

O EFEITO SERS NA ANÁLISE DE TRAÇOS: O PAPEL DAS SUPERFÍCIES NANOESTRUTURADAS

Antonio C. Sant'Ana, Paola Corio e Marcia L. A. Temperini*

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05513-970 São Paulo - SP, Brasil

Recebido em 20/7/05; aceito em 13/9/05; publicado na web em 6/3/06

THE SERS EFFECT IN TRACE ANALYSIS: THE ROLE OF NANOSTRUCTURED SURFACES. Surface-Enhanced Raman Scattering – SERS – underwent huge advances since a single-molecule Raman spectrum was obtained in 1997. New theoretical and experimental approaches emerged since then leading to a better understanding of the enhancement mechanisms and to a significant improvement in the Raman signal. This review presents the current status of the SERS effect and the promising ways of designing and preparing high performance SERS-active substrates.

Keywords: SERS; metallic surface; nanostructure.

INTRODUÇÃO

Avanços na tecnologia da instrumentação dos espectrômetros Raman têm levado esta técnica a uma posição de destaque dentre as disponíveis para aplicações em problemas de interesse químico. Como exemplos podem ser citados o desenvolvimento de detectores multicanal (CCD), o uso de microscópio óptico acoplado ao espectrômetro e o desenvolvimento de equipamentos de baixo custo, com laser de estado sólido e fibra óptica para transporte da luz incidente e espalhada.

A intensidade do espalhamento Raman depende, entre outras coisas, do número de espalhadores e, dessa forma, tais avanços, são insuficientes para a investigação de fenômenos de interface, nos quais as espécies de interesse estão geralmente presentes como submonocamadas. A espectroscopia Raman ordinária possui baixa seção de choque¹ (ca. 10^{-30} cm² molécula⁻¹ sr⁻¹), o que a torna pouco sensível, quando comparada, por ex., à absorção no infravermelho ou à fluorescência, que possuem seções de choque superiores em mais de 10 ordens de grandeza^{2,3}.

Existem, apesar disso, efeitos de intensificação que melhoram o desempenho da técnica como o efeito Raman ressonante (RR) e o efeito de intensificação de espalhamento por meio de superfície (SERS). O efeito Raman ressonante é um acoplamento vibrônico que ocorre quando a energia da radiação excitante se aproxima ou coincide com uma banda de transição eletrônica permitida da espécie em estudo, fazendo com que haja um aumento substancial na intensidade das bandas das vibrações envolvidas com o grupo cromofórico⁴. Já o efeito SERS, é observado quando uma espécie química está próxima ou adsorvida sobre uma superfície metálica rugosa, permitindo um aumento significativo da intensidade Raman. Ganho ainda maior pode ser obtido em espectros SERS quando a espécie interagindo com a superfície possui transição eletrônica com energia em ressonância com a radiação excitante utilizada. Neste caso, além do efeito SERS, ocorre intensificação por RR e a este efeito denomina-se SERRS (“Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering”).

A partir do momento em que a intensificação foi caracterizada como um novo efeito e não como decorrente do aumento da área superficial do metal foram publicados inúmeros trabalhos que levaram a espectroscopia SERS a se tornar uma técnica de análise de

superfícies, através da qual é possível determinar a identidade, a orientação e os sítios de interação dos adsorbatos⁵.

Mesmo antes dos registros dos espectros SERS de uma única molécula realizados independentemente por Nie e Emory⁶ e Kneipp *et al.*⁷, associados a intensificações do sinal Raman da ordem de 10^{14} , as potencialidades analíticas desta técnica já se mostravam evidentes. Várias áreas, nas quais a análise de traços se faz necessária, investiram na caracterização de sistemas de interesse através da técnica SERS. Poluentes ambientais, como corantes⁸ e pesticidas⁹, já foram investigados em experimentos SERS, bem como moléculas de interesse biológico, estudadas no limite de uma única molécula, como as bases do DNA¹⁰, citocromo-c¹¹ e hemoglobina¹². Koo *et al.*¹³ obtiveram espectros Raman de nucleotídeos de DNA, no nível de uma única molécula, pela combinação dos efeitos SERS e CARS (“Coherent Anti-Stokes Raman Scattering”). Podem, ainda, ser citadas caracterizações de substâncias em suspensão na atmosfera¹⁴ ou de drogas em sistemas biológicos¹⁵. A sensibilidade requerida por determinados problemas pode ser exemplificada por um trabalho em que foi proposto um sensor para vapores de explosivos utilizando-se o efeito SERS¹⁶. Nesse trabalho foram detectados espectros – em 30 s e com alta relação sinal-ruído – de vapores de 2,4-dinitrotolueno com concentrações menores que 20 ppb.

Os aspectos históricos e mais gerais da teoria do efeito SERS já foram apresentados em trabalho anterior de revisão¹⁷ e não serão tratados neste texto. É importante que se afirme que há dois modelos que explicam com maior sucesso o efeito, o modelo químico e o eletromagnético, sendo que o primeiro contribui com apenas cerca de 2 ordens de grandeza para a intensificação total. Os fatores mais importantes são a natureza e a morfologia da superfície metálica, ambas contempladas no modelo eletromagnético.

Cu, Ag e Au mostram-se os substratos mais eficientes em experimentos SERS¹⁸, devido ao fato da absorção do plasmon de superfície desses metais situar-se na região do visível, onde geralmente se encontram os comprimentos de onda das linhas lasers disponíveis em espectrômetros Raman. Além disso, para a observação do efeito faz-se necessária uma rugosidade na superfície metálica da dimensão de dezenas de nanômetros (desde que válida a aproximação $\lambda \gg d$, onde λ = comprimento de onda da radiação excitante e d = tamanho da partícula). Para obter-se, no entanto, substratos que permitam ganhos significativos de sinal e elevada reprodutibilidade, deve-se dominar as técnicas de manipulação e

*e-mail: mltempe@iq.usp.br

construção de superfícies nanoestruturadas e organizadas, de forma que suas propriedades ópticas possam ser adequadamente controladas. Para isso, é importante a compreensão dos mecanismos envolvidos na intensificação do sinal SERS pelo efeito eletromagnético.

