



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA**

MATHEUS GOMES FERREIRA

**DESENVOLVIMENTO DE SENSOR SERS
ULTRASSENSÍVEL EXPLORANDO O
EFEITO DE FORMA DO SUBSTRATO
COMO FATOR DE INTENSIFICAÇÃO
DO ESPALHAMENTO RAMAN**

Campinas

2023

Matheus Gomes Ferreira

**Desenvolvimento de sensor SERS ultrassensível
explorando o efeito de forma do substrato como fator
de intensificação do espalhamento Raman**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Química na área de Química Inorgânica.

Orientador: Prof. Dr. Italo Odone Mazali

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA PELO ALUNO MATHEUS GOMES FERREIRA, E ORIENTADO PELO PROF. DR. ITALO ODONE MAZALI.

Campinas

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

F413d Ferreira, Matheus Gomes, 1994-
Desenvolvimento de sensor SERS ultrasensível explorando o efeito de forma do substrato como fator de intensificação do espalhamento Raman / Matheus Gomes Ferreira. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Italo Odone Mazali.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

1. Atrazina. 2. Espalhamento Raman intensificado por superfície. 3. Intensificação do espalhamento Raman induzido por forma. 4. Nanobastões de ouro. 5. Microcanais. I. Mazali, Italo Odone, 1972-. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. III. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Development of an ultrasensitive SERS sensor exploiting the substrate shape effect as a Raman scattering enhancement factor

Palavras-chave em inglês:

Atrazine

Surface-enhanced Raman scattering

Shape-induced enhanced Raman scattering

Gold nanorods

Microchannels

Área de concentração: Química Inorgânica

Titulação: Mestre em Química na área de Química Inorgânica

Banca examinadora:

Italo Odone Mazali [Orientador]

Rômulo Augusto Ando

Javier Erick Lobatón Villa

Data de defesa: 28-02-2023

Programa de Pós-Graduação: Química

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-1446-1671>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/9329679580013264>

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Italo Odone Mazali (Orientador)

Prof. Dr. Rômulo Augusto Ando (IQ- Universidade de São Paulo)

Prof. Dr. Javier Erick Lobatón Villa (IQ-Universidade Estadual de Campinas)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida pelo aluno **MATHEUS GOMES FERREIRA**, aprovada pela comissão julgadora em 28 de fevereiro de 2023.

DEDICATÓRIA

A todos que me acompanharam, apoiaram, incentivaram, contribuíram e torceram tanto para eu conseguir chegar ao fim de mais uma etapa da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Matheus Gomes Ferreira, por não desistir dos seus sonhos mesmo com todas as dificuldades encontradas ao longo do caminho, mesmo com todos os discursos desanimadores. Obrigado por vencer mais esse desafio.

Ao meu pai, pelo apoio e amor incondicional que tem por mim.

À minha mãe, por as vezes lembrar que sou seu filho e agir como deve.

Às minhas avós, tios e tias, primas, irmãos e padrinhos por todo apoio, todo amor e todo sentimento de orgulho, que foram sempre a minha fonte de força para não desistir de seguir meus objetivos.

Aos meus amados amigos, Bárbara, Lívia, Thiago, Tainara, Zazá, Tati, Andressa, Guto e Felipe (esse ainda tenho dúvidas), os quais nunca na vida eu viveria sem, obrigado por ainda me aturarem e me amarem, sei que não é fácil, mas cada um tem o que merece.

Aos professores que tive ao longo de toda minha vida, especialmente aqueles que ainda hoje me acompanham de perto, sempre torcendo pelo meu sucesso. Não estaria aqui se não fossem vocês.

Aos queridos amigos Francisco, Aglaer e Erick, por me receberem de coração aberto e por fazerem eu me sentir em casa. Obrigado por todos os momentos vividos, por todo o amor partilhado e todas as alegrias. Certo de que posso contar sempre com vocês, os carregarei para sempre em meu coração. Amo vocês.

Aos amigos do LMF, em especial a Nagyla, Deyse, Isabela, Gesiane, Airton e Sérgio. Muito obrigado por todos os momentos vividos dentro e fora do lab. Obrigado por me receberem tão bem. Obrigado por todos os momentos, felizes e tristes, que foram essenciais na construção da amizade sólida que temos hoje e teremos para sempre. Minha passagem por Campinas não seria a mesma sem a presença de vocês, nunca imaginei conhecer pessoas que sei que posso contar para toda a minha vida em tão pouco tempo.

Aos amigos Gláucia e João (chato demais). Muito obrigado por todos os momentos vividos, por toda amizade e por toda preocupação que sempre demonstraram. Vou sentir falta? Acho que só da Gláucia.

Ao Prof. Fernando Sigoli e as técnicas Milene e Laura, obrigado por todas as conversas e por tornar o ambiente de trabalho um lugar mais descontraído.

A Ane, por toda preocupação, amizade, cuidado e carinho, quase uma mãe! Obrigado por todo empenho em me ajudar a obter êxito na condução do projeto de pesquisa, certeza que sem você não teria feito a metade disso tudo.

Ao Prof. Ítalo Mazali, pela orientação, por me receber tão bem no grupo de pesquisa,

pelas conversas, pelos momentos de descontração que ultrapassam a vida acadêmica. Obrigado, principalmente, pela preocupação e dedicação em ajudar a manter o bem estar dos alunos ao longo dos anos de desenvolvimento dos projetos. Esse lado humano é o que ajuda a manter a motivação e a esperança ao entrar num curso de pós graduação.

Ao IQ-UNICAMP pela estrutura oferecida, crucial para o sucesso no desenvolvimento do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

Espectros Raman podem ser obtidos a partir do fenômeno de polarização eletrônica que ocorre nas moléculas quando expostas a uma radiação monocromática de frequência ν . Devido a baixa intensidade das bandas obtidas pelo Raman, diversas técnicas vêm sendo desenvolvidas a fim de superar as limitações de análise quando em baixas concentrações, tais como a de intensificação do espalhamento Raman induzido pela forma do substrato, (SIERS, do inglês *Shape-Induced Enhanced Raman Scattering*) e a técnica do Espalhamento Raman Intensificado por Superfície, (SERS, do inglês *Surface-enhanced Raman Scattering*). O efeito SIERS é proveniente da concentração do campo elétrico formado em cavidades fabricadas no substrato de silício através de processos de microfabricação e corrosão anisotrópica, bem como nas regiões vizinhas a essas cavidades. Esse efeito pode ser atribuído ao confinamento da radiação no interior dessas cavidades gerando um efeito construtivo do campo elétrico espalhado. A partir desse efeito, é possível obter espectros Raman intensificados para soluções de moléculas em diluições na faixa de mmol L^{-1} , com um aumento na intensidade Raman de 10x em relação a amostra na sua forma sólida. Neste trabalho, avaliamos a influência do efeito SIERS na obtenção de espectros Raman intensos para soluções de atrazina, na faixa de concentração de $10^{-4} - 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para a amostra preparada em água ultrapura. Adicionalmente, verificamos como o efeito SIERS combinado ao efeito SERS pode melhorar a detecção para menores concentrações da molécula de atrazina. Para isso, nanobastões de ouro (AuNRs) foram sintetizados e utilizados para gerar intensificação do campo eletromagnético a partir do acoplamento interpartículas. Os resultados demonstram que a combinação dos efeitos SIERS/SERS leva à detecção da atrazina em pmol L^{-1} , garantindo a alta repetibilidade de sinal durante a aquisição para um conjunto de 300 espectros na mesma amostra. Por fim, demonstramos a potencialidade da reutilização desses substratos de Si com microcanais em V após a remoção do analito e das nanoestruturas metálicas a partir de um protocolo de limpeza. Ressalta-se que a investigação do efeito SIERS para diferentes moléculas alvos e nanoestruturas metálicas é um tema recente e introduzido pelo grupo do Prof. Dr. Italo O. Mazali. A potencialidade tanto da reutilização dos substratos, quanto o efeito SIERS contribuindo para um maior efeito SERS é de grande interesse para a comunidade. Foram obtidos espectros intensificados para a atrazina nas regiões internas aos microcanais em V na faixa de concentração de $10^{-6} - 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$. O estudo realizado evidenciou tanto a superioridade do substrato de Si-V em comparação com um substrato de Si plano, considerando as mesmas condições de análise, quanto a influência direta no preparo da

amostra performado para atingir baixos níveis de detecção. Por fim, a possibilidade de reutilização dos substratos de Si-V fabricados como plataforma SERS após processos de limpeza o torna mais favorável em relação a outros substratos propostos na literatura.

ABSTRACT

Raman spectra can be obtained from the electronic polarization phenomenon, that occur in molecules when they are exposed to a monochromatic radiation of frequency ν . Due to the low intensity of the Raman peaks, many techniques have been developed to overcome its analysis limits when in low concentration conditions, like the one based on the Shape-Induced Enhanced Raman Scattering – SIERS effect and the Surface-enhanced Raman Scattering – SERS technique. The SIERS effect arise from the concentration of the electric field that are formed inside the cavities that are produced in the silicon substrate via microfabrication and anisotropic etching processes, as well as in the vicinity of these cavities. This effect can be attributed to the radiation confinement inside of such cavities, generating a constructive effect of the scattered electric field. From this effect it is possible to obtain intensified Raman spectra for diluted solutions in the range of mmol L^{-1} , with an increase of Raman intensity about 10x in comparison to the powder one. In this work, we evaluate the influence of SIERS effect in the obtention of intense Raman spectra for Atrazine solutions prepared in ultrapure water in the $10^{-4} - 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ range of concentration. In addition, we verified how the SIERS effect in combination with SERS effect can improve the detection of the atrazine molecule at lower concentrations. To that, gold nanorods (AuNRs) were synthesized and used to generate the enhancement of the electromagnetic field through interparticle coupling. The results showed that the combination of the SIERS/SERS effects leads to a pmol L^{-1} atrazine detection, ensuring the high repeatability of the signal during the acquisition for a set of 200 spectra at the same sample. Finally, we have demonstrated the reuse potentiality of these Si with V shaped microchannels substrates after removing protocol of the analytes and metallic nanostructures. Stands out that the SIERS effect investigation to different molecules and metallic nanostructures is a recently introduced theme by the Prof. Dr. Italo O. Mazali. The potential of both substrate reusability and SIERS effect contribution to a higher SERS effect is of great interest for the community. Intensified spectra were obtained to atrazine at both regions, inside and outside the V microchannel in the $10^{-7} - 10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ concentration range. The performed investigation has highlighted the superior performance of the Si-V substrate against the flat Si substrate under same analysis conditions. Adding to that, the sample preparation importance was also highlighted to achieve low limits of detection. Finally, the reusability of the produced Si-V as a SERS platform after performance of cleaning processes turn its use favorable in comparison to other types of substrates presented in the literature.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AuNRs	Nanobastões de ouro (<i>Gold nanorods</i>)
CNPEM	Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais
CTAB	Brometo de Hexadeciltrimetilamônio (<i>Cetyltrimethylammonium bromide</i>)
HOMO	Orbital molecular ocupado de mais alta energia (<i>Highest occupied molecular orbital</i>)
LNNano	Laboratório Nacional de Nanotecnologia
LSPR	Ressonância de Plasmon Localizada na Superfície (<i>Localized Surface Plasmon Resonance</i>)
LUMO	Orbital molecular desocupado de mais baixa energia (<i>Lowest unoccupied molecular orbital</i>)
MeOH	Metanol
NP(s)	Nanopartícula(s)
SEM	Microscopia Eletrônica de Varredura (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
SERS	Espalhamento Raman Intensificado por Superfície (<i>Surface Enhanced Raman Scattering</i>)
SIERS	Intensificação do Espalhamento Raman Induzido por Forma (<i>Shape-Induced Enhanced Raman Scattering</i>)
Si-V	Substrato de Silício com microcanal em “V”
TEM	Microscopia Eletrônica de Transmissão (<i>Transmission Electron Microscopy</i>)
UV-Vis	Ultra Violeta – Visível

LISTA DE SÍMBOLOS

ν_0	Frequência de oscilação inicial da radiação
ν	Frequência de oscilação da radiação
E_0	Amplitude do campo elétrico
t	Tempo
v	Nível vibracional molecular
S	Estado eletrônico do sistema
l	Nível rotacional molecular
μ	Momento de dipolo
E	Campo elétrico
$\vec{\mu}$	Vetor de momento de dipolo
$\hat{\alpha}$	Tensor de polarizabilidade
\vec{E}	Vetor do campo elétrico
q	Deslocamento em relação a posição de equilíbrio
$I(W)$	Intensidade da banda Raman
I_0	Densidade de fótons
σ_R	Seção de choque Raman da molécula
k	Constante eletrostática
q_1, q_2	Módulo das cargas envolvidas no processo
r	Distância / raio
\vec{r}	Vetor posição
F	Força coulombica
\vec{E}_2	Vetor do campo elétrico externo formado nas vizinhanças da nanopartícula
\vec{E}_0	Vetor de intensidade do campo elétrico da radiação incidente
d	Diâmetro
ϵ_1	Constante dielétrica da nanopartícula
ϵ_2	Constante dielétrica do meio externo no qual se encontra a nanopartícula

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de detecções obtidos para a molécula de atrazina e os respectivos substratos SERS utilizados

Tabela 2. Proporções dos componentes utilizados no preparo das amostras a serem depositadas na superfície dos substratos.

Tabela 3. Tentativa de atribuição dos modos vibracionais das bandas do espectro Raman da atrazina e do CTAB em pó.

Tabela 4. Quantidade de espectros obtidos e utilizados no cálculo dos valores de intensidade média para cada substrato em diferentes concentrações e solventes da atrazina.

Tabela 5. Valores de intensidade média obtidos para a banda em 961 cm^{-1} da atrazina considerando diferentes substratos e solventes sob o efeito SIERS.

Tabela 6. Valores de intensidade média obtidos para as análises SERS/SIERS nas regiões internas e externas aos microcanais.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fenômenos de espalhamento durante irradiação de luz monocromática de frequência ν sobre uma determinada amostra.

Figura 2. Representação dos níveis eletrônicos, (S_0 e S_1), vibracionais, ν_0 e ν_1 e rotacionais, l_0 e l_1 , que descrevem um sistema molecular genérico.

Figura 3. Fenômenos de fluorescência ocorrendo simultaneamente ao processo de espalhamento Raman.

Figura 4. Esquemática da geração de campos elétricos nas vizinhanças de nanoesferas de Au que atuarão na intensificação do espalhamento Raman.

Figura 5. Regiões de concentração de campo elétrico obtido pela interação com a radiação eletromagnética e intensificação SERS por mecanismo eletromagnético.

Figura 6. Esquemática do mecanismo químico de intensificação SERS.

Figura 7. Simulação de elemento finito do campo elétrico espalhado pela superfície de um substrato de Si (a) plano e (b) microcanal em “V”.

Figura 8. Estrutura molecular do herbicida Atrazina.

Figura 9. Procedimento esquemático da síntese dos Au NRs. (A) Síntese das sementes de Au que serão utilizadas na etapa (B) de crescimento dos Au NRs.

Figura 10. Procedimento de limpeza adotado para possibilitar a reutilização dos substratos em novos processos de detecção.

Figura 11. Ilustração esquemática do substrato de Si plano e Si-V suportado sobre a lâmina de vidro para deposição da mistura AuNRs + solução de Atrazina.

Figura 12. Preparação das telas de microscopia e obtenção das micrografias das NPs sintetizadas.

Figura 13. Espectros de extinção normalizados ($x = 401.0398254$ nm; $y = .2457912266$) da suspensão de AuNRs antes e após a etapa de lavagem (centrifugação), obtidos por UV-Vis

Figura 14. Histograma para distribuição de largura e comprimento médios dos AuNRs sintetizados.

Figura 15. (a - d) micrografias dos AuNRs obtidas por TEM, nas escalas de 100 e 200 nm.

Figura 16. Imagens confocal bi e tridimensionais obtidas ao longo do processo de corrosão anisotrópica por via úmida. Imagens dos canais sendo formados após 2 (a-b), 4 (c-d) e (e-f) 6 minutos de corrosão em solução KOH 40%, nos quais após 6 minutos é obtida uma abertura de $6,5 \mu\text{m}$ dos canais.

Figura 17. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - c) substratos 1-3, com

magnificações de 7.600x, 5.000x e 10.000x, respectivamente.

Figura 18. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - c) substratos 5-7, com magnificações de 5.010x (6) e 10.000x (5 e 7), respectivamente.

Figura 19. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - b) substratos 9 e 10 com magnificações de 10.000x.

Figura 20. Micrografias obtidas por SEM do substrato de Si-V. 4 após a realização da deposição de AuNRs com magnificações de (a) 1.000x , (b) 10.000x e (c) 120.000x, respectivamente.

Figura 21. Espectros Raman para o pó de CTAB (a) e atrazina (b), utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm e a grade de 600 μm .

Figura 22. Posição dos átomos considerados na atribuição dos modos vibracionais da atrazina.

Figura 23. Mapeamentos de espectros Raman para a molécula de atrazina na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-6} mol L⁻¹ para um conjunto de 15 espectros realizados no substrato liso de Si(4x4 mm) na ausência dos AuNRs. (a- c) espectros Raman para a molécula de atrazina utilizando metanol como solvente e suas respectivas imagens ópticas (d-f). Aquisição dos espectros Raman utilizando um laser de excitação de $\lambda = 633$ nm, grade de 600 μm e objetiva de 100xLWD.

Figura 24. Mapeamentos de espectros Raman para a molécula de atrazina na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-6} mol L⁻¹ para um conjunto de 15 espectros realizados no substrato liso de Si(4x4 mm) na ausência dos AuNRs. (a- c) espectros Raman para a molécula de atrazina utilizando água ultrapura como solvente e suas respectivas imagens ópticas (d-f). Aquisição dos espectros Raman utilizando um laser de excitação de $\lambda = 633$ nm, grade de 600 μm e objetiva de 100xLWD.

Figura 25. Média dos mapeamentos realizados nos substratos de Si planos (a-b) e no substrato de Si-V (c) sem a presença de AuNRs, na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-6} mol L⁻¹.

Figura 26. Mapeamentos SERS/SIERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) 10^{-7} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (b) 10^{-8} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (c) 10^{-9} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (d) 10^{-10} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (e) 10^{-11} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (f) 10^{-12} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10). As análises foram realizadas dentro do microcanal "A", utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 μm , 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.

Figura 27. Mapeamentos SERS/SIERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) 10^{-7} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (b) 10^{-8} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (c) 10^{-9} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (d) 10^{-10} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (e) 10^{-11} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (f) 10^{-12} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10). As análises foram realizadas nas superfícies externas aos microcanais, utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 μ m, 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.

Figura 28. Mapeamentos SERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) 10^{-7} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (b) 10^{-8} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (c) 10^{-9} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (d) 10^{-10} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10), (e) 10^{-11} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10), (f) 10^{-12} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs. As análises foram realizadas na superfície de um substrato de Si plano, utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 μ m, 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.

Figura 29. Valores da intensidade média dos espectros obtidos pelos mapeamentos em cada região do substrato, dentro (a) e fora (b) dos microcanais na faixa de concentração de 10^{-7} – 10^{-12} M.

Figura 30. Gráfico da intensidade média x concentração da solução analisada em termos dos diferentes substratos de Si (Si plano e Si-V) e as distintas regiões de análise.

Figura 31. Média do espectro Raman da atrazina obtida no substrato Si-V na ausência de AuNRs (vermelho) e média do espectro SERS/SIERS da atrazina (azul).

Figura 32. Micrografias obtidas por SEM do substrato de Si-V 1 após deposição dos AuNRs (a - b) e após realização do processo de limpeza para viabilizar sua reutilização (c - d).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	21
2.1. ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	21
2.2. ESPALHAMENTO RAMAN INTENSIFICADO POR SUPERFÍCIE (SERS).....	25
2.2.1. Mecanismo Eletromagnético.....	26
2.2.2. Mecanismo Químico.....	27
2.3. INTENSIFICAÇÃO DO ESPALHAMENTO RAMAN INDUZIDO POR FORMA (SIERS).....	29
2.4. ATRAZINA.....	30
3. OBJETIVOS.....	31
4. METODOLOGIA.....	32
4.1. SÍNTESE DOS NANOBASTÕES DE Au (AuNRs).....	32
4.2. OBTENÇÃO DOS SUBSTRATOS DE Si COM MICROCANAIS EM “V”.....	33
4.3. LIMPEZA DOS SUBSTRATOS PARA REUTILIZAÇÃO.....	33
4.4. PREPARO DOS SUBSTRATOS SERS.....	34
4.5. CARACTERIZAÇÃO.....	36
4.5.1. Nanobastões de Au (AuNRs).....	36
4.5.1.1. Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível.....	36
4.5.1.2. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM).....	37
4.5.2. Substratos de Si com microcanaís em “V”.....	37
4.5.2.1. Microscopia eletrônica de varredura (SEM).....	37
4.6. OBTENÇÃO DOS ESPECTROS SIERS/SERS.....	38
5. RESULTADOS.....	38
5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS AuNRs.....	38
5.2. SUBSTRATOS DE Si COM MICROCANAIS EM “V”.....	44
5.3. DETECÇÃO DE ATRAZINA.....	51
5.3.1. Atrazina.....	51
5.3.2. Reutilização dos substratos de Si-V.....	77
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	80
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
APÊNDICE.....	83

1. INTRODUÇÃO

Dentre os produtores agrícolas mundiais, o Brasil ocupa o 3º lugar na produção mundial de milho, chegando a marca de 100 milhões de toneladas produzidas, enquanto ocupa o 4º lugar em termos de produção de grãos, sendo o maior exportador desses alimentos (CANAL AGRO, 2022; EMBRAPA, 2022). O Brasil ainda é considerado um dos maiores usuários de herbicidas para o controle de praga, de modo a obter escalas produtivas cada vez maiores ao longo dos anos. Brevemente, os herbicidas são agentes químicos utilizados para o controle de crescimento de pragas e erva-daninha nas plantações, sendo estes classificados de acordo com sua natureza e mecanismo de ação, podendo ainda ser seletivos ou não a uma determinada plantação (CORREIA, 2018; LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Nesse sentido, a atrazina é um herbicida utilizado especificamente no controle de pragas em plantações de milhos, sendo o segundo herbicida mais utilizado no Brasil, embora seu uso seja proibido em diversos países da Europa (DE MORAES, 2019). Apesar do uso desses agentes serem favoráveis a obtenção de maiores produções, é estimado que uma grande parte do produto aplicado não atua de fato no seu real objetivo, levando à um aumento da concentração de herbicida nos solos e inúmeros sistemas aquáticos, sejam subterrâneos ou superficiais (AQUINO et al., 2013; CORREIA, 2018).

Estudos vêm apontando a presença de inúmeros agrotóxicos em alimentos consumidos em todo o país, bem como em solos e em ecossistemas aquáticos, sendo a causa principal do desenvolvimento de patologias pelos seres humanos e por outros seres vivos (JARDIM; ANDRADE; QUEIROZ, 2009; LOPES; ALBUQUERQUE, 2018). Essas patologias estão associadas à exposição contínua a essas substâncias e ao seu acúmulo nos organismos, levando a reações brandas como náuseas e dor de cabeça, até as mais severas como a má formação de fetos e até o aparecimento de células cancerígenas. Visto isso, é extremamente necessário o desenvolvimento e a utilização de técnicas que possibilitem de modo eficaz o controle da presença dessas substâncias nos alimentos, rios e solos, ainda que em baixas concentrações. Neste contexto, a técnica de espalhamento Raman intensificado por superfície (SERS, do inglês, *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*) vem sendo amplamente empregada no estudo da presença de substâncias em baixos níveis de concentração devido sua grande sensibilidade e possível seletividade. A ferramenta SERS tem como principal característica explorar as propriedades ópticas de nanoestruturas metálicas para promover a intensificação do espectro Raman das moléculas sob análise. Os espectros Raman são considerados a impressão digital das substâncias, uma vez que, as bandas presentes no espectro são específicas a cada grupo de ligações que constituem a estrutura molecular da espécie em análise (GÖKCE; BAHÇELI, 2013; JOHN; GEORGE, 2017). Entretanto, a utilização da espectroscopia Raman é pouco viabilizada

em amostras muito diluídas, cujo elevado grau de diluição acarreta numa diminuição expressiva da intensidade das bandas referentes aos modos vibracionais associados. Portanto, é essencial a investigação e utilização de metodologias que promovam a superação desses obstáculos tornando a técnica SERS uma ferramenta analítica consolidada (DING et al., 2017; LANGER et al., 2020; LE RU; ETCHEGOING, 2009). Nesse sentido, o presente trabalho visa explorar a técnica Raman para detecção de moléculas de atrazina utilizando substratos de silício (Si) com cavidades em formato V, afim de melhorar a intensificação do sinal Raman, bem como melhorar as funções plasmônicas de nanobastões de ouro (AuNRs, do inglês Gold Nanorods) para alcançar baixos limites de detecção da molécula de interesse.

2. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1. ESPECTROSCOPIA RAMAN

Espectros vibracionais Raman são obtidos a partir do fenômeno de polarização eletrônica que ocorre em moléculas quando estas são submetidas a irradiação de luz em determinadas regiões do espectro, ultravioleta (UV) ou UV-visível (NAKATOMO, 1986). Quando a luz monocromática de frequência ν é incidida sobre uma amostra, a componente do campo elétrico da radiação incidente interage com a amostra de modo a provocar um deslocamento na nuvem eletrônica da espécie sob análise, produzindo dois fenômenos de espalhamento da luz, espalhamentos Rayleigh e Raman (Stokes e Anti-Stokes), como ilustrado na Figura 1.

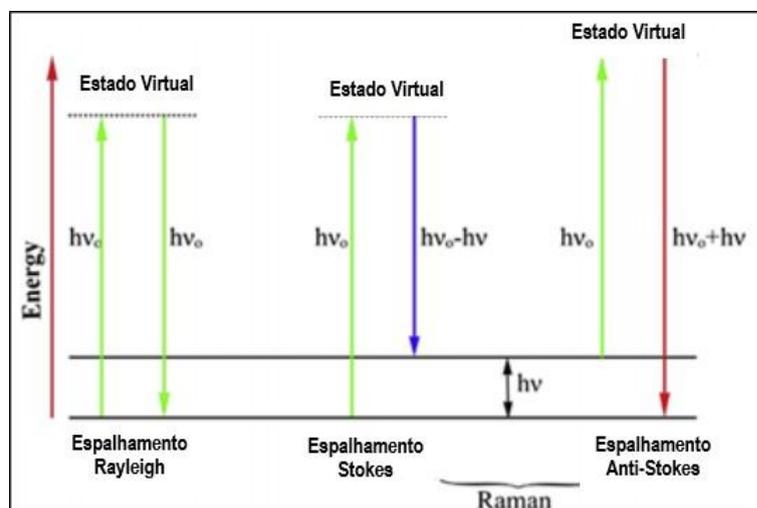


Figura 1. Fenômenos de espalhamento durante irradiação de luz monocromática de frequência ν sobre uma determinada amostra. Imagem adaptada de: (JOHN; GEORGE, 2017)

No espalhamento Rayleigh (elástico), ao ser exposto a radiação de frequência ν_0 , o sistema é excitado a um estado virtual, este representado por um contínuo de energia com contribuição dos níveis vibracionais e rotacionais presentes em um estado eletrônico (Figura 2), e a frequência da radiação espalhada pela amostra durante o processo de relaxação é igual a frequência da radiação incidente, ou seja, $\nu_0 = \nu$. No espalhamento Raman (inelástico), podendo ser Stokes ou Anti-Stokes, a frequência da radiação incidida sobre a amostra será diferente da frequência da radiação espalhada pela amostra durante o processo de relaxação do sistema. Quando $\nu_0 > \nu$, ou seja, a frequência do fóton espalhado é menor que a da radiação incidente, temos o espalhamento Stokes e, quando a frequência do fóton espalhado é maior que a da radiação incidente, $\nu_0 < \nu$, temos o espalhamento Anti-Stokes. Tal diferença de energia em relação ao fóton incidente é denominada como deslocamento Raman. As

diferenças entre as frequências obtidas no espalhamento Raman podem fornecer informações importantes acerca das características estruturais dos componentes da amostra analisada (JOHN; GEORGE, 2017; MCCREERY, 2000).

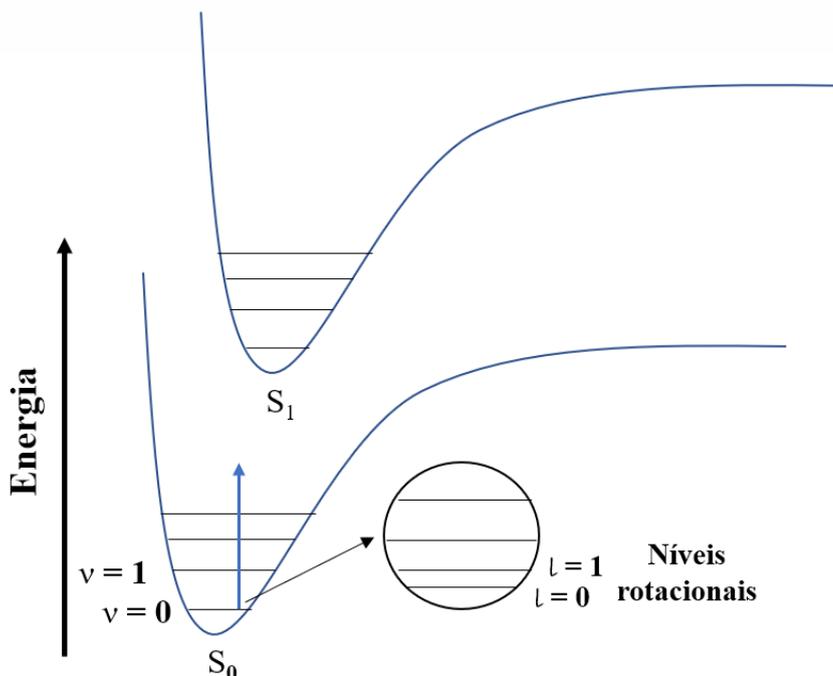


Figura 2. Representação dos níveis eletrônicos, (S_0 e S_1), vibracionais, v_0 e v_1 e rotacionais, l_0 e l_1 , que descrevem um sistema molecular genérico.

A amplitude (E_0) e a frequência (ν_0) da componente do campo elétrico da radiação podem ser obtidos a partir da Equação 1.

$$E = E_0 \cos(2 \pi \nu_0 t) \quad (1)$$

Quando essa componente do campo elétrico da radiação interage com a matéria, ocorre uma redistribuição de carga na estrutura da molécula, induzindo uma alteração em seu momento de dipolo (μ), traduzida na polarizabilidade (α) da espécie sob análise. Essa polarizabilidade da molécula corresponde ao fator de resposta que os elétrons apresentam ao serem expostos a um campo elétrico externo (LE RU; ETCHEGOING, 2009; LYON et al., 1998; NAKATOMO, 1986). O momento de dipolo induzido de uma espécie pode ser descrito a partir da Equação 2.

$$\vec{\mu} = \hat{\alpha} \vec{E} \quad (2)$$

Sendo $\vec{\mu}$ o vetor do momento de dipolo induzido por um campo elétrico externo aplicado sobre a espécie em análise, $\hat{\alpha}$ o tensor de polarizabilidade da molécula e \vec{E} a componente vetorial do campo elétrico externo aplicado. Antes de sofrer uma transição vibracional, os

átomos constituintes da molécula encontram-se em uma posição de equilíbrio $q = 0$, logo não há variação em sua polarizabilidade e, conseqüentemente, não há a geração de um dipolo induzido. Conforme os átomos da molécula experimentam a ação do campo elétrico externo a o deslocamento da nuvem eletrônica em relação a sua posição de equilíbrio podem vir a provocar transições vibracionais ativas no espectro Raman. A polarizabilidade pode ser expandida na Equação 3, de modo que fica explícita a sua dependência com a sua posição de equilíbrio na qual se encontra a molécula.

$$\alpha_{ij} = (\alpha_{ij})_{q=0} + \left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial q}\right)_{q=0} \times q + \dots \quad (3)$$

Se ao interagir com o campo elétrico externo aplicado os átomos deslocam-se de sua posição de equilíbrio a partir de uma transição vibracional, temos uma variação em sua polarizabilidade de modo que, respeitando a regra de seleção apresentada na Equação 4, o modo vibracional responsável pela transição em questão pode ser observado no espectro Raman da espécie em análise.

$$\left(\frac{\partial\alpha_{ij}}{\partial q}\right)_{q=0} \neq 0 \quad (4)$$

A espectroscopia Raman quando aplicada em processos de análise, encontra frequentemente algumas dificuldades, como a baixa intensidade referente aos processos de espalhamento e até a presença de fenômenos de fluorescência. O sinal correspondente ao processo de emissão por fluorescência da amostra pode apresentar intensidades maiores que os sinais dos espalhamentos Raman, devido a ocorrência de transições eletrônicas. Além disso, muitos processos de fluorescência podem ser excitados por lasers cujo valor de λ se encontra na região do visível, ainda que a espécie responsável pela aparição do efeito esteja em concentrações muito baixas. Portanto, a baixa intensidade provenientes do espalhamento Raman ainda é uma problemática a ser contornada. O fenômeno de fluorescência acompanhado simultaneamente do processo de espalhamento Raman é esquematicamente representado na Figura 3 (DE FARIA; AFONSO; EDWARDS, 2002; MCCREERY, 2000).

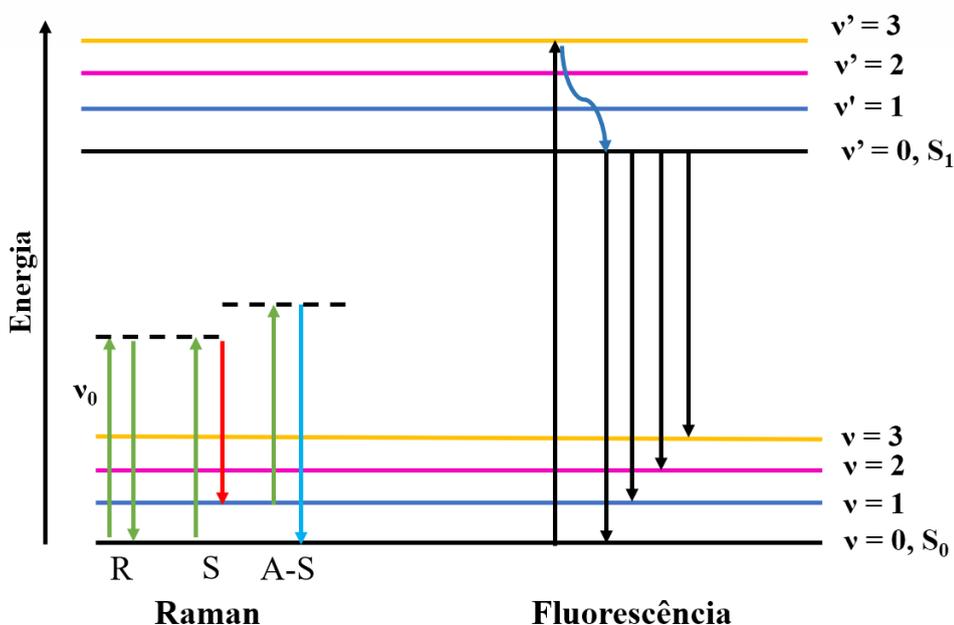


Figura 3. Fenômenos de fluorescência ocorrendo simultaneamente ao processo de espalhamento Raman.

