)Cl]Cl com DNA em eletrodo de Ag, objetivando obter informações sobre a estereoquímica da ligação desses complexos de Pt com DNA<sup>55</sup>. Os resultados obtidos mostraram que o espectro SERS de DNA com [Pt-(dien)Cl]Cl, que não possui atividade antitumoral, apresentava a banda de estiramento Pt-N, enquanto que no espectro de DNA com cis-Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, conhecida droga antitumoral, essa banda não era observada. Concluíram então que a interação com o DNA era diferente nos dois casos, sendo mais fraca para [Pt-(dien)Cl]Cl o qual, por esse motivo, estaria mais exposto e próximo à superfície do eletrodo.

A possibilidade de se investigar a interação de DNA com drogas motivou uma série de estudos sobre a interação do DNA com a superfície de prata propriamente dita<sup>56</sup>. A literatura publicada a esse respeito mostra que colóide de Ag é o tipo de superfície mais empregado, seguramente por conta da simplicidade de sua preparação e facilidade de manuseio. Os espectros obtidos são bastante dependentes das condições de amostragem, isto é, preparação e ativação ou não das superfícies. Nabiev e outros<sup>56a</sup>, por exemplo, observaram que em colóide ativado pela adição de fons cloreto apenas os modos relativos à adenina eram intensificados, enquanto que colóide não ativado originava espectro de todos os nucleotídeos.

O surgimento de uma patente sobre o sequenciamento de DNA empregando o efeito SERS<sup>57</sup> demonstra claramente a potencialidade dessa técnica em estudos nesse campo<sup>58</sup>. Atualmente, a interação de drogas com DNA tem despertado grande interesse da comunidade, o que tem originado um número apreciável de trabalhos<sup>59</sup>. Como exemplos de interações investigadas podem ser citadas aquelas envolvendo acridinas<sup>59b,c</sup>, corantes<sup>59d</sup>, enzimas<sup>59c</sup> e elipticinas<sup>60</sup>, entre outros.

Nabiev e outros<sup>61</sup> obtiveram sucesso ao estudar a interação de algumas drogas como a doxorubicina e a adriamicina com DNA dentro da célula, através da incorporação de partículas de colóide de Ag, utilizando um microscópio Raman. O trabalho de Garner e outros, entretanto, que estudaram a interação de eritrócitos intactos com colóides de Ag, Au e Bi, indica que nenhum desses

sóis é biologicamente inerte<sup>62</sup>, sugerindo que estudos que usam diretamente células devem ser analisados com cautela.

A constatação de que era também observada intensificação SERS quando a excitação era feita no infravermelho próximo (1064 nm) abriu novas possibilidades de investigação<sup>63</sup>, que apresenta como atrativos o fato de oferecer informações complementares às obtidas através do efeito SERS com excitação no visível, de eliminar a contribuição de fluorescência para o espectro oriundas das espécies em solução e de limitar as fotoreações decorrentes da excitação.

Uma questão que naturalmente se coloca é a da influência da superfície sobre a interação droga-DNA. Esse ponto foi abordado em trabalhos comparativos (SERS, FT-SERS e Raman ressonante), que mostraram que as partículas do sol de Ag não perturbam a interação<sup>64</sup>.

A preocupação com a denaturação também é uma constante quando a molécula alvo é uma proteína e bons exemplos disso são as flavo e as heme proteínas. No primeiro caso é reportada a instabilidade do composto na superfície de prata, o que é agravado pelo fato de flavina livre adsorver fortemente na superfície<sup>65</sup> interferindo com o fraco sinal SERS da flavoproteína<sup>66</sup>. A flavina livre tanto pode estar presente como impureza em produtos comerciais, quanto pode ser liberada pela enzima na interação com a superfície.

Citocromo c e mioglobina estão entre as hemoproteínas mais investigadas<sup>67</sup>. Neste caso, indicações prévias de denaturação da proteína<sup>68</sup> podem ter decorrido do uso de colóides preparados com borohidreto de sódio já que em estudo posterior, de Groot e outros<sup>69</sup> mostraram que em colóide reduzido por citrato, o espectro SERS da hemoglobina correspondia ao da forma nativa (não denaturada). Mais recentemente Maeda e outros reportaram o espectro SERS de citocromo c obtido em monocamadas automontadas de mercapto derivados sobre as partículas de Ag, com o objetivo de mimetizar biomembranas e também minimizar a possibilidade de denaturação da proteína<sup>70</sup>, já que a monocamada funciona como espaçador entre superfície de prata e a molécula SERS ativa.

O estudo de membranas e de modelos de membranas<sup>71</sup> também tem atraído a atenção dos pesquisadores, cujo principal objetivo é estender essas investigações para interações de biomoléculas com membranas<sup>72</sup>.

Neurotransmissores como dopamina<sup>73</sup> e seu complexo com ferro<sup>74</sup> também estão entre os sistemas que já foram investigados através do efeito SERS, com o objetivo analítico de determinar a presença dessas substâncias em extratos de cérebro.

As porfirinas estão entre as primeiras moléculas a serem investigadas através do efeito SERS<sup>75</sup> e ainda originam uma quantidade apreciável de trabalhos<sup>76</sup>. A extensa deslocalização dos elétrons  $\pi$  favorece a interação com a superfície metálica, proporcionando grande intensificação das bandas Raman. Infelizmente essa forte interação também é responsável pela observação de metalação da porfirina<sup>77</sup> (no caso de bases livres) ou de demetalção ou troca do metal por prata (quando se trata de metaloporfirina), como demonstra o aparecimento de bandas características do complexo de porfirina com Ag(II)<sup>78</sup> (Fig. 1b). Muitos autores discutem a metalção como sendo um evento que ocorre somente na superfície da prata com a formação de "complexos de superfície", entretanto, bandas características de Ag(II)TMPyP são observadas no sobrenadante de dispersões de Ag expostas a TMPyP e centrifugadas a 32000 rpm por 2 horas<sup>79</sup>, como mostrado na Figura 5. Para contornar esse problema, tem sido comum a utilização de surfactantes apropriados, que formam uma camada protetora sobre a superfície do metal impedindo a metalção<sup>80</sup>.

A abrangência do efeito SERS é tal que as investigações têm se estendido para sistemas menos comuns, como é por exemplo o caso do estudo da capa proteica de vírus<sup>81</sup> e já são várias as suas aplicações em medicina, conforme reportado na revisão de Nabiev e outros<sup>82</sup>.

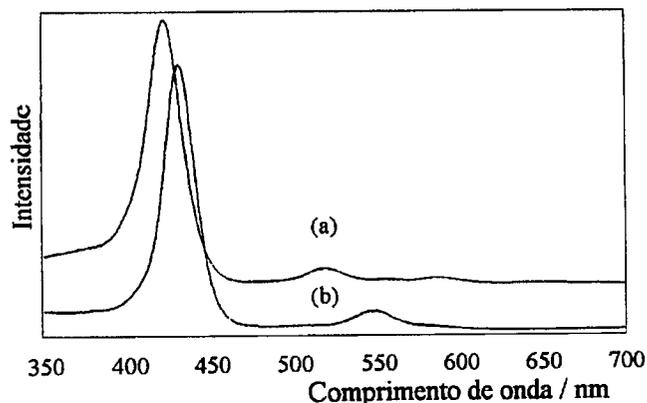


Figura 5. Espectros de absorção no visível de TMPyP: (a) solução aquosa ( $5.10^{-5}$  mol.dm<sup>-3</sup>); (b) sobrenadante obtido da centrifugação a 32000 rpm e durante 2 horas de uma dispersão de TMPyP ( $5.10^{-5}$  mol.dm<sup>-3</sup>) em colóide de Ag.

### Identificação de espécies faradáticas

A espectroscopia SERS é utilizada juntamente com técnicas eletroquímicas para identificar espécies faradáticas a nível molecular. Para esse fim são obtidos espectros SERS em potenciais na região do potencial redox da espécie e a comparação desses espectros com os espectros Raman normal ou SERS dos possíveis produtos de reação leva à identificação das espécies formadas.