O EFEITO ELETROMAGNÉTICO

Um dos primeiros modelos gerados para explicação do fenômeno foi o dipolo-imagem ("image field")¹⁹, pelo qual o dipolo elétrico intrínseco da molécula adsorvida levaria ao surgimento de um dipolo induzido na superfície metálica. A soma vetorial de ambos geraria um dipolo maior quando estivessem alinhados à normal da superfície e a resultante seria zero quando estivessem paralelos à superfície. Essa regra de seleção de superfície justificaria a observação preferencial dos modos normais cuja resultante estivesse na direção normal à superfície. Este modelo é válido admitindo-se uma adsorção física da espécie molecular, com esta muito próxima à superfície (até 2 Å), mas não explica intensificações observadas quando esta distância é maior²⁰.

Um modelo mais elaborado foi proposto por Gersten e Nitzan²¹ a partir da teoria clássica do eletromagnetismo, envolvendo três mecanismos de intensificação do campo elétrico local que atuam juntos na intensificação do sinal Raman: o dipolo-imagem, a curvatura dos sítios de adsorção nos aglomerados metálicos ("lightning rod effect") e a ressonância com o plasmon de superfície. Considerando-se o mecanismo de ressonância, os autores calcularam as energias do plasmon de superfície de esferóides de Ag, Cu e Au, com diferentes excentricidades. Os valores obtidos tenderam para a região do visível, com o aumento da excentricidade do esferóide. Ainda nesse trabalho, cálculos realizados encontraram um valor máximo de intensificação de 11 ordens de grandeza, para uma radiação excitante de 2,02 eV (620 nm), que se aproxima ao valor da energia do máximo da banda do plasmon de superfície. Este resultado está em concordância com o perfil de excitação SERS da piridina (intensidade SERS x frequência da radiação excitante) em colóides de Au ou Ag, obtido por Blatchford *et al.*²², no qual o máximo de intensificação ocorre para as radiações excitantes em 676 nm no colóide de Au e 568 nm, no de Ag.

Posteriormente, o perfil de excitação SERS foi obtido para diferentes adsorbatos ou diferentes substratos, como por ex., piridina em eletrodos de Au, Ag e Cu por Pettinger e Wetzl²³, ftalazina em colóide de Ag por Moskovits e Suh²⁴, e ftalocianina em filmes de ilhas de Ag sobre vidro por van Duyne *et al.*²⁵. Em todos estes trabalhos o máximo de intensificação no perfil SERS desses adsorbatos foi obtido na região do vermelho, indicando que há um tamanho ideal de aglomerado metálico para o qual a ressonância SERS é máxima. No trabalho de van Duyne *et al.*²⁵ foi mostrado que o aumento da excentricidade das ilhas de Ag causa um aumento do fator de intensificação SERS. Lepp e Siiman²⁶, estudando o comportamento SERS de um corante azo em colóide de Ag, mostraram que o máximo do perfil de excitação pode variar em função da banda Raman escolhida e do nível de agregação do colóide de Ag utilizado como substrato.

Em trabalho posterior, Emory *et al.*²⁷ obtiveram o espectro SERS da rodamina 6G com resolução espacial suficiente para investigar partículas individuais de colóide Ag com dimensões entre 70 e 200 nm. A imagem de cada partícula foi obtida utilizando-se microscopia de força atômica. Os autores mostraram que em uma partícula de 70 nm o máximo do perfil de excitação ocorre em 488 nm, enquanto que para outra partícula de 200 nm isto ocorre com radiação de 647 nm. De fato, isto pode ser associado com diferenças na frequência do plasmon de superfície destas partículas.

Na Figura 1 é apresentado um perfil de excitação do cristal-violeta adsorvido sobre um filme de ilhas de Au e o espectro de extinção correspondente ao substrato metálico. Pode-se observar que o máximo também ocorre na região do vermelho.

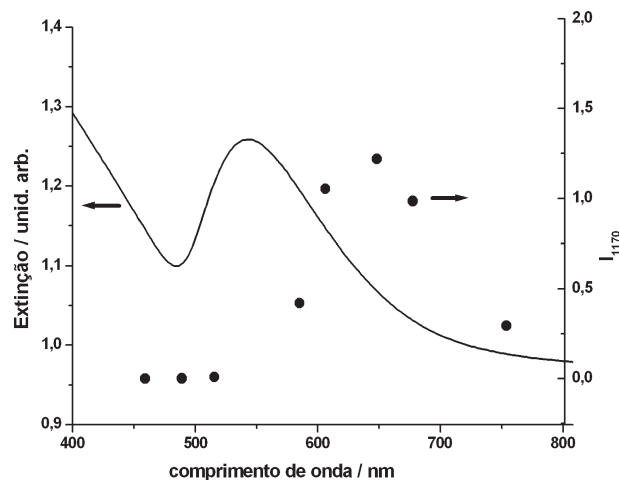


Figura 1. Espectro de extinção do filme de Au de espessura 20 nm, modificado por recozimento térmico a 140 °C por 45 min (linha), e perfil de excitação da banda em 1170 cm^{-1} do cristal-violeta (pontos). Radiações excitantes dos lasers de Ar⁺, Kr⁺ e corante. (Rodamina 6G)