A intensidade $I(W)$ da banda Raman referente a um dado modo vibracional pode ser obtida através da Equação 5. Tal medida se mostra proporcional à quantidade de fótons por unidade de tempo envolvidos no processo de espalhamento, sendo dependente tanto da densidade de fótons que estão sendo incididos sobre molécula, I_0 ($W m^{-2}$), quanto da seção de choque da molécula, σ_R (m^2), na qual a seção de choque representa a região da molécula que está interagindo efetivamente com os fótons incidentes. Visto isso, a dependência da constante de proporcionalidade σ_R na intensidade das bandas faz que elas sejam baixas, devido

geralmente as moléculas apresentarem um baixo valor de σ_R (LE RU; ETCHEGOING, 2009).

$$I = \sigma_R I_0 \quad (5)$$

2.2. ESPALHAMENTO RAMAN INTENSIFICADO POR SUPERFÍCIE (SERS)

O efeito SERS é capaz de intensificar o sinal Raman com um fator na ordem de 10^6 até 10^{14} , com alta sensibilidade e capacidade de detecção em regime *single molécule* para determinadas moléculas, aumentando assim a sensibilidade da técnica (FERRARO; NAKATOMO, 2003; JAIN et al., 2008; LYON et al., 1998). A Figura 4 esquematiza o processo de geração dos campos elétricos intensos nas vizinhanças de nanoesferas de Au.

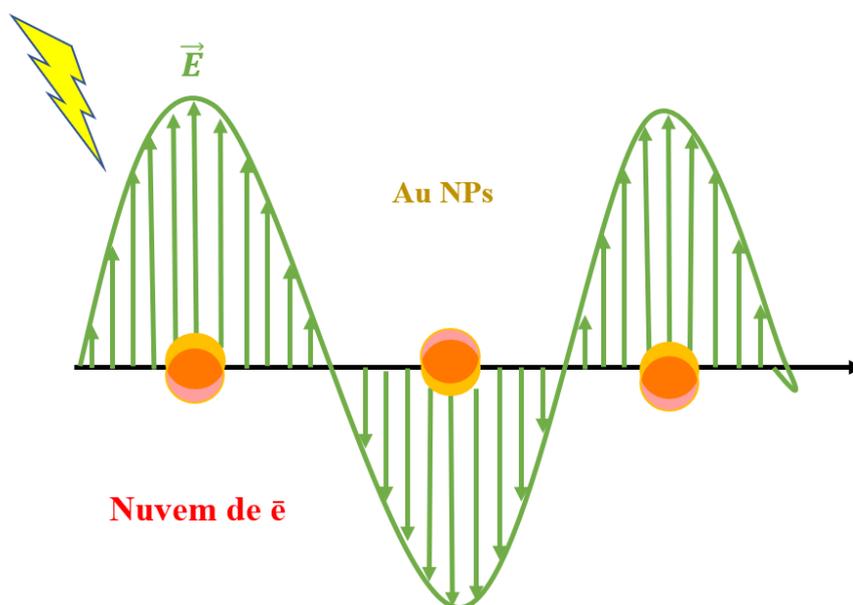


Figura 4. Esquemática da geração de campos elétricos nas vizinhanças de nanoesferas de Au que atuarão na intensificação do espalhamento Raman.

Quando a frequência da radiação incidente se iguala a frequência de oscilação natural dos plasmons de superfície das nanoestruturas metálicas, estas entram em ressonância de modo que os plasmons oscilam coerentemente a componente do campo elétrico da radiação incidente. O deslocamento de carga produzido na superfície das nanoestruturas metálicas gera regiões de dipolos elétricos, que através de processos de relaxação a partir da ação de uma força (F) coulombica restauradora (Equação 6), emitem fótons que se acoplam construtivamente com a radiação incidente. Temos a partir da Equação 6 a constante eletrostática k ($N \cdot m^2 / C^2$), o módulo das cargas envolvidas, q_1 e q_2 (C), e a distância entre elas, r (m). O acoplamento entre

o fóton emitido pelo dipolo e a radiação incidente favorece a geração de campos elétricos, cuja intensidade é superior a da radiação incidente em si. Esse efeito é também conhecido como ressonância de plasmon localizada da superfície (LSPR, do inglês *Localized Surface Plasmon Resonance*) (CHEN et al., 2013; JAIN et al., 2008; KELLY et al., 2003).

$$F = k \frac{|q_1||q_2|}{r^2} \quad (6)$$

Ao considerar um sistema no qual o diâmetro da nanopartícula possui dimensões muito inferiores ao tamanho do comprimento de onda da radiação incidente, $d \ll \lambda$, ou seja, um regime quasi estático, a intensidade do campo elétrico produzido nas vizinhanças de uma nanoesfera metálica (\vec{E}_2), pode ser obtida a partir da Equação 7, na qual \vec{E}_0 é a intensidade do campo elétrico da radiação incidente, r o raio da nanopartícula esférica e \vec{r} o vetor posição da carga em movimento.

$$\vec{E}_2 = \vec{E}_0 k \frac{3\vec{r}(\vec{\mu}\vec{r}) - \vec{\mu}\vec{r}}{r^5} \quad (7)$$

Logo, quanto maior for a intensidade do dipolo elétrico produzido pelo deslocamento de cargas na superfície da nanopartícula, descrito pela Equação 2, conseqüentemente, maior será a intensidade de campo elétrico produzido nas vizinhanças dessas nanoestruturas, levando a uma maior probabilidade de obtenção de espectros Raman intensificados. A intensificação por SERS de um modo geral pode ocorrer via dois mecanismos principais, eletromagnético e químico.

2.2.1. Mecanismo Eletromagnético

Uma vez que a intensificação SERS via mecanismo eletromagnético pode ser considerada para qualquer espécie, ou seja, independe das propriedades químicas da molécula, as maiores intensificações serão diretamente dependentes da posição da molécula em relação as regiões de concentração do campo elétrico nas vizinhanças da nanopartícula metálica. De encontro a isso, quanto maior a intensidade do campo elétrico gerado, maior será a quantidade de fótons espalhados pela molécula e, conseqüentemente, maior a intensidade das bandas referentes aos modos vibracionais envolvidos no processo. Visto isso, as maiores intensificações SERS são obtidas quando o analito se encontra nas regiões denominadas “*hot spots*”, como pode ser visto na Figura 5, identificada como a região 3 de obtenção dos espectros Raman (DING et al., 2017; LE RU; ETCHEGOING, 2009).

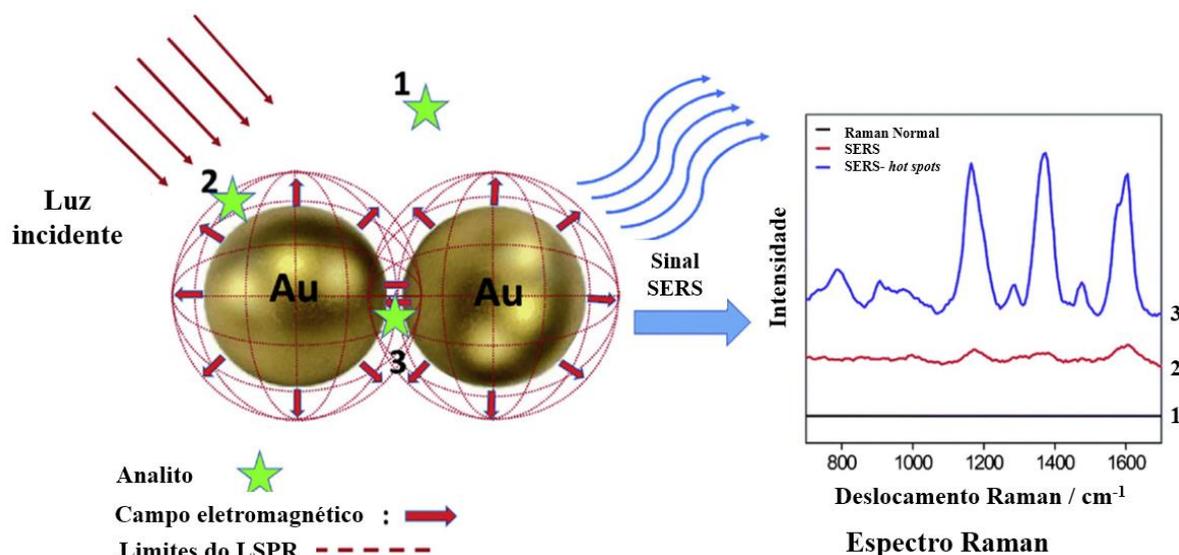


Figura 5. Regiões de concentração de campo elétrico obtido pela interação com a radiação eletromagnética e intensificação SERS por mecanismo eletromagnético. Imagem adaptada de: (JOHN; GEORGE, 2017)

2.2.2. Mecanismo Químico

De modo contrário ao mecanismo eletromagnético, a intensificação SERS via mecanismo químico apresenta dependência das propriedades químicas da molécula, essas que indicarão a capacidade de interação química com a superfície da nanopartícula utilizada como estrutura plasmônica. A intensificação SERS por mecanismo químico pode ser abordada considerando diferentes perspectivas. Seja a partir de uma mudança na distribuição de carga na molécula, ou seja, da sua polarizabilidade, como consequência da interação química com a espécie metálica, ou por processos de transferência de carga. As intensificações por processos de transferência de carga envolvem os orbitais HOMO e LUMO da molécula e a banda de valência ou condução da espécie metálica, quando estes apresentarem energias próximas, como esquematizado na Figura 6 (DING et al., 2017; LE RU; ETCHEGOING, 2009).

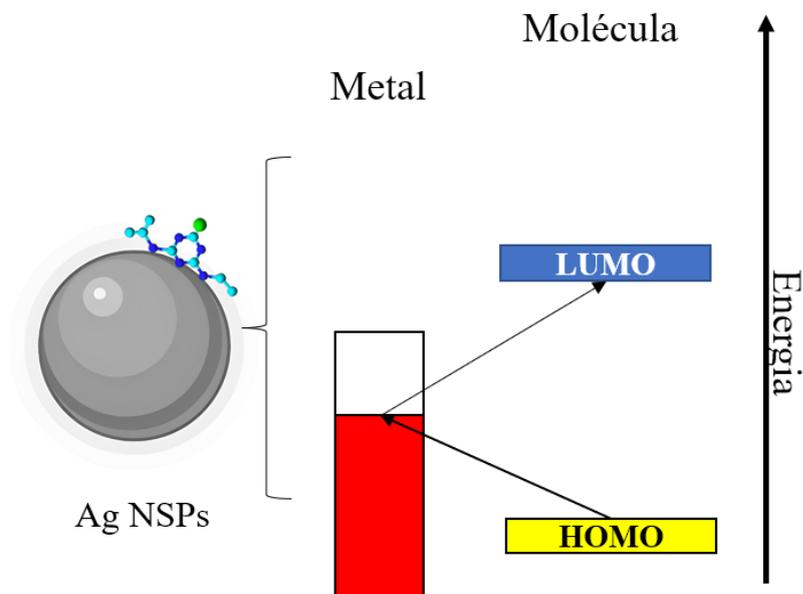


Figura 6. Esquematização do mecanismo químico de intensificação SERS.

Embora exista uma contribuição do mecanismo químico nas intensificações SERS em alguns sistemas, ainda é apresentado na literatura uma maior contribuição do mecanismo eletromagnético, sendo considerado um mecanismo universal. O grande desafio da técnica SERS utilizando o efeito LSPR é obter substratos com altasensibilidade e reprodutibilidade, bem como alcançar baixos limites de detecção de moléculas de interesse. Nesse sentido, diversas estratégias para fabricação e análises de substratos SERS são desenvolvidas na literatura (LIOU et al., 2017; NGO et al., 2013; QIU et al., 2017; RODRIGUEZ et al., 2014; YE et al., 2013; ZHANG, 2013), desde métodos tradicionais como a agregação de nanopartículas, até métodos mais sofisticados como a distribuição de partículas ao longo de canais, para adsorção de moléculas específicas, visando a obtenção de sensores de alta especificidade (ASHKAR et al., 2017; KATO et al., 2018; SUGIMOTO; YASHIMA; FUJII, 2018; WU et al., 2017).

Estudos recentes têm demonstrado que substratos com cavidades podem influenciar na intensificação do espalhamento Raman, através do efeito de intensificação do espalhamento Raman induzido por forma, SIERS (do inglês, *Shape-induced enhanced Raman scattering*) (BÄR et al., 2021). O efeito SIERS, foi introduzido pelo nosso grupo de pesquisa, e pode ser definido como a intensificação do sinal Raman a partir do confinamento da radiação e campo elétrico espalhado em cavidades de substratos de Si. A combinação do efeito SIERS com o

efeito SERS pode levar à um aumento na intensidade dos espectros Raman e SERS de 5 a 10x, conseqüentemente, levando a baixos limites de detecção. No tópico 2.3 discutimos com mais detalhe a contribuição do efeito SIERS.

2.3. INTENSIFICAÇÃO DO ESPALHAMENTO RAMAN INDUZIDO POR FORMA (SIERS)

O efeito SIERS fundamenta-se na intensificação do espalhamento Raman a partir da geração de regiões nas quais ocorrem a concentração do campo elétrico, mediante o espalhamento da radiação incidida sobre a superfície de microcanais em substrato de silício. A Figura 7 apresenta dados de simulação teórica de elementos finitos do campo elétrico espalhado nas proximidades dos microcanais para demonstrar o efeito do campo elétrico espalhado em substratos com microcanais na forma de V (BÄR et al., 2021).

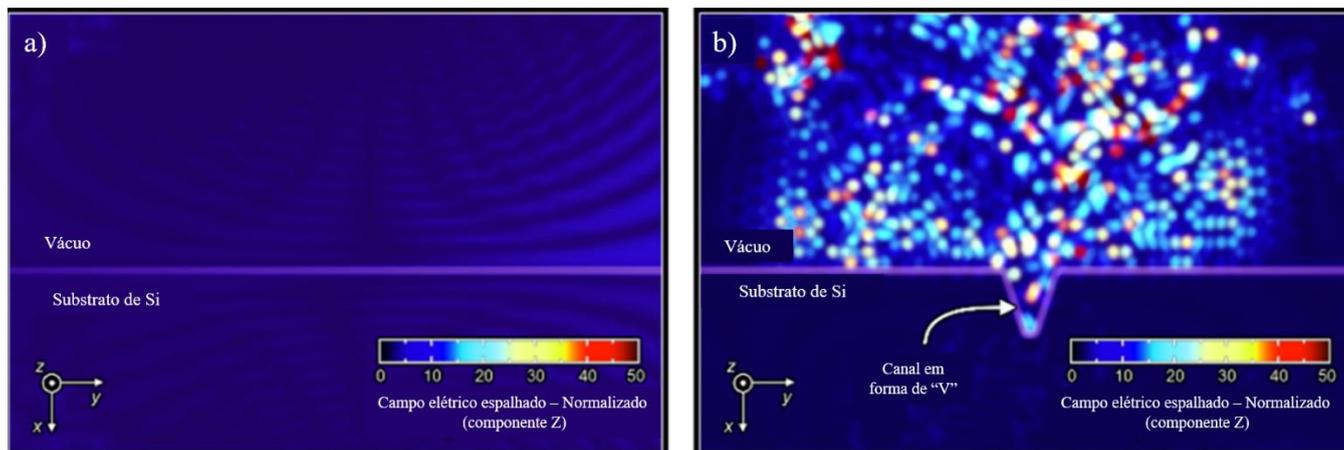


Figura 7. Simulação de elemento finito do campo elétrico espalhado pela superfície de um substrato de Si (a) plano e (b) microcanal em “V” com normalização realizada pela componente Z do campo. Imagem adaptada de: (BÄR et al., 2021)

Observa-se na Figura 7 que ao comparar a intensidade do campo elétrico espalhado por uma superfície de Si plana (Figura 7a) e a superfície do microcanal em “V” (Figura 7b) fica evidente a contribuição do formato do microcanal na obtenção dessas regiões de maior concentração do campo elétrico espalhado. Isso ocorre devido ao confinamento da radiação espalhada ao longo do microcanal, permitindo o acoplamento construtivo de fótons espalhados, bem como, o espalhamento da radiação em direções preferenciais proporcionada pelo formato em V. Além disso, considera-se ainda um efeito de quina gerado nas bordas desses microcanais que se estendem para a vizinhança, incluindo a parte plana superior do substrato entre os microcanais. Tal comportamento, entretanto, não é observado ao considerar

uma superfície completamente plana, visto que a radiação pode ser espalhada em todas as direções possíveis do substrato, diminuindo a probabilidade de acoplamento construtivo dos fótons espalhados. Portanto, investigações do efeito SIERS combinada ao efeito SERS torna-se interessante, uma vez que, há um ganho considerável na intensidade Raman gerada por um efeito que é independente da organização de nanoestruturas na superfície do substrato.

2.4. ATRAZINA

A atrazina é um composto químico da classe dos triazóis, que apresentam um anel triazínico em sua estrutura, ilustrada na Figura 8, utilizado como herbicida na prevenção do crescimento de ervas-daninha no ramo de plantações. A presença desse grupo na estrutura da molécula faz com que seu uso seja proibido em alguns países da união europeia, como Alemanha, Áustria, França, dentre outros. A proibição de uso desse composto nesses países se deve principalmente a dificuldade encontrada em promover a degradação da substância via processos químicos ou biológicos (BETHSASS; COLANGELO, 2006).

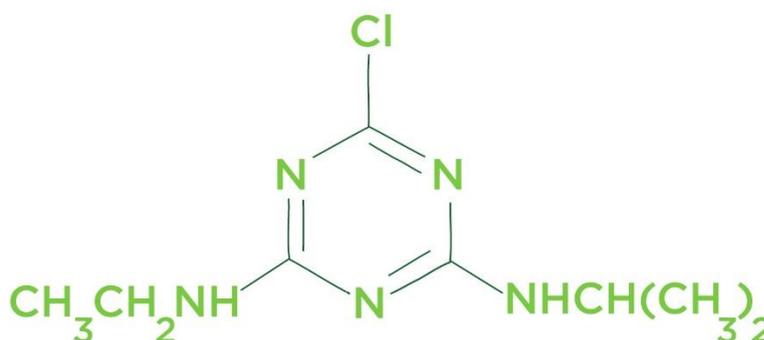


Figura 8. Estrutura molecular do herbicida Atrazina.

Substâncias com grupo triazóis em suas estruturas são conhecidas pelos efeitos adversos causados à saúde humana a partir do seu acúmulo, uma vez que, estas atuam como desreguladores endócrinos, levando ao crescimento de tumores, defeitos de formação em fetos, leucemia, dentre outras doenças (PATHAK; DIKSHIT, 2011). Visto isso, torna-se importante a investigação da presença dessa substância, assim como de inúmeros outros agentes anti-pragas, em diversos meios que possam levar os seres vivos a uma exposição contínua e favorável ao desenvolvimento de patologias prejudiciais à saúde. Nesse sentido, a fim de se realizar um controle sanitário mais rigoroso, a utilização de metodologias que sejam capazes de detectar tais substâncias em concentrações cada vez menores torna-se imprescindível como método de prevenção. A espectroscopia Raman baseada no efeito SERS é uma técnica

poderosa para detecção em baixos níveis de concentração, podendo chegar ao regime *single molecule* de detecção.

Resultados prévios apresentados na literatura indicam uma relação entre a forma com que a molécula se adsorve na superfície da nanoestrutura plasmônica com o perfil do espectro Raman/SERS obtido, podendo ser similar ou não com o perfil do espectro Raman da substância comercializada em pó (BONORA et al., 2013; COSTA et al., 2011). Visto isso, estruturas plasmônicas de morfologia e composições variadas, bem como substratos SERS variados vêm sendo empregados na detecção da substância em questão. A Tabela 1 apresenta alguns dos limites de detecção alcançados para a atrazina e seus respectivos meios de análise abordados na literatura.

Tabela 1. Valores de detecções obtidos para a molécula de atrazina e os respectivos substratos SERS utilizados.

Detecções alcançadas para Atrazina		
Concentração mínima detectada (mol L⁻¹)	Substrato SERS utilizado	Referência
10⁻¹²	Ag NPs coloidal	(RUBIRA et al., 2014)
10⁻⁷	AuNPs@Nanocelulose	(WEI et al., 2015)
10⁻¹⁰	Suspensão de NPs de Fe₃O₄@Au-Ag	(WEI et al., 2021)
10⁻⁴	AuNRs suportado em substrato de Si	(ALBARGHOUTH; MACMILLAN; BROSSEAU, 2021)

3. OBJETIVOS

O objetivo geral deste trabalho é investigar como o efeito SIERS combinado ao efeito SERS pode contribuir no desenvolvimento de plataformas SERS ultrasensíveis para detecção da molécula de atrazina em baixas concentrações. Para isso, utilizaremos substratos de Si com microcanais em formato de V (Si-V) obtidos através de processos de microfabricação e corrosão anisotrópica. A eficiência dos substratos com microcanais em V será avaliada através do efeito SIERS, na ausência de nanobastões de Au (AuNRs) e comparado com substratos de Si planos.

4. METODOLOGIA

4.1. SÍNTESE DOS NANOBASTÕES DE Au (AuNRs)

Os AuNRs foram obtidos de acordo com a metodologia descrita por *Xu et al.* (XU, D et al., 2014) cujo procedimento já é bem estabelecido no Laboratório de Materiais Funcionais - LMF. A Figura 9 ilustra esquematicamente as etapas envolvidas na síntese dos AuNRs.

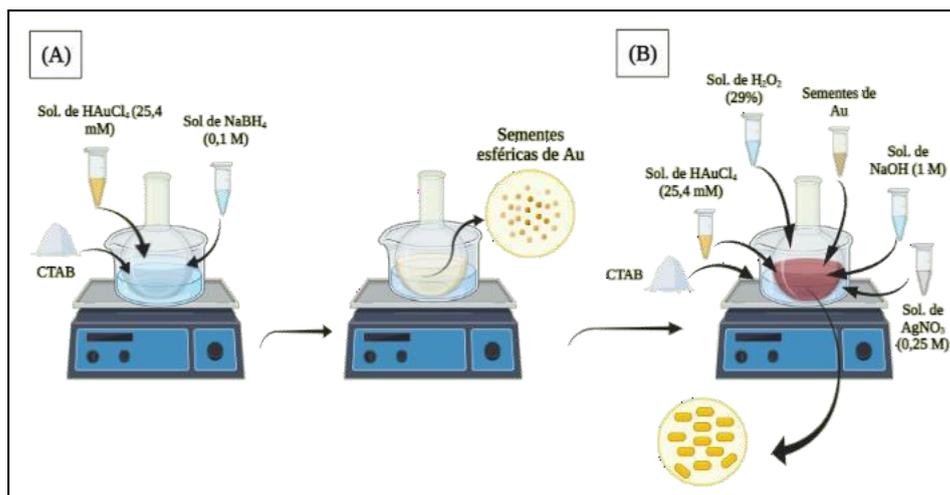


Figura 9. Procedimento esquemático da síntese dos Au NRs. (A) Síntese das sementes de Au que serão utilizadas na etapa (B) de crescimento dos Au NRs.

A síntese dos AuNRs é realizada em duas etapas, sendo mediada pelo crescimento de sementes esféricas de ouro como observado na Figura 4(a). Nesta etapa, é adicionado ao balão 0,1457 g de CTAB e 4 mL de água ultrapura, mantendo o sistema sob agitação em banho de água à ~28 °C até completa solubilização do CTAB. Na sequência, adicionou-se 40,5 µL da solução de HAuCl₄ (25,4 mmol L⁻¹) e 24 µL de uma solução de NaBH₄ (0,1 mol L⁻¹) previamente acondicionada em banho de gelo. A agitação foi interrompida após 2 min, mantendo em banho de água por 2 h à 28 °C. Na etapa de crescimento dos AuNRs, ilustrado na Figura (B), adicionou-se 3,644 g de CTAB e 100 mL de água ultrapura ao balão, sob agitação e banho de água à 28 °C. Após solubilização do CTAB, 40 µL da solução de AgNO₃ (0,25 mol L⁻¹) e 1968 µL da solução de HAuCl₄ (25,4 mmol L⁻¹) são adicionados ao balão. Em seguida, 330 µL da solução de NaOH (1 mol L⁻¹) e 56 µL da solução de H₂O₂ (29 % v/v) foram adicionados ao balão, mantendo a agitação por um período de 2 min. Após a adição desses dois últimos reagentes e o tempo de agitação mencionado, foram adicionados 300 µL da suspensão das sementes de Au, interrompendo a agitação após 1 min da adição. O sistema foi mantido em banho de água por 2 h sob aquecimento em banho de água. Por fim, a suspensão

coloidal de AuNRs foi lavada e centrifugada à 8000 rpm para remoção do excesso de CTAB e ressuspensa em água ultrapura para um volume total de 20 mL. Mais especificamente, a centrifugação seguiu as seguintes etapas: (i) foram realizadas 4 centrifugações por 1 h à 8000 rpm, sendo que para cada uma utilizaram-se 18 eppendorfs novos contendo a suspensão retirada diretamente do balão. (ii) Juntaram-se os corpos de fundo coletados nas lavagens 1 e 2, completando o volume de 2 mL com água ultrapura e centrifugando por 30 min a 8000 rpm. O mesmo procedimento foi realizado para os corpos de fundo coletados na centrifugação 3 e 4. (iii) Os corpos de fundo obtidos na etapa (ii), ou seja, centrifugados 1-2 e 3-4 foram concentrados em 18 eppendorfs e submetidos a uma nova centrifugação na mesma condição de rotação das etapas anteriores. (iv) Após a centrifugação da etapa (iii), os 18 eppendorfs foram reduzidos a 9, coletando os corpos de fundo presentes nos outros eppendorfs. O volume foi completado para 2 mL e centrifugado nas mesmas condições da etapa (iii). Esse procedimento foi repetido, reduzindo para 4 eppendorfs. (v) Após essa etapa, o material precipitado foi ressuspensa em água ultrapura para um volume total de 20 mL e armazenado em frasco âmbar. Ressalta-se que os sobrenadantes foram descartados ao fim de cada etapa de centrifugação.

4.2. OBTENÇÃO DOS SUBSTRATOS DE Si COM MICROCANAIS EM “V”

Microcanaís em formato de cunha V foram fabricados em substratos de Si (100) a partir de processos de microfabricação, fotolitografia e corrosão anisotrópica por via úmida e seca. Esses processos de microfabricação são realizados na sala limpa do Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano/CNPEM) em colaboração com o Prof. Dr. Carlos César Bof Bufon. O processo de microfabricação dos substratos em V foi detalhadamente descrito no trabalho publicado por Bär et al. (BÄR et al., 2021). Inicialmente foi fornecido pelo Prof. Dr. Bufon um total de 10 substratos para execução do projeto.

4.3. LIMPEZA DOS SUBSTRATOS PARA REUTILIZAÇÃO

Os substratos de Si plano e Si-V utilizados são submetidos a um processo de limpeza antes e após a deposição da amostra a ser analisada, garantindo a remoção de qualquer resíduo ou contaminante do processo de microfabricação (Si-V), bem como a remoção total das espécies presentes na amostra depositada em sua superfície para a realização da análise SERS. Para isso, um protocolo foi otimizado e estabelecido como descrito a seguir: (i) uma pré-

limpeza da superfície dos substratos de Si é realizada utilizando uma haste de algodão umedecida em acetona P.A., seguido da lavagem com água ultrapura em abundância. Novamente, uma haste de algodão é umedecida em álcool isopropílico e posteriormente, lavado com água ultrapura em abundância; (ii) nesta etapa os substratos são inseridos individualmente em uma solução de água-régia 3:1 v/v de HCl:HNO₃ utilizando um suporte para encaixar o substrato, conforme ilustrado na Figura 10(A). Posteriormente, lavados com água ultrapura em abundância; (iii) em seguida os substratos são imersos em uma solução piranha 4:1 v/v H₂SO₄ : H₂O₂ e deixados por um período de 30 min, como ilustrado na Figura 10(B), sendo, posteriormente, lavados com água ultrapura em abundância; (iv) os substratos são imersos em uma solução 1:1:3 v/v/v NH₄OH : H₂O₂ : H₂O sob aquecimento à 85°C por 20 min, como ilustrado na Figura 10(C). Posteriormente, os substratos são lavados com água ultrapura em abundância; (v) por fim, os substratos são imersos em uma solução 1:1:4 v/v/v HCl : H₂O₂ : H₂O e mantidos sob aquecimento à 85°C por 20 min, como ilustrado na figura 10(D). Por fim, os substratos são lavados com água ultrapura em abundância e secos com N₂.

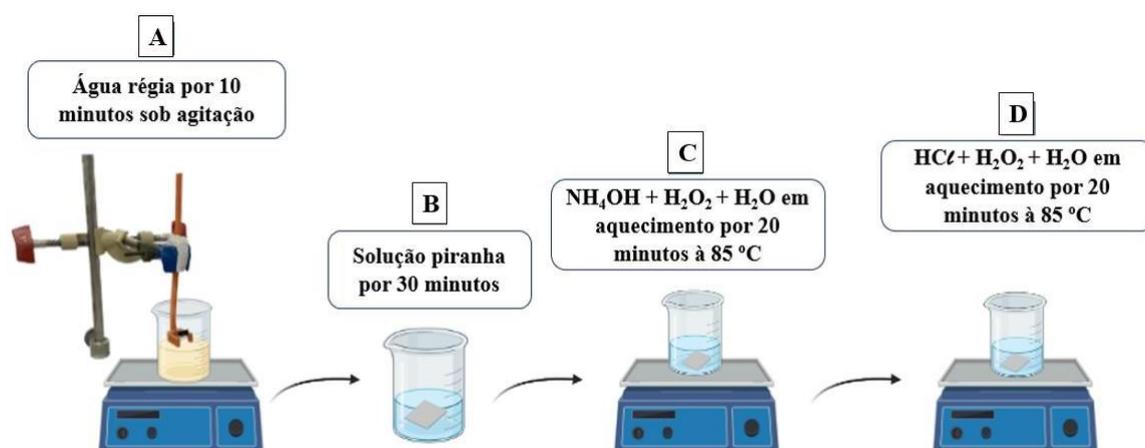


Figura 10. Procedimento de limpeza adotado para possibilitar a reutilização dos substratos em novos processos de detecção.

4.4. PREPARO DOS SUBSTRATOS SERS

Os substratos SERS Si-V e Si plano são preparados a partir da deposição da mistura (suspensão de AuNRs + solução de atrazina) em diferentes proporções conforme descrito na Tabela 2. Ressalta-se que uma solução estoque de atrazina de 10^{-3} mol L⁻¹ foi preparada em metanol, devido à baixa solubilidade da substância em água, seguido das diluições indicadas na Tabela 2 em metanol e/ou em água ultrapura. Após a mistura dos componentes da amostra, a mesma é devidamente homogeneizada e mantida em incubação por 30 min no eppendorf, sob

condições de abrigo da luz antes de ser depositada na superfície do substrato de Si-V.

Tabela 2. Proporções dos componentes utilizados no preparo das amostras a serem depositadas na superfície dos substratos.

[Atrazina] [mol L ⁻¹]	Suspensão de Au NRs (%)	Água Mili-Q (%)	Solução de Atrazina em MeOH (%)	Solução de Atrazina em H ₂ O (%)
10 ⁻⁷ -10 ⁻⁸			4	0
10 ⁻⁹	1	1	2	2
10 ⁻¹⁰ -10 ⁻¹²			1.5	2.5

A deposição da amostra contendo a mistura AuNRs + atrazina foi realizada conforme o procedimento esquematicamente ilustrado na Figura 11. Mais especificamente, o substrato de Si com e sem microcanal V é suportado sob uma lâmina de vidro para obter uma inclinação de aproximadamente 5°. A inclinação do substrato é necessária para ocorrer o escoamento da mistura AuNRs + atrazina no interior do canal por capilaridade. Para deposição da mistura AuNRs + atrazina, uma alíquota de 10 µL é gotejada no centro do substrato até a secagem espontânea em condições de temperatura ambiente. O procedimento de deposição é repetido mais 5 vezes, totalizando 60 µL da mistura AuNRs+ Atrazina depositados sobre os substratos de Si. Ressalta-se que a cada alíquota gotejada o substrato é invertido em 180° para promover uma deposição mais homogênea dos AuNRs + atrazina ao longo dos microcanais V.

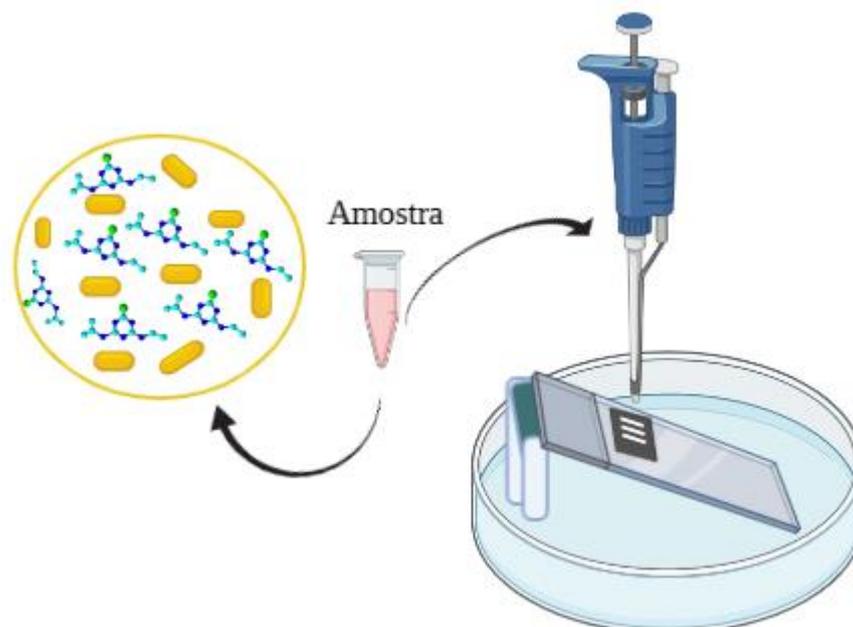


Figura 11. Ilustração esquemática do substrato de Si plano e Si-V suportado sobre a lamina de vidro para deposição da mistura Au NRs + solução de Atrazina.

Além dos substratos SERS foram preparados substratos de Si planos e Si-V com atrazina sem a adição de AuNRs para verificar a presença do efeito SIERS na intensificação do espectro Raman da molécula. Os substratos de Si-V e Si plano com atrazina foram preparados conforme ilustrado no procedimento da Figura 11, sendo depositados um total de 40 μL da solução de atrazina na superfície do substrato.

4.5. CARACTERIZAÇÃO

4.5.1. Nanobastões de Au (AuNRs)

4.5.1.1. Espectroscopia eletrônica na região do UV-Visível

A formação dos AuNRs foi avaliada qualitativamente através dos espectros de extinção da solução coloidal dos AuNRs, característicos de nanoestruturas metálicas. Para isso, a suspensão coloidal de AuNRs foi diluída em um fator de 8x em água ultrapura e analisadas por espectroscopia na região do Ultravioleta-Visível, utilizando um espectrômetro Cary 50, na faixa espectral de 200 - 1100 nm.