A elucidação da cinética e do mecanismo de oxidação ou redução de moléculas aromáticas é um importante segmento no campo da eletroquímica orgânica. A técnica SERS permite determinar a cinética de reação na superfície, através da variação da intensidade de bandas Raman em função do tempo. Se alguma espécie intermediária com tempo de vida da ordem de 0,1 ms for formada, é possível sem grandes sofisticções experimentais detectar bandas características desse intermediário. Vários são os trabalhos na literatura com este objetivo, podendo ser citados como exemplos o acompanhamento por SERS do comportamento eletroquímico do nitrobenzeno e hidroquinona em eletrodo de Au, que indicou a formação azobenzeno e quinona respectivamente<sup>83</sup>.

A adsorção e eletroredução de cianopiridinas em eletrodo de prata foi monitorada através da técnica SERS<sup>84</sup>. Os resultados indicaram que essas espécies são adsorvidas perpendicularmente ou paralelamente à superfície do eletrodo, dependendo do potencial aplicado ao eletrodo e de sua concentração na solução. Para potenciais mais negativos (-1,1V/ECS) foram observadas bandas características do radical ânion dessas espécies no espectro SERS. Mais recentemente Shi e outros<sup>85</sup> apresentaram um estudo SERS mais completo da 4-cianopiridina, tanto para regiões de potenciais onde a espécie é eletroativa como para regiões de potenciais onde só ocorre sua adsorção. Através de experimentos SERS em função do tempo e para diferentes concentrações de 4-cianopiridina, concluíram que a cinética dessa redução é monomolecular para concentrações da ordem de  $1.10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup> desse composto, identificando como produtos de redução piridina e cianeto. Para concentrações da ordem de  $2.10^{-2}$  mol.dm<sup>-3</sup> foi observada uma banda em 1417 cm<sup>-1</sup> nos espectros SERS, característica de azo compostos, o que levou os autores a sugerir que nessas condições ocorre uma cinética bimolecular e a formação de azo-4-metilpiridina.

As condições experimentais para a formação dos diferentes dímeros na eletrooxidação da anilina em eletrodo de ouro foram investigadas utilizando a técnica SERS e voltametria cíclica<sup>86</sup>. Desses trabalhos foi possível concluir:

1 - O dímero formado pela reação de acoplamento cabeça-cauda (N-fenil-1,4-fenilendiamina) predomina tanto na solução

- como adsorvido no eletrodo, quando a concentração do monômero é alta (intervalo de concentração testada: 1,0 a  $50.10^{-3}$  mol.dm<sup>-3</sup>) e o pH da solução eletrolítica está entre 1 e 5.
- A benzidina, dímero obtido pela reação de acoplamento cauda-cauda, prevalece na superfície do eletrodo quando a oxidação eletroquímica é realizada com o eletrodo recoberto por uma monocamada do monômero em solução contendo só eletrólito suporte.
- Em solução alcalina ocorre a formação de hidrazobenzeno (acoplamento cabeça-cabeça) como produto principal.

A espectroscopia SERS, não é somente usada na determinação de produtos e cinética de reações faradáticas em sistemas orgânicos, ela também tem sido bastante empregada com essa finalidade em sistemas inorgânicos tais como complexos metálicos. Bertolino e outros<sup>87</sup> determinaram através da técnica SERS o potencial redox do par Co(II)(sep)/Co(III)(sep) onde sep = 1,3,6,8,10,13,16,19-octaazabicyclo[6.6.6]icicosano. Utilizando diferentes ânions e cátions eletrolíticos, verificou-se o papel dessas espécies no processo de adsorção do Co(III)sep, evidenciando-se que essa espécie adsorve no eletrodo via formação de par iônico com os ânions especificamente adsorvidos.

Na Figura 6 são mostrados os perfis SERS (intensidade da banda em função do potencial aplicado) para o modo vibracional de estiramento simétrico C-H de grupos CH<sub>2</sub> da espécie Co(II)sep, para várias radiações excitantes. O deslocamento do potencial de máxima intensidade SERS ( $V_{MÁX}$ ) para valores mais negativos quando se aumenta a energia da radiação excitante indica, segundo os autores, a ocorrência de um processo de transferência de carga adsorbato → metal. Verificou-se, ainda, a existência de uma relação linear entre  $V_{MÁX}$  e a frequência da radiação excitante, assim, para uma determinada radiação, conhecendo-se o  $V_{MÁX}$  de uma série de moléculas cujos pK<sub>a</sub> sejam conhecidos, foi possível estimar o pK<sub>a</sub> da espécie Co(II)sep.

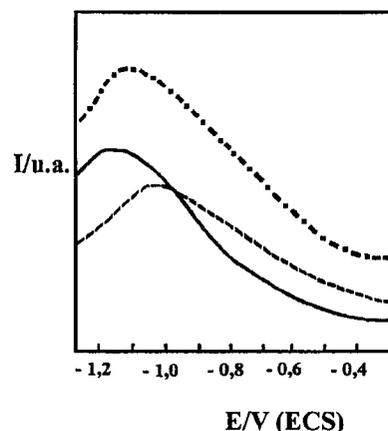


Figura 6. Perfis SERS para o modo de estiramento C-H dos grupos metilênicos da espécie Co(II)sep obtidos usando três diferentes radiações de excitação: (—) 457,9 nm; (-♦-) 488,0 nm; (---) 514,5 nm.

Um outro exemplo é o monitoramento do comportamento eletroquímico de  $[Fe(CN)_5L]^{2+/3+}$  (L= picolilamina) em eletrodo de prata, em solução aquosa, contendo 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> de sulfato de sódio<sup>88</sup>. Através da variação da frequência de estiramento CN com o potencial foi possível determinar o potencial redox do complexo. Para se determinar a geometria de adsorção foram obtidos os espectros SERS da picolilamina em diferentes valores de pH. Comparando esses espectros com os do  $[Fe(CN)_5L]^{2+/3+}$  foi possível concluir que no complexo pentacianoferrato a picolilamina não interage com o eletrodo e sim o grupo CN.

O estudo SERS e FT-SERS de complexos binucleares de pentacianoferrato,  $[Fe_2(CN)_{10}L]^{n-}$  contendo 4,4'-bipiridina e

pirazina como ligantes ponte foram realizados por Rubim e outros<sup>89</sup>. O deslocamento da frequência CN para menores valores e a observação da banda metal-N indicaram que a adsorção desses complexos na superfície do eletrodo ocorre através do par de elétrons do átomo de nitrogênio do grupo CN. A não observação das bandas do ligante pirazina no espectro SERS do complexo indicou que esse ligante não interage com o metal, por outro lado, a observação das bandas da 4,4'-bipiridina indica interação com o metal e implica que os dois anéis da piridina nesse ligante estão torcidos. Pelo comportamento do potencial de máxima intensidade SERS para várias bandas Raman dos complexos foi possível, usando o modelo molecular, atribuir três processos de transferência de carga nesses complexos. Utilizando as equações que relacionam a frequência da radiação excitante com o potencial de máxima intensidade foi possível posicionar os níveis eletrônicos dos complexos em relação ao nível de Fermi do metal.

### Cinética e mecanismo de reação

Ultimamente nota-se uma crescente e justificada preocupação por parte dos eletroquímicos no sentido de se obter informações cinéticas e mecanísticas dos processos de interface, inclusive identificando as espécies intermediárias presentes e, para tanto, o emprego e o interesse por técnicas espectroscópicas resolvidas no tempo tem aumentado bastante. A espectroscopia Raman com resolução temporal associada ao efeito SERS, ao efeito Raman ressonante ou simultaneamente aos dois efeitos (SERRS) tem dado significativa contribuição à investigação da cinética e dos mecanismos de processos de eletrodo. A dessorção da piridina e de cloreto induzida por aquecimento devido à incidência de laser sobre eletrodo de prata foi estudada por Sobocinski e Pemberton<sup>90</sup>. A temperatura na superfície foi determinada através da relação das intensidades Stokes/anti-Stokes de bandas Raman e o monitoramento da intensidade em intervalos de 5 min por um período de 90 min indicou uma cinética de dessorção de primeira ordem. Verificou-se ainda que a energia de ativação do processo dependia do tipo de centro SERS ativo. Para piridina obteve-se o valor de 12,0 e 28,0 kcal.mol<sup>-1</sup> para dois diferentes centros ativos.