Uma outra explicação para o aumento da intensificação de sinal é o aprisionamento do adsorbato entre duas estruturas metálicas, separadas por uma distância próxima às dimensões da própria molécula adsorvida. Neste caso, a polarização do campo elétrico da radiação excitante ao longo do eixo interpartículas leva ao acoplamento dos plasmons de superfície de ambas, gerando um aumento do campo local, responsável pela intensificação do sinal SERS observada. Cálculos da intensificação do campo entre duas esferas metálicas e sua relevância para o efeito SERS foram realizados por Aravind *et al.*²⁸ e, posteriormente, confirmadas por Garcia-Vidal e Pendry²⁹ ao modelarem moléculas localizadas nos interstícios de partículas de Ag. Uma série de trabalhos de Brus *et al.*^{30,31} propõe que a adsorção da rodamina 6G na junção de duas partículas de Ag é a responsável pela observação do efeito SERS de uma única molécula dessa substância. Os autores obtiveram os espectros SERS de uma única molécula de rodamina 6G em um único aglomerado de Ag, com diferentes polarizações da radiação excitante, confirmando que o sinal é muito maior em uma direção preferencial³². Jeong e Moskovits³³ obtiveram o espectro SERS da rodamina 6G adsorvida em nanofios de Ag alinhados paralelamente, utilizando diferentes polarizações para a radiação excitante. Eles demonstraram que, quando a polarização do campo elétrico é paralela aos fios, o sinal SERS é baixo, mas quando é perpendicular, ocorre acoplamento entre o plasmon de superfície de cada fio e o aumento do sinal SERS é observado. Este efeito de polarização foi confirmado pelos autores em experimento no qual moléculas adsorvidas na bifurcação de nanofios de Ag com formato de "Y", apresentaram maior sinal que moléculas na base do Y³⁴.

Xu *et al.*³⁵, a partir da teoria eletromagnética clássica, calcularam o campo eletromagnético ao redor de partículas de Au ou Ag, admitindo a existência de regiões com bordas muito agudas. Este efeito, somado à intensificação SERS resultante da intercalação de uma molécula entre duas partículas metálicas, levou a um fator de intensificação máximo de 10^{11} . Resultante da raridade destes pontos e à elevada intensificação observada, estes foram associados pelos autores aos "hot spots", responsáveis pela obtenção dos espectros SERS de uma única molécula.

Há estudos que correlacionam a presença de estruturas fractais nas superfícies dos substratos com a intensificação do espalhamento Raman dos adsorbatos. No trabalho pioneiro de Weitz *et al.*³⁶ foi calculada a dimensão fractal de agregados coloidais de Au utilizados em experimentos SERS, sendo observada a presença de sítios doadores e receptores de elétrons, associados a átomos de Au(0) e Au(I), respectivamente. Estruturas fractais são invariantes em função da escala³⁷ e podem ser associadas à rugosidade superficial das superfícies SERS-ativas como eletrodos metálicos, colóides e filmes de ilhas metálicas. Shalaev *et al.*, em uma série de trabalhos teóricos^{38,39} e experimentais^{40,41}, investigaram a importância da fractalidade nas superfícies SERS-ativas, sugerindo que flutuações de campo estão presentes em agregados fractais de partículas, cujos dipolos individuais sofrem intenso acoplamento. Estes são sítios com intensificações gigantes do campo elétrico, onde espécies moleculares apresentam fatores de intensificação do espalhamento Raman da ordem de 10^{10} vezes.

PLASMON DE SUPERFÍCIE E ESPECTROS DE EXTINÇÃO

A oscilação do plasmon em um metal é a excitação coletiva de um gás formado pelos elétrons de condução⁴². Esta onda de excitação ao se propagar em estruturas nanométricas possui uma frequência que depende da geometria e do tamanho destas partículas, sendo denominada plasmon de superfície. O plasmon de superfície está associado à rugosidade superficial presente nos substratos SERS-ativos. Medidas de absorção de luz pelo plasmon de nanopartículas metálicas podem ser obtidas nas regiões do ultravioleta, visível e infravermelho próximo. O aumento no tamanho das partículas resulta em um deslocamento da banda do plasmon de superfície do metal para a região espectral de maior comprimento de onda. Para partículas com dimensões que se aproximam do comprimento de onda do fóton incidente, efeitos de espalhamento Mie devem ser considerados. A soma das contribuições da absorção e do espalhamento Mie resulta no chamado espectro de extinção. Esta teoria foi desenvolvida por Mie a partir da solução das equações de Maxwell para partículas esféricas^{43,44}. Nos espectros de extinção (para partículas maiores que 50 nm), a contribuição do espalhamento Mie na região do vermelho e infravermelho próximo, passa a ser relevante²². Cabe ressaltar que o espalhamento Mie e a absorção são fenômenos independentes.

Vários trabalhos teóricos de Schatz *et al.* apresentam os espectros de extinção, calculados a partir da teoria de Mie, acrescida dos termos envolvendo o acoplamento dos dipolos (DDA – “discrete dipole approximation”), para diferentes nanopartículas de Ag ou Au, como agregados lineares de nanoesferas⁴⁵, esferóides e prismas⁴⁶, ou ainda, estruturas ordenadas bidimensionais de nanoesferas metálicas⁴⁷. Mais recentemente eles obtiveram experimentalmente o espectro do plasmon de superfícies de pares isolados de nanodiscos de Ag, utilizando um microscópio óptico no modo “dark field”, e mostraram que, quando a polarização da radiação incidente é paralela ao eixo interpartículas, é possível observarem-se efeitos de confinamento de plasmon e desvio da banda para o vermelho⁴⁸. Este efeito, que corresponde ao surgimento de um campo elétrico muito intenso no espaço entre as duas partículas metálicas, torna-se maior quanto menor for a distância entre elas, indicando um maior acoplamento entre seus plasmons.

Liao *et al.*⁴⁹ foram os primeiros a fazer uso de estruturas metálicas construídas por micrografia, como substratos em experimentos SERS. Eles construíram uma grade de nanopartículas de Ag e observaram no perfil de excitação SERS (da banda do estiramento CN em HCN adsorvido), um desvio para o vermelho com o au-

mento da excentricidade das estruturas metálicas. Estes autores também verificaram, para o mesmo sistema Ag/HCN, um deslocamento do máximo do perfil SERS para o vermelho com o aumento da constante dielétrica do meio.

Em trabalhos experimentais mais recentes Félidj *et al.*⁵⁰ obtiveram os espectros de extinção de nanopartículas de Au em arranjos ordenados na forma de grade quadrada, construídos por nanolitografia, variando as dimensões e as geometrias das estruturas metálicas. Foi observado um desvio para o vermelho na banda do plasmon em função do aumento da excentricidade das partículas, em concordância com os espectros teóricos obtidos anteriormente⁵¹. Grades de nanopartículas de Ag, construídas por nanolitografia, foram investigadas por Gotschy *et al.*⁵². Eles verificaram a intensificação da banda do plasmon, com a diminuição da distância entre as partículas, devido ao maior acoplamento entre os plasmons individuais.