4.5.1.2. Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

A morfologia dos AuNRs, bem como a homogeneidade e distribuição de tamanho dos mesmos foram avaliadas por microscopia eletrônica de transmissão (TEM, do inglês *Transmission electronic microscopy*). Imagens de microscopia foram obtidas em um microscópio eletrônico de transmissão Libra-Zeiss, operando em voltagem de aceleração de 120 kV com um filamento de tungstênio. A Figura 12 ilustra o processo de preparação das telas de microscopia para obtenção das micrografias das NPs sintetizadas, no qual 10 μ L da suspensão coloidal concentrada de AuNRs foram gotejados em uma grade de cobre revestida de carbono de alta resolução, deixando-a secar em temperatura ambiente. A partir da obtenção das micrografias, as distribuições de tamanhos médios das nanopartículas foram estimadas através do software ImageJ, com mínimo de 500 partículas..

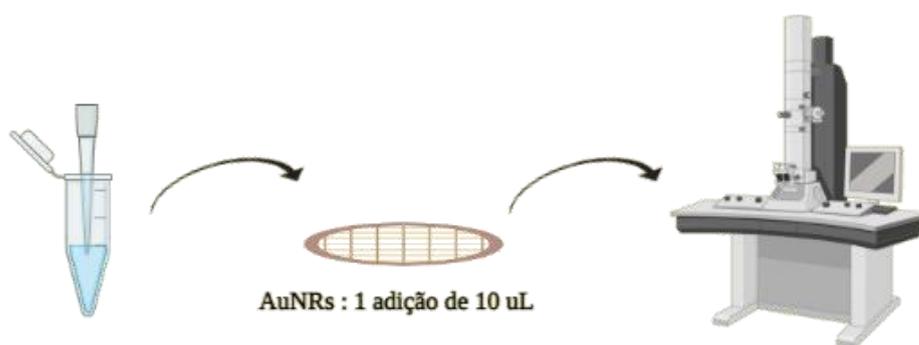


Figura 12. Preparação das telas de microscopia e obtenção das micrografias das NPs sintetizadas.

4.5.2. Substratos de Si com microcanais em “V”

4.5.2.1. Microscopia eletrônica de varredura (SEM)

A qualidade dos substratos de Si-V, bem como a deposição dos AuNRs no interior dos microcanais, foram caracterizadas a partir da microscopia eletrônica de varredura (SEM, do inglês *Scanning Electron Microscopy*), utilizando um microscópio eletrônico de varredura modelo Quanta FEG 250, operando em voltagem de aceleração de 20 kV com um filamento de tungstênio. Os substratos de Si foram fixados em *stubs* metálicos, previamente limpos e polidos que são colocados no suporte presente na câmara de detecção.

4.6. OBTENÇÃO DOS ESPECTROS SIERS/SERS

Para cada concentração do analito de interesse, um novo substrato de Si (plano e Si-V) com e sem AuNRs é preparado. A avaliação do efeito SIERS na ausência de AuNRs é realizada através da espectroscopia Raman, utilizando um espectrômetro confocal Raman Horiba Jobin Yvon T64000. Os espectros foram coletados no modo de mapeamento utilizando um laser de $\lambda = 633 \text{ nm}$, na região de $400 - 1700 \text{ cm}^{-1}$, utilizando a grade de $600 \text{ ranhuras/mm}^2$, com um tempo de exposição de 20 s, acumulação de 1 espectro, objetiva de 100xLWD para a análise nos substratos de Si planos, e objetiva de 50xLWD para os substratos Si-V, sendo essas as condições de análise otimizadas para cada substrato. A performance dos substratos SERS foram avaliadas utilizando o mesmo espectrômetro Raman, sendo os espectros coletados no modo de mapeamento utilizando um laser de $\lambda = 633 \text{ nm}$, na região de $400 - 1700 \text{ cm}^{-1}$, com um tempo de exposição de 20 s, acumulação de 1 espectro e objetiva de 10x, sendo essas as condições otimizadas para o substrato em questão. Adicionalmente, os sólidos puros de atrazina e CTAB foram analisados a fim de identificar as bandas características de cada espécie.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERIZAÇÃO DOS Au NRs

Na obtenção dos AuNRs, cada reagente utilizado apresenta um papel importante em termos de viabilização da formação da morfologia de interesse.

Em ambas as etapas, A (crescimento das sementes esféricas) e B (crescimento dos bastões), ilustradas na Figura 9, o HAuCl_4 foi utilizado como agente precursor, responsável por fornecer as espécies de Au^{3+} . A presença do CTAB em ambas as etapas faz com que ocorra a formação de um complexo entre o sal do precursor (HAuCl_4^- ou HAuBr_4^-) e o contra-íon CTA^+ , promovendo uma diminuição no potencial de redução das espécies iônicas de Au (Au^{3+} e Au^+) envolvidas no crescimento do bastão. A diminuição do potencial de redução dessas espécies é importante devido a necessidade de se utilizar agentes redutores fracos, de modo a prevenir a formação de muitos núcleos de Au^0 , o que desfavoreceria o crescimento anisotrópico da nanopartícula, especialmente na etapa B. Além da redução do potencial redox, o CTAB atua tanto na estabilização da suspensão coloidal quanto na orientação do crescimento anisotrópico, a partir do bloqueio de faces da semente esférica, favorecendo a deposição do Au^0 em direções específicas. Na etapa A, o NaBH_4 é o agente redutor utilizado

enquanto que na etapa B, o H_2O_2 foi utilizado como agente redutor. Ao utilizar o H_2O_2 (etapa B) como agente redutor, faz-se necessária a adição da solução de NaOH de modo que a elevação do pH do meio, próxima a 11, favoreça a ação redutora do peróxido, uma vez que em valores de pH mais baixos o reagente atuaria na oxidação da espécie Au^0 , levando a uma diminuição na razão de aspecto dos NRs. Por fim, os íons Ag^+ introduzidos pelo sal AgNO_3 podem vir a atuar no bloqueio seletivo de faces da semente ao formar o complexo $\text{Ag}[\text{CTAB}]_2$, orientando assim a região de deposição do Au reduzido, o que apresenta influência direta no perfil das pontas do nanobastão obtido (SCARABELLI et al., 2015; XU et al., 2014).

A Figura 13 ilustra os espectros de extinção normalizados da suspensão coloidal dos AuNRs, obtidos na região do UV-Visível antes e após o processo de centrifugação. Os espectros não normalizados obtidos em ambas as etapas encontram-se na Figura A1 do apêndice.

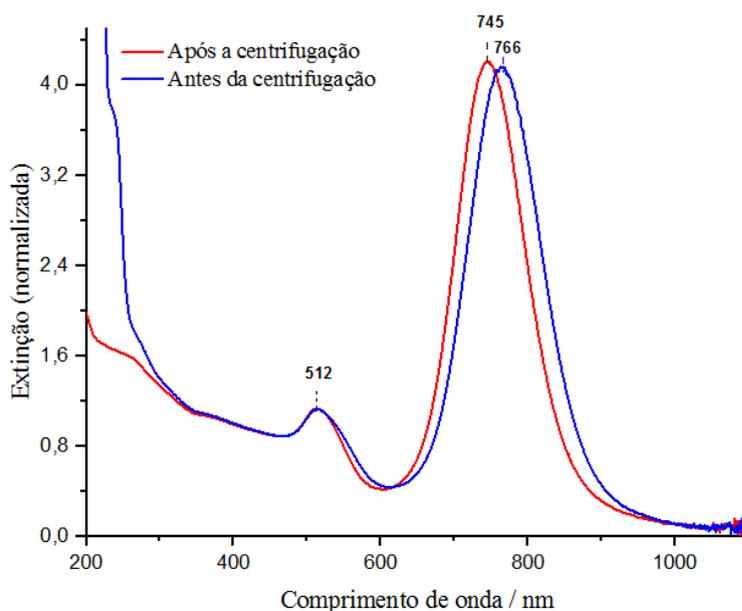


Figura 13. Espectros de extinção normalizados ($x = 401.0398254$ nm; $y = 0.2457912266$) da suspensão de AuNRs antes e após a etapa de lavagem, obtidos por UV-Vis.

Ao analisar os espectros de extinção da Figura 13 é possível inferir que os AuNRs foram eficientemente obtidos a partir do protocolo de síntese estabelecido. A formação dos AuNRs é caracterizada pela presença de duas bandas de excitação dos plasmons para essa morfologia. A banda em 512 nm é referente ao plasmon que se propaga de forma transversal a estrutura dos AuNRs, enquanto as bandas observadas em 766 e 745 nm, são referentes aos plasmons que se propagam longitudinalmente a estrutura dos AuNRs. Após o procedimento de

centrifugação percebe-se que a banda plasmon em 766 nm é deslocada para menores valores de comprimentos de onda (blue shift), 745 nm. Isso ocorre devido a remoção de partículas com distintas morfologias e distintos valores de razão de aspecto através do sobrenadante no processo de centrifugação.

Embora a posição da banda plasmon longitudinal obtida para o sistema em suspensão seja em 745 nm, o que justificaria a utilização de um laser com $\lambda = 785$ nm, tal posição sofrerá influência tanto da constante dielétrica do material, ϵ_1 , quanto da constante dielétrica do meio ao qual se encontra a nanopartícula, ϵ_2 , além de outros fatores como o tamanho e a morfologia da nanopartícula considerada. Com base nisso, a escolha do laser a ser utilizado pode variar de acordo com o meio no qual a estrutura plasmônica se encontra. Nesse sentido, no trabalho realizado por De Barros e colaboradores (DE BARROS et al., 2020), foram realizados cálculos teóricos a fim de se caracterizar as propriedades ópticas de AuNRs em diferentes condições de meio, em água e no ar, sobre uma superfície dielétrica de Si. A partir disso, foi observado que a troca do meio dielétrico, ar ou água, bem como o modo de agregação dos AuNRs, provocava um alargamento e um deslocamento da banda, anteriormente em 745 nm, para menores valores de comprimento de onda. Tal observação indica uma abrangência da região do espectro próxima a 633 nm pela banda plasmon, possibilitando assim a utilização do laser com $\lambda = 633$ nm nas análises SERS. Desse modo, justifica-se a partir dos dados observados no trabalho de (DE BARROS et al., 2020) a utilização do laser com $\lambda = 633$ nm na obtenção dos espectros Raman e SERS/SIERS para os sistemas apresentados no item 4.4.

Os espectros de extinção para a suspensão coloidal de AuNRs foram normalizados a partir da absorção em 400 nm, uma vez que, nessa região ocorrem as transições interbandas do Au⁰. Nessa posição, a intensidade da absorção é dependente da quantidade de Au em sua forma metálica, ou seja, em sua forma reduzida, como descrito na literatura por Scarabelli et al. (SCARABELLI et al., 2015). Após normalização do espectro é possível determinar a concentração de [Au⁰] na suspensão coloidal de AuNRs, indicando a quantidade de Au³⁺ reduzido no processo de crescimento dos AuNRs. A determinação, descrita na literatura (SCARABELLI et al., 2015) consiste em fazer uma relação entre um valor de absorção em 400 nm igual à 1,2 para uma concentração de 0,5 mmol L⁻¹ de Au⁰ e o valor de absorção obtido experimentalmente, após o processo de normalização, para assim encontrar o valor de [Au⁰], como descrito pela Equação 8.

$$Abs = 1,2 - [Au^0] = 0,50mmol L^{-1} \quad (8)$$

O valor obtido do espectro na Figura 9 foi de 1,01 após normalização da curva em 400 nm, logo, é possível determinar que:

$$[Au^0] = \frac{1,01 \times 0,5}{1,2} = 0,42 \text{ mmol L}^{-1}$$

Portanto, a concentração final de Au⁰ foi de 0,42 mmol L⁻¹ muito próximo ao valor teórico obtido por Scabarelli et al. (SCARABELLI et al., 2015) indicando a eficiência do protocolo de síntese estabelecido.

Com o objetivo de avaliar a estabilidade da suspensão coloidal de AuNRs ao longo do tempo, foram obtidos os espectros UV-Vis de outra suspensão de AuNRs em momentos diferentes e, a partir dos espectros, foram calculados os valores de [Au⁰]. Os espectros UV-Vis bem como os cálculos de [Au⁰] estão apresentados na Figura A1 do Apêndice. Com base nos resultados observou-se que, após 5 meses, o perfil do espectro de extinção para a suspensão continuava semelhante ao medido após a síntese dos AuNRs. Entretanto, foi observado também que a banda em 721 nm apresentou um alargamento, podendo indicar a formação de agregados das nanopartículas ao longo do tempo, agregados esses que podem influenciar negativamente na obtenção dos espectros SERS. Embora tenha sido observado o alargamento da banda, a partir dos cálculos realizados, pôde-se concluir que não houve perda de Au⁰ por possíveis processos oxidativos no meio ao longo do tempo.

As Figuras 14 e 15 ilustram o histograma com a distribuição das dimensões médias dos AuNRs, bem como as micrografias obtidas por TEM utilizadas na estimativa dessas dimensões, respectivamente.

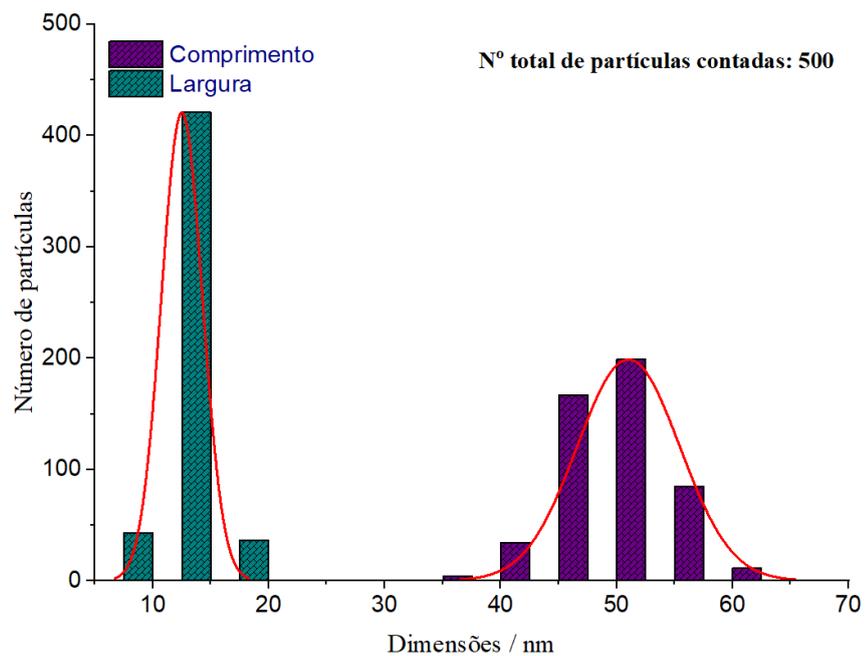


Figura 14. Histograma para distribuição de largura e comprimento médios dos AuNRs sintetizados.

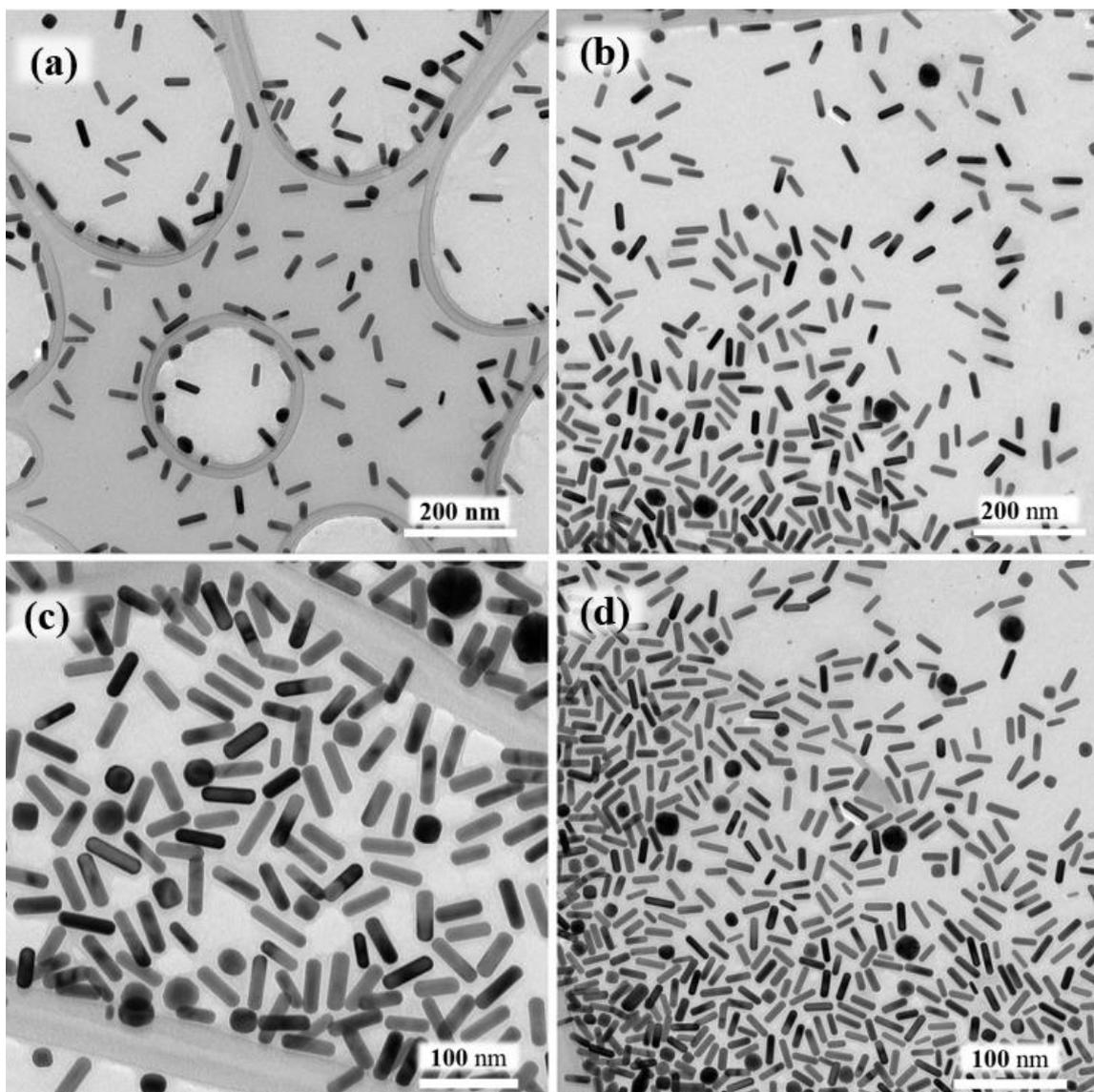


Figura 15. (a-d) micrografias dos AuNRs obtidas por TEM, nas escalas de 100 e 200 nm.

A partir das micrografias apresentadas na Figura 15(a-d), é possível verificar que as nanopartículas sintetizadas apresentaram elevado grau de pureza morfológica. Analisando qualitativamente essas micrografias, podemos ainda inferir que em média os bastões apresentam pouca variação nas dimensões de largura e comprimento. Tal distribuição média se traduz no histograma ilustrado na Figura 14, no qual é possível verificar uma distribuição de tamanho bem estreita, indicando uma excelente homogeneidade para a distribuição de largura e comprimento dos Au NRs. O comprimento médio dos AuNRs calculado a partir do histograma foi de 51 ± 4 nm e o diâmetro médio é de 12.5 ± 1.8 nm. Portanto, a partir das micrografias são observadas as características relacionadas à morfologia desejada para os AuNRs serem aplicados na fabricação de substratos SERS.

5.2. SUBSTRATOS DE Si COM MICROCANAIS EM “V”

Os substratos Si-V foram previamente caracterizados através da microscopia confocal após fabricação por processo de corrosão anisotrópica, como ilustrado na Figura 15. Ressalta-se que estas etapas de corrosão e caracterização foram realizadas no CNPEM/LNNano pela Dra. Anerise de Barros Riul, sendo a etapa anterior de microfabricação realizada pelo técnico Davi H. S. Camargo.

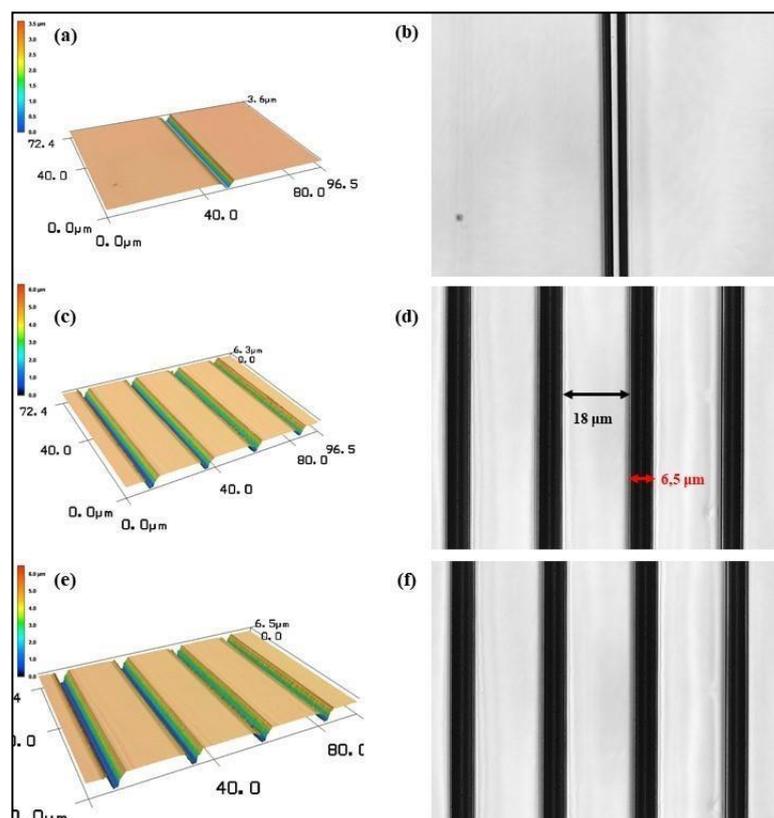
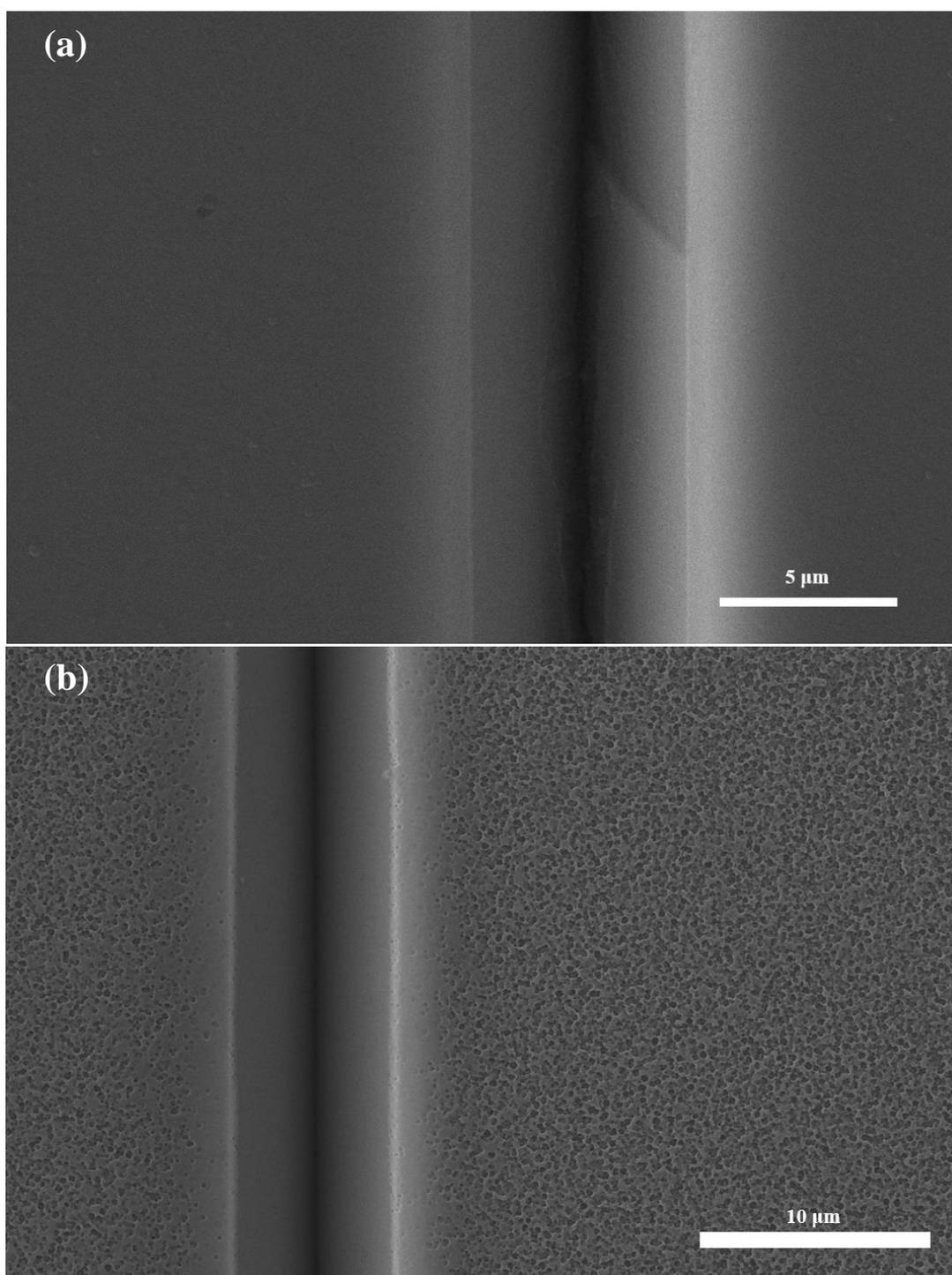


Figura 16. Imagens confocal bi e tridimensionais obtidas ao longo do processo de corrosão anisotrópica por via úmida. Imagens dos canais sendo formados após 2 (a-b), 4 (c-d) e (e-f) 6 minutos de corrosão em solução KOH 40%, nos quais após 6 min é obtida uma abertura de 6,5 μm dos canais.

Observa-se na Figura 16 que ao longo do processo de corrosão anisotrópica por via úmida, os canais formados apresentam perfis uniformes em relação as suas dimensões de profundidade, abertura (6.5 μm) e espaçamento entre os canais (18 μm). Observa-se ainda a planaridade das paredes internas dos canais após 6 min em corrosão, característica importante para o substrato SERS. A não obtenção destas características implicam na presença de imperfeições e irregularidades, que influenciam diretamente em condições de má deposição dos AuNRs, conseqüentemente diminuindo a qualidade dos substratos SERS para análise da molécula de interesse.

Portanto, para melhor caracterização dos substratos de Si com microcanais, os mesmos foram submetidos a caracterização por SEM, a fim de avaliar a qualidade, bem como a presença de imperfeições não verificadas pela microscopia confocal que possam influenciar na deposição dos AuNRs, ou na intensificação do sinal Raman através do efeito SIERS. As Figuras 17-19 ilustram as micrografias obtidas por SEM de 8 dos 10 substratos de Si-V obtidos, nas quais é possível visualizar a qualidade das superfícies interna e externa aos canais.



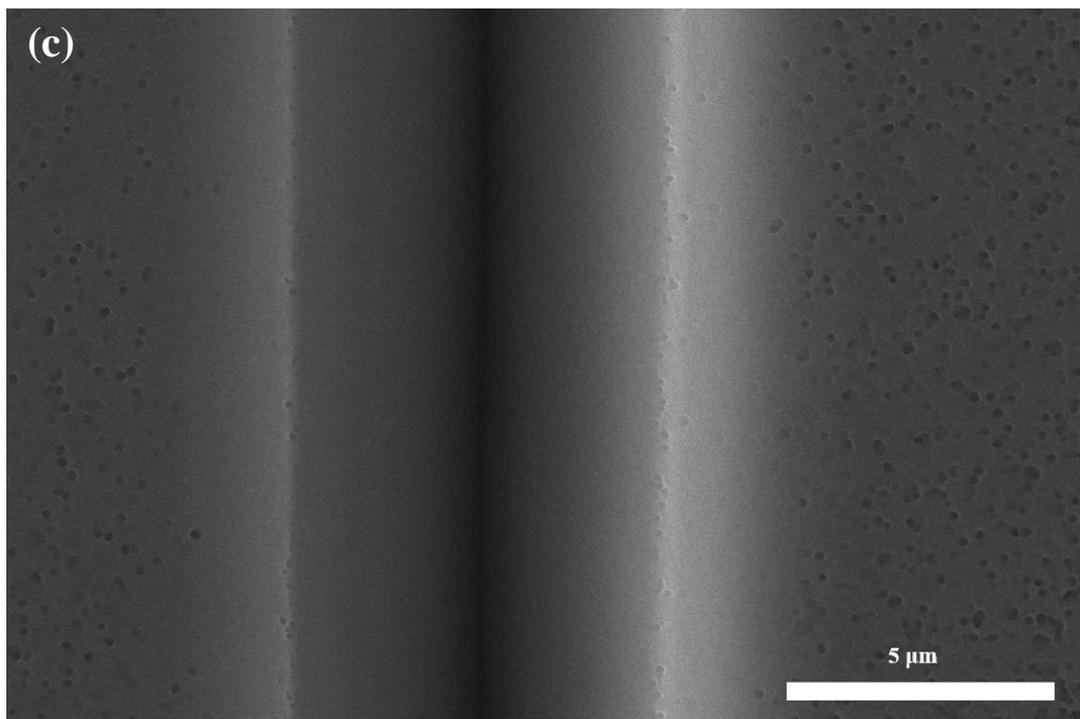
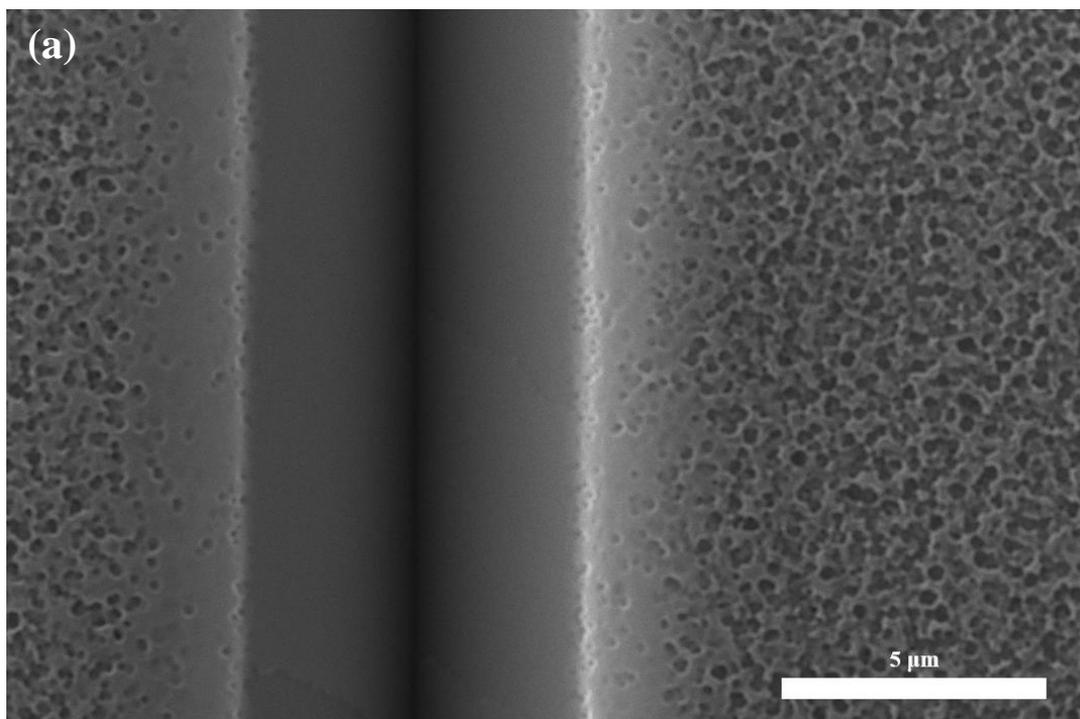


Figura 17. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - c) substratos 1-3, com ampliações de 7.600x, 5.000x e 10.000x, respectivamente.



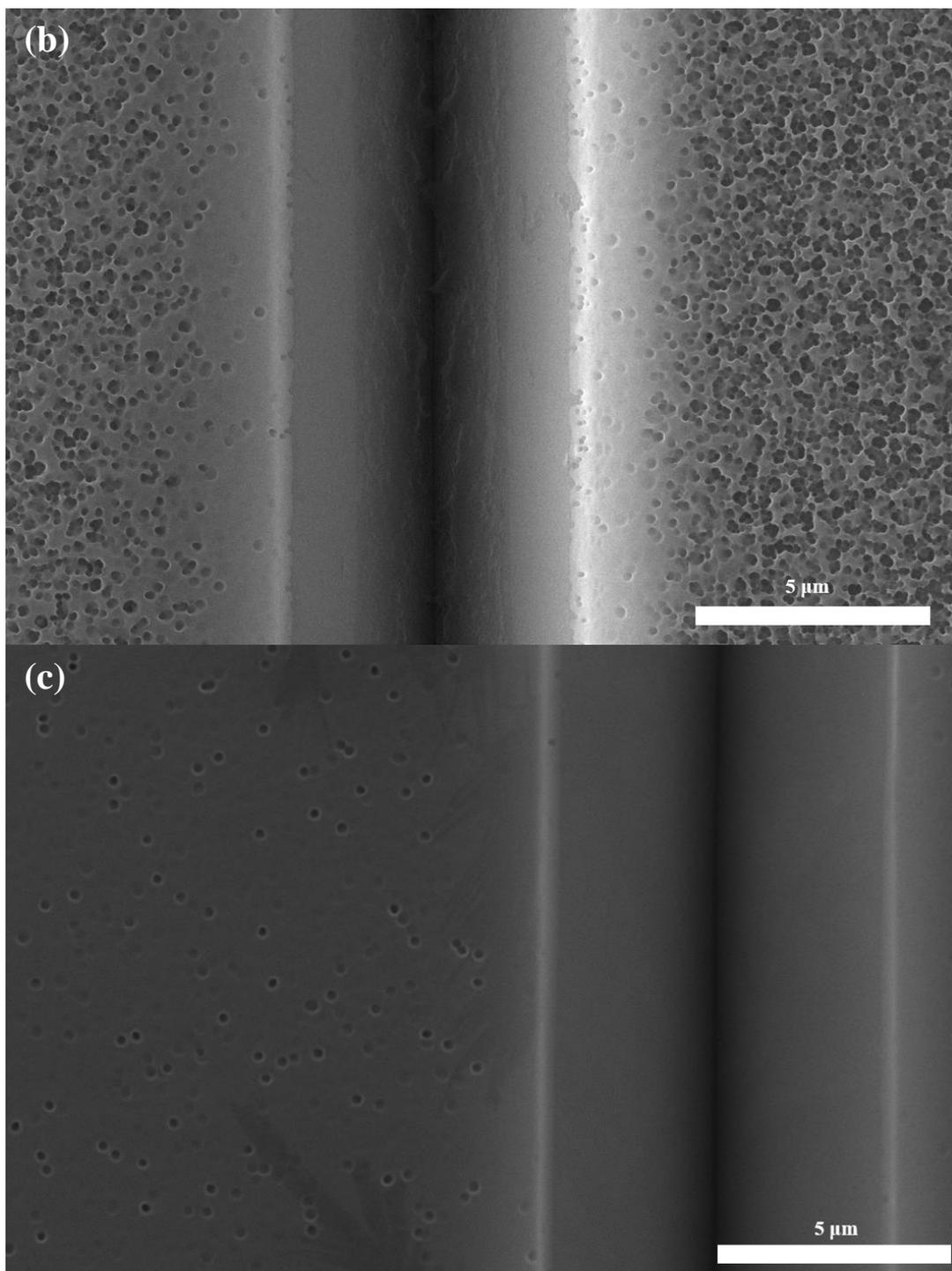


Figura 18. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - c) substratos 5-7, com ampliações de 5.010x (6) e 10.000x (5 e 7), respectivamente.