Usando medidas SERS resolvidas no tempo foi possível caracterizar o intermediário da eletroredução de p-nitrobenzoato em eletrodo de prata<sup>91</sup>, como sendo o ânion radical de p-nitrosobenzoato com tempo de vida da ordem de 70 ms. Para esse sistema foram identificados como produtos de redução p-nitrosobenzoato, p-hidroxiaminobenzoato e um azoxi composto. Esse grupo de pesquisadores utilizando voltametria cíclica, espectroscopia SERS resolvida no tempo e simulação digital propôs um mecanismo ECEC (etapas eletroquímica e química sucessivas)<sup>92</sup> para a eletroredução do ácido p-nitrobenzóico em eletrodo de prata.

Misono e outros<sup>93</sup>, através da espectroscopia SERRS resolvida no tempo, acompanharam a formação do monocatión radical do heptaviologênio na superfície de um eletrodo de prata após salto de potencial de -0,2 a -0,6V (vs. Ag/AgCl). A intensidade da banda em 1530 cm<sup>-1</sup> atribuída ao monocatión radical é função linear com  $t^{3/2}$  no intervalo de tempo de 0 a 4 ms e função linear em  $t^{1/2}$  no intervalo de tempo de 4 a 30 ms. A dependência com  $t^{3/2}$  indica um mecanismo de nucleação instantânea e subsequente crescimento em três dimensões, enquanto a dependência com  $t^{1/2}$  indica crescimento do filme em uma dimensão controlado por difusão. Em trabalho posterior, Misono e outros<sup>94</sup> elucidaram o mecanismo de redução do filme de monocatión radical do heptaviologênio adsorvido em prata através de espectros SERS com resolução de 4 ms após a variação de potencial.

### Caracterização de filmes passivantes

Como cobre é um dos metais que apresentam maior efeito SERS, a caracterização de filmes passivantes em eletrodo de cobre é um dos temas mais estudados no campo. Benzotriazol é

um dos melhores inibidores de corrosão para cobre e Rubim e outros<sup>95,96</sup> utilizando esse efeito identificaram o filme passivante formado. O comportamento eletroquímico de cobre e de ligas de cobre em diferentes meios, monitorado por medidas eletroquímicas e espectroscópicas, possibilitou a identificação dos produtos formados e a determinação do mecanismo de corrosão<sup>97,98</sup>.

Filmes passivantes sobre cobre, utilizando outros inibidores, foram também caracterizados. O efeito SERS e as propriedades inibidoras da hexametilenoetraamina em eletrodo de cobre foram investigadas em meio de brometo, mostrando que o filme passivante é um complexo misto contendo cobre(I) brometo e hexametilenoetraamina<sup>99,100</sup>. Fleischmann e outros investigaram a formação de filmes passivantes de benzimidazol, 1-hidroxi-benzotriazol e outros, procurando identificar a natureza do filme passivante através da comparação dos espectros SERS e Raman normal dos possíveis produtos de corrosão<sup>101</sup>.

Musiani e outros<sup>102</sup> caracterizaram filmes passivantes de 2-mercapto-benzotriazol e 2-mercapto-benzooxazol em eletrodo de cobre em solução aquosa. O comportamento eletroquímico em meio etanólico de 2-mercapto-benzotriazol como inibidor para cobre foi monitorado por técnicas eletroquímicas e por SERS<sup>103</sup>. Esta última técnica mostrou que o filme passivante consiste em uma mistura do inibidor, de seus produtos de oxidação e dos complexos dessas espécies com o íon cobre (II).

Metais como o ferro são substratos SERS muito fracos. Este problema foi contornado depositando-se um filme de prata antes ou depois da passivação da superfície de ferro<sup>104</sup>. Utilizando esse método, Rubim e outros caracterizaram os filmes passivantes formados sobre eletrodos de ferro em diferentes eletrólitos<sup>105,106</sup>.

### Caracterização de eletrodos modificados

Através do efeito SERS empregado conjuntamente com métodos eletroquímicos, pode-se ter uma visão mais completa (a nível molecular) dos fenômenos que ocorrem na interface metal-solução. A síntese e a aplicação de microestruturas químicas sobre eletrodos, formando os eletrodos modificados, é uma das áreas mais importantes da eletroquímica. Dependendo da espécie química imobilizada na superfície, o eletrodo resultante apresentará propriedades específicas para cada interesse. Neste campo, sem dúvida, a espectroscopia SERS trouxe contribuições significativas, como demonstram os seguintes exemplos.

Cotton e outros<sup>107</sup>, utilizando SERS para estudar o sistema citocromo c em eletrodo de prata modificado por 4,4'-bipiridina, concluíram que o complexo formado (prata/modificador) é o responsável pela resposta eletroquimicamente reversível do citocromo c. Utilizando os efeitos Raman ressonante e SERS, Hobara e outros<sup>108</sup> caracterizaram as estruturas e estados de oxidação do citocromo c adsorvido em diferentes substratos. Foi verificado que o tempo de preparo do eletrodo modificado é um fator importante para que certos modificadores promovam a eletroquímica reversível do citocromo c<sup>109</sup>.

Taniguchi e outros estudaram a resposta eletroquímica do citocromo c em eletrodos de ouro modificados por bis(4-piridil)dissulfeto e 4-mercaptopiridina. Verificaram que esses modificadores eram excelentes promotores da resposta faradáica do citocromo c quando comparados com o modificador 4,4'-bipiridina e que durante a adsorção de bis(4-piridil) dissulfeto ocorria quebra da ligação S-S<sup>110</sup>.

As tiocemicarbazonas dos n-piridinacarbaldéidos (PATSn com n=2 e 4) quando adsorvidas em eletrodos de prata ou ouro também promovem a resposta reversível do citocromo c. Esses eletrodos modificados foram caracterizados por SERS chegando-se a determinar os centros de adsorção dos modificadores e a influência dos ânions eletrolíticos no comportamento SERS dos modificadores<sup>111</sup>. Como as bandas que aumentaram de intensidade no espectro SERS do modificador foram aquelas relacionadas com modos vibracionais do grupo -C(H)=N-N(H)-C(S)-NH<sub>2</sub> concluiu-se que a interação com a superfície é via

átomo de S e N imínico. Esses modificadores apresentam isomeria E-Z (Fig. 7) e, através da comparação entre os espectros Raman normal desses isômeros em solução e o espectro SERS do eletrodo modificado (Fig. 8), foi possível concluir que a conformação na superfície é E<sup>112</sup>.

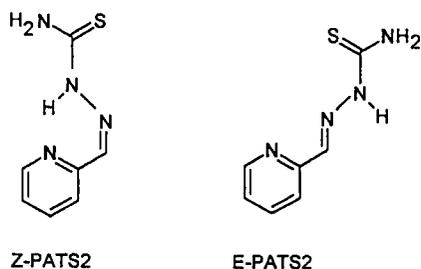


Figura 7. Fórmulas estruturais planas para os isômeros Z-PATS2 e E-PATS2.