Pode-se concluir que a tendência ao desvio para o vermelho da frequência da banda do plasmon de superfície em sistemas de nanopartículas, cujas propriedades são adequadas para a realização de experimentos SERS, pode ser associada às seguintes características: elevada excentricidade, dimensões entre 50 e 100 nanômetros e proximidade entre as partículas metálicas da ordem de angstroms. O controle sobre estas propriedades permite, portanto, a construção de substratos SERS-ativos com elevado desempenho.

SERS DE UMA ÚNICA MOLÉCULA

No trabalho em que Nie e Emory⁶ observaram o sinal SERS de uma única molécula, o substrato utilizado era constituído de nanopartículas do colóide de Ag imobilizadas sobre vidro. Obtiveram os espectros SERS da rodamina 6G, com resolução espacial suficiente para investigar cada partícula metálica individualmente. Utilizaram radiação excitante no visível (laser de Ar⁺: $\lambda=514,5$ nm), que deve ter acrescentado um efeito adicional de Raman ressonante do adsorbato no fator de intensificação. Foram observadas mudanças na intensidade relativa e frequência das bandas, bem como a necessidade de tomada de um grande número de espectros para que o sinal fosse observado. Kneipp *et al.*⁷ utilizaram microscopia confocal Raman para obter os espectros SERS de uma única molécula de cristal-violeta, adsorvida em uma suspensão coloidal de Ag, utilizando radiação excitante no infravermelho próximo (Ti:safira $\lambda=850$ nm). Neste trabalho os autores destacam o comportamento estatístico do sistema em um histograma da intensidade do sinal Raman nos diferentes espectros obtidos. Este apresentou três máximos, cujos valores eram múltiplos entre si, que foram associados à coleta do espectro de uma, duas ou três moléculas do adsorbato no volume investigado. Neste trabalho também foi observada a variação no padrão espectral e um grande número de espectros que não apresentavam sinal. Este fenômeno foi posteriormente denominado “blinking” e associado à reconstrução da superfície (metal e adsorbato), pela exposição ao laser^{53,54}.

Aroca *et al.*^{55,56} obtiveram os espectros SERS de uma única molécula de corantes das classes azo e perileno, adsorvidos na forma de filmes de Langmuir-Blodgett sobre filmes de ilhas de Ag. Por esta técnica chegaram a uma densidade superficial de apenas uma molécula por micrômetro quadrado. Foram observadas pequenas variações na frequência das bandas do adsorbato, juntamente com o fenômeno do “blinking” e a ausência da fluorescência (característica dos filmes com maior densidade molecular).

Brus *et al.*^{30,31} também obtiveram o espectro SERS de uma única molécula de rodamina 6G adsorvida sobre partículas coloidais de Ag. Propuseram que a intensificação observada é devida a diferentes fatores, como o Raman ressonante do adsorbato, mas o fator

preponderante seria a presença de sítios onde a molécula está presente entre duas nanopartículas metálicas. Além disso, seria necessária a adsorção química, envolvendo interação do adsorbato com elétrons balísticos presentes em partículas de Ag excitadas opticamente. Flutuações no sinal SERS da rodamina 6G, acompanhadas da elevação de um fundo de emissão, devido à reconstrução do par elétron-buraco, indicariam uma cinética de adsorção-desadsorção³². Estas considerações não são consensuais, Andersen *et al.*⁵⁷ estudaram o “blinking” no fundo de emissão SERS e consideraram este fenômeno independente da natureza do adsorbato⁵⁷.

SUBSTRATOS METÁLICOS SERS-ATIVOS

Os primeiros trabalhos que relataram a observação do efeito SERS foram realizados em eletrodos de Ag ativados por ciclos de oxidação e redução do metal^{58,59}. Eletrodos ativados são ainda muito utilizados em experimentos SERS para os mais variados sistemas. Entre as vantagens do seu uso está a possibilidade de estudar-se o comportamento faradáico de adsorbatos ou propriedades relacionadas à interação da molécula com o metal, que sejam sensíveis ao potencial aplicado, como conformação, transferência de carga e competição pela superfície⁶⁰.

Também, o uso de colóides metálicos como substratos SERS-ativos foi bastante explorado²². Normalmente, o colóide de Ag, Au ou Cu recém preparado não é SERS-ativo e necessita ser ativado pela agregação, de maneira que estruturas com dimensões maiores sejam formadas e mantidas relativamente estáveis durante a tomada dos espectros. Isto pode ser feito com o próprio adsorbato ou, muitas vezes, com um haleta. A diminuição da estabilidade do colóide gerada na agregação impõe o uso deste substrato logo após sua ativação. A presença de um ânion na superfície metálica, em especial o cloreto, foi várias vezes proposta como necessária para estabilização dos sítios SERS-ativos, tanto em colóides quanto em eletrodos ativados e, até mesmo, para uma maior intensificação do sinal⁶¹. Um estudo sistemático da morfologia de diferentes colóides de Ag e Cu, sintetizados por diferentes rotas e agregados em diferentes condições, foi realizado por Sánchez-Cortés *et al.*^{62,63}. Utilizando microscopia eletrônica, os autores observaram diferentes padrões de agregação em função do ânion utilizado e otimizaram os substratos, de forma a favorecer a intensificação do sinal SERS, para serem utilizados com radiações excitantes no visível (514,5 nm) ou no infravermelho próximo (1064 nm). Recentemente, vários grupos têm se preocupado com a fixação das partículas metálicas coloidais em um substrato, antes da adsorção da molécula em estudo. Isto é importante pois, uma monocamada de partículas metálicas com tamanho adequado e com um distanciamento entre si da ordem do tamanho de uma molécula do adsorbato, leva a uma maior interação eletromagnética entre elas, aumentando o número de sítios SERS-ativos⁶⁴. Estes substratos ampliam o uso da técnica por permitirem a obtenção de uma superfície com rugosidade mais uniforme e estável, que possa ser utilizada com diferentes adsorbatos sem que ocorra alteração significativa na estrutura das partículas metálicas.