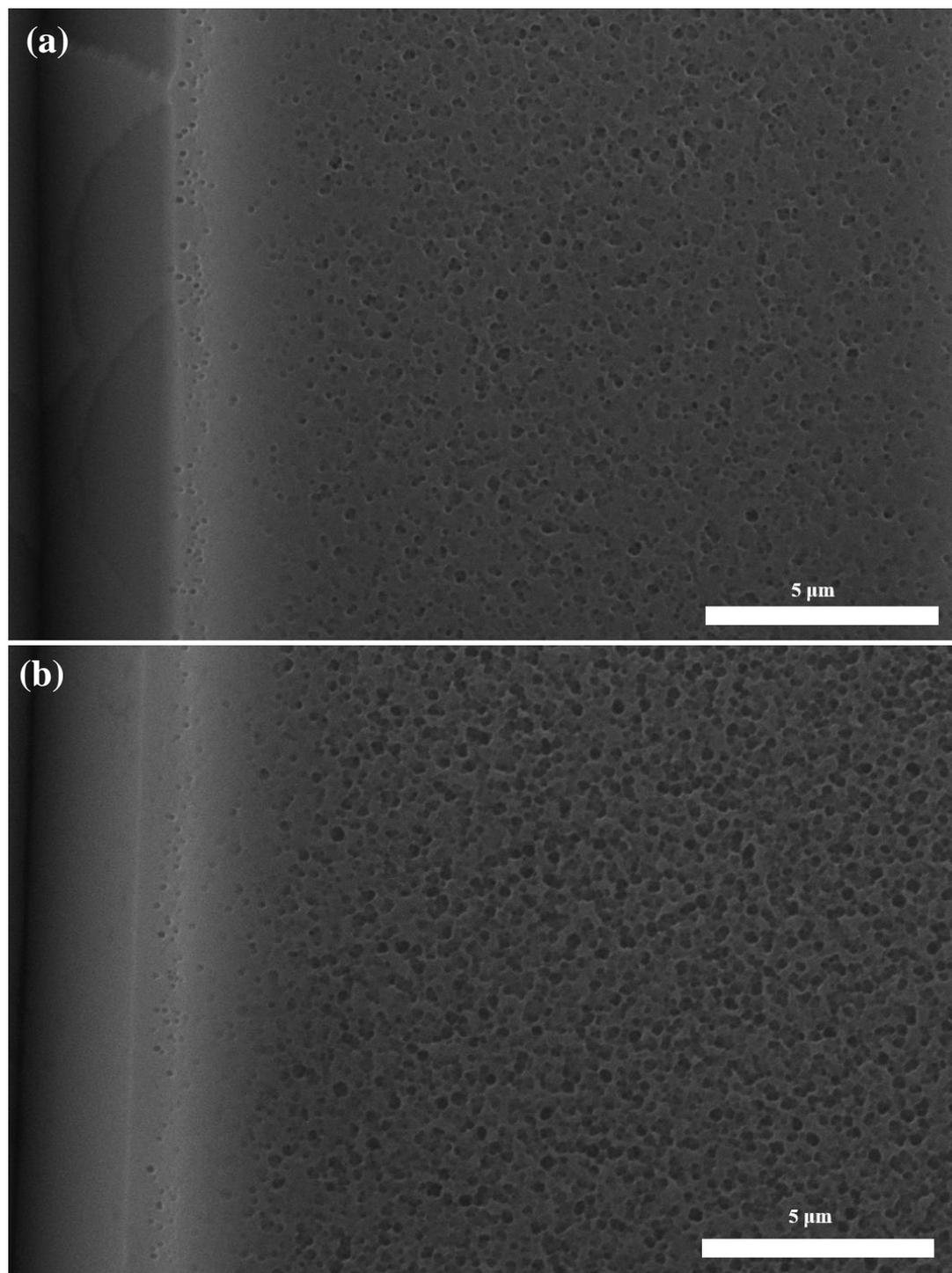
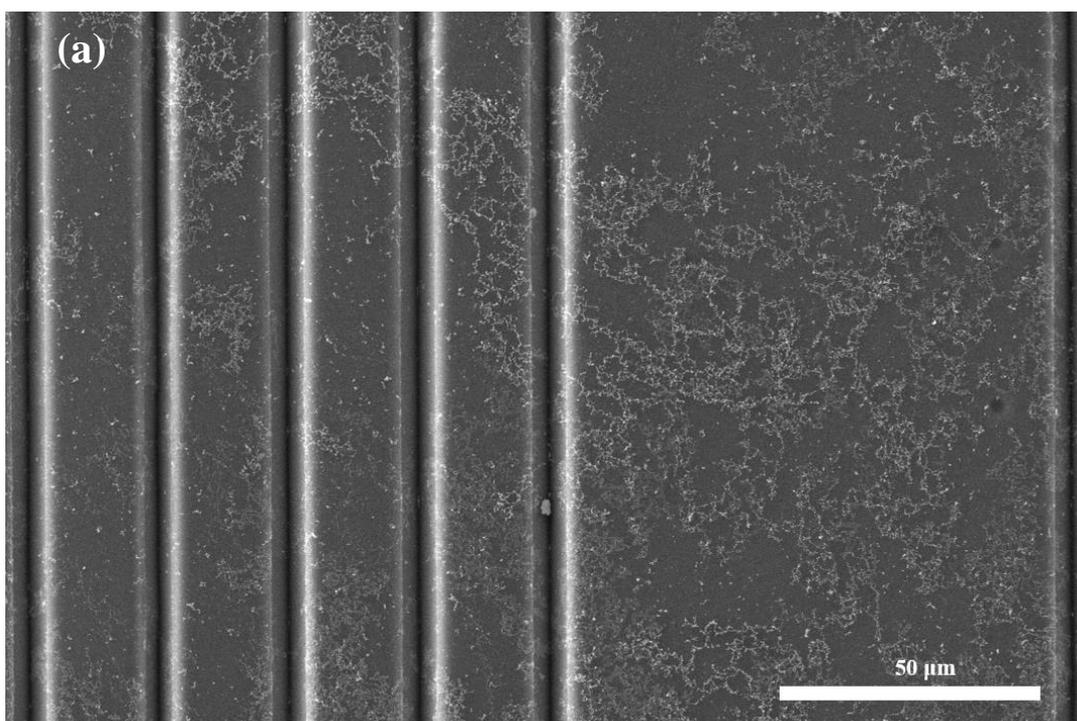


Figura 19. Micrografias obtidas por SEM dos substratos de Si-V. (a - b) substratos 9 e 10 com magnificações de 10.000x.

Observa-se na Figura 17(a) a micrografia para o substrato 1, o qual apresenta uniformidade tanto na superfície externa quanto nas paredes internas do microcanal. Por outro lado, as Figuras 17(b,c) referentes aos substratos 2 e 3, mostram imperfeições na superfície externa ao microcanal, ou seja, na parte superior plana entre microcanais. Os defeitos presentes

na superfície externa ao microcanal podem ainda ser visualizados nas micrografias dos demais substratos de 5 à 10, ilustrados nas Figuras 18 e 19. A uniformidade das paredes internas dos microcanais é importante para obtermos uma boa distribuição dos AuNRs ao longo do microcanal, além de eliminar interferências nas análises SERS observadas pelo efeito SIERS. Contudo, após algumas análises prévias verificou-se que a rugosidade observada na parte superior plana entre os microcanais observadas nas Figuras 17(b-c), 18 e 19, foi um interferente significativo na deposição dos AuNRs. Mais especificamente, as primeiras caracterizações revelaram que a maior parte dos AuNRs acabam sendo retidos nesses defeitos da superfície externa ao microcanal, conseqüentemente diminuindo a performance dos substratos SERS no microcanal, devido menor concentração de AuNRs. A Figura 20 ilustra através das imagens de micrografia o perfil de deposição dos AuNRs no substrato 4, o qual também apresenta defeitos na superfície externa ao microcanal.



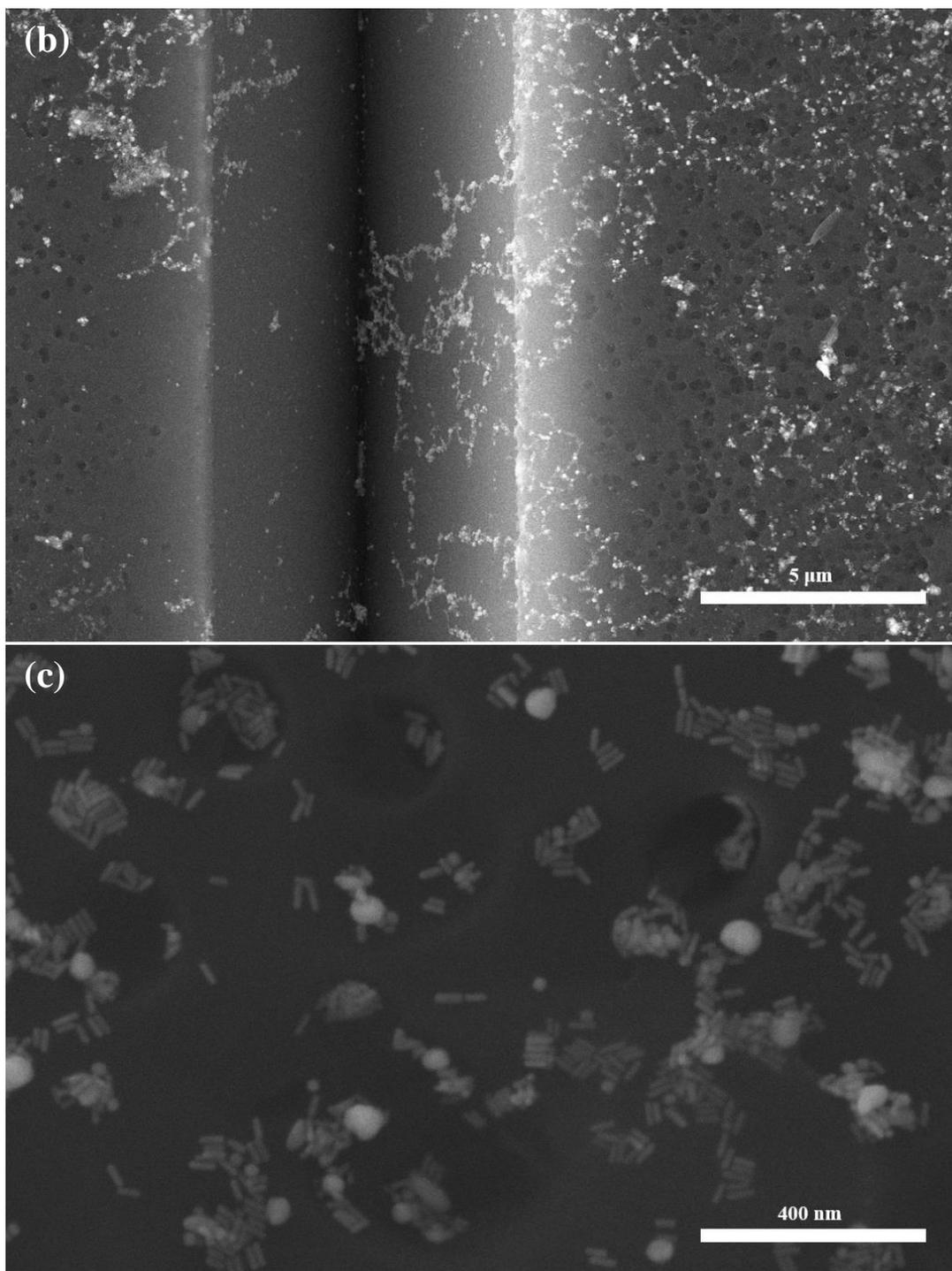


Figura 20. Micrografias obtidas por SEM do substrato de Si-V. 4 após a realização da deposição de AuNRs com magnificações de (a) 1.000x , (b) 10.000x e (c) 120.000x, respectivamente.

A presença desses defeitos na superfície dos substratos de Si pode ser atribuída as etapas de fotolitografia no processo de microfabricação, o qual pode estar associada a uma camada muito espessa do *resiste* aplicado na superfície da placa de Si durante o processo de microfabricação. Neste caso, um fator relevante para o ocorrido foi a troca de um novo lote do

fotoreviste que, conseqüentemente, influencia na remoção completa do mesmo. Essas irregularidades podem ocorrer após o processo de corrosão, visto que, essas regiões podem vir a ser atacadas pelo KOH, formando esses padrões de cavidades ao longo da superfície plana do substrato de Si-V.

Na tentativa de recuperar e contornar esses defeitos identificados nos substratos de Si-V de 2-10, foi realizado um processo de limpeza na sala limpa do CNPEM/LNNano. Para isso, os substratos foram colocados em contato com uma solução HF 10% por 60 s e 10 min em plasma de O₂, a fim de atuar na redução da presença das irregularidades observadas. Após esse procedimento, entretanto, foi verificado em um microscópio confocal que o processo realizado não havia provocado a alteração esperada na superfície dos substratos. Embora essas irregularidades na superfície dos substratos possam apresentar as interferências descritas, ainda assim todos os substratos produzidos foram utilizados no preparo dos substratos SERS, uma vez que a logística para a produção de novos substratos dependeria da disponibilidade de operação e de materiais no LNNano.

5.3. DETECÇÃO DE ATRAZINA

5.3.1. Atrazina

Inicialmente, caracterizou-se os espectros Raman da atrazina e do CTAB, surfactante utilizado para estabilizar os AuNRs, para verificar se há bandas de ambos materiais na mesma frequência de energia do espectro. A Figura 21(a, b) apresenta os espectros Raman do CTAB e da atrazina, ambos na forma de cristal sólido, respectivamente.

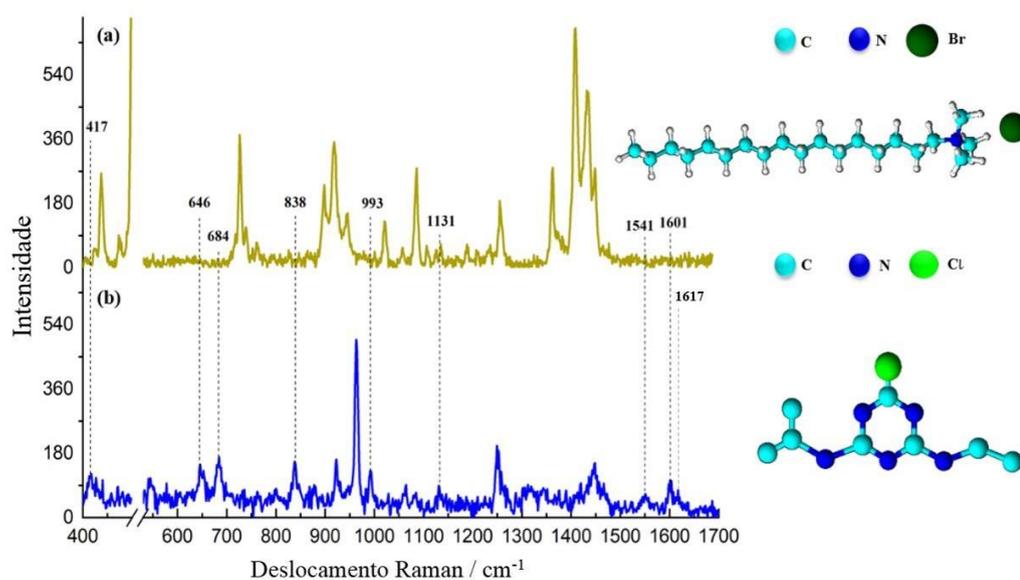


Figura 21. Espectros Raman para o pó de CTAB (a) e atrazina (b), utilizando o laser de excitação $\lambda =$

633 nm e a grade de 600 ranhuras/mm².

Observa-se nos espectros Raman da Figura 21 (b) que as bandas destacadas com a linha pontilhada para a atrazina não coincidem com as bandas do CTAB para o espectro ilustrado na Figura 21(a). As principais bandas da atrazina aparecem em 417, 646, 684, 838, 993, 1138, 1541, 1601 e 1617 cm⁻¹. Normalmente, nas análises SERS escolhe-se a banda de maior intensidade como referência na aquisição dos espectros, podendo ou não restringir apenas à faixa espectral correspondente. Entretanto, a banda de maior intensidade da atrazina, em 963 cm⁻¹, aparece em uma região muito próxima de um tripleto de bandas do CTAB, o que pode inferir na sobreposição dessas bandas CTAB/Atrazina e/ou ainda na atribuição incorreta. Já nas análises realizadas na ausência de AuNRs é possível utilizar a banda em 963 cm⁻¹ como controle. Após análises prévias, indo de encontro com dados apresentados na literatura, a banda de controle escolhida para indicar a presença de atrazina foi a banda em 1617 cm⁻¹, embora ela apresente baixa intensidade no espectro Raman da substância em pó. Ainda que tenha sido escolhida a banda em 1617 cm⁻¹, preferiu-se realizar as análises em toda faixa espectral (400 à 1700 cm⁻¹) a fim de se verificar a presença de outras bandas referentes a atrazina. Ressalta-se que a tentativa de atribuição das bandas do CTAB, da atrazina e do metanol (Espectro apresentado no Anexo I) com base em dados apresentados na literatura é realizada na Tabela 3.

Tabela 3. Tentativa de atribuição dos modos vibracionais das bandas do espectro Raman da atrazina e do CTAB em pó.

Bandas característicos da Atrazina em pó e suas atribuições					
	<i>Atrazina</i>			<i>CTAB / MeOH</i>	
<i>Númer o de onda (cm⁻¹)</i>	<i>Modos vibracionai sassociados</i>	<i>Ref.</i>	<i>Númer o de onda (cm⁻¹)</i>	<i>Modos vibracionai sassociados</i>	<i>Ref.</i>
417	vC1-Cl + ρCH ₃ -C- CH ₃	(BONORA et al., 2013)	452	δC ₄ N ⁺	(DENDRAMIS ;SCHWINN; SPERLINE, 1983)
543			-	-	-
646	δN6-C1-N2 / δC5- N4-C3	(BONORA et al., 2013)	-	-	-
684	OTPD ^{II}	(BONORA et al., 2013)	-	-	-
838	vC-C + ρ _w CH ₃	(COSTA et al., 2011)	887	v(CN) + ρ(CH ₃)	(GÖKCE; BAHÇELI, 2013)
922	vC1-Cl + ADP ^{III}		-		

963	Respiração do anel	(HUANG et al., 2007b)	958	$\rho_r\text{CH}_3 + \nu\text{CN}^+$	(DENDRAMIS ;SCHWINN; SPERLINE, 1983)
993	DIP ^I + $\delta\text{N-C-H}/\delta\text{C-C-H}$	(BONORA et al., 2013)	987	νCC	(GÖKCE; BAHÇELI, 2013)
1249	$\nu\text{C1-Cl}$	(BONORA et al., 2013)	1294	$\rho_t\text{CH}_2$	(DENDRAMIS ;SCHWINN; SPERLINE, 1983)
1447	δCH_3	(COSTA et al., 2011)	1441/1453	δCH_3	(GÖKCE; BAHÇELI, 2013) / (H. VASKOVA, 2014)
1548	$\nu\text{C5-N6} / \nu\text{C3-N2}$ $\delta\text{C3-N3-H} + \delta\text{C5-N5-H}$	(BONORA et al., 2013)	-		
1601	DIP ^I + $\delta\text{C5-N5-H}$	(BONORA et al., 2013)	-		
1617	DIP ^{I+} $\delta\text{C3-N3-H}$	(COSTA et al., 2011)			

^IDeformação do anel no plano; ^{II}Deformação do anel fora do plano; ^{III}Deformação assimétrica do anel no plano;

A Figura 22 apresenta a estrutura molecular da atrazina, bem como a posição dos átomos considerados na atribuição dos modos vibracionais correspondentes demonstrados na Tabela 3.

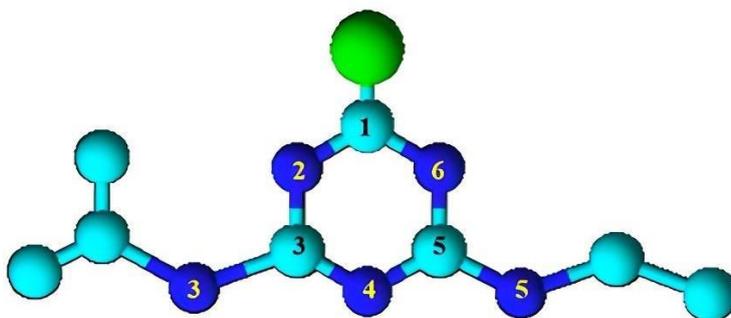


Figura 22. Posição dos átomos considerados na atribuição dos modos vibracionais da atrazina.

Baseado nas identificações das bandas na Figura 21(b) mais adequadas para o monitoramento da molécula de atrazina, realizou-se a caracterização da molécula nos substratos de Si planos e com microcanais V na ausência dos AuNRs. Essa análise comparativa dos substratos Si-V e Si plano é realizada com intuito de verificar a efetividade do efeito SIERS presente apenas no substrato com cavidade. As Figuras 23 e 24 ilustram os mapeamentos realizados nos substratos de Si planos, sob condições de exposição do laser de 20s e 1

acumulação, utilizando a objetiva de 100 xLWD. Inicialmente, caracterizou-se os espectros Raman para molécula de atrazina em diferentes solventes e diferentes concentrações nos substratos de Si planos, conforme ilustrados na Figura 23 (a-c) para atrazina diluída em metanol, e na Figura 24(a-c) para atrazina diluída em água ultrapura. As imagens ópticas apresentadas também nas Figuras 23 e 24 (d-f), ilustram o padrão de cristalização obtido de acordo com a variação do solvente. Cada mapeamento ilustrado nos espectros das Figuras 23 (a-c) e 24 (a-b) apresenta um total de 15 espectros coletados cada, enquanto na Figura 24 (c) um total de 10 espectros são representados.

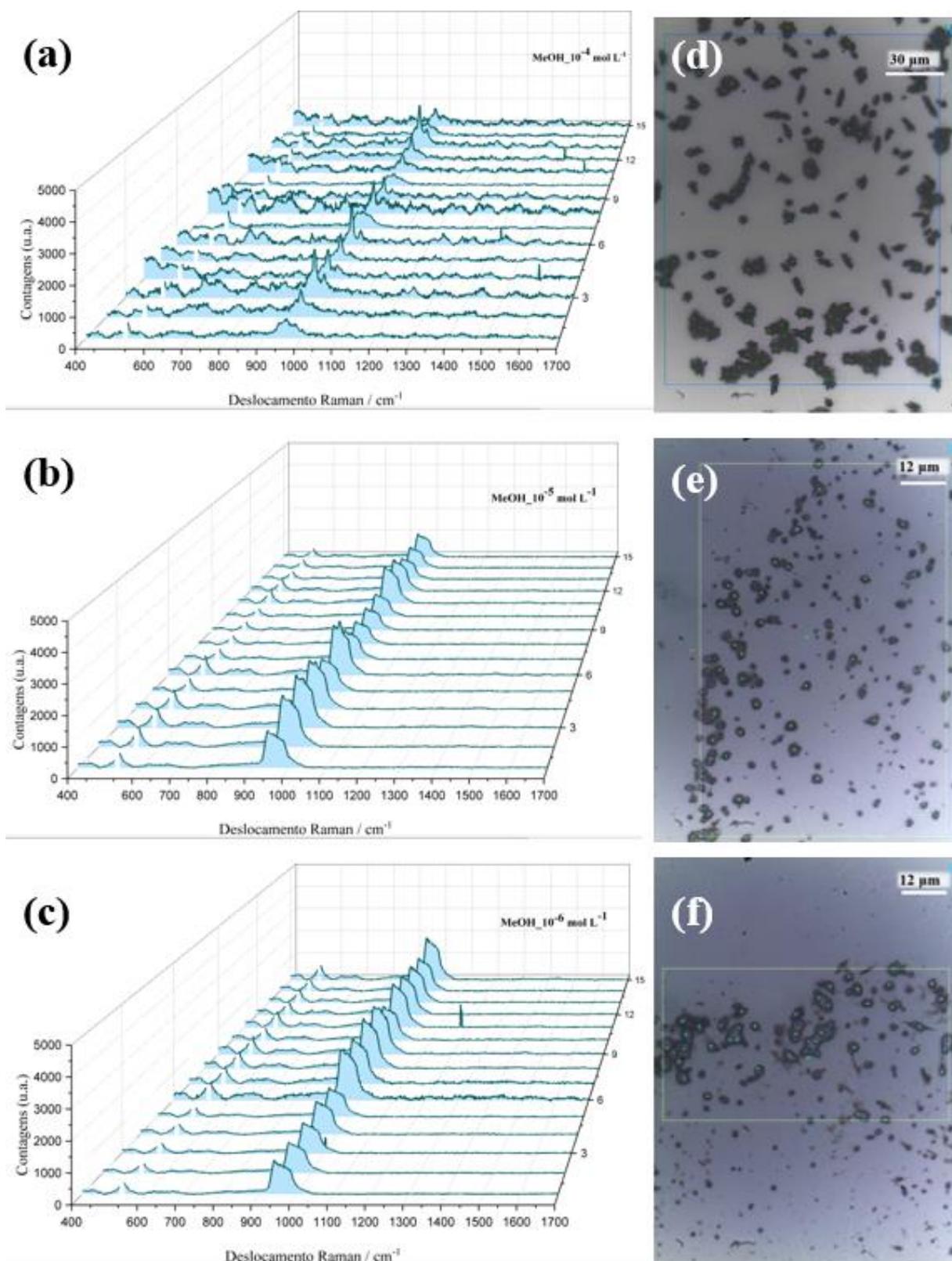


Figura 23. Mapeamentos de espectros Raman para a molécula de atrazina na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-6} mol L $^{-1}$ para um conjunto de 15 espectros realizados no substrato liso de Si(4x4 mm) na ausência dos AuNRs. (a- c) espectros Raman para a molécula de atrazina utilizando metanol como solvente e suas respectivas imagens ópticas (d-f). Aquisição dos espectros Raman utilizando um laser de excitação de $\lambda = 633$ nm, grade de 600 ranhuras/mm 2 e objetiva de 100xLWD.

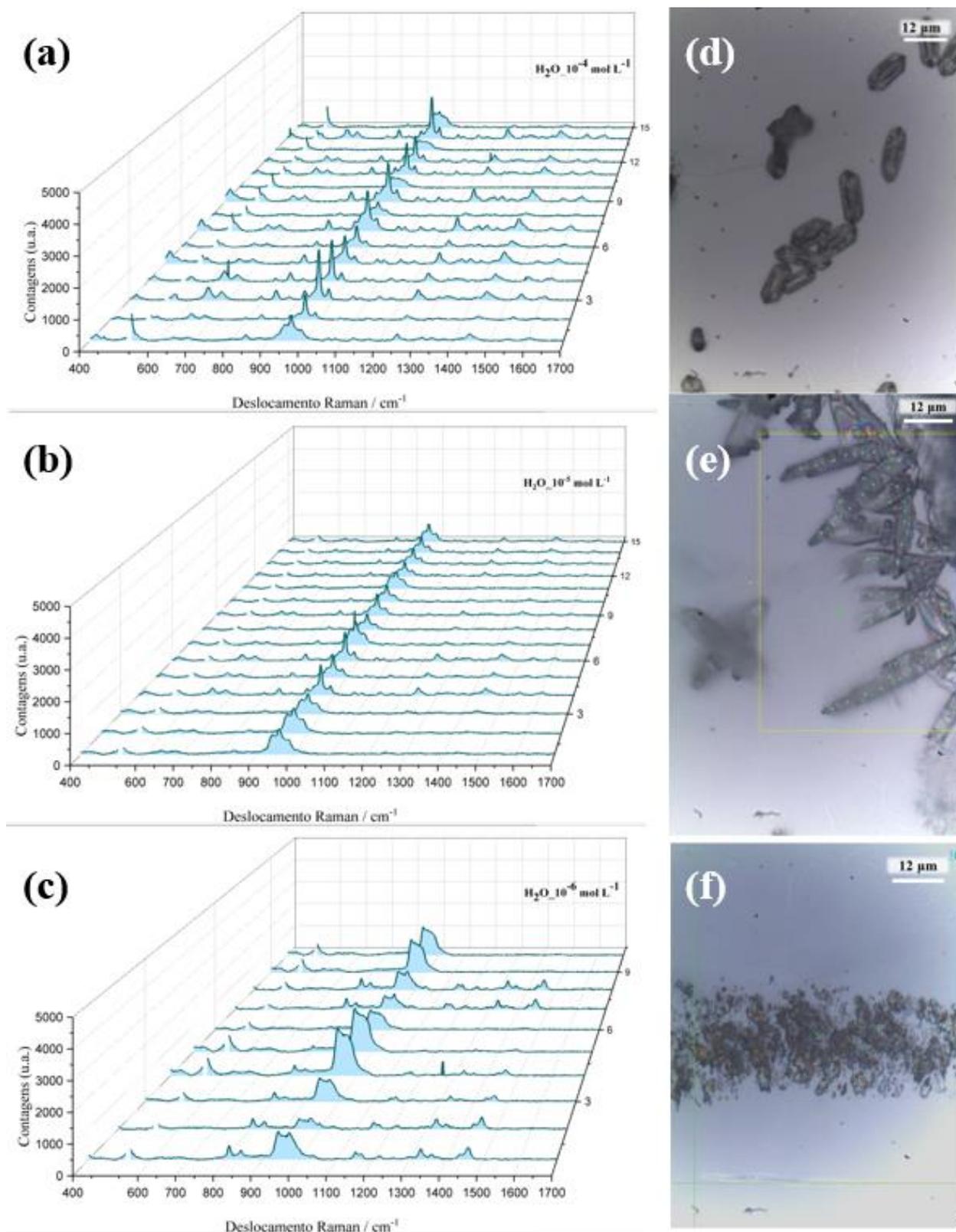


Figura 24. Mapeamentos de espectros Raman para a molécula de atrazina na faixa de concentração de 10^{-4} a $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ para um conjunto de 15 espectros realizados no substrato liso de Si ($4 \times 4 \text{ mm}$) na ausência dos AuNRs. (a- c) espectros Raman para a molécula de atrazina utilizando água ultrapura como solvente e suas respectivas imagens ópticas (d-f). Aquisição dos espectros Raman utilizando um laser de excitação de $\lambda = 633 \text{ nm}$, grade de $600 \text{ ranhuras/mm}^2$ e objetiva de $100 \times \text{LWD}$.

Observa-se nas imagens ópticas ilustradas nas Figuras 23 e 24 (d-f) a influência direta no padrão de cristalização da atrazina sobre a superfície do Si, provocada pela alteração do solvente (metanol ou água) utilizado no seu preparo. Mais especificamente, a atrazina diluída em metanol apresenta um padrão de cristal em formato mais estrelado (Figura 23(d)) que vai se descaracterizando para menores concentrações (Figura 23(e, f)). Por outro lado, a atrazina diluída em água ultrapura apresentou um padrão de cristal em forma de bastão (Figura 23(d, e)), que também se descaracteriza para concentrações mais baixas (Figura 23(f)). Contudo, essa diferença na cristalização da atrazina interfere principalmente na qualidade dos espectros Raman obtidos, tanto na definição quanto nas intensidades das bandas características observadas, ou seja, a relação sinal/ruído possui influência do solvente utilizado no preparo da solução. Por exemplo, ao comparar os espectros das Figuras 23(a) e 24(a) para a amostra de atrazina na mesma concentração, 10^{-4} mol L⁻¹, apenas pela alteração do solvente é possível observar uma diferença drástica em relação a definição das bandas dos espectros obtidos. Nota-se na Figura 23(a) que embora o sinal/intensidade das bandas seja relativamente próximo, a definição das bandas é dificultada pelo fator sinal/ruído espectral. Esse fator sinal/ruído e a definição das bandas da atrazina é mais nitidamente observado para as concentrações menores, como ilustrado nos espectros Raman na Figura 24(b,c).

Portanto, ao considerar que o solvente altera o padrão de cristalização da atrazina após a secagem sobre o substrato de Si, e conseqüentemente influencia no fator sinal/ruído dos espectros Raman obtidos, fica evidente que o solvente é um fator crucial na obtenção e qualidade dos espectros Raman da atrazina. A obtenção de diferentes padrões de cristalização da atrazina atrelada a escolha do solvente está diretamente associada à velocidade de secagem na superfície do substrato. Além disso, é razoável considerar que a definição do solvente e as condições espectrais de maior qualidade pode favorecer a detecção da molécula em menores concentrações, 10^{-6} mol L⁻¹, principalmente para as condições de análises na aquisição dos espectros SERS.

Uma vez otimizado o melhor solvente para o preparo da atrazina, caracterizou-se a mesma nos substratos de Si-V na ausência dos AuNRs, a fim de verificar a influência do efeito SIERS, conforme ilustrados nas Figuras 25 (a-c). As imagens ópticas ilustradas nas Figuras 25 (d-f) correspondem ao padrão de cristalização obtido para a atrazina no substrato de Si-V. Os espectros foram obtidos sob condições de análises de exposição de 20s e 1 acumulação, para as concentrações de 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} mol L⁻¹ para um conjunto de 15 espectros em cada mapeamento.