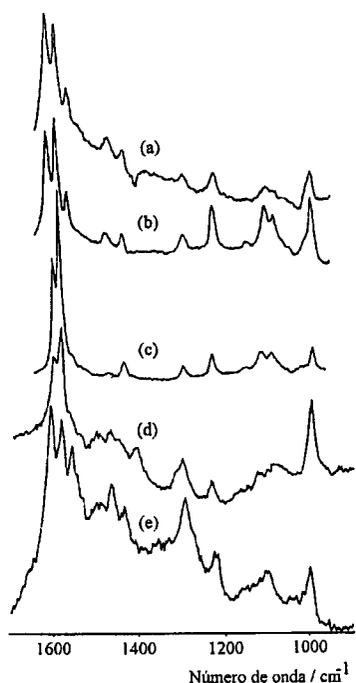


Figura 8. Espectros Raman excitados em 514,5 nm de E-PATS2 em: (a) água + 5% DMSO; (b) 25% água + 75% DMSO; (c) DMSO; (d) eletrodo de Ag (-0,2 V) em DMSO (0,1 mol.dm<sup>-3</sup> de (CH<sub>3</sub>)<sub>4</sub>NCl e 5.10<sup>-2</sup> mol.dm<sup>-3</sup> de E-PATS2); (e) eletrodo de Ag (-0,2 V) em água (0,1 mol.dm<sup>-3</sup> de KCl e 5.10<sup>-3</sup> mol.dm<sup>-3</sup> de E-PATS2).

Ânions perclorato e iodeto que podem interagir fortemente com esse modificador ou com a superfície, ocasionam mudanças nas intensidades relativas das bandas Raman, como mostra a Figura 9.

Através de medidas eletroquímicas e caracterização SERS, a resposta eletroquímica e a estrutura dos eletrodos de ouro modificados por azul da Prússia e ligantes nitrogenados foram determinados por Matsumoto e outros<sup>113</sup>.

#### Caracterização de moléculas adsorvidas

SERS é uma poderosa técnica para caracterização de espécies adsorvidas em superfícies metálicas. A intensificação SERS (10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> maior que o espalhamento Raman normal) torna esta técnica sensível a nível de sub-monocamadas, por este motivo é possível obter informações estruturais de espécies adsorvidas.

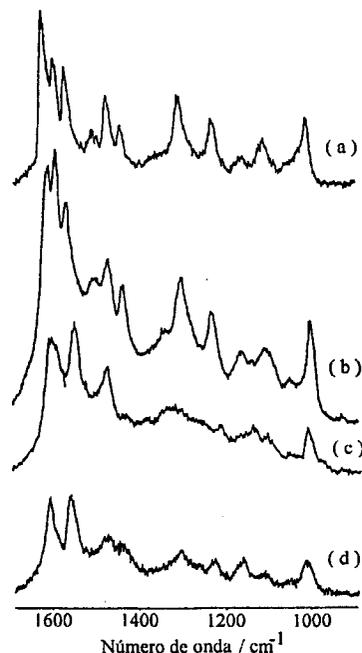


Figura 9. Espectros SERS de PATS2 em eletrodo de prata e em pH 6,0. Todos os espectros foram obtidos em -0,4 V, exceto o mostrado em (c). Os eletrólitos empregados foram: (a) KBr 0,1 mol.dm<sup>-3</sup>; (b) NaClO<sub>4</sub> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup>; (c) NaClO<sub>4</sub> 0,1 mol.dm<sup>-3</sup> mas obtido em potencial de 0,4 V; (d) KI 0,1 mol.dm<sup>-3</sup>.

Piridina e seus derivados constituem um dos grupos mais estudados. Jeanmaire e Van Duyne<sup>4</sup> e Pettinger e Wetzel<sup>114</sup> verificaram a influência do potencial e da natureza do ânion eletrolítico nas intensidades relativas das bandas Raman da piridina. Temperini e outros<sup>115</sup> obtiveram o perfil SERS (intensidade vs potencial aplicado) das bandas da piridina em eletrodo de cobre. Os resultados indicaram que a banda em 1214 cm<sup>-1</sup> é o modo vibracional que apresenta maior dependência com o potencial, embora não seja o que apresenta maior fator de intensificação. A competição pela superfície das espécies piridina e íon piridínico foi estudada por Kobayashi e Imai<sup>116</sup>, verificando que a adsorção da piridina ocorria predominantemente em potenciais mais negativos. A origem da banda em 1025 cm<sup>-1</sup> observada no espectro SERS da piridina em eletrodo de prata, em diferentes soluções eletrolíticas e diferentes valores de pH, foi estudada por vários grupos<sup>117</sup>. Mais recentemente, Saito<sup>118</sup> verificou que essa banda aparece quando ocorre diluição da solução eletrolítica neutra e atribuiu sua origem à formação de um complexo de prata-piridina-haleta, gerado durante os ciclos de ativação do eletrodo de prata.

A dependência da intensidade das bandas Raman da 4-metilpiridina adsorvida em prata com a radiação excitante e com o potencial do eletrodo foi estudada por Temperini e outros<sup>119</sup>. Os autores enfatizaram a dependência nos perfis SERS com os modos vibracionais e idealizaram uma nova representação da intensificação SERS que realça a modulação do modo vibracional no efeito SERS.

O efeito SERS do ácido isonicotínico adsorvido em eletrodo de cobre, em solução aquosa e diferentes valores de pH foi estudado por Noda e Sala<sup>120</sup>. Esse ácido tem pK<sub>1</sub>=1,75 e pK<sub>2</sub>=4,9 correspondendo à dissociação do grupo carboxílico e do nitrogênio piridínico protonado, respectivamente e nesse trabalho estudou-se a competição pela superfície entre as três diferentes espécies na solução eletrolítica (Fig. 10). Um fato surpreendente é que os espectros feitos em -0,6V (ECS), em meio KCl (pH 3,8), em meio HClO<sub>4</sub> (pH 1,2) e em meio KCl + KOH (pH 8,0) são idênticos e podem ser atribuídos à espécie não protonada (espécie C, Fig. 10).

	$pK_1 = 1,75$	$pK_2 = 4,9$	
	(A)	(B)	(C)
pH	< 1	3,7	11
$\nu_{CO}$	1730 $cm^{-1}$	-	-
8a	1645 $cm^{-1}$	1645 $cm^{-1}$	1610 $cm^{-1}$
$\nu_{COO^-}$	-	1385 $cm^{-1}$	1395 $cm^{-1}$

Figura 10. Fórmulas estruturais de diferentes espécies do ácido isonicotínico e suas respectivas frequências características.

As Figuras 11 e 12 mostram os espectros SERS do ácido isonicotínico em função do pH, potencial aplicado ao eletrodo e contra-íon (cloreto e sulfato). Na Figura 11a os espectros obtidos correspondem à espécie C, apesar do baixo valor de pH. Na presença de íons cloreto, entretanto, observa-se a banda característica da espécie totalmente protonada (espécie A, 1645  $cm^{-1}$ ) em potenciais menos negativos, onde há cloreto adsorvido na superfície do eletrodo; em potenciais mais negativos, onde ocorre a desorção de cloreto, é observada somente a banda característica da espécie C. Esse comportamento indica que a adsorção da espécie protonada ocorre através da formação de par iônico com o íon  $Cl^-$ . A comparação entre as Figuras 11a e 12a reforça essa suposição, isto é, a espécie predominante é a C (Fig. 11a) quando o ânion não é adsorvido no eletrodo. A influência do pH é mostrada na Fig. 12 onde, em potenciais menos negativos, ocorre predominância da espécie C em pH 3,8 (Fig. 12b, 1610  $cm^{-1}$ ) e da espécie A em pH 1,2 (Fig. 12a, 1645  $cm^{-1}$ ).

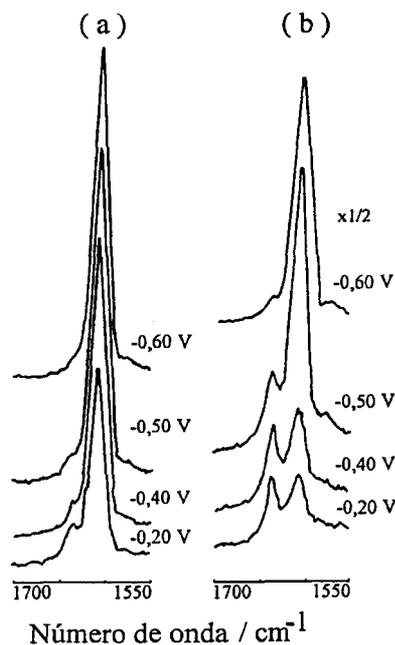


Figura 11. Espectros SERS do ácido isonicotínico ( $5 \cdot 10^{-3} mol \cdot dm^{-3}$ ) em função do contra-íon, para diferentes potenciais aplicados. (a)  $H_2SO_4$  (pH 1,3); (b)  $H_2SO_4 + KCl$  (pH 1,1 e concentração  $1,4 \cdot 10^{-2} mol \cdot dm^{-3}$  em cloreto).