Filmes de ilhas metálicas também se mostraram eficientes como substratos SERS-ativos⁶⁵. Estes podem ser construídos depositando-se vapor metálico sobre um substrato em câmara de vácuo e efetuando-se o recozimento térmico do filme formado. Diferentes condições podem interferir na qualidade do sinal SERS obtido com estas superfícies, como taxa de deposição, temperatura e tempo de recozimento do filme e espessura. Estes substratos são muito sensíveis a efeitos térmicos e, por isso, a densidade de potência da radiação excitante sobre a amostra deve ser baixa ou suficiente para não destruí-la. Moskovits e DiLella⁶⁶ estudaram o efeito SERS em filmes de Ag de espessura 5 nm, construídos à temperatura de 11 K e

observaram que quando estes eram aquecidos a 150 K sofriam reconstrução e aumentavam sua atividade catalítica na decomposição de determinados adsorbatos. Schlegel e Cotton⁶⁷ construíram filmes de ilhas de Ag de 5 nm, em temperatura ambiente, e investigaram a intensificação do sinal SERS em função da taxa de deposição do metal. Observaram que quanto menores estas taxas, mais a energia do plasmon metálico tendia para a região do verde, sendo estas superfícies mais adequadas ao uso de radiação excitante com comprimento de onda nesta região. van Duyne *et al.*²⁵ construíram filmes de ilhas de Ag de diferentes espessuras (1,8 a 16 nm) e investigaram os efeitos do recozimento a 600 K sobre a morfologia das ilhas e a intensificação SERS. As estruturas metálicas formadas, caracterizadas por AFM possuíam a forma de oblatos com diferentes tamanhos e razões de aspecto. Os espectros de extinção mostraram um desvio para o vermelho em função do aumento da excentricidade da partícula. Os fatores de intensificação SERS medidos para os filmes recozidos foram menores que os dos filmes não submetidos a recozimento. Posteriormente, vários autores investigaram a influência das condições de preparo destes filmes sobre os espectros SERS. Semin e Rowlen⁶⁸ mostraram que o recozimento de filmes de Ag de 5 nm a 70 °C conduzia a uma maior intensificação SERS. Stöckle *et al.*⁶⁹ mostraram que é possível o controle da distribuição de tamanhos das ilhas metálicas de Ag utilizando pressões maiores na câmara de vácuo e temperaturas de recozimento ao redor de 200 °C. Constantino *et al.*⁵⁵ construíram filmes de ilhas de Ag sobre substrato de vidro, mantido a 200 °C durante a deposição do vapor metálico. Com esta superfície conseguiram o espectro SERS de uma única molécula para diferentes corantes. Deve-se observar que os filmes de ilhas metálicas construídos por recozimento térmico não apresentam uma boa monodispersividade, como pode ser visto na Figura 2.

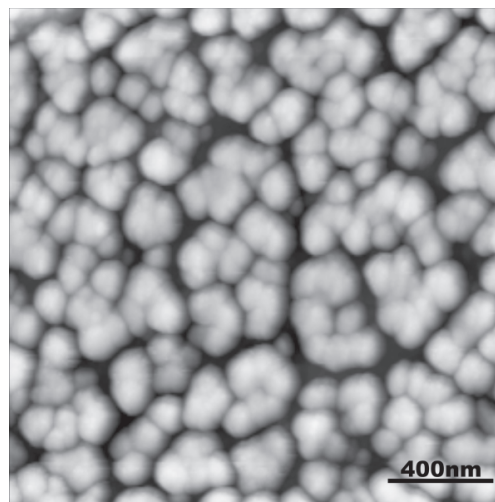


Figura 2. Micrografia AFM de filme de Au com espessura de 20 nm, modificado por recozimento térmico a 160 °C por 1 h. Substrato vidro silanizado com MPTMS

Um substrato SERS foi desenvolvido por van Duyne *et al.*^{70,71} e construído por nanolitografia utilizando mascaramento com esferas poliméricas com diâmetro entre 300 e 800 nm. A formação de uma monocamada auto-organizada destas esferas sobre vidro, seguida da deposição de um filme metálico e posterior remoção do material polimérico por dissolução com tolueno, resultou na formação de ilhas metálicas correspondentes ao material que estava nos interstícios das esferas. As ilhas de formato piramidal se formaram em uma geometria hexagonal e o espaçamento entre elas pôde ser controlado pelo diâmetro da esfera polimérica⁷². O mate-

rial monodisperso obtido foi construído sobre vidro, silício ou o próprio eletrodo metálico liso⁷³. Estes eletrodos metálicos ativados por litografia com esferas poliméricas mostraram-se muito mais estáveis em potenciais negativos extremos que os eletrodos ativados por ciclos de oxidação-redução. Neste caso, normalmente ocorrem alterações das estruturas metálicas em escala nanométrica e conseqüente perda do sinal SERS, que foi evitado nos eletrodos modificados. Uma outra alternativa para construção de eletrodos nanoestruturados utilizando-se esferas de poliestireno foi proposta por Abdelsalam *et al.*⁷⁴. A partir da auto-organização das esferas de poliestireno (diâmetro = 600 nm) sobre um filme de Au com 200 nm de espessura, eles preencheram os interstícios entre as esferas eletroquimicamente, a partir de uma solução aquosa de Au³⁺. As esferas foram, então, removidas por dissolução em tetraidrofurano. O eletrodo assim obtido apresentou estabilidade e intensificação SERS maiores que o eletrodo ativado por ciclos de oxidação-redução.