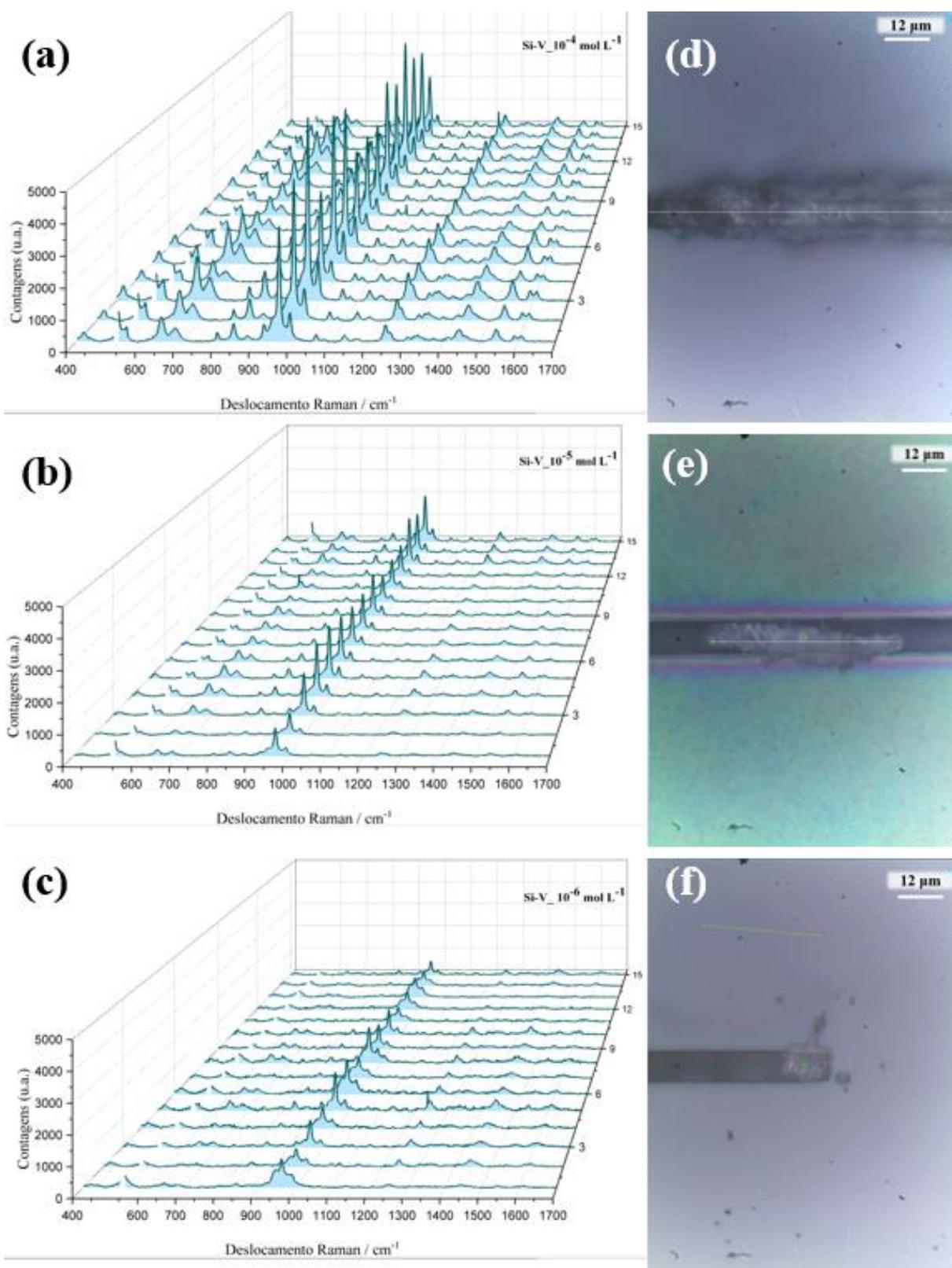


Figura 24. Mapeamentos SIERS para um conjunto de 15 espectros para a molécula de atrazina prepara em água ultrapura, realizados no substrato de Si-V na ausência dos AuNRs nas seguintes concentrações. (a) 10^{-4} mol L⁻¹, (b) 10^{-5} mol L⁻¹, e (c) 10^{-6} mol L⁻¹. (d-f) Correspondem as imagens ópticas do sólido obtido na cristalização da atrazina sobre o substrato de Si-V. Análises realizadas sob condições de um laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 ranhuras/mm² e objetiva de 50x LWD.

Observa-se na Figura 25 (a-c) um aumento significativo na intensidade das bandas comparado aos espectros na Figura 24 (a-c) para a atrazina na mesma condição de solvente e análise. Enquanto no substrato de Si plano a banda característica da atrazina em 963 cm^{-1} , na concentração $10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$, apresentou uma intensidade média de 1100 contagens, Figura 26(b), a mesma banda apresentou intensidade média de 3064 contagens, para a mesma concentração, ao ser analisada no substrato de Si-V, Figura 26(c). Essa intensificação observada para o espectro Raman da atrazina no substrato de Si plano e com microcanal é atribuída ao chamado efeito SIERS, já observado em trabalhos anteriores do nosso grupo (BÄR et al., 2021). Mais especificamente, o efeito SIERS está atribuído a intensificação do sinal Raman devido à intensificação do campo elétrico causado por padrões de interferência construtiva de luz irradiada da cavidade em forma de V (BÄR et al., 2021).

Uma vez que a detecção da atrazina sem a presença dos Au NRs, seja no substrato liso seja no substrato de Si-V é dependente da formação de cristais, a quantidade de espectros que foram coletados e utilizados no cálculo da intensidade média para cada concentração é variável. A Tabela 4 apresenta a quantidade de espectros utilizados no cálculo da intensidade média para cada substrato e concentração.

Tabela 4. Quantidade de espectros obtidos e utilizados no cálculo dos valores de intensidade média para cada substrato em diferentes concentrações e solventes da atrazina.

Quantidade de espectros utilizados no cálculo dos valores de intensidade média			
Concentração da solução de atrazina (mol L^{-1})	Substrato liso (solução em MeOH)	Substrato liso	
		(solução em água ultrapura)	Substrato Si-V
10^{-4}	292	270	182
10^{-5}	185	270	150
10^{-6}	231	10	30

A Figura 25 apresenta os espectros Raman médio para cada concentração da molécula de atrazina analisada, sob as diferentes condições de substratos e solventes, ou seja, atrazina em metanol e água ultrapura para o substrato Si plano e atrazina em água ultrapura para o substrato Si-V.

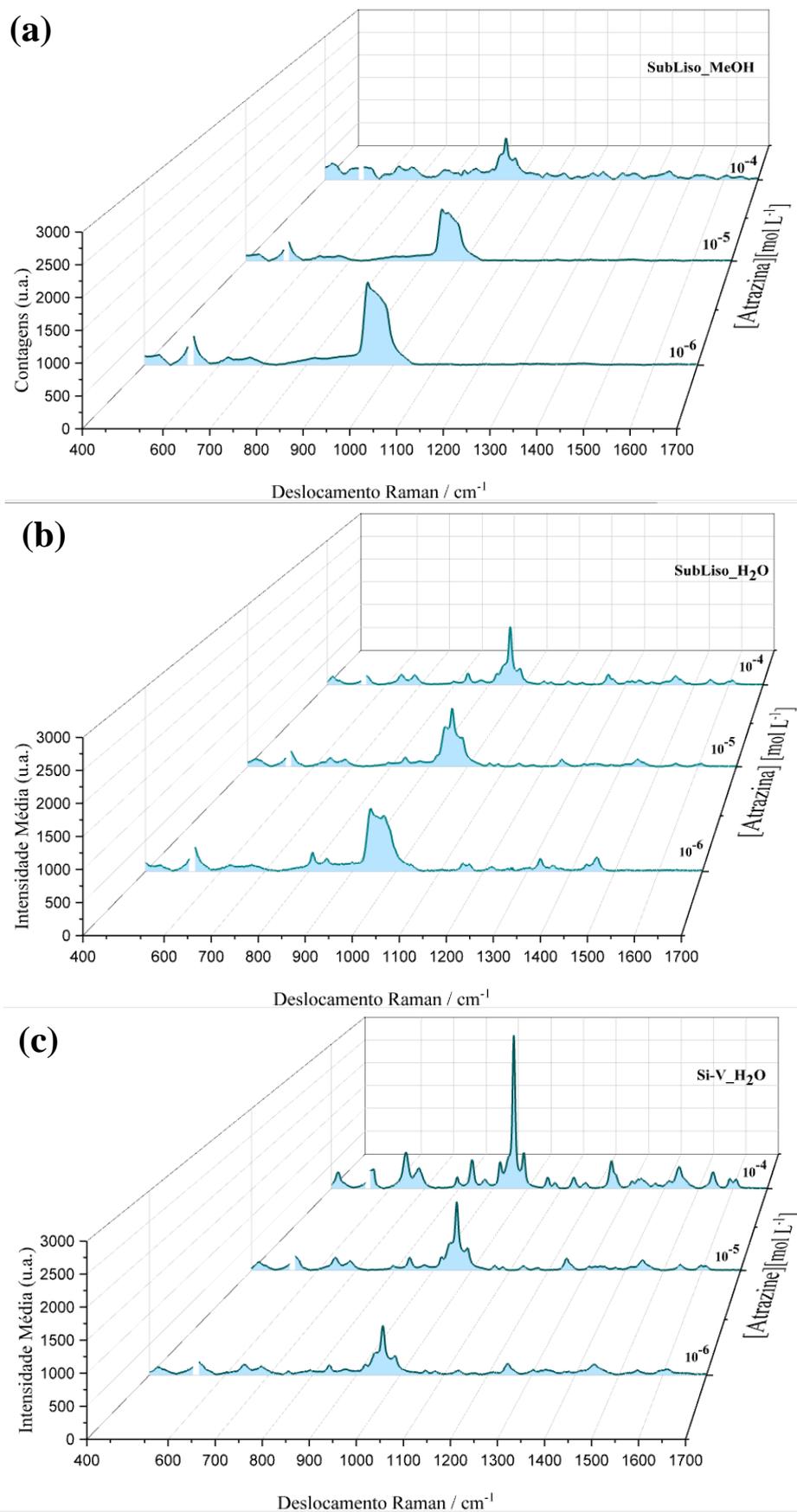


Figura 25. Média dos mapeamentos realizados nos substratos de Si plano (a-b) e no substrato de Si-V

(c) na ausência de AuNRs, na faixa de concentração de 10^{-4} a 10^{-6} mol L⁻¹.

Comparando os espectros médios nas Figuras 25(a) e 25(b) nota-se claramente o efeito do solvente influenciando na intensidade Raman para a atrazina sobre substrato de Si plano. Por outro lado, ao comparar os espectros médios nas Figuras 25(b) e 25(c) uma diferença drástica nas intensidades das bandas da atrazina é observada quando depositada no substrato de Si plano e Si-V, o qual revela fortemente a presença do efeito SIERS proporcionado pelo mecanismo de intensificação do substrato Si-V. A Tabela 5 apresenta os valores de intensidade média calculados considerando a quantidade de espectros indicadas na Tabela 4 para cada concentração da solução de Atrazina nos diferentes substratos (Si-V e Si plano). Os demais espectros utilizados no cálculo das intensidades médias são apresentados nas Figuras A3-A9 do Apêndice.

Tabela 5. Valores de intensidade média obtidos para a banda em 961 cm^{-1} da atrazina considerando diferentes substratos e solventes sob o efeito SIERS.

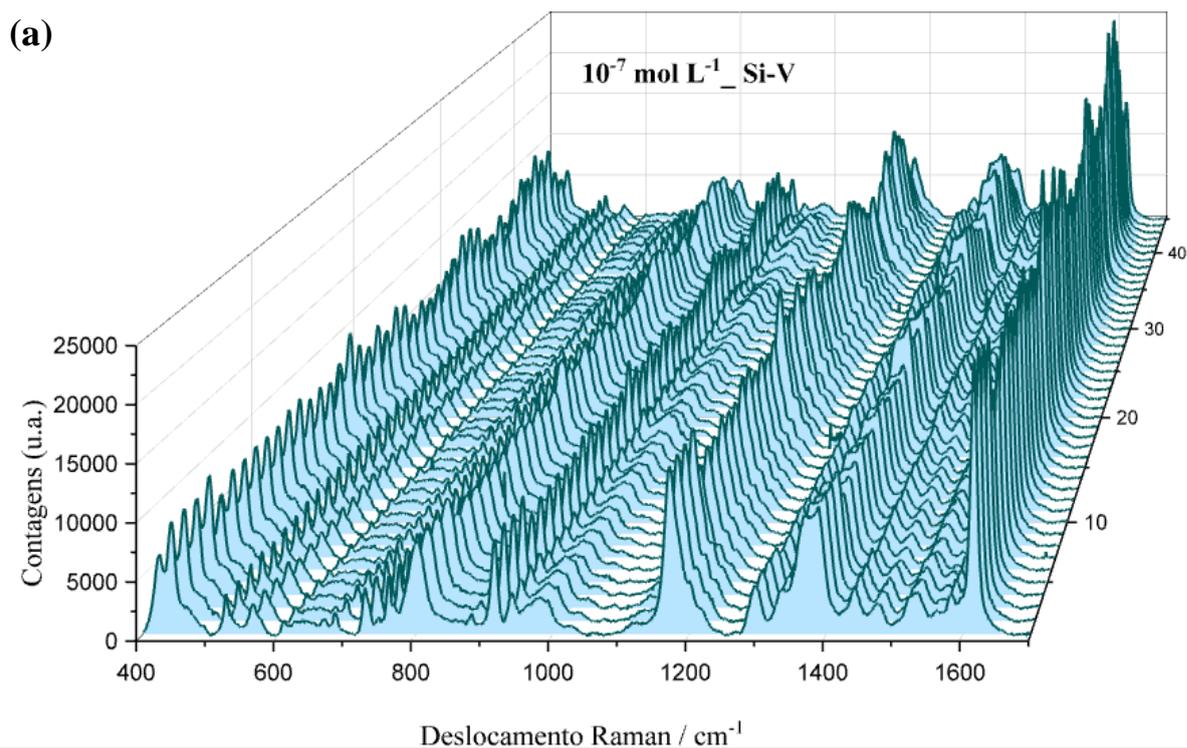
Concentração (mol L ⁻¹)	Si plano (Metanol)	Si plano (água ultrapura)	Si-V (água ultrapura)
10^{-4}	845	1210	3064
10^{-5}	Não detectável	1077	1276
10^{-6}	Não detectável	Não detectável	808

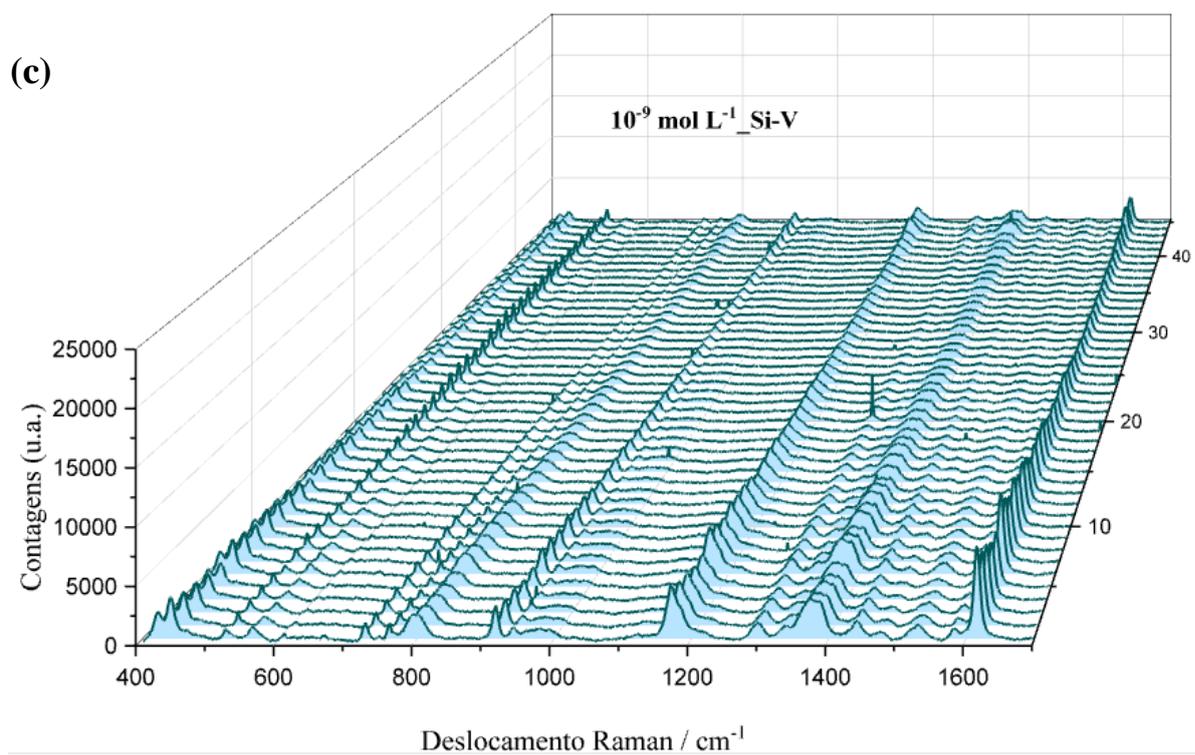
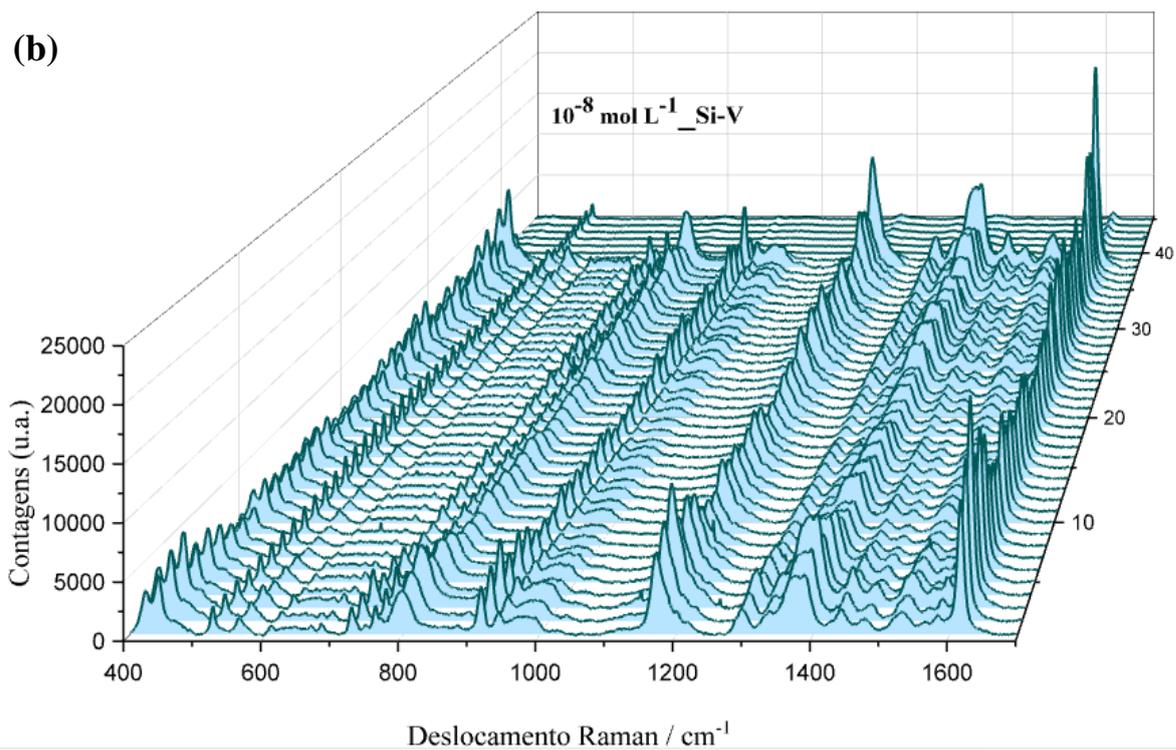
Quando as amostras são preparadas em metanol, além da grande presença de ruídos nos espectros Raman, a diminuição da intensidade da banda característica em 963 cm^{-1} ocasionada pela diminuição da concentração, faz com que essa seja mascarada pela banda larga que cobre a região de 900 a 1000 cm^{-1} atribuída ao próprio substrato de Si.

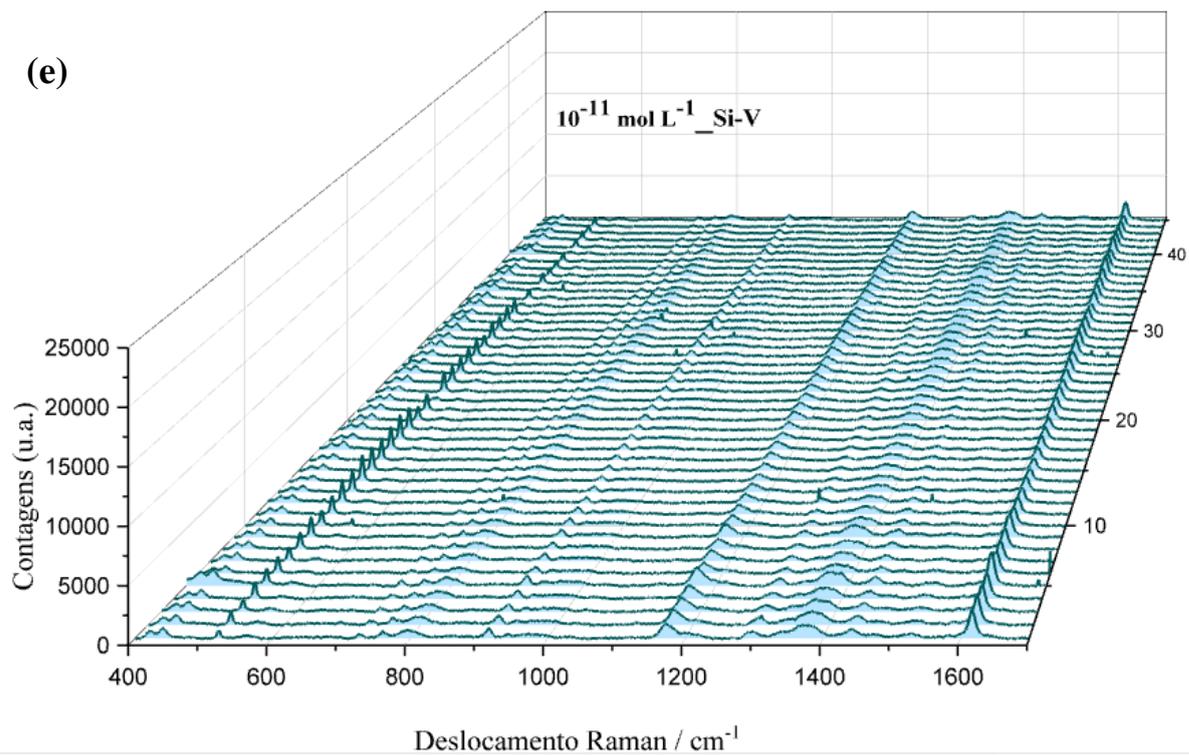
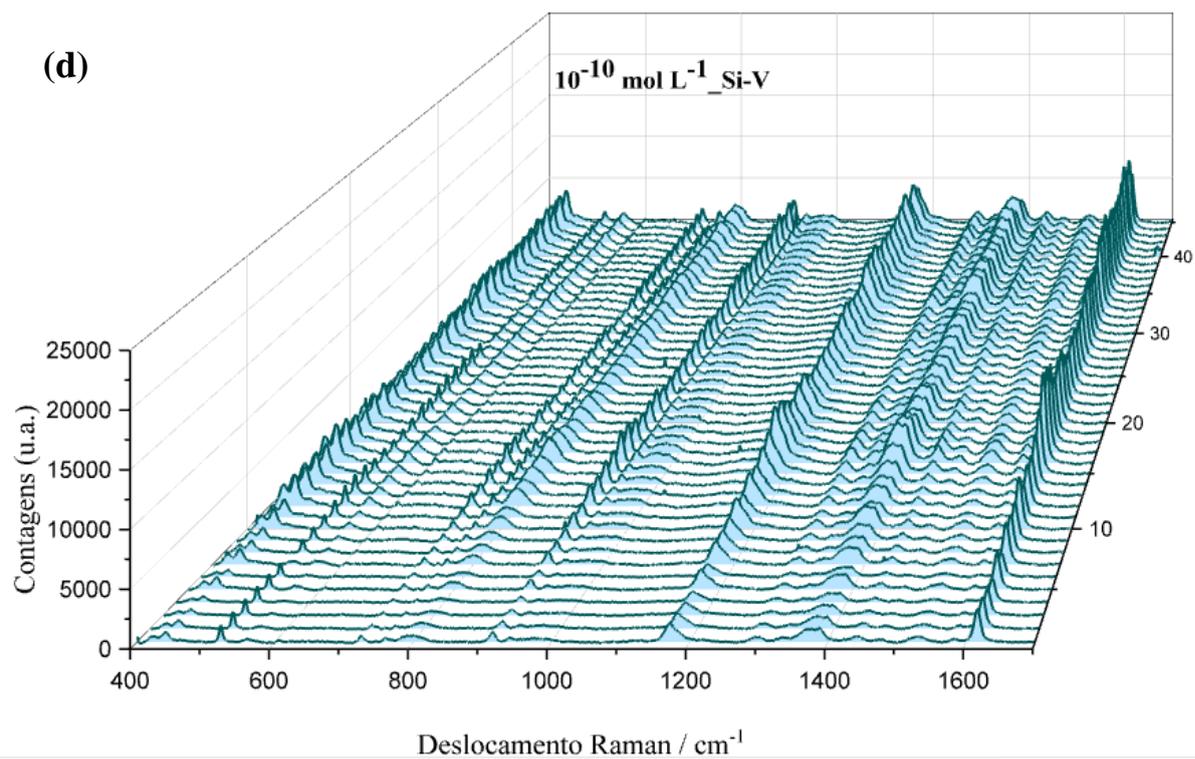
Uma vez otimizado e verificado a influência do solvente na obtenção do espectro Raman para a molécula de atrazina, além da confirmação das características de efeito SIERS para os substratos de Si-V, a caracterização da molécula sob condições de substratos com as estruturas de AuNRs é conduzida para menores concentrações da molécula. Para isso, utilizou-se soluções de atrazina na faixa de concentração de 10^{-7} a 10^{-12} mol L⁻¹. Ressalta-se que nesta etapa após várias caracterizações dos espectros SERS/SIERS notou-se a necessidade de otimização no preparo dessas amostras, o qual foi definido em fazer a mistura da suspensão coloidal de AuNRs e atrazina em condições específicas que foram descritas detalhadamente

no Tópico 4.4, Tabela 2.

As Figuras 26(a-f), 27(a-f) e 28(a-f) ilustram os espectros SERS/SIERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações, misturadas e incubadas com a suspensão coloidal de AuNRs. As análises foram realizadas na superfície do substrato de Si plano e, para o substrato Si-V, no interior do microcanal V e na região superior porosa entre os microcanais, sendo cada mapeamento um conjunto total de 45 espectros, aplicando um tempo de exposição de 20 s e 1 acumulação, utilizando a objetiva de 10x.







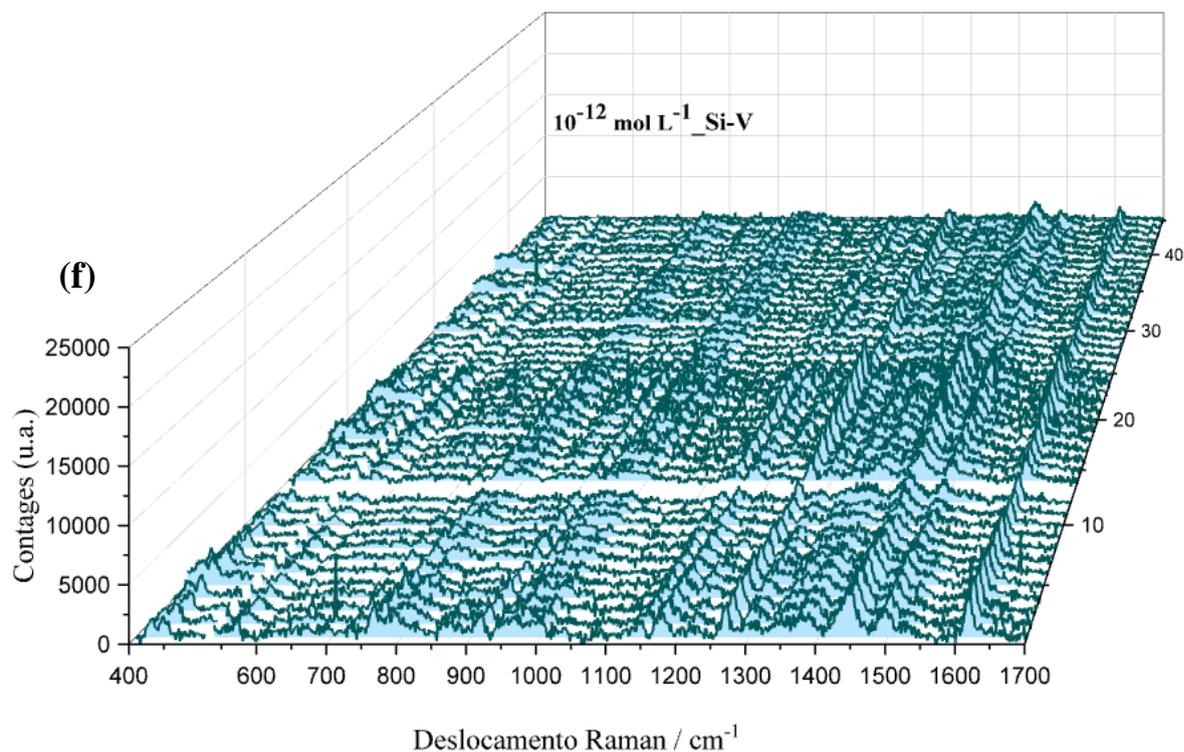
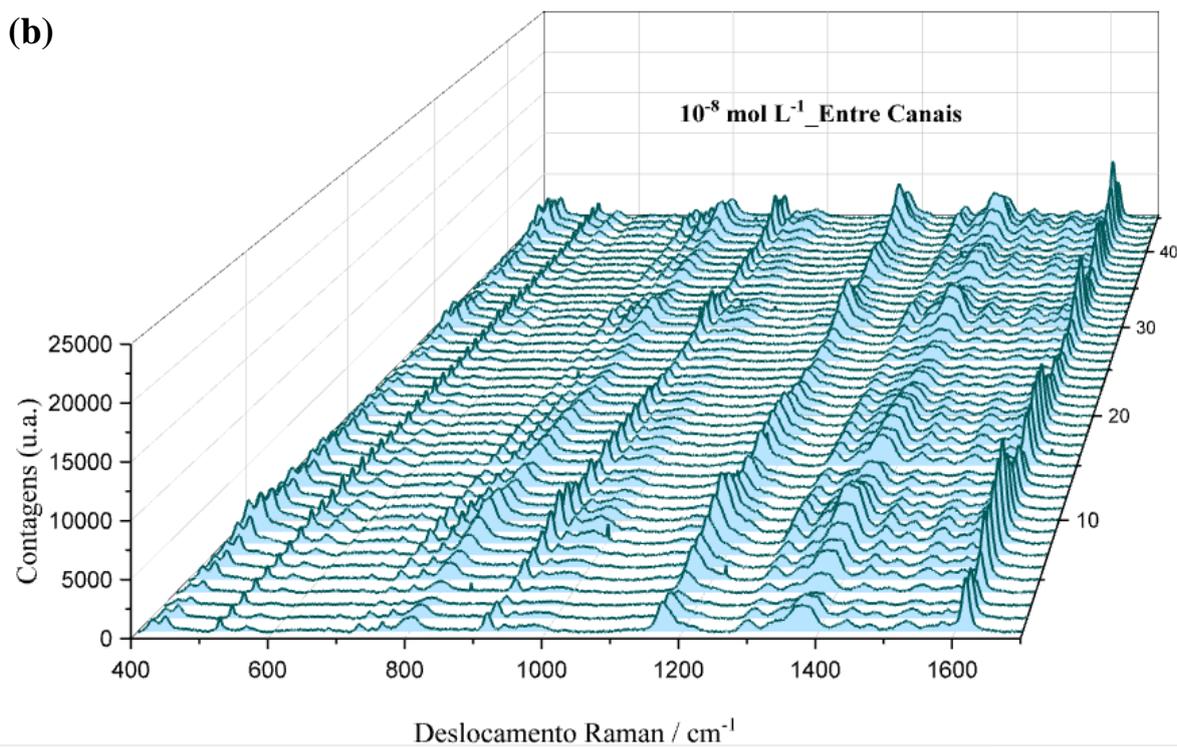
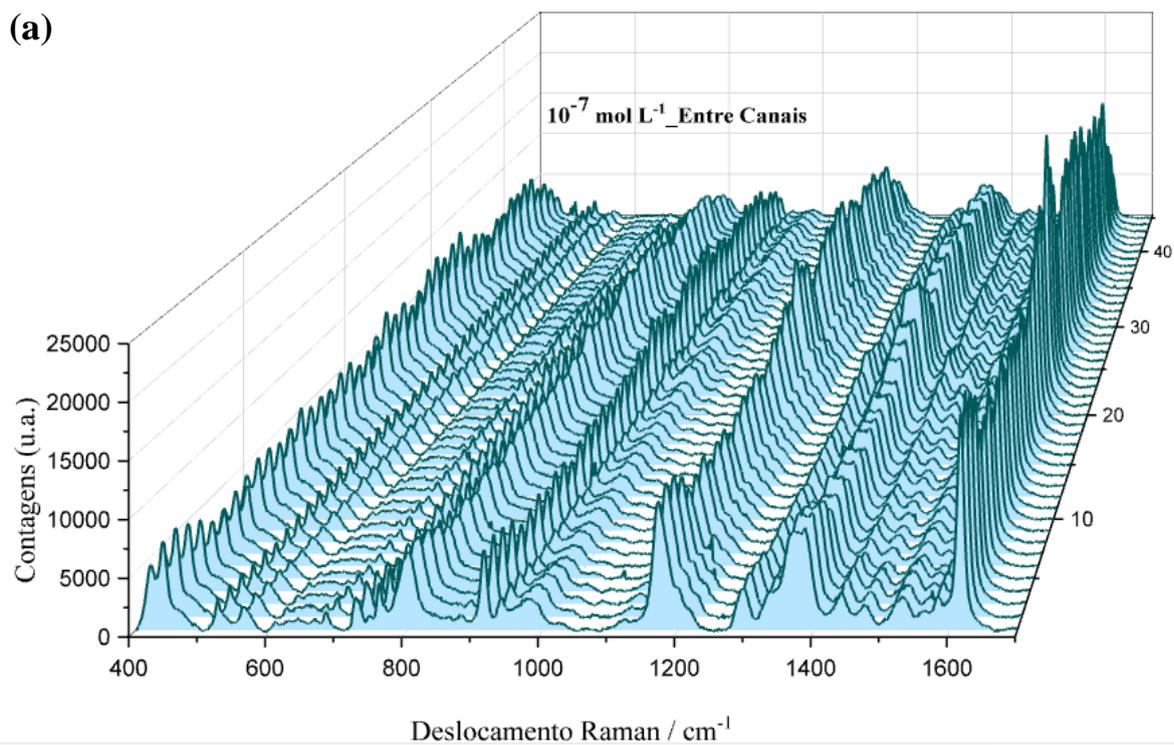
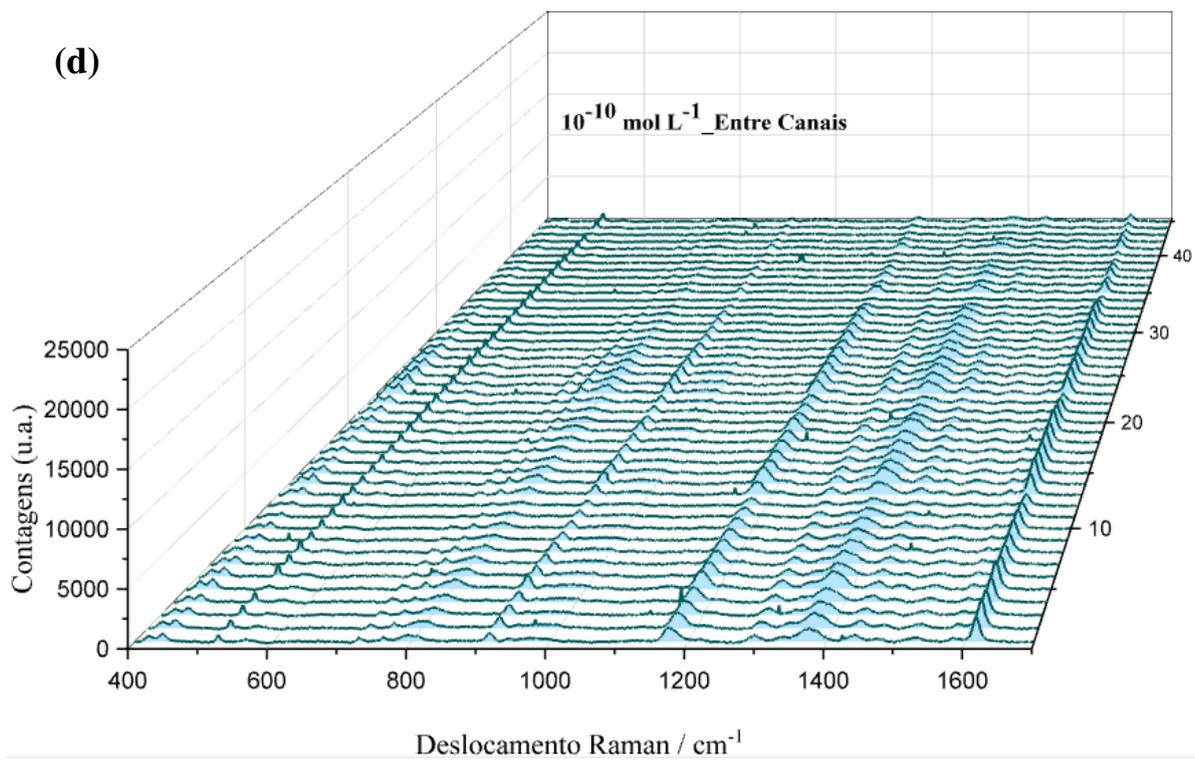
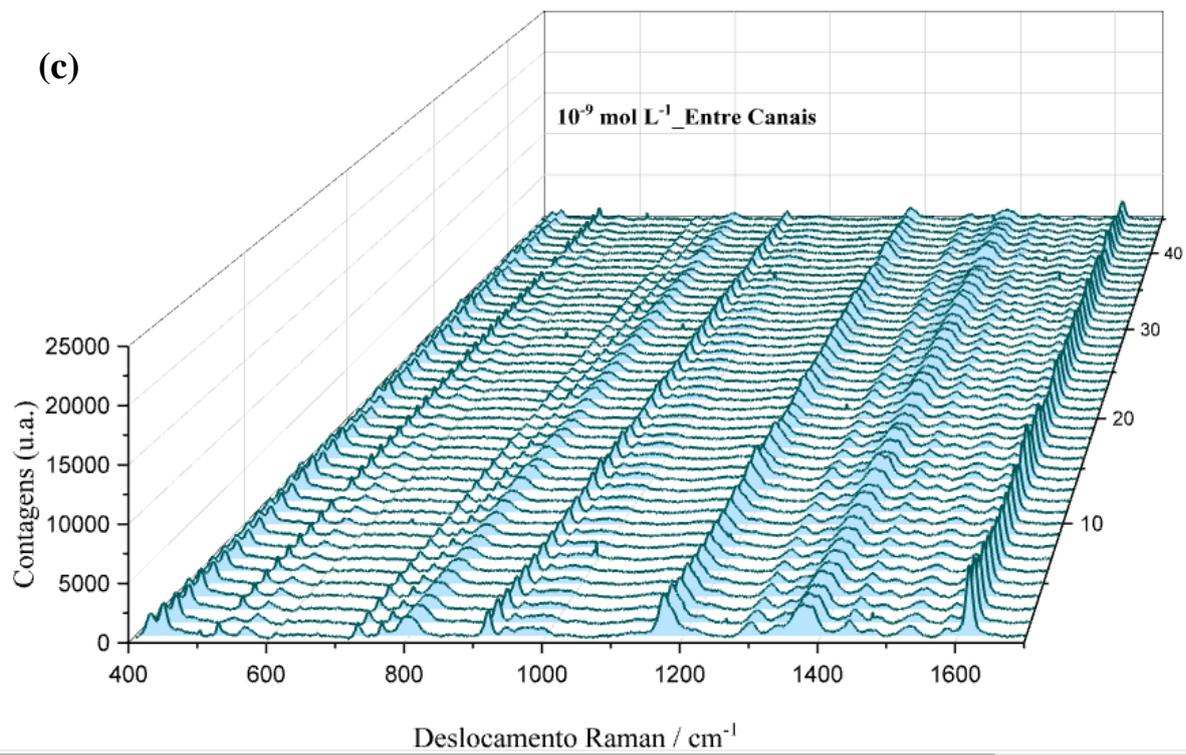


Figura 26. Mapeamentos SERS/SIERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) 10⁻⁷ mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (b) 10⁻⁸ mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (c) 10⁻⁹ mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (d) 10⁻¹⁰ mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (e) 10⁻¹¹ mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (f) 10⁻¹² mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10). As análises foram realizadas dentro do microcanal demarcado pela letra “A”, utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 ranhuras/mm², 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.