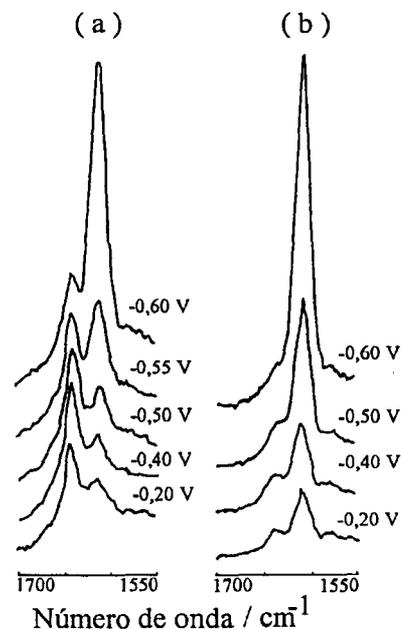


Figura 12. Espectros SERS do ácido isonicotínico em função do pH para diferentes potenciais aplicados. (a) HCl (pH 1,2); (b) KCl (pH 3,8).

Mais recentemente Park e outros<sup>121</sup> estudaram a adsorção dos ácidos picolínico e isonicotínico em colóides de prata em diferentes valores de pH. Concluíram que esses isômeros existem como ânions na superfície, no caso de soluções coloidais alcalinas e medianamente ácidas, tendo nesses casos adsorção paralela à superfície. Para soluções fortemente ácidas, o nitrogênio está protonado e a adsorção é via par de elétrons do oxigênio.

São vários os estudos da adsorção de pirazina em superfícies metálicas usando a técnica SERS<sup>122</sup>, onde são utilizadas regras de seleção para este efeito. Brolo e Irish<sup>123</sup> apresentaram um estudo sistemático da dependência da intensidade das bandas de pirazina com o potencial aplicado, radiação excitante e concentração de pirazina em solução, mostrando, ainda, que várias bandas observadas em potenciais mais negativos que -0,9 (vs. ESC) são devidas a um produto de redução.

A caracterização da tiouréia em eletrodo de prata<sup>124</sup> e em eletrodo de cobre<sup>125</sup> através da técnica SERS revelou que a espécie adsorve na superfície através do átomo de enxofre. Em meio ácido somente as bandas da tiouréia neutra são observadas nos espectros SERS, indicando a predominância dessa espécie no eletrodo. Utilizando a técnica SERS e voltametria cíclica Bukowska e Jackowska<sup>126</sup> verificaram a ação inibidora da tiouréia na reação de formação de hidrogênio em meio ácido, enquanto que em meio neutro a tiouréia catalisa essa reação; tal comportamento é explicado a nível molecular através dos dados espectroscópicos.

A adsorção e decomposição do cátion tetrametilamônio em eletrodo de prata em solução eletrolítica contendo haletos foi monitorada por SERS<sup>127</sup>. Em potenciais onde ocorre adsorção de iodeto ou brometo na superfície do eletrodo, o cátion tetrametilamônio adsorve através de interação eletrostática com esses haletos; em potenciais onde ocorre desorção desses íons foi observada a formação de trimetilamina na superfície.

#### Sers em solvente não aquoso

Solventes não aquosos são muito usados nos estudos eletroquímicos e a utilização do efeito SERS para auxiliar na interpretação desses resultados é extremamente importante. Um dos primeiros trabalhos SERS usando solvente não aquoso foi realizado por Hutchinson e outros<sup>128</sup> e o sistema estudado foi piridina adsorvida em eletrodo de prata usando dimetilformamida como

solvente e perclorato de tetrabutylamônio como eletrólito de suporte. Os resultados mostraram a possibilidade de utilizar a técnica SERS em solventes não aquosos. A similaridade nos valores de frequência das bandas da piridina adsorvida em prata em solução de dimetilformamida e em solução aquosa indicaram que a espécie adsorvida não é sensível à natureza do solvente. A diferença observada em relação aos resultados SERS da piridina em água foi a variação das intensidades relativas das bandas com o potencial, atribuída pelos autores à mudanças na morfologia da superfície nesses dois meios ocorridas durante o processo de anodização do eletrodo para ativação da superfície.

Os resultados SERS do sistema prata/acetona/nitrila/KSCN mostraram intensificação apenas da banda que corresponde ao estiramento simétrico CN (cerca de  $2100\text{ cm}^{-1}$ ) e não foram observadas as bandas devidas ao estiramento CS ( $735\text{ cm}^{-1}$ ) e à deformação NCS ( $465\text{ cm}^{-1}$ ). Embora a intensificação SERS tenha ocorrido somente para o modo de estiramento CN, os autores consideraram que a adsorção do  $\text{SCN}^{-1}$  na superfície da prata ocorre através do átomo de S levando em consideração o maior valor da frequência de estiramento CN do  $\text{SCN}^{-1}$  adsorvido em relação ao seu valor em solução ( $2058\text{ cm}^{-1}$ )<sup>129</sup>. Em solução aquosa foi possível observar as três bandas<sup>130</sup>.

## 8. Perfil de excitação SERS

Inúmeros resultados experimentais SERS mostram a dependência da intensidade das bandas Raman com o potencial aplicado (perfil de excitação SERS) e que o potencial de máxima intensidade SERS ( $V_{\text{MÁX}}$ ) depende da radiação excitante. Esses resultados só podem ser explicados através do mecanismo de transferência de carga. A condição de ressonância será aquela onde a energia da radiação excitante é igual à diferença de energia entre a energia do nível de Fermi do metal e o LUMO do adsorbato (no caso de transferência de elétrons metal  $\rightarrow$  adsorbato) ou igual à diferença de energia entre a energia do nível de Fermi do metal e o HOMO do adsorbato, no caso de transferência de elétrons adsorbato  $\rightarrow$  metal. Para uma determinada radiação excitante a condição de ressonância é obtida pela variação do potencial e, para um mesmo potencial, a intensidade da banda será máxima para a radiação excitante que satisfizer a condição de ressonância.

Lombardi e col<sup>131</sup>, estudando os espectros SERS de uma série de bases nitrogenadas, saturadas e não saturadas, discutem a variação no valor  $V_{\text{MÁX}}$  para essas bases considerando a mudança nas condições de ressonância dos processos de transferência de carga. Nesse trabalho é enfatizado que a direção da transferência de carga pode ser determinada examinando-se o comportamento do potencial de máxima intensidade com a radiação excitante. Bertolino e outros<sup>87</sup> obtiveram o perfil de excitação SERS da hexametilenotetraamina adsorvida em eletrodo de prata para diferentes radiações excitantes e concluíram pela existência de processo de transferência de carga molécula adsorvida  $\rightarrow$  metal. Verificaram, também, que existia uma correlação linear entre  $V_{\text{MÁX}}$  e a energia da radiação excitante, como observado no caso do  $\text{Co(II)sep}$  (Fig. 6).

Uma contribuição significativa no sentido de permitir a utilização da espectroscopia SERS como uma ferramenta de investigação dos estados eletrônicos das moléculas, foi a introdução por Rubim e outros<sup>132</sup> de um modelo de transferência de carga que explica a correlação linear entre  $V_{\text{MÁX}}$  e a energia da radiação excitante, e sua dependência com a natureza química da superfície e do adsorbato. Através do formalismo dependente do tempo para o espalhamento Raman obtiveram uma expressão analítica para o perfil de excitação SERS; esse perfil teórico foi comparado com o perfil experimental para os sistemas piridina/prata e  $[\text{Fe}_2(\text{CN})_{10}\text{bipy}]^{6-}/\text{prata}$  apresentando excelente concordância. Através dessa expressão foi possível construir diagramas de energia para complexos adsorvidos em eletrodo de prata<sup>133</sup>. Os orbitais LUMO de dois ligantes diferentes num complexo

inorgânico foram determinados a partir da concordância entre os perfis experimental e teórico de excitação SERS<sup>134</sup>.