A manipulação de nanopartículas por via úmida é outra área cujo desenvolvimento recente tem colaborado no desenvolvimento de novos substratos SERS. A fixação de nanopartículas metálicas em suspensão sobre a superfície de vidro funcionalizado é uma técnica bastante utilizada e permite um controle adequado da distribuição de partículas sobre o substrato e, conseqüentemente, da interação entre elas. Natan *et al.*^{75,76} possuem uma série de trabalhos em que buscam a síntese de colóides de Ag e Au com o controle da dispersão de tamanhos das partículas e a fixação destas, de forma organizada, sobre vidro. Estudaram a eficiência da funcionalização de vidros, com diferentes silanos com grupamentos tiol ou amino, para controle da adsorção das partículas⁷⁷. Em trabalho mais recente⁷⁸, os autores fixaram partículas coloidais de Au, de diâmetro 12 nm (“seed”), sobre vidro funcionalizado e o metal catalisou a redução não eletroquímica de Ag sobre as partículas, com posterior recobrimento com vapor de Ag. Esta técnica permitiu o controle do tamanho das partículas formadas e da distância entre elas, levando a um substrato com elevada reprodutibilidade.

Halas *et al.*^{79,80} sintetizaram nanopartículas metálicas com elevada monodispersão, recobrimo com Ag ou Au nanoesferas de sílica monodispersas, previamente funcionalizadas com grupos amino (“nanoshells”). Utilizando-se o método de Stöber⁸¹ para síntese de nanoesferas de sílica, com elevado controle sobre o diâmetro, e realizando um controle eficiente da espessura da camada metálica depositada foi possível a construção de “nanoshells” otimizadas para a radiação excitante de 514,5 nm⁸². Estas estruturas foram formadas por nanoesferas de sílica com diâmetro de 75 nm, cobertas com uma camada metálica de 5 e 7 nm de espessura.

Partículas metálicas maiores que 100 nm têm frequência de plasmon de superfície tendendo para a região do infravermelho próximo, o que as torna mais adequadas para experimentos SERS utilizando-se radiação excitante nesta região. Sánchez-Cortés *et al.*⁶² observaram que partículas coloidais maiores (entre 100 e 600 nm) apresentavam melhor sinal SERS quando utilizavam radiação excitante de 1064 nm. Halas *et al.*⁸³ obtiveram espectros SERS da p-mercaptoanilina, também com a radiação excitante em 1064 nm, utilizando como substrato “nanoshells” com esferas de sílica de 170 nm cobertas com uma camada de Au de 20 nm. Sauer *et al.*⁸⁴ utilizaram a mesma radiação excitante para obtenção dos espectros SERS de algumas aminas aromáticas adsorvidas sobre filmes finos de Au, Ag e Cu com espessuras entre 200 e 300 nm.

A estrutura nanométrica dos substratos metálicos utilizados em experimentos SERS induz uma maior capacidade catalítica nestas superfícies. Por isso, algumas contaminações são bastante comuns em eletrodos e filmes de Ag ou Au, quando manipulados ao ar, como a presença de carbono amorfo (bandas largas em 1300 e 1600 cm⁻¹)⁸⁵, ou espécies orgânicas formadas por carbono e hidrogê-

nio (banda larga em 2900 cm⁻¹)⁸⁶. Superfícies de Au apresentam com maior frequência contaminação por CO (banda em 2150 cm⁻¹). Estudos mostraram que moléculas de CO₂ do ar podem ser a fonte de carbono destas contaminações⁸⁷, bem como o próprio adsorbato⁵. Kudelski e Pettinger⁸⁸ obtiveram os espectros SERS de carbono amorfo depositado sobre eletrodos de Au e Ag e mostraram que este material em pequenas quantidades pode apresentar sinal intenso devido sua adsorção nos “hot spots”. Os substratos metálicos também podem conter óxidos na superfície quando expostos ao ar. A baixa velocidade de formação destes óxidos em superfícies de Au e Ag permite a realização de experimentos SERS ao ar, desde que o substrato tenha sido recém preparado. A construção de monocamadas de alquil-tióis ou alquilaminas sobre os substratos metálicos pode evitar tanto a decomposição do adsorbato quanto a formação de contaminantes. No entanto, estas moléculas desfavorecem a adsorção de substâncias polares, além de comprometerem uma maior intensificação do sinal do adsorbato por efeitos de transferência de carga.

PERSPECTIVAS

A observação do espectro SERS de uma única molécula deu impulso ao uso desta técnica como ferramenta analítica na investigação de temas envolvendo detecção de substâncias com elevada sensibilidade. Outra importante propriedade do efeito SERS, que torna a técnica bastante conveniente nestes estudos, é sua capacidade de diminuir a fluorescência presente em vários sistemas de interesse. Além disso, a alta sensibilidade da técnica permite que, no limite de detecção de uma única molécula, sejam obtidos espectros em soluções com concentrações da ordem de 10⁻¹⁰ mol L⁻¹.

Nos últimos anos, o grande número de trabalhos que investigaram as origens do efeito SERS permitiu uma melhor compreensão do fenômeno. No contexto destas investigações, Pettinger *et al.*⁸⁹ obtiveram espectros SERS em superfícies não rugosas pelo aumento do campo eletromagnético local com uma ponta de STM (“Scanning Tunneling Microscopy”). Esta nova técnica foi chamada de TERS (“Tip-Enhanced Raman Spectroscopy”) e se mostrou promissora no estudo da interação da molécula com o campo elétrico aplicado⁹⁰, permitindo a obtenção de espectros sobre superfícies lisas de monocristais de Au(111) e Pt(110), com elevada intensificação do sinal Raman e resolução espacial na escala de nanômetros⁹¹. Watanabe *et al.*⁹² realizaram experimentos TERS com rodamina 6G e obtiveram os espectros Raman por microscopia de campo próximo, com resolução espacial subnanométrica, no nível de uma única molécula.

O desenvolvimento de novos substratos SERS com elevado desempenho vem ganhando importância na pesquisa de vários grupos, objetivando uma maior aplicabilidade da técnica nos mais diversos campos. A construção de substratos nanoestruturados, com controle sobre as dimensões e geometria das partículas, tem levado a uma maior sensibilidade e reprodutibilidade nos experimentos SERS. As diferentes técnicas de tratamento químico da superfície têm permitido a construção de substratos mais estáveis e seletivos em relação às moléculas de interesse.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP e ao CNPq pelos auxílios e bolsas recebidos e ao Laboratório de Filmes Finos do Instituto de Física da USP pela obtenção das micrografias de AFM.