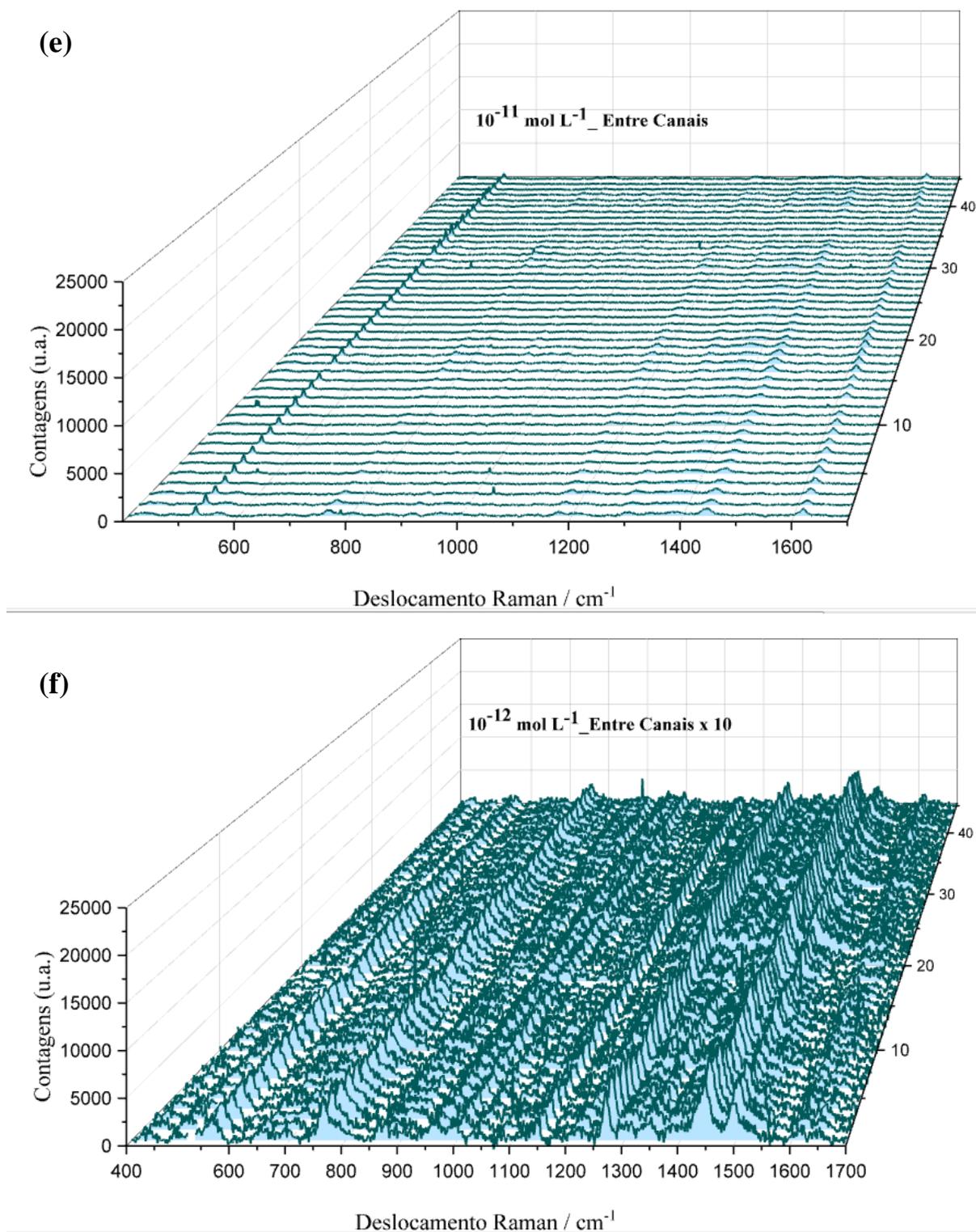
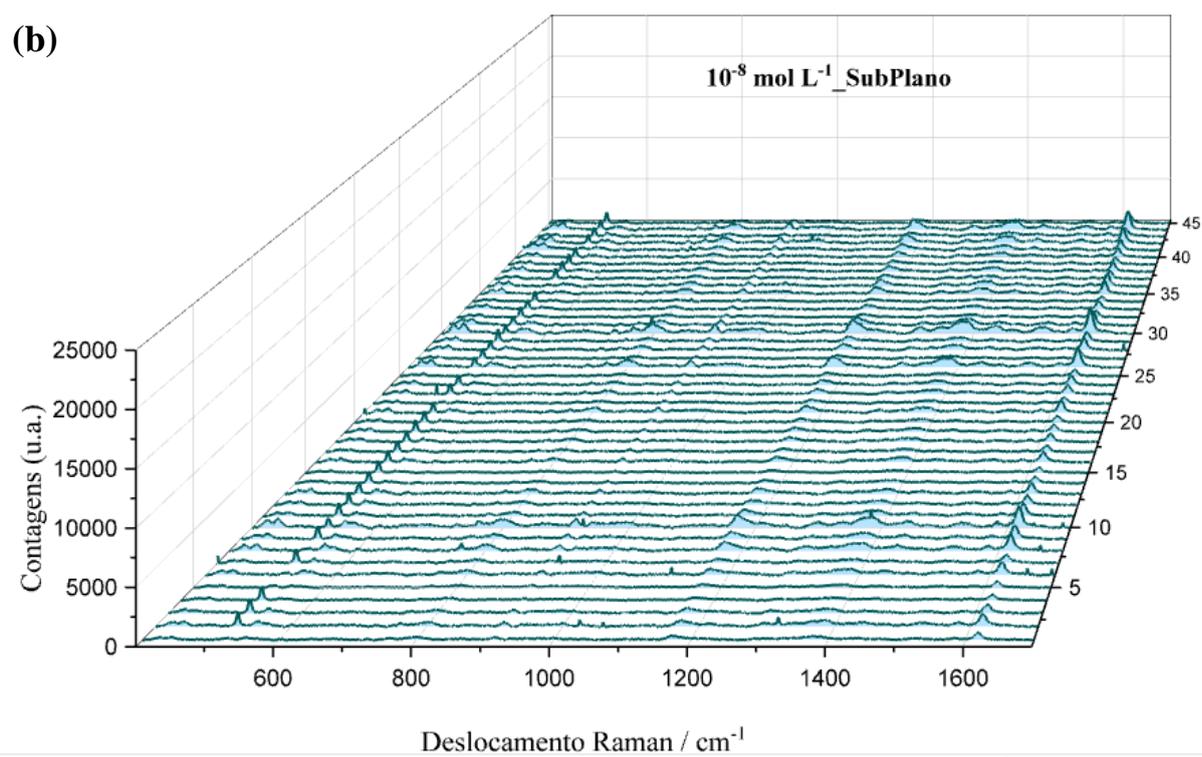
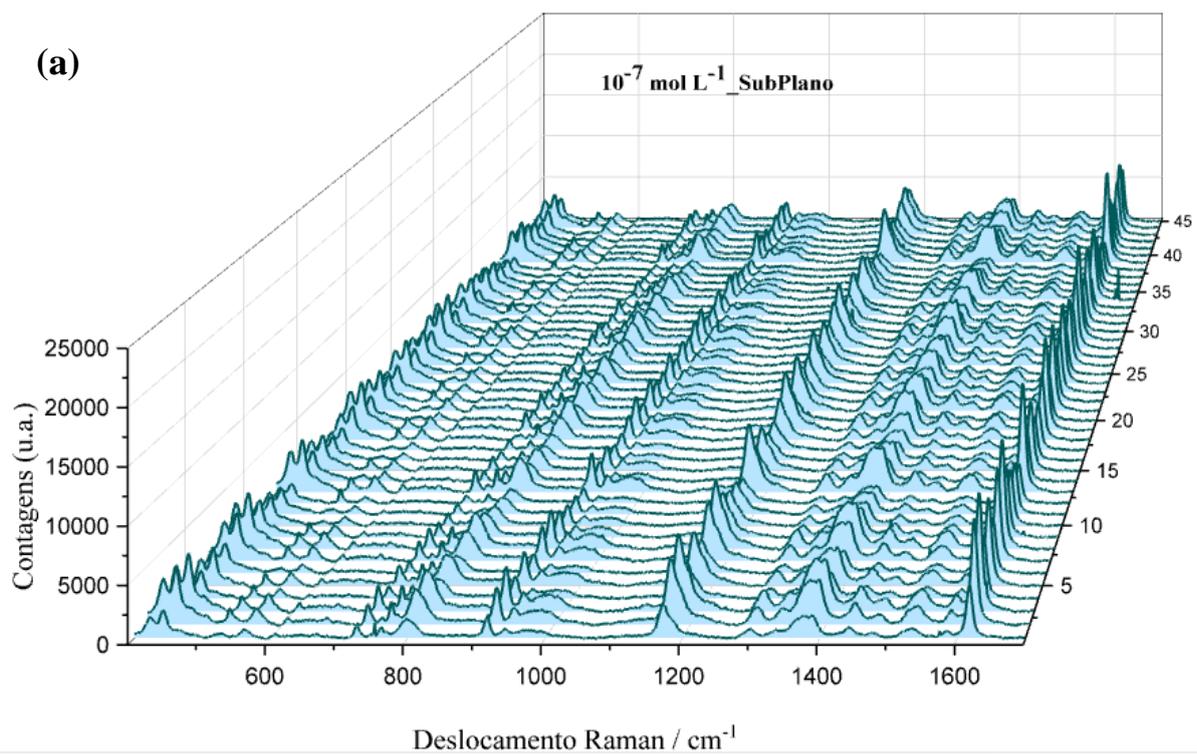
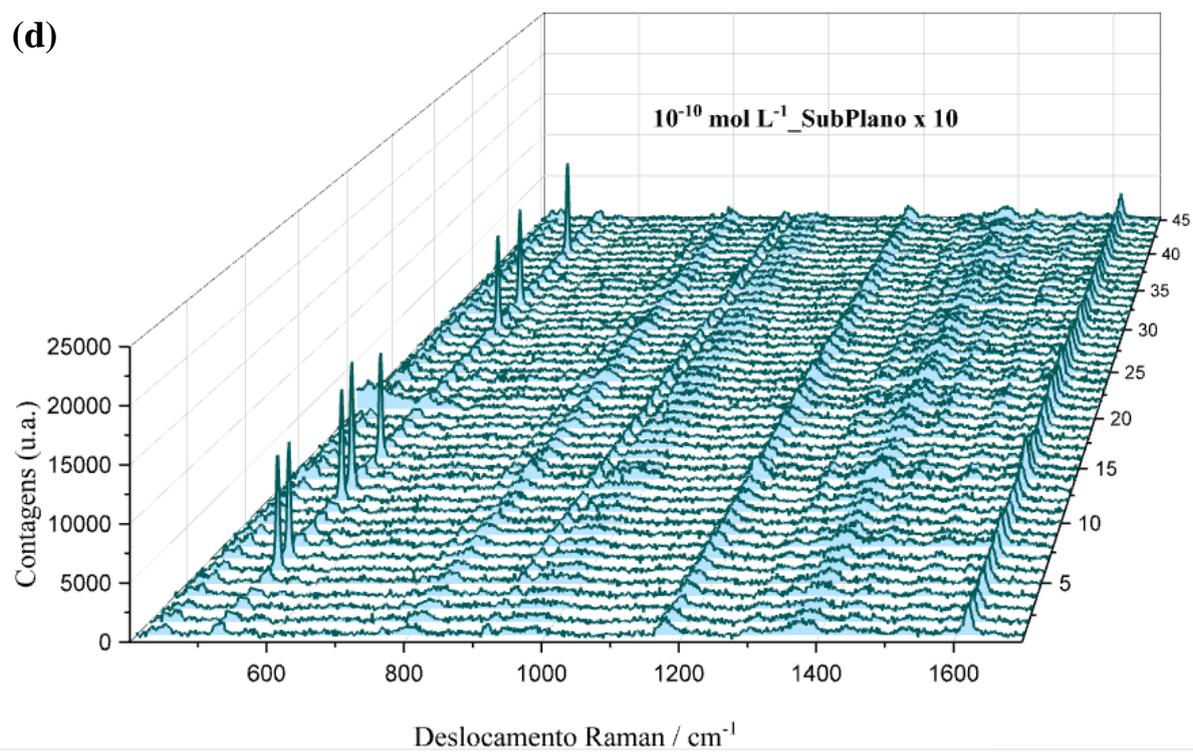
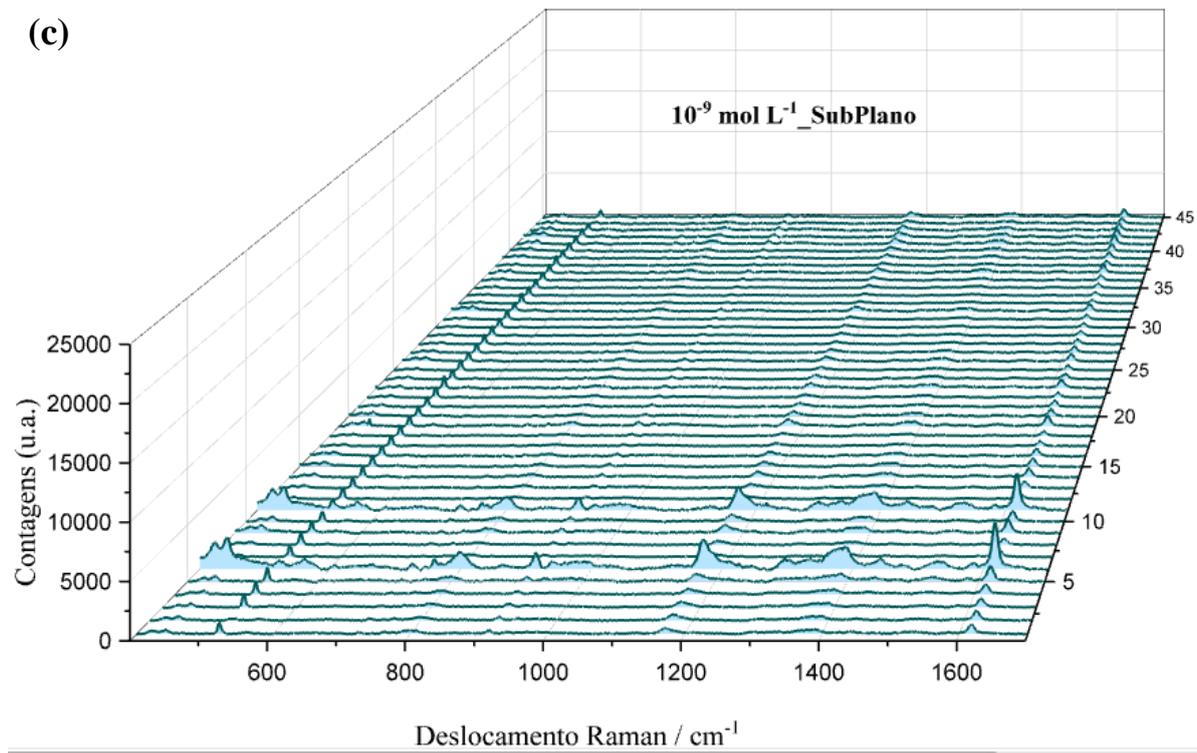


Figura 27. Mapeamentos SERS/SIERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs, (b) $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs, (c) $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs, (d) $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs, (e) $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs, (f) $10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10). As análises foram realizadas nas superfícies entre os microcanais, utilizando o laser de excitação $\lambda = 633 \text{ nm}$, grade de $600 \text{ ranhuras/mm}^2$, 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.





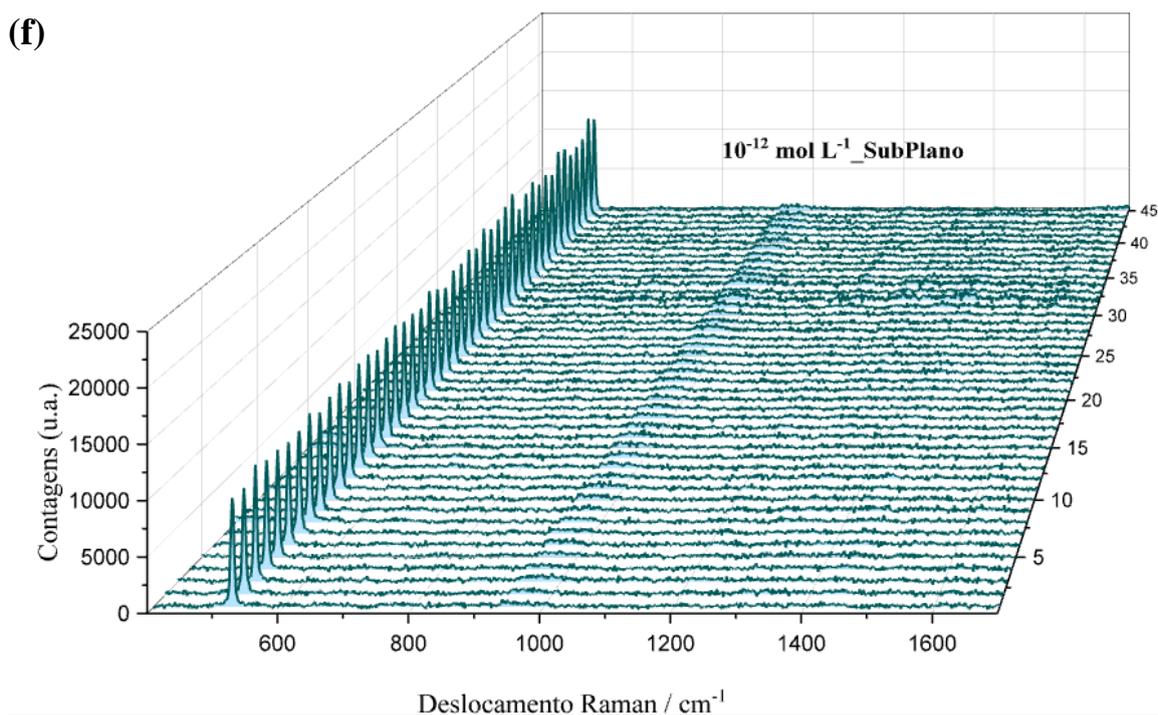
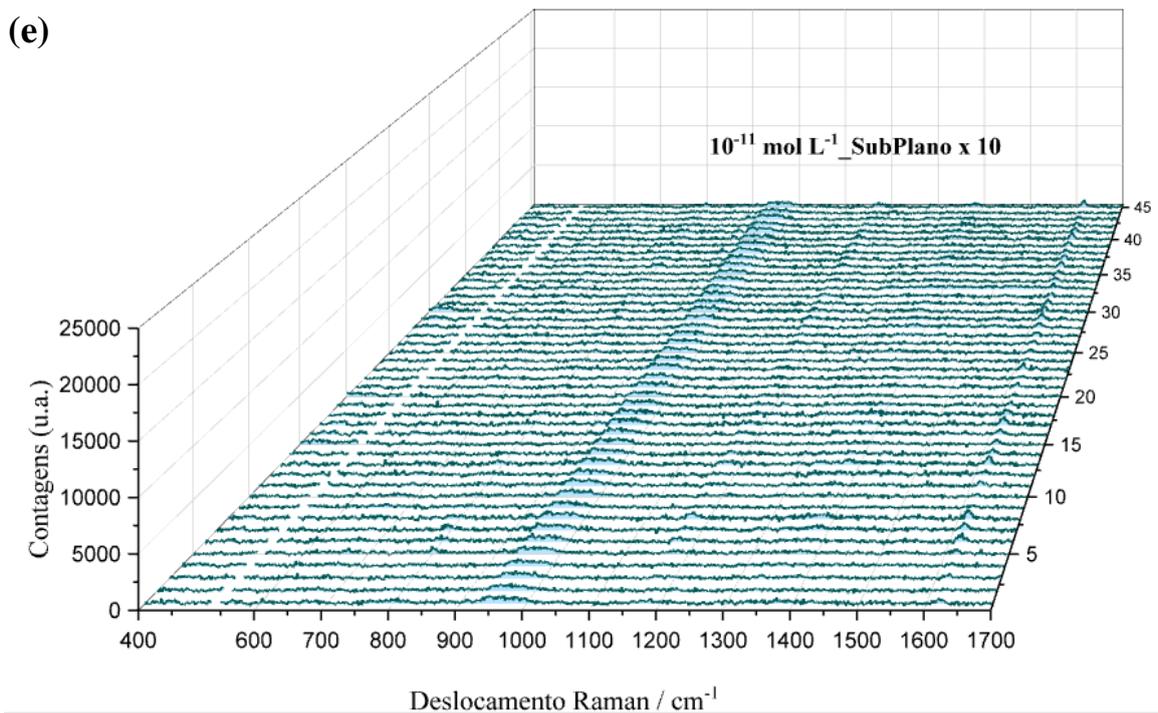
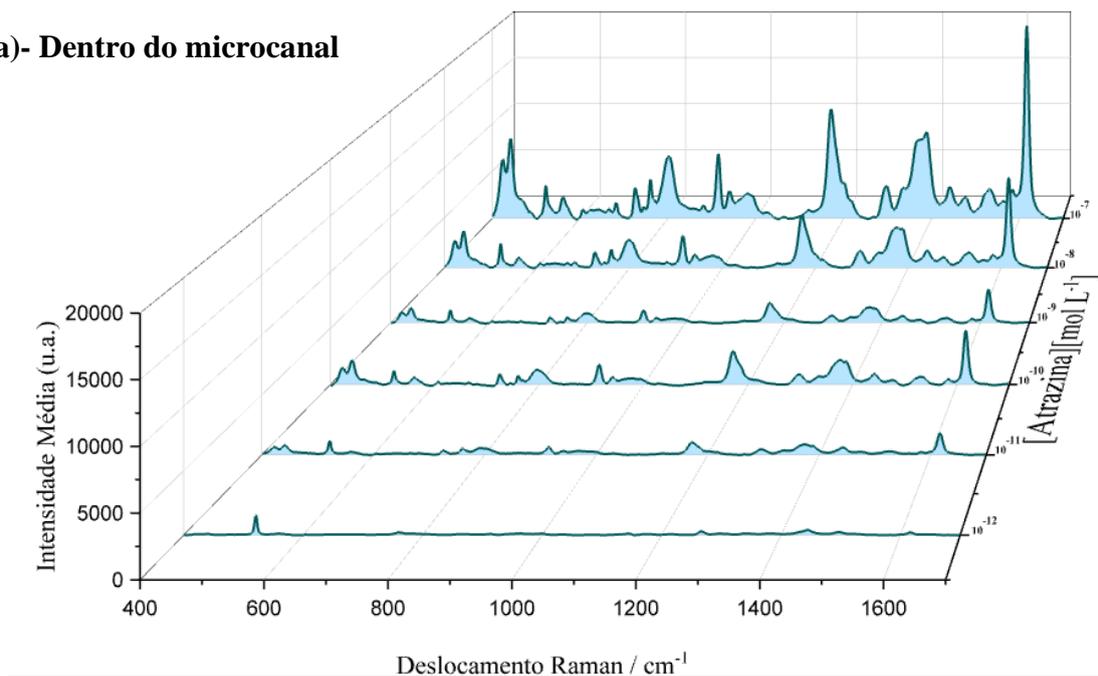


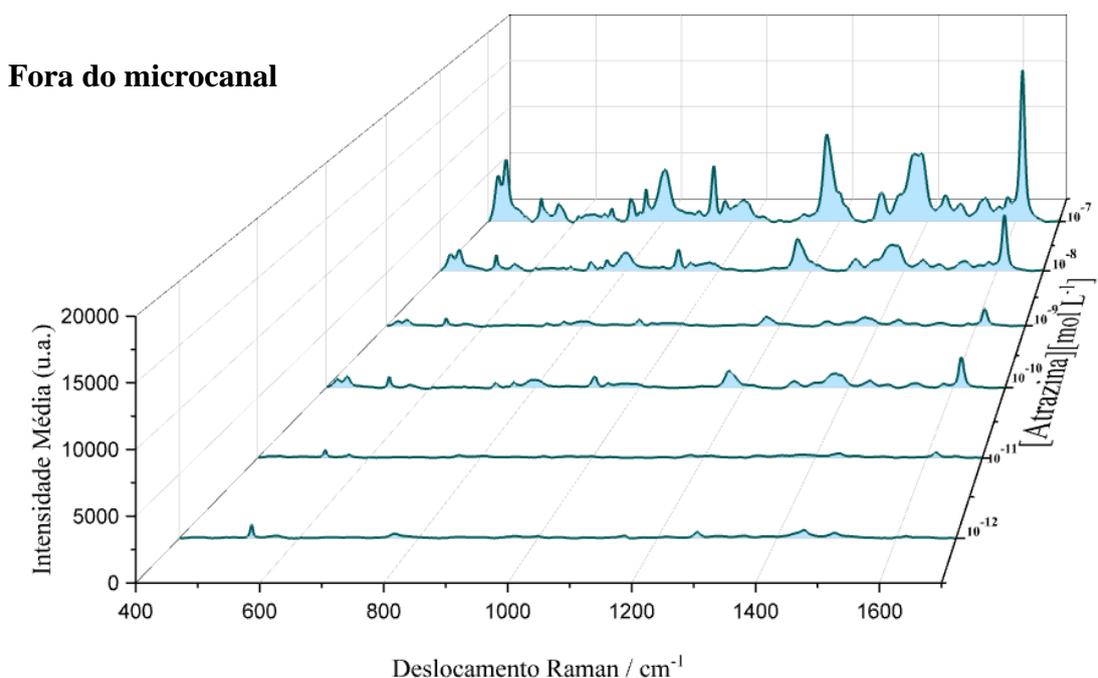
Figura 28. Mapeamentos SERS para a molécula de atrazina em diferentes concentrações incubada com a suspensão de AuNRs. Em (a) 10^{-7} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (b) 10^{-8} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (c) 10^{-9} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs, (d) 10^{-10} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10), (e) 10^{-11} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs (multiplicado x10), (f) 10^{-12} mol L⁻¹ de atrazina + AuNRs. As análises foram realizadas na superfície de um substrato de Si completamente plano, utilizando o laser de excitação $\lambda = 633$ nm, grade de 600 ranhuras/mm², 20s de exposição, 1 acumulação e objetiva de 10x.

Ao comparar os espectros SERS/SIERS nas Figuras 26, 27 e 28 nota-se claramente a intensificação do sinal SERS proporcionada pelo efeito SIERS para as concentrações correspondentes, e nas condições dentro e fora do microcanal V em comparação com o substrato completamente plano. Para melhor visualização do efeito SIERS nos espectros SERS, a Figura 29 (a - c) ilustra os espectros SERS/SIERS médios para o conjunto apresentado anteriormente (Figuras 26, 27 e 28).

(a)- Dentro do microcanal



(b)- Fora do microcanal



(c)- Substrato plano

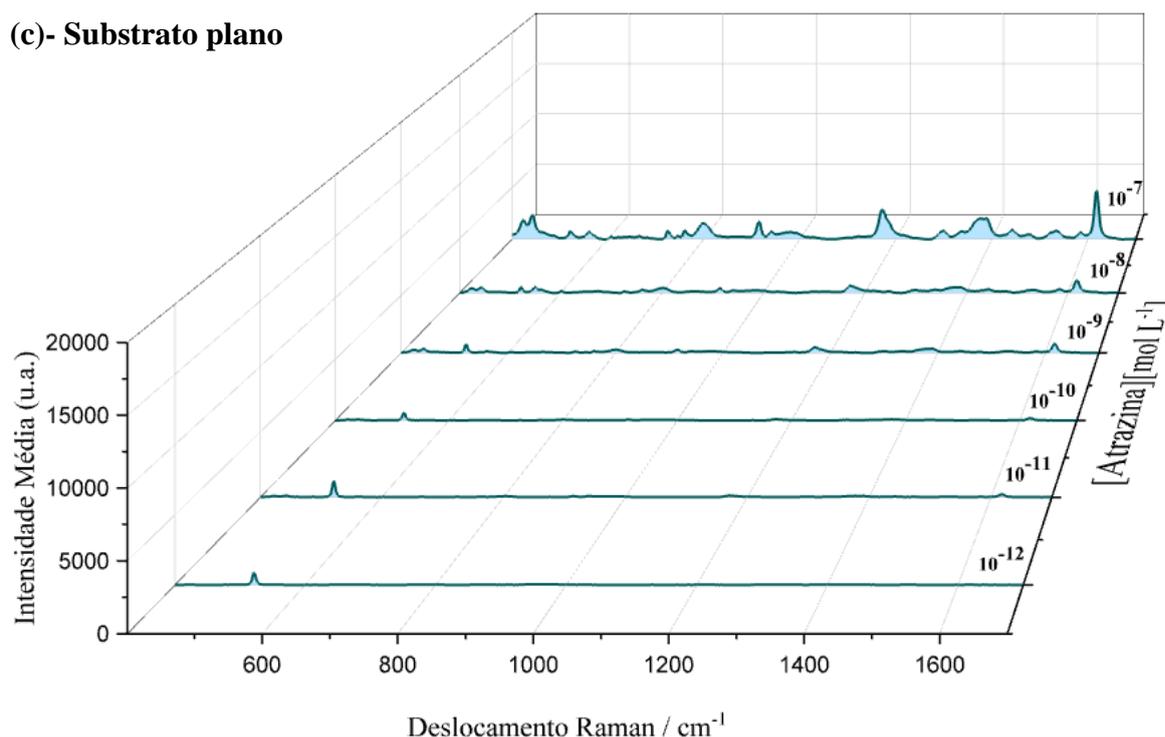


Figura 29. Valores da intensidade média dos espectros obtidos pelos mapeamentos em cada região do substrato, dentro (a) e fora (b) dos microcanais e (c) no substrato plano, na faixa de concentração de $10^{-7} - 10^{-12}$ mol L⁻¹.

A partir das Figuras 29 (a - c) é possível observar que os valores das intensidades médias são maior para os espectros obtidos no interior do microcanal comparado aos espectros obtidos entre os canais e, ao comparar com as intensidades médias obtidas no substrato de Si plano, essa diferença evidencia ainda mais a influência da combinação dos efeitos SERS+SIERS. Mais especificamente, tomando a banda de referência em 1617 cm^{-1} , atribuída ao modo de deformação do anel no plano com contribuição do modo de deformação da ligação C3-N3-H, na concentração 10^{-7} mol L⁻¹, são consideravelmente diferentes. Os valores das intensidades médias obtidas nas medidas realizadas tanto dentro e fora dos microcanais quanto no substrato de Si plano são apresentados na Tabela 6. Os demais espectros utilizados no cálculo das intensidades médias encontram-se nas Figuras A10-A27 do Apêndice.

Tabela 6. Valores de intensidade média obtidos para as análises SERS/SIERS nas regiões internas e externas aos microcanais.