Este texto procurou apresentar os aspectos fundamentais da intensificação do espalhamento inelástico de luz causado por superfícies, ressaltando sua extensa gama de aplicações. Muito do que foi feito nos últimos anos está voltado ao emprego da técnica com finalidade analítica, através da preparação de substratos cada vez mais adequados em termos de manipulação, estabilidade e sensibilidade. Esse comportamento indica essa tendência deve se acentuar no próximos anos, com a consolidação de métodos de detecção baseados no espalhamento de luz.

Os leitores interessados encontrarão nas referências mencionadas as informações necessárias para um maior aprofundamento nos tópicos abordados ou mesmo conexões para outros pontos que não puderam ser considerados neste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPESP e ao CNPq pelos auxílios financeiros e a Alexandre Neves e Pedro Flynn pela preparação das superfícies SERS ativas empregadas nas Figuras 3,4 e 5.

## REFERÊNCIAS

1. Faria, D. L. A.; Gonçalves, N. S.; Santos, L. G. C.; *Quím. Nova* **1997**, *20*, 319.
2. Fleischmann, M.; Hendra, P. J.; McQuillan, A. J.; *Chem. Phys. Lett.* **1974**, *26*, 163.
3. Nestor, J. R.; Lippincott, E. R.; *J. Raman Spectrosc.* **1973**, *1*, 305.
4. Jeanmarie, D. L.; Van Duyne, R. P.; *J. Electroanal. Chem.* **1977**, *84*, 1.
5. Albrecht, M. G.; Creighton, J. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5215.
6. Creighton, J. A.; Albrecht, M. G.; Hester, R. E.; Matthew, J. A. D.; *Chem. Phys. Lett.* **1978**, *55*, 55.
7. Seki, H.; Philpott, M. R.; *J. Chem. Phys.* **1980**, *73*, 5376.
8. Otto, A.; *Surf. Sci.* **1978**, *75*, L392.
9. Smardzewski, R. R.; Cotton, R. J.; Murday, J. S.; *Chem. Phys. Lett.* **1979**, *68*, 53.
10. Tsang, J. C.; Kirtley, J. R.; Bradley, J. A.; *Phys. Rev. Lett.* **1980**, *70*, 49.
11. Faria, D. L. A.; em preparação.
12. Nabiev, I. R.; Chumanov, G. D.; Efremov, R. G.; *J. Raman Spectrosc.* **1990**, *21*, 49.
13. Hildebrandt, P.; Stockburger, M.; *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 5935.
14. Otto, A.; Mrozek, I.; Grabhorn, H.; Akermann, W.; *J. Phys.: Cond. Matter.* **1992**, *4*, 1143.
15. Moskovits, M.; *Rev. Mod. Phys.* **1985**, *57*, 783.
16. Otto, A.; *J. Raman Spectrosc.* **1991**, *22*, 743.
17. Brolo, A. G.; Irish, D. E.; Lipkowski, J.; *J. Phys. Chem. B* **1997**, *101*, 3906.
18. Kambhampati, P.; Child, C. M.; Campion, A.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **1996**, *92*, 4775.
19. Feilchenfeld, H.; Silman, O.; *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 4590.
20. Zeeman, E. J.; Carron, K. T.; Schatz, G. C.; Duyne, R. P. Van; *J. Chem. Phys.* **1987**, *87*, 4189.
21. (a) Stockman, M.I.; Shalaev, V. M.; Moskovits, M.; Botet, R.; George, T. F.; *Phys. Rev. B* **1992**, *46*, 2821; (b) Markel, V. A.; Muratov, L. S.; Stockman, M.I.; George, T. F.; *ibid* **1991**, *43*, 8183; (c) Stockman, M. I.; George, T. F.; Shalaev, V. M.; *ibid*, **1991**, *44*, 115.
22. Douketis, C.; Wang, Z. T.; Haslett, L.; Moskovits, M.; *Phys. Rev. B* **1995**, *51*, 11022.
23. (a) Chase, D. B.; Parkinson, B. A.; *Appl. Spectrosc.* **1988**, *42*, 1186; (b) Fleischmann, M.; Sockalingum, D.; *Spectrochim. Acta, Part A* **1990**, *46*, 285.