REFERÊNCIAS

1. Nestor, J. R.; Lippincott E. R.; *J. Raman Spectrosc.* **1973**, *1*, 305.

2. Tian, Z. Q.; Ren, B.; Wu, D. Y.; *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 9463.
3. Kneipp, K.; Kneipp, H.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S.; *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2957.
4. Clark, R. J. H.; Dines, T. J.; *Angew. Chem., Int. Ed.* **1986**, *25*, 131.
5. Sant'Ana, A. C.; Santos, P. S.; Temperini, M. L. A.; *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *571*, 247.
6. Nie, S.; Emory, S. R.; *Science* **1997**, *275*, 1102.
7. Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S.; *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1667.
8. Jones, J. C.; McLaughlin, C.; Littlejohn, D.; Sadler, D. A.; Graham, D.; Smith, W. E.; *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 596.
9. Sánchez-Cortés, S.; Vasina, M.; Francioso, O.; García-Ramos, J. V.; Morcillo, G.; *Vib. Spectrosc.* **1998**, *17*, 133.
10. Koo, T. W.; Chan, S.; Sun, L.; Su, X.; Zhang, J. W.; Berlin, A. A.; *Appl. Spectrosc.* **2004**, *58*, 1401.
11. Delfino, I.; Bizzarri, A. R.; Cannistraro, S.; *Biophys. Chem.* **2005**, *113*, 41.
12. Xu, H. X.; Bjerneld, E. J.; Kall, M.; Borjesson, L.; *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *83*, 4357.
13. Koo, T.; Chan, S.; Berlin, A. A.; *Opt. Lett.* **2005**, *30*, 1024.
14. Vo-Dinh, T.; Stokes, D. L.; *Appl. Spectrosc.* **1993**, *47*, 1728.
15. Kneipp, K.; Haka, A. S.; Kneipp, H.; Badizadegan, K.; Yoshizawa, N.; Boone, C.; Shafer-Peltier, K. E.; Motz, J. T.; Dasari, R. R.; Feld, M. S.; *Appl. Spectrosc.* **2002**, *56*, 150.
16. Sylvia, J. M.; Janni, J. A.; Klein, J. D.; Spencer, K. M.; *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 5834.
17. de Faria, D. L. A.; Temperini, M. L. A.; Sala, O.; *Quim. Nova* **1999**, *22*, 541.
18. Pettinger, B.; Wenning, U.; Wetzel, H.; *Surface Sci.* **1980**, *101*, 409.
19. King, F. W.; van Duyne, R. P.; Schatz, G. C.; *J. Chem. Phys.* **1978**, *69*, 4472.
20. Schatz, G. C. *Em Surface Enhanced Raman Scattering*; Chang, R. K.; Furtak, T. E., eds.; Plenum Press: New York, 1982, p. 35.
21. Gersten, J.; Nitzan, A.; *J. Chem. Phys.* **1980**, *73*, 3023.
22. Blatchford, J. R.; Campbell, J. R.; Creighton, J. A.; *Surface Sci.* **1982**, *120*, 435.
23. Pettinger, B.; Wetzel, H. *Em ref. 20*, p. 297.
24. Moskovits, M.; Suh, J. S.; *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 5526.
25. van Duyne, R. P.; Hulst, J. C.; Treichel, D. A.; *J. Chem. Phys.* **1993**, *99*, 2101.
26. Lepp, A.; Siiman, O.; *J. Phys. Chem.* **1985**, *89*, 3494.
27. Emory, S. R.; Haskins, W. E.; Nie, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8009.
28. Aravind, P. K.; Nitzan, A.; Metiu, H.; *Surf. Sci.* **1981**, *110*, 189.
29. Garcia-Vidal, F. J.; Pendry, J. B.; *Phys. Rev. Lett.* **1996**, *77*, 1163.
30. Michaels, A. M.; Nirmal, M.; Brus, L. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 9932.
31. Michaels, A. M.; Jiang, J.; Brus, L. E.; *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 11965.
32. Jiang, J.; Bosnick, K.; Maillard, M.; Brus, L. E.; *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 9964.
33. Jeong, D. H.; Zhang, Y. X.; Moskovits, M.; *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 12724.
34. Moskovits, M.; Jeong, D. H.; *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *397*, 91.
35. Xu, H.; Aizpurua, J.; Käll, M.; *Phys. Rev. E: Stat., Nonlinear, Soft Matter Phys.* **2000**, *62*, 4318.
36. Weitz, D. A.; Lin, M. Y.; Sandroff, C. J.; *Surface Sci.* **1985**, *158*, 147.
37. Stockman, M. I.; Shalaev, V. M.; Moskovits, M.; Botet, R.; George, T. F.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1992**, *46*, 2821.
38. Markel, V. A.; Shalaev, V. M.; Stechel, E. B.; Kim, W.; Armstrong, R. L.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1996**, *53*, 2425.
39. Shalaev, V. N.; Poliakov, E. Y.; Markel, V. A.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1996**, *53*, 2437.
40. Markel, V. A.; Shalaev, V. M.; Zhang, P.; Huynh, W.; Tay, L.; Haslett, T. L.; Moskovits, M.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1999**, *59*, 10903.
41. Drachev, V. P.; Bragg, W. D.; Podolskiy, V. A.; Safonov, V. P.; Kim, W.; Ying, Z. C.; Armstrong, R. L.; Shalaev, V. M.; *J. Opt. Soc. Am. B* **2001**, *18*, 1896.
42. Kittel, C.; *Introduction to Solid State Physics*, John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1996.
43. Mie, G.; *Ann. Phys.* **1908**, *25*, 377.
44. van de Hulst, H. C.; *Light Scattering by Small Particles*, John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1957.
45. Lazarides, A. A.; Schatz, G. C.; *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 460.
46. Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C.; *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668.
47. Zhao, L. L.; Kelly, K. L.; Schatz, G. C.; *J. Phys. Chem. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2003**, *107*, 7343.