Concentração (mol L ⁻¹)	Si-V (Dentro do microcanal)	Si-V (região externa ao microcanal)	Si Plano
10 ⁻⁷	20.376	15.767	4692
10 ⁻⁸	8965	5490	1176
10 ⁻⁹	3150	1616	818
10 ⁻¹⁰	4798	2651	201
10 ⁻¹¹	1817	450	232
10 ⁻¹²	201	165	Não detectável

Como é observado na Tabela 6, a intensidade média dos espectros extraídos dentro do microcanal é de aproximadamente 20.000 contagens enquanto que na região externa aos microcanais, a qual apresenta um padrão rugoso, a intensidade média calculada foi de 15.000 contagens, considerando a mesma concentração de análise. Ao considerar a intensidade média obtida para a mesma concentração, 10⁻⁴ mol L⁻¹, no substrato de Si plano, o valor de aproximadamente 5.000 contagens se mostra muito inferior ao comparar com os valores obtidos no substrato de Si-V, nas diferentes regiões de análise, chegando a uma diferença de aproximadamente 5x o valor da intensidade média. Esse resultado realça ainda mais a contribuição do efeito SIERS tanto nas regiões internas quanto nas regiões próximas aos microcanais na obtenção dos espectros Raman intensificados. A mesma tendência é observada com a diminuição da concentração da solução utilizada no preparo da amostra, que no caso do substrato de Si plano já não é possível verificar a presença de sinais além daquele referente a própria estrutura de Si em 520 cm⁻¹.

Além da atuação efetiva do efeito SIERS, deve-se levar em consideração também o fator de agregação de nanoestruturas metálicas favorecida pelos substratos com cavidades, o qual é possível concentrar uma maior quantidade de AuNRs além da agregação tridimensional (3D), ou seja, a formação de *hot spots* 3D gerando campos eletromagnéticos altamente eficientes. É possível então observar um padrão que tende a manter a proporção de intensificação obtida no substrato Si-V em relação àquela obtida na superfície do substrato plano para as diferentes concentrações analisadas. Observa-se ainda que conforme chegamos num regime de soluções mais diluídas, para os espectros medidos no substrato com microcanal V, observamos um desvio nesse comportamento, ao atingir a concentração 10⁻⁹ mol L⁻¹, que passa a ser novamente observado nas demais diluições. Tal comportamento de desvio pode ser originado na formação aleatória de regiões de *hot spots*, que promovem uma maior intensificação do espalhamento Raman e, conseqüentemente, geram essas imprecisões comportamentais pelo fato de não ser algo passível de controle.

Embora a intensificação do espectro nas regiões entre os microcanais do substrato de Si-V seja inferior as medidas dentro dos microcanais, como apresentado nas Figuras 29 (a) e (b), essas podem ainda estar superestimadas ao considerar uma superfície externa completamente plana. Tal fato se dá justamente pela presença das cavidades, observadas nas Figuras 17 - 19. Tais cavidades podem atuar tanto no confinamento da radiação eletromagnética incidente quanto na aglomeração de AuNRs, gerando estruturas 3D favoráveis a produção de *hot spots*, se trazindo numa maior intensificação do espectro SERS da atrazina que de fato faria em uma superfície perfeitamente lisa, como observado por (BÄR et al., 2021), bem como em um substrato de Si completamente liso.

Adicionalmente, ao comparar os espectros SERS e Raman para a molécula de atrazina nota-se uma diferença em relação ao perfil espectral da mesma, conforme ilustrado na Figura 30. Especificamente, para a banda mais intensa que aparece em 960 cm^{-1} no espectro Raman essa diferença é bem evidente. A mudança no perfil espectral pode ser explicada pela forma com que a molécula de atrazina se adsorve na superfície dos AuNRs, provocando mudança na polarizabilidade das ligações, visto que algumas ligações estarão mais livres que outras para vibrarem. Além disso, a mudança da conformação local da molécula e o tipo de mecanismo predominante no processo de intensificação SERS, seja químico ou eletromagnético, também poderão influenciar no surgimento de bandas não previstas e até no deslocamento significativo de bandas já previstas, como estudado por (BONORA et al., 2013; HUANG et al., 2007a) através de simulações teóricas.

No trabalho realizado por (COSTA et al., 2011) investiga-se a partir de simulações teóricas a influência da posição de adsorção da molécula na superfície de nanopartículas metálicas, como nanocubos de Au e nanafios de Ag, e quais bandas são preferencialmente intensificadas a partir dessa variação. Mais especificamente, varia-se o átomo de nitrogênio (N) presente no anel triazínico da molécula que está sendo adsorvido na superfície da nanopartícula. Contudo, um dos problemas mais abordados na literatura para o uso de nanopartículas de Au na detecção da atrazina é a possível interferência das bandas referentes aos modos vibracionais do CTAB presentes na superfície da nanopartícula, de modo que a maior parte dos trabalhos de detecção para o herbicida em questão são realizados a partir do uso de nanopartículas metálicas de Ag (BONORA et al., 2013; COSTA et al., 2011; RUBIRA et al., 2014).

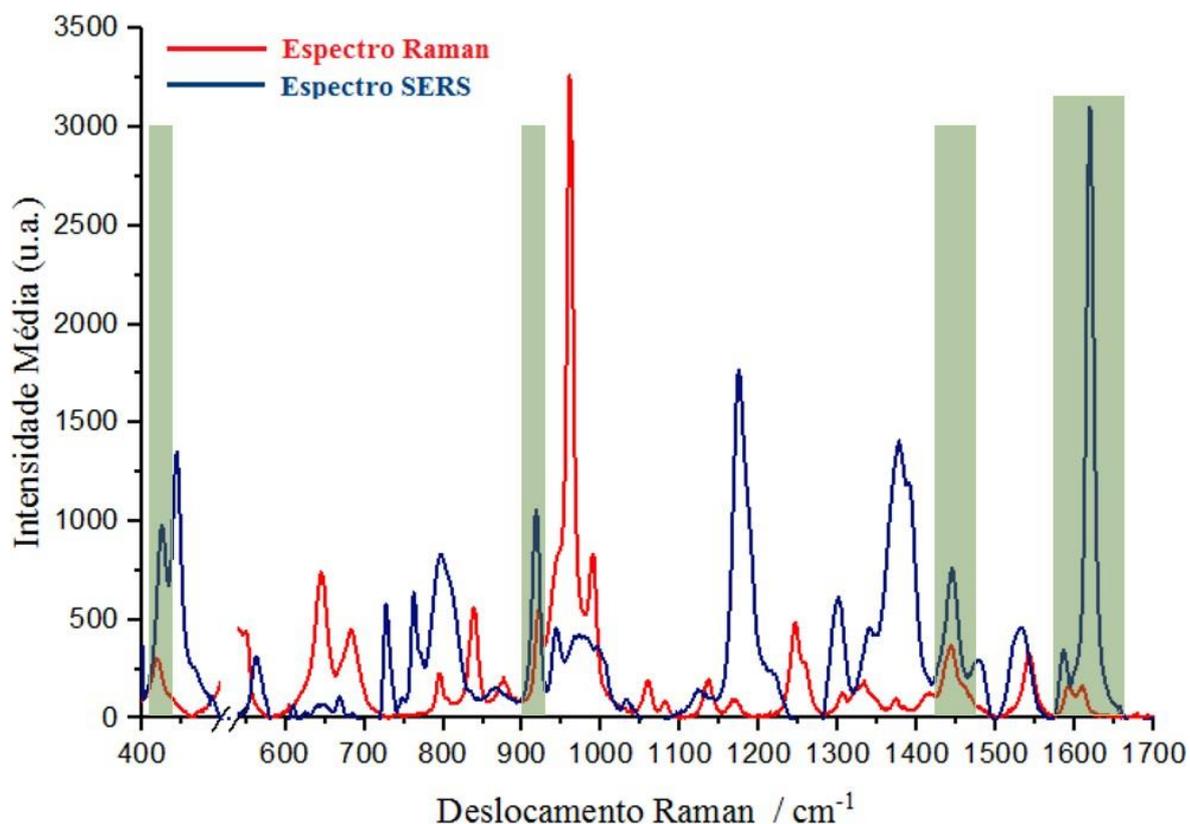


Figura 30. Média do espectro Raman da atrazina obtida no substrato Si-V na ausência de AuNRs (vermelho) e média do espectro SERS/SIERS da atrazina (azul).

Como pode ser observado nos espectros na Figura 30, algumas bandas características da atrazina, que anteriormente apresentavam baixa intensidade, como a banda em 422 cm^{-1} , apresentam uma maior intensificação após sua adsorção na superfície dos AuNRs, o qual poderia ser utilizada para confirmar a presença da atrazina, além da banda escolhida para o controle, na região de 1600 cm^{-1} . Além dessa, pode-se ainda verificar para o espectro SERS/SIERS (espectro em vermelho, na Figura 30) a presença de uma banda dupla na região de 1600 cm^{-1} , que se desdobra com uma maior intensidade no espectro SERS/SIERS, o que é pouco perceptível no espectro Raman da atrazina pura.

Essas observações corroboram com dados já apresentados na literatura (BETHSASS; COLANGELO, 2006; BONORA et al., 2013; CHEN et al., 2013; DAO; HUNG; YUN, 2019), o qual a partir de cálculos teóricos é previsto uma banda em 1624 cm^{-1} , referente ao modo de deformação do anel no plano mais o modo de deformação da ligação C3-N3-H. Os autores também incluem essa observação no mesmo trabalho, tendo como resultado a presença de uma banda em 1610 cm^{-1} . Já ao comparar com os resultados obtidos por (ALBARGHOUTH; MACMILLAN; BROSSEAU, 2021), a partir da utilização de AuNRs em substratos planos de

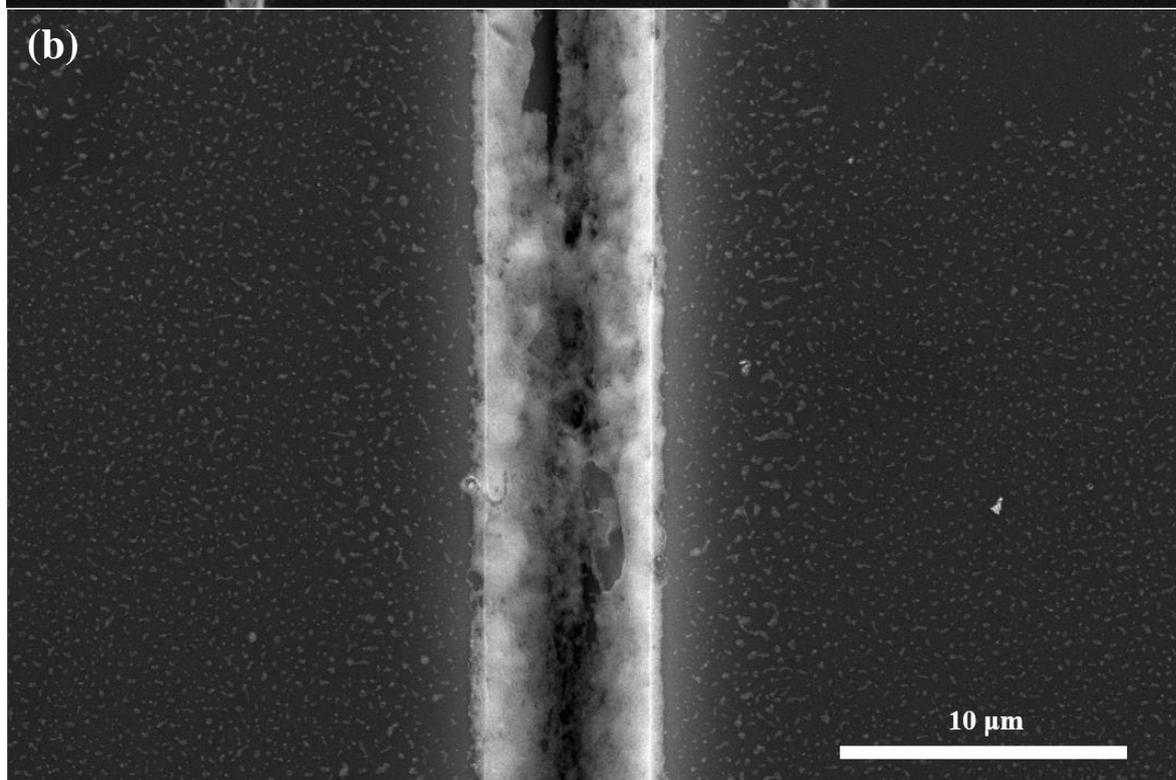
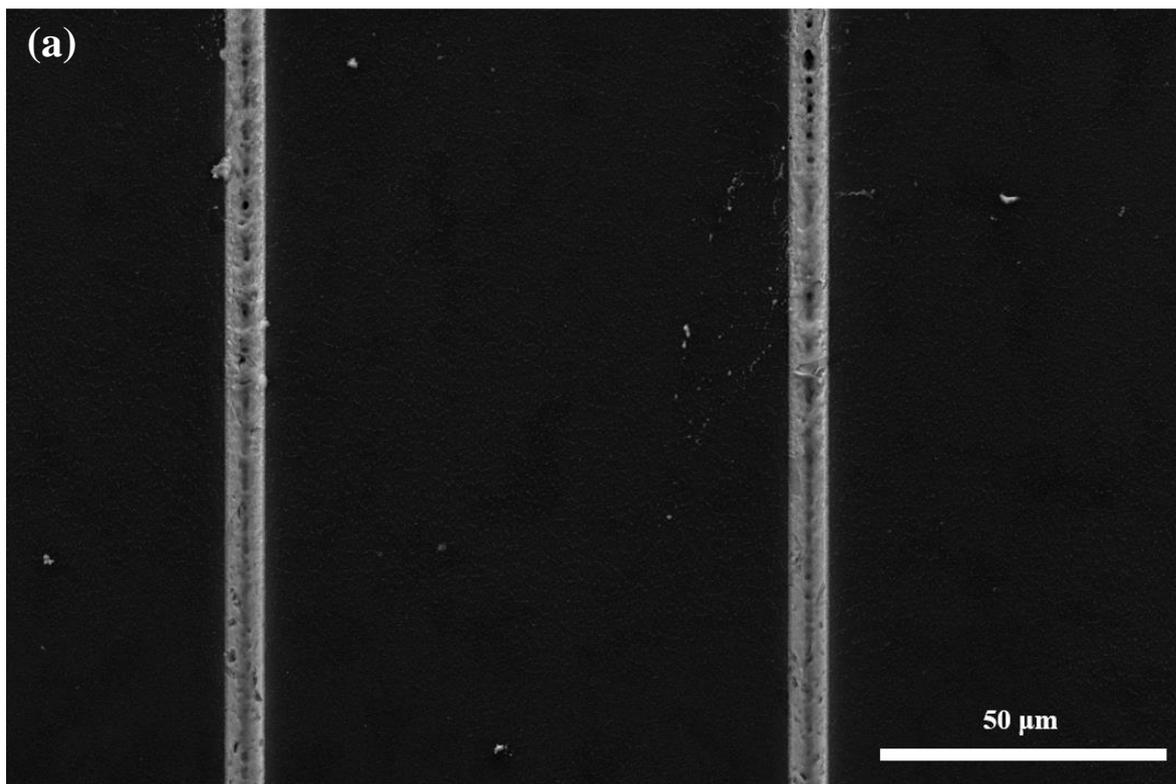
Si, a mesma banda aparece em 1613 cm^{-1} , ou seja, o deslocamento observado é muito pequeno mudando o material da nanopartícula (Ag ou Au) e um pouco maior ao considerar as previsões teóricas realizadas. Embora hajam deslocamentos, a banda na região de 1600 cm^{-1} , mais especificamente a banda em 1617 cm^{-1} , pode de fato ser utilizada no controle da presença dessa molécula sem a influência da presença de bandas referentes ao CTAB.

O modo de preparo da amostra, sendo realizado um processo de incubação, possibilitou a detecção da atrazina em baixas concentrações ($10^{-12}\text{ mol L}^{-1}$) ao comparar com dados apresentados na literatura por (ALBARGHOUTHI; MACMILLAN; BROSSEAU, 2021), no qual mesmo após a funcionalização da superfície dos AuNRs utilizados, foi alcançada uma detecção limite na ordem de $10^{-4}\text{ mol L}^{-1}$, como apresentado na Tabela 1. Ainda ao comparar com outros valores de detecção alcançadas e apresentados na Tabela 1, pode-se apontar a vantagem sobre os exemplos apresentados pela ausência de processos de modificação da superfície das nanoestruturas consideradas, de modo a alcançar baixos limites de detecção da molécula de atrazina. Essa possibilidade decorre do fato de, além da etapa de incubação por um período de 30 min da mistura, o que favorece a difusão das moléculas de atrazina para a superfície dos AuNRs, a presença do metanol no preparo das amostras atua na remoção das moléculas de CTAB adsorvidas na superfície dos AuNRs. A remoção do CTAB faz com que os AuNRs se aglomerem, gerando estruturas 3D que favorecem a produção de hotspots ainda mais intensos. Além disso, o processo de aglomeração favorece a dispersão da molécula de atrazina nas estruturas 3D formadas, de modo que a probabilidade de se obter uma intensificação do espectro Raman ao longo de toda a região de análise seja maior que em relação a outros modos de deposição já realizados.

Adicionalmente ao modo de preparo da amostra, que como mencionado favoreceu a dispersão da molécula de atrazina na superfície dos AuNRs, cabe mencionar que a detecção em baixas concentrações só foi possível através da contribuição do efeito SIERS ao medir esses espectros dentro dos microcanais em V. Essa contribuição ficou evidente ao analisar os espectros SERS/SIERS apresentados nas Figuras 27, 28 e 29.

5.3.2. Reutilização dos substratos de Si-V

Para tornar a utilização do substrato de Si-V economicamente favorável a partir de sua reutilização em novos processos de análise, verificou-se a eficiência do processo de limpeza dos substratos adotado. Para isso, foram obtidas as imagens de micrografia por SEM, apresentadas na Figura 31, após a deposição dos AuNRs e após o processo de limpeza em si.



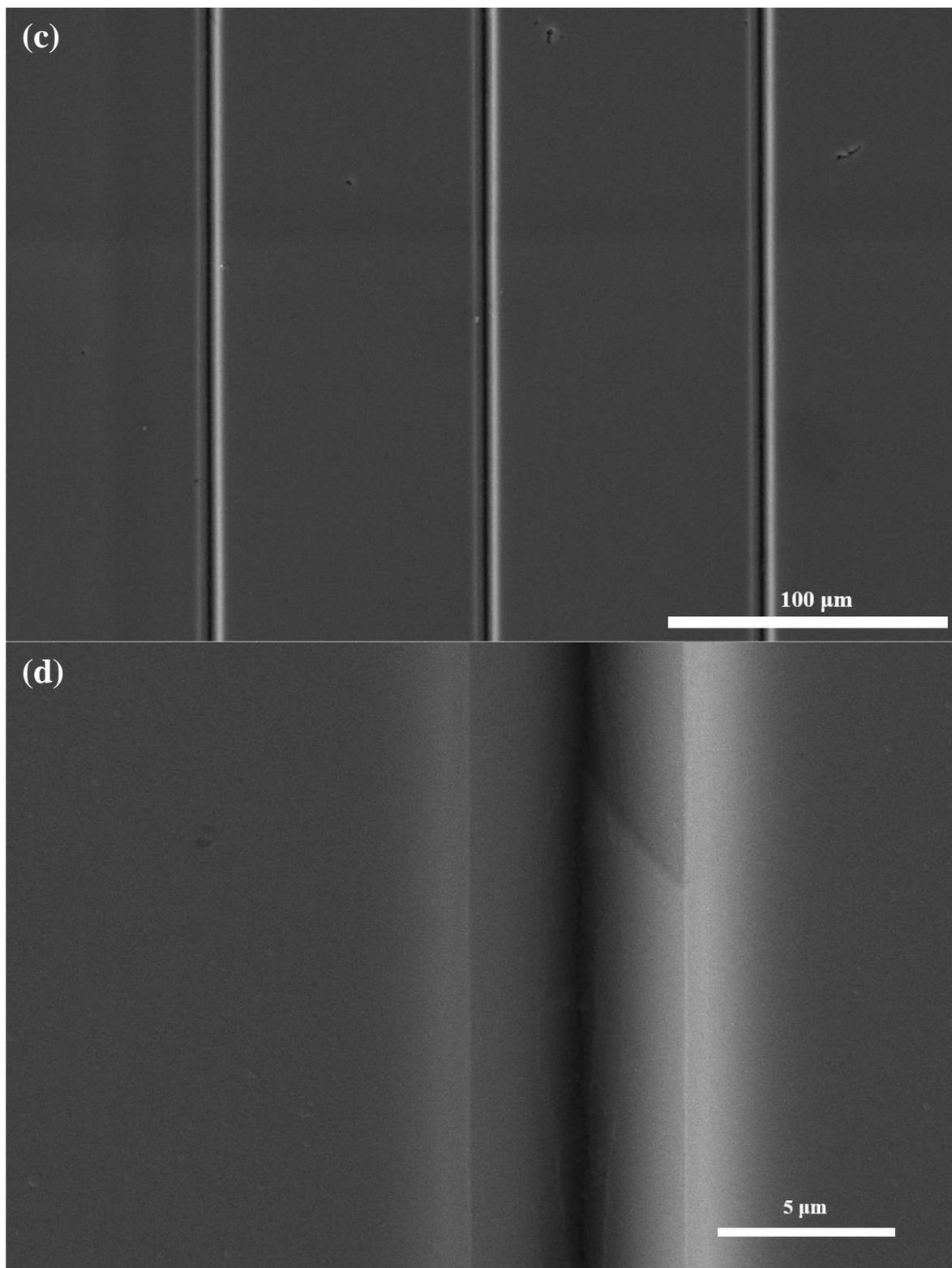


Figura 31. Micrografias obtidas por SEM do substrato de Si-V 1 após deposição dos AuNRs (a - b) e após realização do processo de limpeza para viabilizar sua reutilização (c - d).

Ao analisar as imagens da Figura 31, fica evidente a eficiência do processo de limpeza dos substratos de Si-V ao considerar a reutilização dos substratos no preparo de outras amostras

contendo AuNRs e o analito de interesse. Tal possibilidade potencializa ainda mais a utilização desses substratos de Si-V como plataformas SERS, visto que a partir da produção de algumas unidades do substrato, inúmeras análises podem ser realizadas já que sua reutilização é completamente viabilizada. Somando-se a reutilização das plataformas de Si-V com as altas intensificações obtidas, devido a contribuição construtiva dos efeitos SERS+SIERS, o substrato SERS estudado apresenta grande capacidade de alcançar limites de detecção cada vez mais baixos a partir de ajustes no preparo e deposição da amostra a ser analisada.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

A partir dos resultados obtidos, é possível destacar a contribuição do efeito SIERS presente nos substratos de Si-V no processo de intensificação do espectro Raman e SERS da atrazina, de modo que esse efeito possa vir a ser mais explorado com outras moléculas além, não sendo restrito as analisadas no trabalho desenvolvido anteriormente em nosso grupo (BÄR et al., 2021). Adicionalmente, evidencia-se a excelente performance dos substratos de Si-V como plataforma SERS na detecção do herbicida atrazina, uma vez que, o efeito SIERS é fundamental para promover a concentração de um campo eletromagnético intensificado. Além das cavidades em V permitirem uma concentração de AuNRs e formação de hotspots 3D e atuarem como armadilhas para maior concentração de moléculas nessas regiões. Portanto, foi possível realizar a detecção da molécula de interesse até a concentração de 10^{-12} mol L⁻¹, sendo essa concentração alcançada bastante inferior aos abordados na literatura utilizando-se nanopartículas de Au sobre substrato de Si. Outro fator a ser destacado que possibilitou alcançar uma baixa concentração de análise foi a metodologia adotada na deposição da atrazina, ou seja, o processo de incubação e mistura com a suspensão coloidal de AuNRs. Entretanto, enfatiza-se a necessidade de mais estudos nesse quesito. Uma questão a ser mais estudada é a influência do solvente utilizado no preparo da solução e o respectivo padrão de cristalização obtido na qualidade e definição dos espectros Raman obtidos e como isso pode vir a influenciar na obtenção do espectro SERS futuramente, de modo a melhor entender o comportamento de cada substância sob análise. Por fim, novas análises na superfície externas aos microcanais devem ser realizadas, utilizando-se substratos com a superfície perfeitamente lisa e homogênea, de modo a descartar a identificar se de fato a presença das microcavidades influenciaram na obtenção de espectros mais intensificados do que de fato seriam e, com isso, avaliar a possibilidade de obtenção de uma nova plataforma SERS capaz de alcançar altos limites de detecção sem que haja a necessidade de performar processos de fabricação complexos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBARGHOUTHI, N.; MACMILLAN, P.; BROSSEAU, C. L. Optimization of gold nanorod arrays for surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) detection of atrazine. **Analyst**, v.146, n. 6, p. 2037–2047, 2021.
- ASHKAR, R. et al. Rapid Large-Scale Assembly and Pattern Transfer of One-Dimensional Gold Nanorod Superstructures. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 9, n. 30, p. 25513–25521, 2017.
- BÄR, J. et al. Silicon Microchannel-Driven Raman Scattering Enhancement to Improve Gold Nanorod Functions as a SERS Substrate toward Single-Molecule Detection. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 13, n. 30, p. 36482–36491, 2021.
- BETHSASS, J.; COLANGELO, A. European Union Bans Atrazine, While the United States Negotiates Continued Use. **International Journal of Occupational and Environmental Health**, v. 12, n. 3, p. 260–267, 19 jul. 2006.
- BONORA, S. et al. Raman and SERS study on atrazine, prometryn and simetryn triazine herbicides. **Journal of Molecular Structure**, v. 1040, p. 139–148, 2013.
- CHEN, H. et al. Gold nanorods and their plasmonic properties. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 7, p. 2679–2724, 2013.
- COSTA, J. C. S. et al. Understanding the effect of adsorption geometry over substrate selectivity in the surface-enhanced raman scattering spectra of simazine and atrazine. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 115, n. 10, p. 4184–4190, 2011.
- DAO, V.; HUNG, N.; YUN, S. Recent advances and challenges for solar-driven water evaporation system toward applications. **Nano Energy**, v. 68, n. November, p. 104324, 2019.
- DE FARIA, D.; AFONSO, M.; EDWARDS, H. Espectroscopia Raman: Uma nova luz no estudo de bens culturais. **Revista do Museu de Arqueologia e Etnologia**, n. 12, p. 249–267, 2002.
- DENDRAMIS, A. L.; SCHWINN, E. W.; SPERLINE, R. P. **A SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING STUDY OF CTAB ADSORPTION ON COPPER**. [s.l.: s.n.].
- DING, S. Y. et al. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy. **Chemical Society Reviews**, v. 46, n. 13, p. 4042–4076, 2017.
- FERRARO, J. R.; NAKATOMO, K. **Introductory Raman Spectroscopy**. 2nd. ed. [s.l.] Academic Press, 2003.
- GÖKCE, H.; BAHÇELI, S. The molecular structures, vibrational spectroscopies (FT-IR and Raman) and quantum chemical calculations of n-alkyltrimethylammonium bromides. **Optics and Spectroscopy (English translation of Optika i Spektroskopiya)**, v. 115, n. 5, p. 632–644, nov. 2013.
- HUANG, H. G. et al. Adsorption of nitrogen-containing aromatic molecules on Si(1 1 1)-7 × 7. **Surface Science**, v. 601, n. 5, p. 1184–1192, 2007a.
- HUANG, H. G. et al. Adsorption of nitrogen-containing aromatic molecules on Si(1 1 1)-7 × 7. **Surface Science**, v. 601, n. 5, p. 1184–1192, 1 mar. 2007b.
- H. VASKOVA. Spectroscopic determination of methanol content in alcoholic drinks. **International journal of biology and biomedical engineering**, v. 8, p. 27–34, 2014.
- JAIN, P. K. et al. Noble metals on the nanoscale: Optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology, and medicine. **Accounts of Chemical Research**, v. 41, n.

12, p. 1578–1586, 2008.

JOHN, N.; GEORGE, S. Raman Spectroscopy. Em: **Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017. v. 2p. 95–127.

KATO, F. et al. Active Tuning of Strong Coupling States between Dye Excitons and Localized Surface Plasmons via Electrochemical Potential Control. **ACS Photonics**, v. 5, n. 3, p. 788–796, 2018.

KELLY, K. L. et al. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 107, n. 3, p. 668–677, 2003.

LE RU, E. C.; ETCHEGOING, P. **Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy and related plasmonic effects**. 1st. ed. Amsterdam: Elsevier, 2009.

LIOU, P. et al. Cellulose nanofibers coated with silver nanoparticles as a SERS platform for detection of pesticides in apples. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 643–650, 2017.

LYON, L. A. et al. Raman Spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 70, n. 12, p. 341–361, 1998.

MCCREERY, R. L. **Raman Spectroscopy for Chemical Analysis**. [s.l.] Wiley, 2000.

NAKATOMO, K. **Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds**. 4th. ed. [s.l.] John Wiley & Sons, 1986.

NGO, Y. H. et al. Gold nanoparticles paper as a SERS bio-diagnostic platform. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 409, p. 59–65, 2013.

QIU, H. et al. Reliable molecular trace-detection based on flexible SERS substrate of graphene/Ag-nanoflowers/PMMA. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 249, p. 439–450, 2017.

RODRIGUEZ, I. et al. Silicon nanoparticles as Raman scattering enhancers. **Nanoscale**, v. 6, n. 11, p. 5666–5670, 2014.

RUBIRA, R. J. G. et al. Detection of trace levels of atrazine using surface-enhanced Raman scattering and information visualization. **Colloid and Polymer Science**, v. 292, n. 11, p. 2811–2820, 2014.

SCARABELLI, L. et al. A “Tips and Tricks” Practical Guide to the Synthesis of Gold Nanorods. **Journal of Physical Chemistry Letters**, v. 6, n. 21, p. 4270–4279, 2015.

SUGIMOTO, H.; YASHIMA, S.; FUJII, M. Hybridized Plasmonic Gap Mode of Gold Nanorod on Mirror Nanoantenna for Spectrally Tailored Fluorescence Enhancement. **ACS Photonics**, v. 5, p. 3421–3427, 2018.

WU, J. et al. End-to-end assembly and disassembly of gold nanorods based on photo-responsive host-guest interaction. **Chemical Communications**, v. 53, n. 33, p. 4577–4580, 2017.

YE, Y. et al. Sea-urchin-like Fe₃O₄@C@Ag particles: An efficient SERS substrate for detection of organic pollutants. **Nanoscale**, v. 5, n. 13, p. 5887–5895, 2013.

ZHANG, L. Self-assembly Ag nanoparticle monolayer film as SERS Substrate for pesticide detection. **Applied Surface Science**, v. 270, p. 292–294, 2013.

APÊNDICE

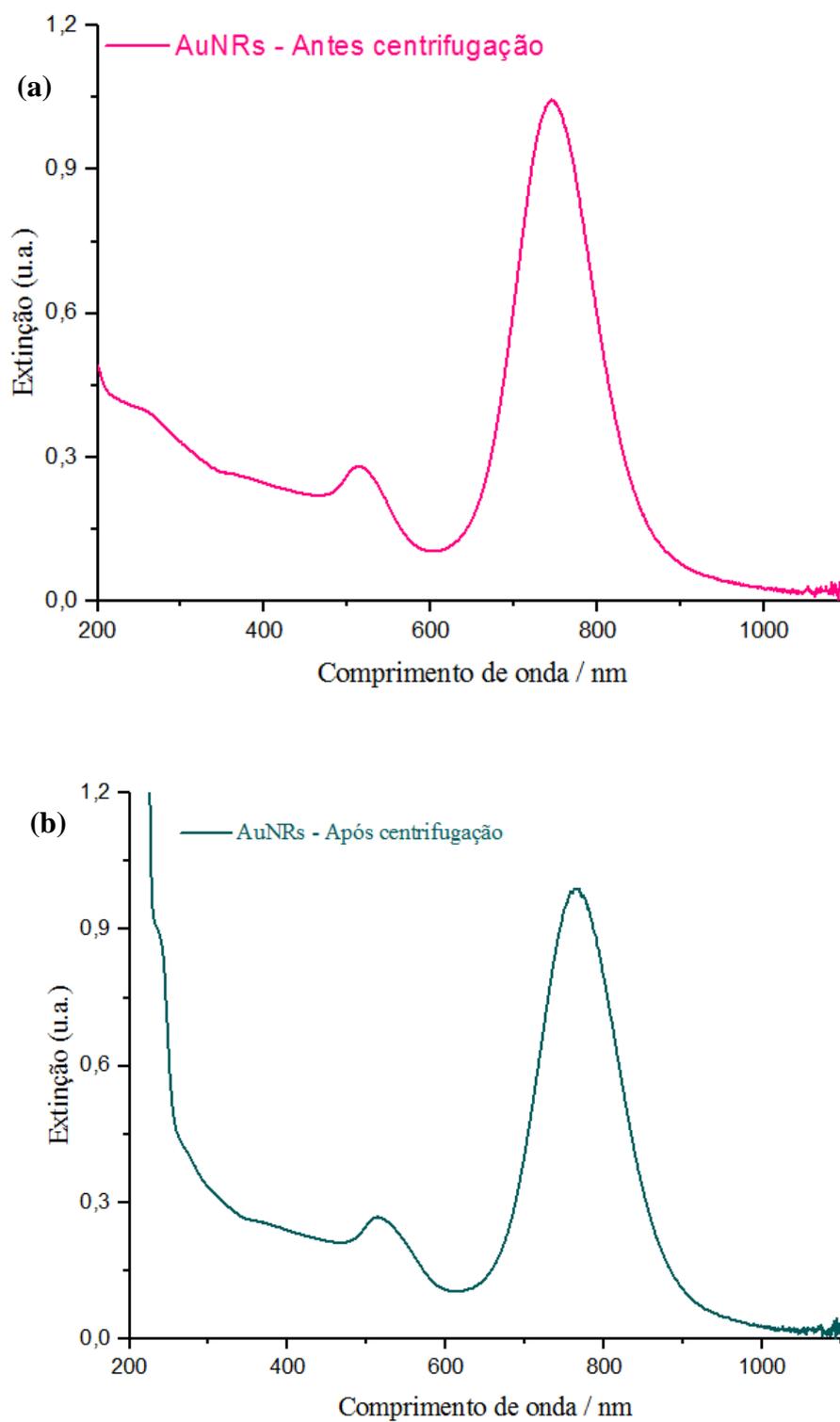


Figura A1. Espectros de extinção não normalizados (a-b) obtidos antes e após o processo de centrifugação da suspensão coloidal de AuNRs, respectivamente.