24. Yoo, H.-S.; Lee, N.-S.; Hanazaki, I.; *J. Raman Spectrosc.* **1992**, *23*, 239.
25. Terhune, R. W.; Maker, P. D.; Savage, C. M.; *Phys. Rev. Lett.* **1965**, *14*, 681.
26. Golab, J. T.; Sprague, J. R.; Carron, K. T.; Schatz, G. C.; Duyne, R. P. Van; *J. Chem. Phys.* **1988**, *88*, 7942.
27. (a) Baranov, A. V.; Bobovich, Ya. S.; Denirov, V. N.; Petrov, V. I.; Podobedov, V. B.; *Opt. Spectrosc. (USSR)* **1984**, *56*, 355; (b) Baranov, A. V.; Bobovich, Ya. S.; Vasilenko, N. P.; *ibid* **1986**, *61*, 491.
28. Kerker, M.; *J. Colloid. Interface Sci.* **1985**, *105*, 297.
29. Chang, R. K.; Furtak, T. E.; *Surface Enhanced Raman Scattering*; Plenum: N. York 1982.
30. Creighton, J. A.; Blatchford, C. G.; Albrecht, M. G.; *J. Chem. Soc., Faraday Trans. II* **1979**, *75*, 790.
31. Lee, P. C.; Meisel, D.; *J. Phys. Chem.* **1982**, *86*, 3391.
32. Sanchez-Cortéz, S.; Garcia-Ramos, J. V.; Morcillo, G.; *J. Coll. Interface Sci.* **1994**, *167*, 428.
33. Prochazka, M.; Stepanek, J.; Vlckova, B.; Maly, P.; *J. Mol. Struct.* **1997**, *410*, 213.
34. Turkevich, J.; Gorton, G.; Stevenson, P. C.; *J. Colloid. Sci. Suppl.* **1954**, *1*, 26.
35. Wilenzick, R. M.; Russell, D. C.; Morris, R. H.; Marshall, S. W.; *J. Chem. Phys.* **1967**, *47*, 533.
36. Moskovits, M.; DiLella, D. P.; *J. Chem. Phys.* **1982**, *73*, 4408.
37. Saito, H.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1993**, *66*, 963.
38. Markwort, L.; Hendra, P. J.; *Spectrochim. Acta* **1993**, *49*, 837.
39. Chen, T. T.; Von Raben, K. U.; Owen, J. F.; Chang, R. K.; Laube, B. L.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *91*, 494.
40. Gao, P.; Patterson, M. L.; Taddayyoni, M. A.; Weaver, M. J.; *Lagmuir* **1985**, *1*, 173.
41. Bilmes, S. A.; Rubim, J. C.; Otto, A.; Arvia, A. J.; *Chem. Phys. Lett.* **1989**, *159*, 89.
42. (a) Li, Y. S.; Wang Y.; *Appl. Spectrosc.* **1992**, *46*, 142; (b) Ni, F.; Cotton, T.M.; *Anal. Chem.* **1986**, *58*, 3159.
43. (a) Yogev, D.; Efrima, S.; *Langmuir* **1991**, *7*, 267; (b) Gordon, K. C.; McGarvey, J. J.; Taylor, K. P.; *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 6814.
44. Mou, C.; Chen, D.; Wang, X.; Zhang, B.; He, T.; Xin, H.; Liu, F.-C.; *Spectrochim. Acta* **1991**, *47A*, 1575.
45. (a) Nimmo, J. A.; Brown, D. H.; Smith, W. E.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *92*, 212; (b) Nimmo, J. A.; Bovill, A. J.; McConnell, A. A.; Smith, W. E.; *J. Raman Spectrosc.* **1985**, *16*, 245; (c) Bartholomew, C. R.; McConnell, A. A.; Smith, W. E.; *J. Raman Spectrosc.* **1987**, *18*, 277.
46. Kagan, M. R.; McCreery, R. L.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4159.
47. Lee, A. S. L.; Li, Y. S.; *J. Raman Spectrosc.* **1994**, *25*, 209.
48. (a) Bello, J. M.; Narayanan, V. A.; Vo-Dinh, T.; *Spectrochim. Acta* **1992**, *48A*, 563; (b) Vo-Dinh, T.; Bello, J. M.; Stokes, D. L.; *Appl. Spectrosc.* **1989**, *43*, 1325.
49. Imai, Y.; Kurokawa, Y.; Hara, M.; Fukushima, M.; *Spectrochim. Acta* **1997**, *53A*, 1697.
50. Akbarian, F.; Dunn, B. S.; Zink, J. I.; *J. Raman Spectrosc.* **1996**, *27*, 775.
51. Pal, A.; Stokes, D. L.; Alarie, J. P.; Vo-Dinh, T.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 3154.
52. Cotton, T. M.; Kim, J. H.; Chumanov, G. D.; *J. Raman Spectrosc.* **1991**, *22*, 729.
53. Goheen, S.C.; Lis, L.J.; Kauffman, J.W.; *Biochem. Biophys. Acta* **1978**, *536*, 197.
54. Koglin, E.; Séquaris, J.-M.; *Top. Curr. Chem.* **1986**, *134*, 1.
55. Séquaris, J. -M.; Koglin, E.; Malfoy, B.; *FEBS Lett.* **1984**, *173*, 95.
56. (a) Nabiev, I. R.; Sokolov, K. V.; Voloshin, O. N.; *J. Raman Spectrosc.* **1990**, *21*, 333; (b) Kneipp, K.; Flemming, J.; *J. Mol. Struct.* **1986**, *145*, 173.
57. Vo-Dinh, T.; US 5306403A 940426, US 92-933376 920824.
58. Vo-Dinh, T.; Houck, K.; Stokes, D. L.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 3379.
59. (a) Helmenstine, A.; Uziel, M.; Vo-Dinh, T.; *J. Toxicol. Environ. Health* **1993**, *40*, 195; (b) Chourpa, I.; Manfait, M.; *J. Raman Spectrosc.* **1995**, *26*, 813; (c) Thomas, F. B.; Cooney, R.; Dennis, W. A.; *J. Raman Spectrosc.* **1992**, *23*, 341; (d) Zimmerman, F.; Hossenfelder, B.; Panitz, J.-C.; Wokaun, A.; *J. Phys. Chem.* **1994**, *98*, 12796; (e) Nabiev, I.; Chourpa, I.; Riou, J.-F.; Nguyen, C. H.; Lavelle, F.; Manfait, M.; *Biochem.* **1994**, *33*, 9013.
60. (a) Aubard, J.; Schawaller, M. A.; Pantigny, J.; Marsault, J. P.; Lèvi G.; *J. Raman Spectrosc.* **1992**, *23*, 373; (b) Bernard, S.; Schwaller, M. A.; Levi, G.; Aubard, J.; *Biospectrosc.* **1996**, *2*, 377.
61. Nabiev, I. R.; Morjani, H.; Manfait, M.; *Eur. Biophys. J.* **1991**, *19*, 316.
62. Garner, M.; Reglinski, J.; Smith, W. E.; Stewart, M. J.; *J. Inorg. Biochem.* **1994**, *56*, 283.
63. (a) Fang, Y.; Wei, Y.; Bai, C.; Kan, L.; *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 17410; (b) Fang, Y.; Bai, C.; Wang, T.; Zhong, F.; Tang, Y.; Lin, S. B.; Kan, L.; *J. Mol. Struct.* **1996**, *377*, 1; (c) Beljebbar, A.; Sockalingum, G. D.; Angiboust, J. F.; Manfait, M.; *Appl. Spectrosc.* **1996**, *50*, 148.
64. (a) Beljebbar, A.; Sockalingum, G. D.; Morjani, H.; Angiboust, J. F.; Manfait, M.; *Spectrochim. Acta* **1997**, *53A*, 123; (b) Beljebbar, A.; Sockalingum, G. D.; Angiboust, J. F.; Manfait, M.; *Spectrochim. Acta* **1995**, *51A*, 2083.
65. (a) Liang, E.J. ; Goettges, D.; Kiefer, W.; *Appl. Spectrosc.* **1995**, *48*, 1088; (b) Yoo, H.-S.; Lee, N. -S.; Hanazaki, I.; *J. Raman Spectrosc.* **1992**, *23*, 239.
66. Holt, R. E.; Cotton, T. M.; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 1841.
67. Cotton, T. M.; Schultz, S. G.; Van Duyne, R. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7960.
68. Smulevich, G.; Spiro, T. G.; *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 5168.
69. Groot, J. de; Hester, R. E.; Kaminaka, S.; Kitagawa, T.; *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 2044.
70. Maeda, Y.; Yamamoto, H.; Kitano, H.; *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 4837.
71. Chazalet, M. S.-P.; Masson, M.; Bousquet, C.; Bolbach, G.; Ridente, Y.; Bolard, J.; *Thin solid films* **1994**, *244*, 852.
72. Heywang, C.; Chazalet, M. S.-P.; Masson, M.; Bolard, J. *In 6th Eur. Conf. Spectrosc. Biol. Mol.*; Merlin J. C.; Turrell S.; Kluwer J. P. H., Eds.; Kluwer, Dordrecht 1995; p 543.
73. Kneipp, K.; Wang, Y.; Ramachandra, R. D.; Michael, S. F.; *Spectrochim. Acta* **1995**, *51A*, 481.
74. Kowalchuk, W. K.; Davis, K. L.; Morris, M. D.; *Spectrochim. Acta* **1995**, *51A*, 145.
75. (a) Lennox, J. C.; Murray, R.; *J. Electroanal. Chem.* **1977**, *78*, 395; (b) Umezawa, Y.; Yamamura, T.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1978**, 1106; (c) Umezawa, Y.; Yamamura, T.; *J. Electrochem. Soc.* **1979**, *126*, 705.
76. Prochazka, M.; Hanzlikova, J.; Baumruk, V.; *J. Mol. Struct.* **1997**, *410*, 77.
77. (a) Cotton, T. M.; Schultz, S. G.; Van Duyne, R. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1982**, *104*, 6528; (b) Kim, M.; Tsujino, T.; Itoh, K.; *Chem. Phys. Lett.* **1986**, *125*, 364.
78. Ha, J.-S.; Song, O.-K.; Yoon, M.; Kim, D.; *J. Raman Spectrosc.* **1990**, *21*, 667.
79. Faria, D. L. A.; em preparação.
80. Woolley, P. S.; Keely, B. J.; Hester, R. E.; *Chem. Phys. Lett.* **1996**, *258*, 501.
81. Deng, H.; He, Q.; Xu, Z.; Wang, X.; Sheng, R.; *Spectrochim. Acta* **1993**, *49A*, 1709.
82. Nabiev, I.; Chourpa, I.; Manfait, M.; *J. Raman Spectrosc.* **1994**, *25*, 13.
83. Baltruschat, H.; Staud, N.; Heitbaum, J.; *J. Electroanal. Chem.* **1988**, *239*, 361.
84. (a) Furukawa, H.; Takahashi, M.; Ito, M.; *Chem. Phys. Lett.* **1986**, *132*, 498.  
(b) Rubim, J. C.; *J. Electroanal. Chem.* **1987**, *220*, 339.