48. Gunnarsson, L.; Rindzevicius, T.; Priklulis, J.; Kasemo, B.; Käll, M.; Zou, S.; Schatz, G. C.; *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 1079.
49. Liao, P. F.; Bergman, J. G.; Chemla, D. S.; Wokaun, A.; Melngailis, J.; Hawryluk, A. M.; *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *82*, 355.
50. Félidj, N.; Aubard, J.; Lévi, G.; Krenn, J. R.; Salerno, M.; Lamprecht, B.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R.; *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2002**, *65*, 75419.
51. Félidj, N.; Aubard, J.; Lévi, G.; *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 1195.
52. Gotschy, W.; Vonmetz, K.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R.; *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **1996**, *63*, 381.
53. Kudelski, A.; Pettinger, B.; *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *383*, 76.
54. Wang, Z. J.; Rothberg, L. J.; *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 3387.
55. Constantino, C. J. L.; Lemma, T.; Antunes, P. A.; Aroca, R.; *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3674.
56. Goulet, P. J. G.; Pieczonka, N. P. W.; Aroca, R. F.; *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 1918.
57. Andersen, P. C.; Jacobson, M. L.; Rowlen, K. L.; *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 2148.
58. Jeanmarie, D. L.; Van Duyne, R. P.; *J. Electroanal. Chem.* **1977**, *84*, 1.
59. Albrecht, M. G.; Creighton, J. A.; *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5215.
60. Pessoa, M. M. B.; Andrade, G. F. S.; Santos, M. R.; Temperini, M. L. A.; *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *545*, 117.
61. Otto, A.; Bruckauer, A.; Chen, Y. X.; *J. Mol. Struct.* **2003**, *661-662*, 501.
62. Sánchez-Cortés, S.; García-Ramos, J. V.; Morcillo, G.; *J. Colloid Interface Sci.* **1994**, *167*, 428.
63. Sánchez-Cortés, S.; García-Ramos, J. V.; Morcillo, G.; Tinti, A.; *J. Colloid Interface Sci.* **1995**, *175*, 358.
64. Grabar, K. C.; Freeman, R. G.; Hommer, M. B.; Natan, M. J.; *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 735.
65. Chen, C. Y.; Davoli, I.; Ritchie, G.; Burstein, E.; *Surf. Sci.* **1980**, *101*, 363.
66. Moskovits, M.; DiLella, D. P. *Em ref 20*, p. 243.
67. Schlegel, V. L.; Cotton, T. M.; *Anal. Chem.* **1991**, *63*, 241.
68. Semin, D. J.; Rowlen, K. L.; *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 4324.
69. Stöckle, R. M.; Deckert, V.; Fokas, C.; Zenobi, R.; *Appl. Spectrosc.* **2000**, *54*, 1577.
70. Jensen, T. R.; Schatz, G. C.; van Duyne, R. P.; *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2394.
71. Jensen, T. R.; Durval, M. L.; Kelly, K. L.; Lazarides, A. A.; Schatz, G. C.; van Duyne, R. P.; *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 9846.
72. Jensen, T. R.; Malinsky, M. D.; Haynes, C. L.; van Duyne, R. P.; *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10549.
73. Dick, L. A.; McFarland, A. D.; Haynes, C. L.; van Duyne, R. P.; *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 863.
74. Abdelsalam, M. E.; Bartlett, P. N.; Baumberg, J. J.; Cintra, S.; Kelf, T. A.; Russell, A. E.; *Electrochem. Commun.* **2005**, *7*, 740.
75. Freeman, R. G.; Grabar, 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.; *Science* **1995**, *267*, 1629.
76. Brown, K. R.; Natan, M. J.; *Langmuir* **1998**, *14*, 726.
77. Grabar, K. C.; Allison, K. J.; Baker, B. E.; Bright, R. M.; Brown, K. R.; Freeman, R. G.; Fox, A. P.; Keating, C. D.; Musick, M. D.; Natan, M. J.; *Langmuir* **1996**, *12*, 2353.
78. Mulvaney, S. P.; He, L.; Natan, M. J.; Keating, C. D.; *J. Raman Spectrosc.* **2003**, *34*, 163.
79. Oldenburg, S. J.; Jackson, J. B.; Westcott, S. L.; Halas, N. J.; *Appl. Phys. Lett.* **1999**, *75*, 2897.
80. Jackson, J. B.; Halas, N. J.; *J. Phys. Chem. B* **2001**, *105*, 2743.
81. Stöber, W.; Fink, A.; Bohn, E.; *J. Colloid Interface Sci.* **1968**, *26*, 62.
82. Jackson, J. B.; Westcott, S. L.; Hirsch, L. R.; West, J. L.; Halas, N. J.; *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *82*, 257.
83. Oldenburg, S. J.; Westcott, S. L.; Averitt, R. D.; Halas, N. J.; *J. Chem. Phys.* **1999**, *111*, 4729.
84. Sauer, G.; Brehm, G.; Schneider, S.; *J. Raman Spectrosc.* **2004**, *35*, 568.
85. Tsang, J. C.; Demuth, J. E.; Sanda, P. N.; Kirtley, J. R.; *Chem Phys. Lett.* **1980**, *76*, 54.
86. Mahoney, M. R.; Howard, M. W.; Cooney, R. P.; *Chem Phys. Lett.* **1980**, *71*, 59.
87. Otto, A.; *J. Raman Spectrosc.* **2002**, *33*, 593.
88. Kudelski, A.; Pettinger, B.; *Chem. Phys. Lett.* **2000**, *321*, 356.
89. Pettinger, B.; Picardi, G.; Schuster, R.; Ertl, G.; *Electrochemistry* **2000**, *68*, 942.
90. Pettinger, B.; Picardi, G.; Schuster, R.; Ertl, G.; *J. Electroanal. Chem.* **2003**, *554-555*, 293.
91. Pettinger, B.; Ren, B.; Picardi, G.; Schuster, R.; Ertl, G.; *Phys. Rev. Lett.* **2004**, *92*, 96101.
92. Watanabe, H.; Hayazawa, N.; Inouye, Y.; Kawata, S.; *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 5012.