85. Shi, C.; Zhang, W.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R.; *J. Electroanal. Chem.* **1997**, *423*, 67.
86. (a) Weaver, M. J.; Corrigan, D. S.; Gao, P.; Leung, L. W. H.; *J. Electron. Spectrosc. and Rel. Phenom.* **1987**, *45*, 291; (b) Gao, P.; Gosztola, D.; Weaver, M. J.; *J. Phys. Chem.* **1989**, *93*, 3753; (c) Gao, P.; Weaver, M. J.; *J. Anal. Chim. Acta* **1988**, *212*, 201.
87. Bertolino, J. R.; Temperini, M. L. A.; Sala, O.; *J. Raman Spectrosc.* **1989**, *20*, 725.
88. Temperini, M. L. A.; Rubim, J. C.; Sala, O.; Jubert, A. H.; Villalba, M. E. C.; Aymonino, P. J.; *J. Raman Spectrosc.* **1991**, *22*, 301.
89. Rubim, J. C.; Temperini, M. L.A.; Corio, P.; Sala, O.; Jubert, A. H.; Villalba, M. L. C.; Aymonino, P. J.; *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 345.
90. Sobocinski, R. L.; Pemberton, J. E.; *Langmuir* **1988**, *4*, 836.
91. Shi, C.; Zhang, W.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R.; *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 4766.
92. Shi, C.; Zhang, W.; Birke, R. L.; Grosser, D. K.; Lombardi, J. R.; *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 6276.
93. Misono, Y.; Shibasaki, K.; Yamasawa, N.; Mineo, Y.; Itoh, K.; *J. Phys. Chem.* **1993**, *97*, 6054.
94. Misono, Y.; Nagase, M.; Itoh, K.; *Spectrochim. Acta* **1994**, *50A*, 1539.
95. Rubim, J. C.; Gutz, I. G. R.; Sala, O.; *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *111*, 117.
96. Rubim, J. C.; Gutz, I. G. R.; Sala, O.; Orville-Thomas, W. J.; *J. Mol. Struct.* **1983**, *100*, 571.
97. Da Costa, S. L. F. A.; Agostinho, S. M. L.; Rubim, J. C.; *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *295*, 203.
98. Da Costa, S. L. F. A.; Agostinho, S. M. L.; Chagas, H. C.; Rubim, J. C.; *Corrosion* **1987**, *43*, 149.
99. Bertolino, J. R.; Temperini, M. L. A.; Sala, O.; *J. Mol. Struct.* **1988**, *178*, 113.
100. Brolo, A. G.; Temperini, M. L. A.; Agostinho, S. M. L.; *J. Electroanal. Chem.* **1992**, *335*, 83.
101. Fleischmann, M.; Hill, I. R.; Mengoli, G.; Musiani, M. M.; Akhavan, J.; *J. Electrochim. Acta* **1985**, *30*, 879.
102. Musiani, M. M.; Mengoli, G.; Fleischmann, M.; Lowry, R. B.; *J. Electroanal. Chem.* **1987**, *217*, 187.
103. Marconato, J. C.; Temperini, M. L. A.; Bulhões, L. O. S.; *Electrochim. Acta* **1998**, *43*, 771.
104. Thanos, I. C. G.; *Electrochim. Acta* **1986**, *31*, 811.
105. Rubim, J. C.; Dunnwald, J.; *J. Electroanal. Chem.* **1989**, *258*, 327.
106. Rubim, J. C.; *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* **1989**, *85*, 4247.
107. Cotton, T. M.; Kaddi, D.; Iorga, D.; *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 7462.
108. Hobara, D.; Niki, K.; Zhou, C.; Chumanov, G.; Cotton, T. M.; *Colloids and Surf.* **1994**, *93*, 241.
109. Zhou, C.; Ye, S.; Kim, J.-H.; Cotton, T. M.; Yu, X.; Lu, T.; Dong, S.; *J. Electroanal. Chem.* **1991**, *319*, 71.
110. (a) Taniguchi, I.; Toyosawa, K.; Yamaguchi, H.; Yasukouchi, K.; *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1982**, 1032; (b) Taniguchi, I.; Toyosawa, K.; Yamaguchi, H.; Yasukouchi, K.; *J. Electroanal. Chem.* **1982**, *140*, 187; (c) Taniguchi, I.; Iseki, M.; Yamaguchi, H.; Yasukouchi, K.; *J. Electroanal. Chem.* **1985**, *186*, 299.
111. Pinheiro, L. S.; Temperini, M. L. A.; *J. Electroanal. Chem.* **1990**, *295*, 169.
112. Temperini, M. L. A.; Santos, M. R. dos; Monteiro, V. R. P.; *Spectrochim. Acta* **1995**, *51A*, 1517.
113. Matsumoto, F. M.; Temperini, M. L. A.; Toma, H. E.; *Electrochim. Acta* **1994**, *39*, 385.
114. Pettinger, B.; Wetzal, H.; *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *78*, 398.
115. Temperini, M. L. A.; Chagas, H. C.; Sala, O.; *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *79*, 75.
116. Kobayashi, M.; Imai, M.; *Surf. Sci.* **1985**, *158*, 275.
117. (a) Howard, M. W.; Cooney, R. P.; McQuillan, A. J.; *J. Raman Spectrosc.* **1980**, *9*, 273; (b) Regis, A.; Corset, J.; *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *70*, 305; (c) Birke, R. L.; Bernard, I.; Sanchez, L. A.; Lombardi, J. R.; *J. Electroanal. Chem.* **1983**, *150*, 447; (d) Rogers, D. J.; Luck, S. D.; Irish, D. E.; Guzonas, D. A.; Atkinson, G. F.; *J. Electroanal. Chem.* **1984**, *167*, 237; (e) Furukawa, H.; Takahashi, M.; Ito, M.; *J. Electroanal. Chem.* **1988**, *256*, 213.
118. Saito, H.; *J. Raman Spectrosc.* **1993**, *24*, 191.
119. Temperini, M. L. A.; Barreto, W. J.; Sala, O.; *Chem. Phys. Lett.* **1983**, *99*, 148.
120. Noda, L. K.; Sala, O.; *J. Mol. Struct.* **1987**, *4*, 11.
121. Park, S. M.; Kim, K.; Kim, M. S.; *J. Mol. Struct.* **1995**, *344*, 195.
122. (a) Erdheim, G. R.; Birke, R. L.; Lombardi, J. R.; *Chem. Phys. Lett.* **1980**, *69*, 495; (b) Dornhaus, R.; Long, M.B.; Benner, R. E.; Chang, R. K.; *Surf. Sci.* **1980**, *93*, 240; (c) Moskovits, M.; DiLella, D. P.; Maynard, K. J.; *Langmuir* **1988**, *4*, 67.
123. Brolo, A. G.; Irish, D. E.; *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *414*, 183.
124. (a) Macomber, S. H.; Furtak, T. E.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *90*, 59; (b) Fleischmann, M.; Hill, I.R.; Sundholm, G.; *J. Electroanal. Chem.* **1983**, *157*, 359.
125. Loo, B. H.; *Chem. Phys. Lett.* **1982**, *89*, 346.
126. Bukowska, J.; Jackowska, K.; *J. Electroanal. Chem.* **1994**, *367*, 41.
127. Shindo, H.; Kaise, M.; Nishira, C.; Nozoye, H.; *Langmuir* **1991**, *7*, 1525.
128. Hutchinson, K.; McQuillan, A. J.; Hester, R. E.; *Chem. Phys. Lett.* **1983**, *98*, 27.
129. Guzonas, D. A.; Atkinson, G. F.; Irish, D. E.; *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *107*, 193.
130. Weaver, M. J.; Barz, F.; Gordon, II J. G.; Philpott, M. R.; *Surf. Sci.* **1983**, *125*, 130.
131. Lombardi, J. R.; Birke, R. L.; Sanchez, L. A.; Bernard, I.; Sun, S. C.; *Chem. Phys. Lett.* **1984**, *104*, 204.
132. Rubim, J. C.; Corio, P.; Ribeiro, M. C. C.; Matz, M.; *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 15765.
133. Corio, P.; Rubim, J. C.; *J. Phys. Chem.* **1995**, *99*, 13217.
134. Corio, P. Rubim, J. C.; *J. Raman Spectrosc.* **1997**, *28*, 235.