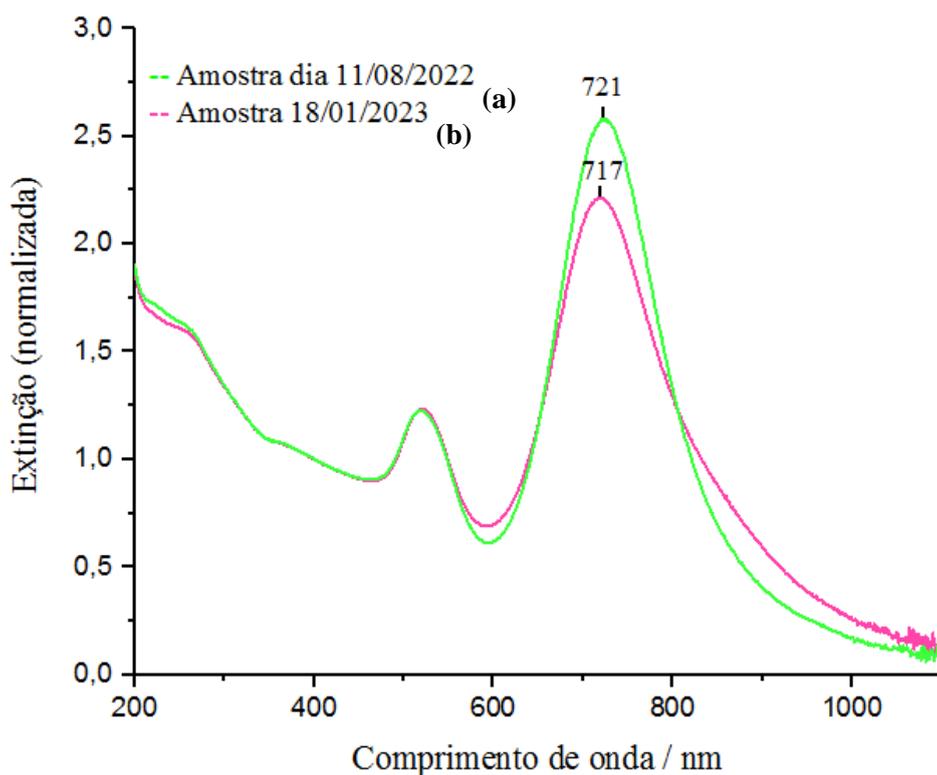
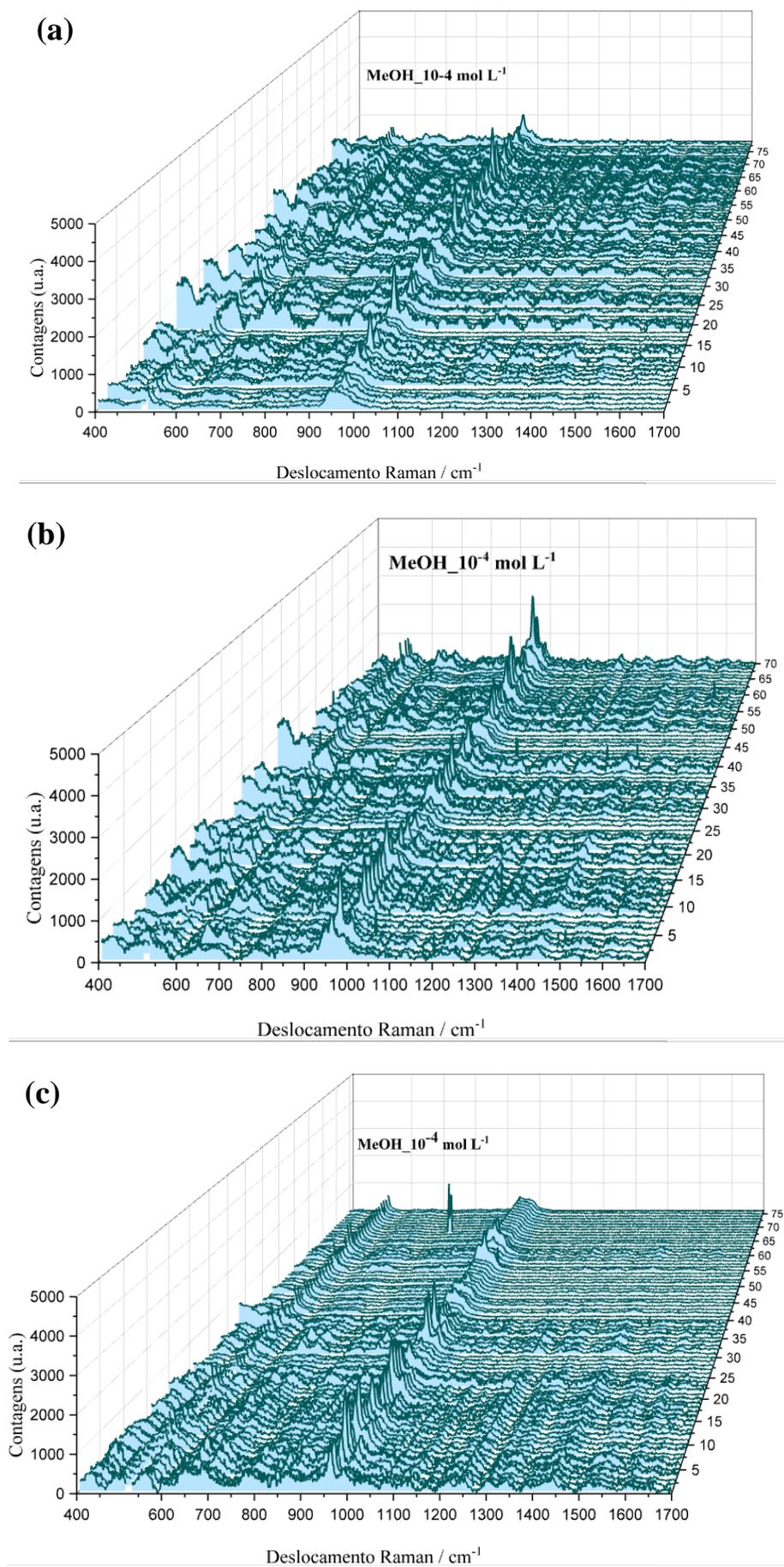


Figura A2. Espectros de extinção normalizados ($x = 400.066376$ nm; $y(a) = 0.485294935$ e $y(b) = 0.329197347$) da suspensão de AuNRs (a) após a etapa de lavagem (centrifugação) e (b) após 5 meses de sintetizada, obtidos por UV-Vis.

Após a normalização, foram obtidos os valores de $y = 1$ em ambas as curvas apresentadas na Figura A1, para o valor de $x = 400$ nm. Com isso, pela Equação (9), é possível calcular $[Au^0]$ em ambas as amostras.

$$[Au^0] = \frac{1,0 \times 0,5}{1,2} \cong 0,42 \text{ mmol L}^{-1}$$

Desse modo, fica constatado que não houve algum processo que influenciasse na diminuição da concentração de Au^0 no meio.



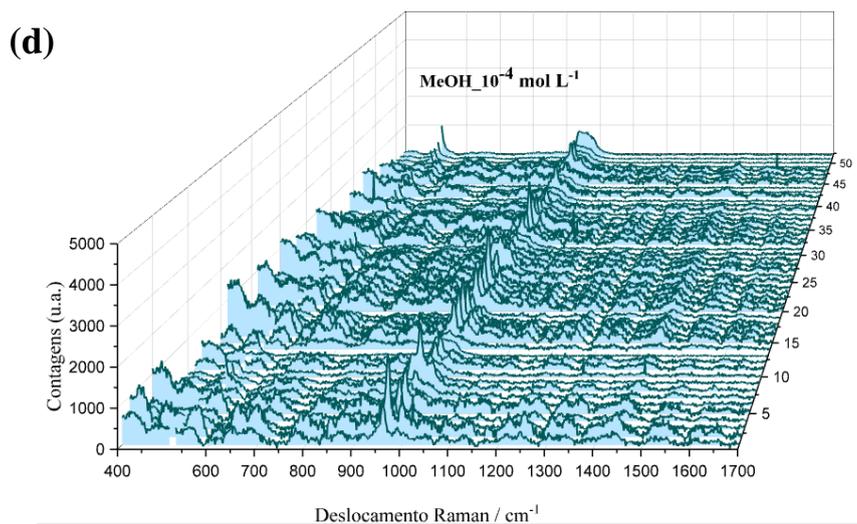
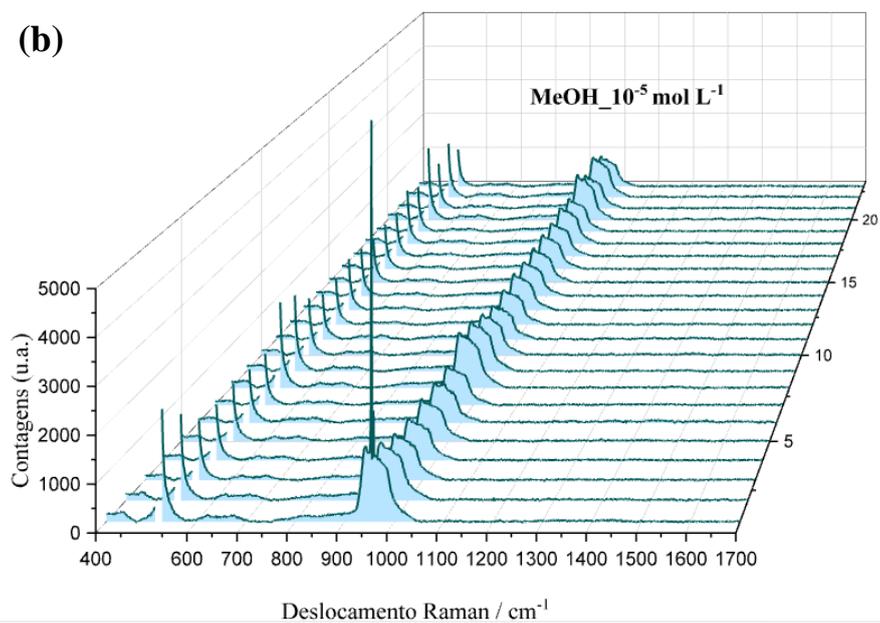
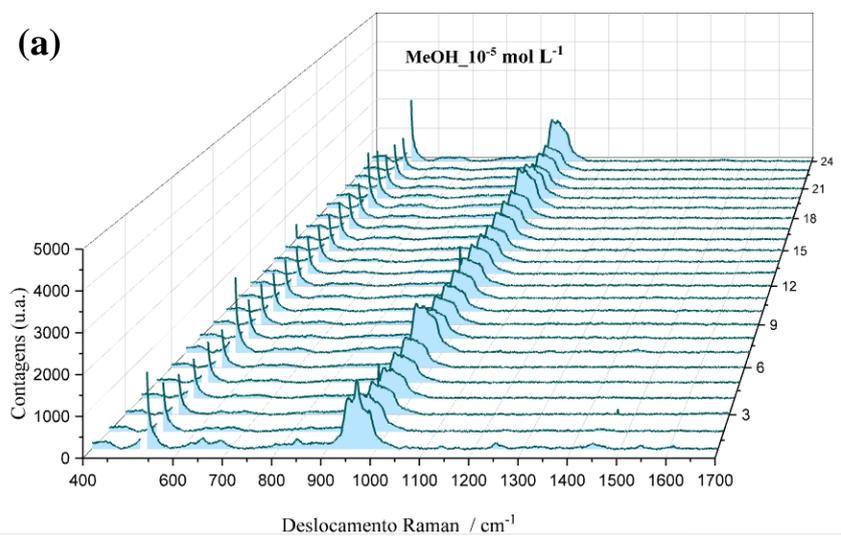
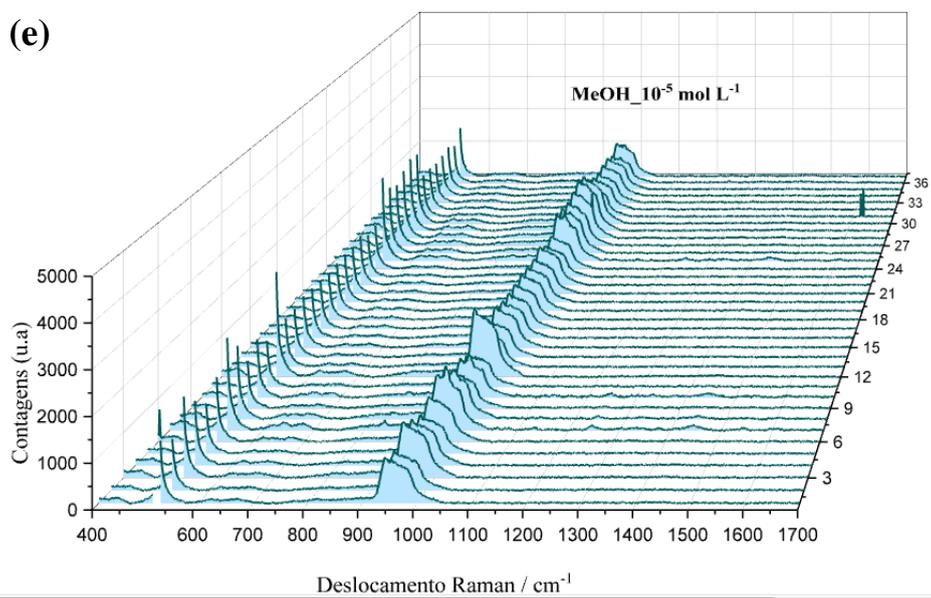
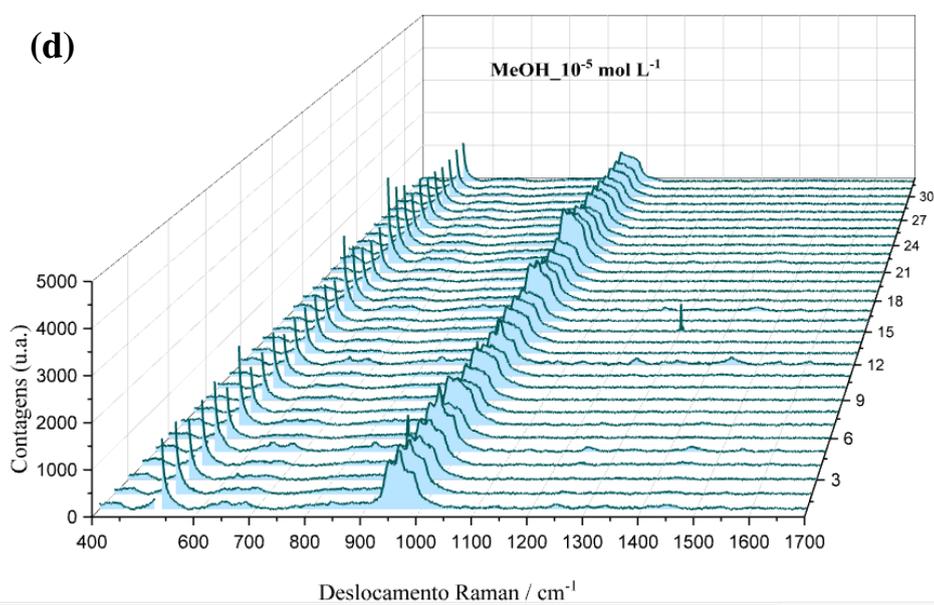
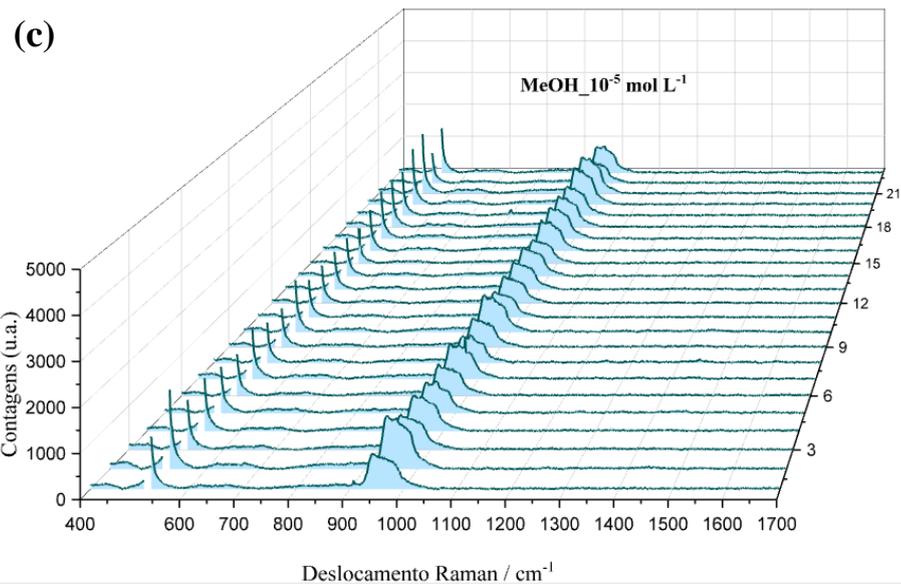


Figura A3. (a-d) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em metanol, na superfície do substrato de Si plano, na ausência de AuNRs, concentração 10⁻⁴ mol L⁻¹.





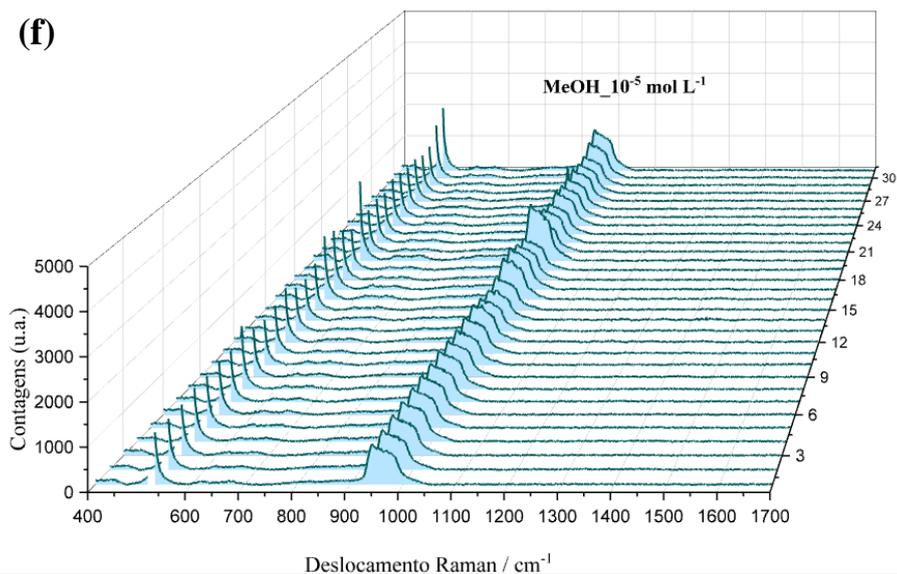
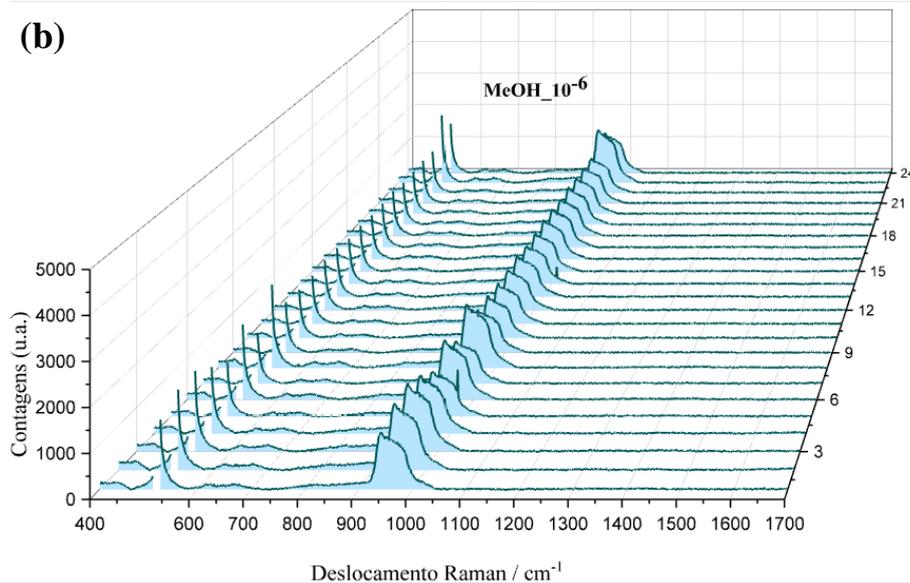
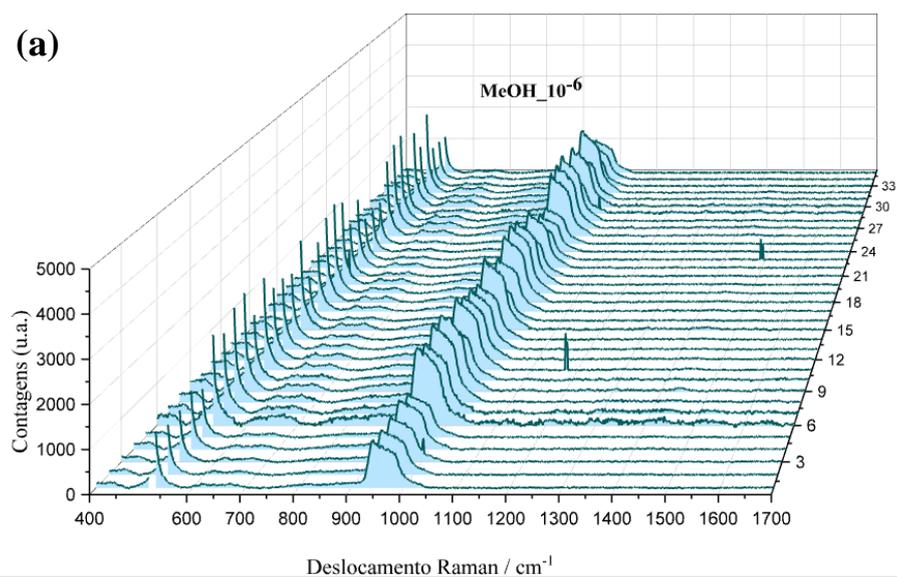
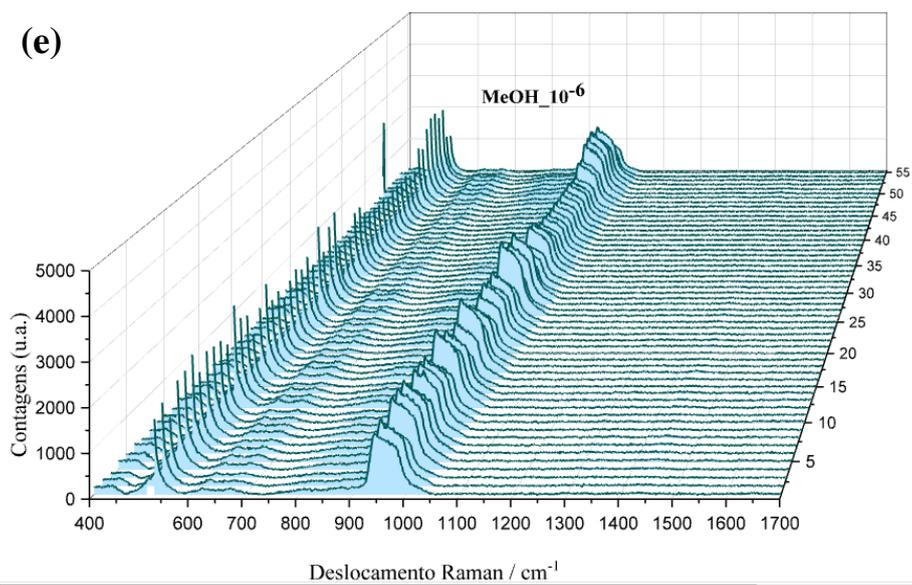
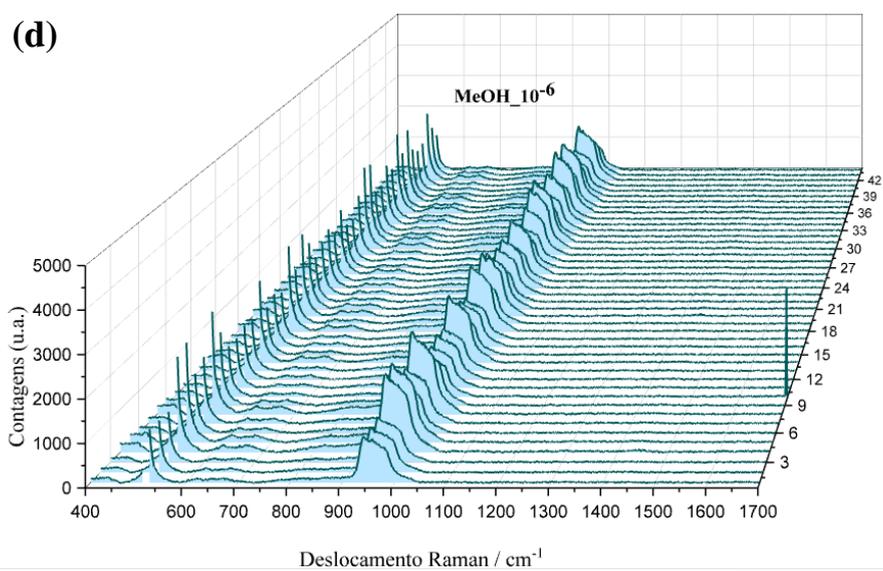
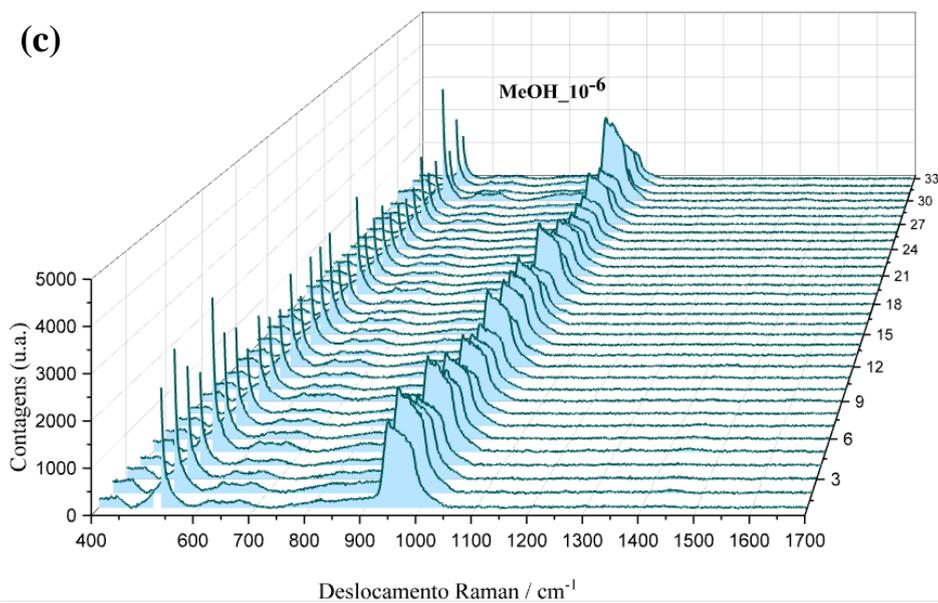


Figura A4. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em metanol, na superfície do substrato de Si plano, na ausência de AuNRs, concentração 10⁻⁵ mol L⁻¹.





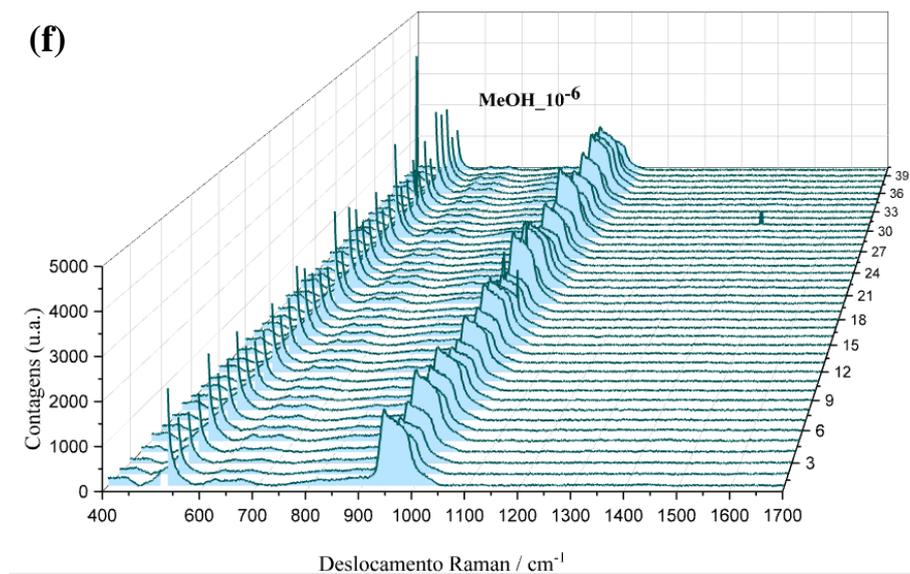
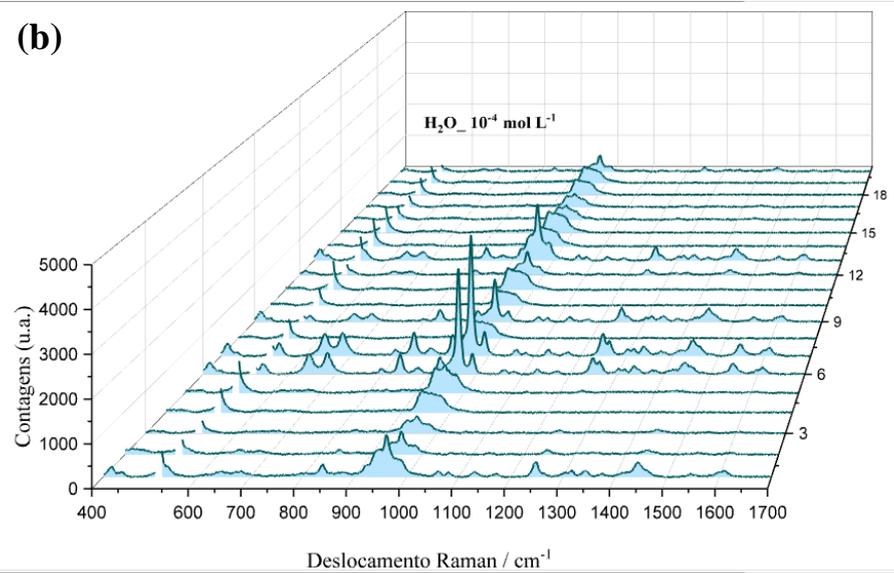
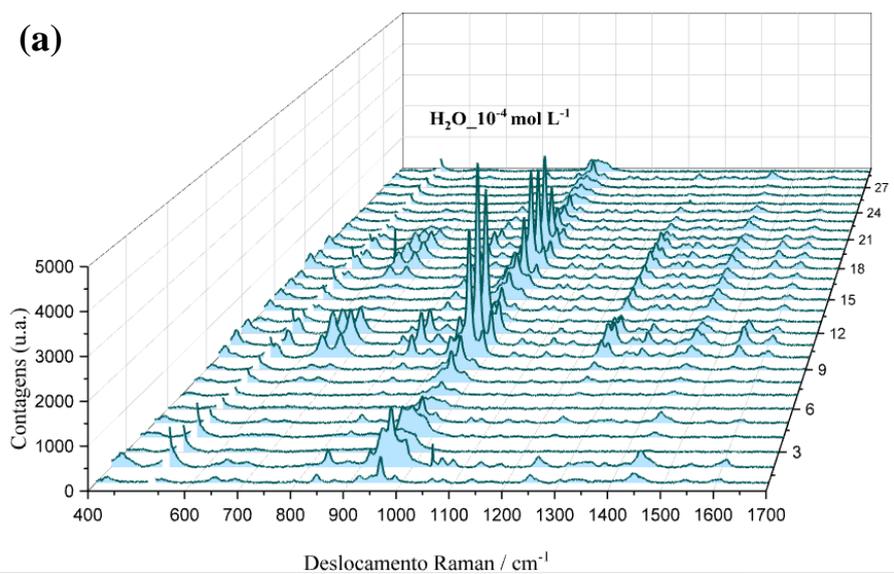
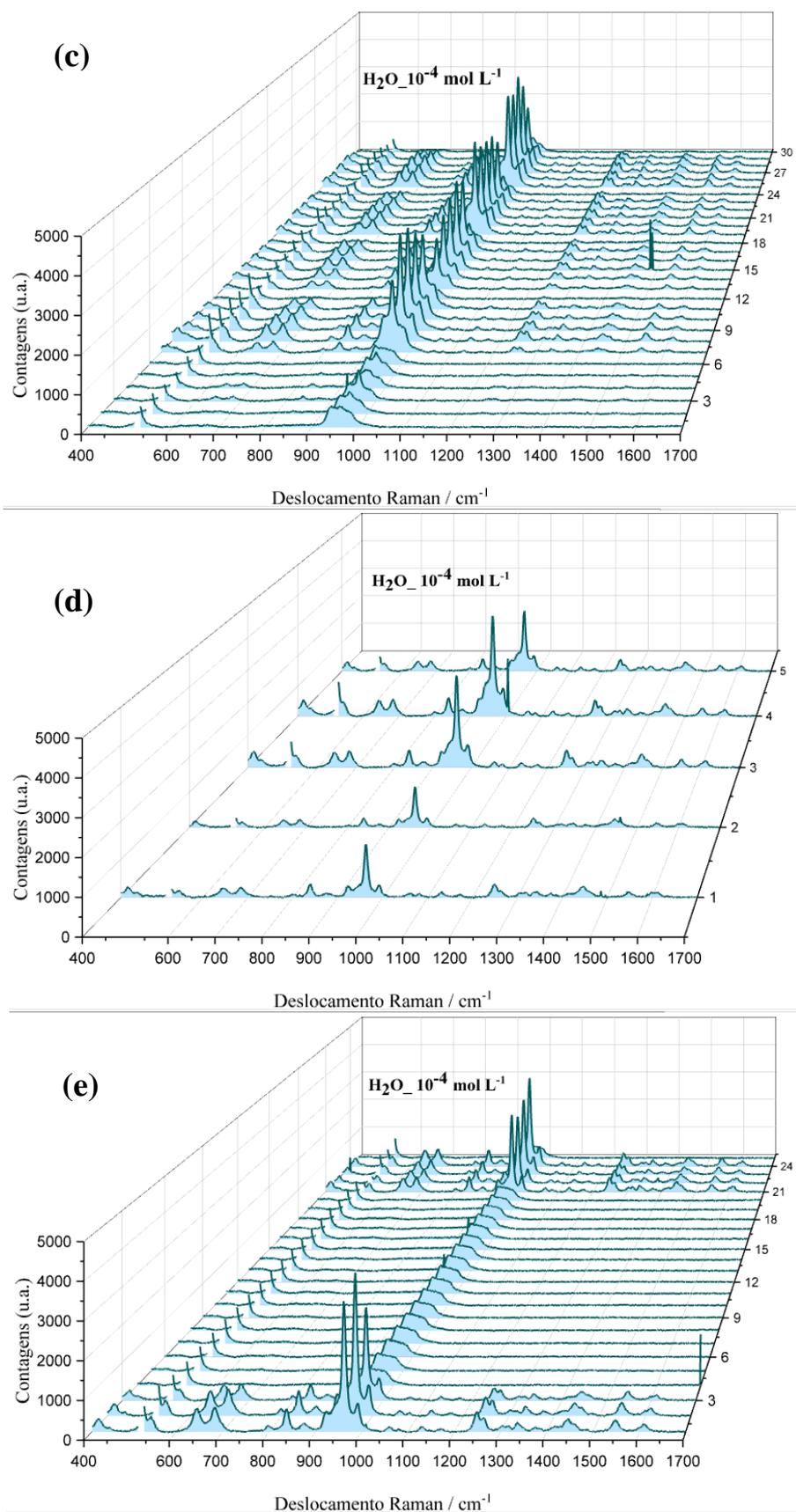
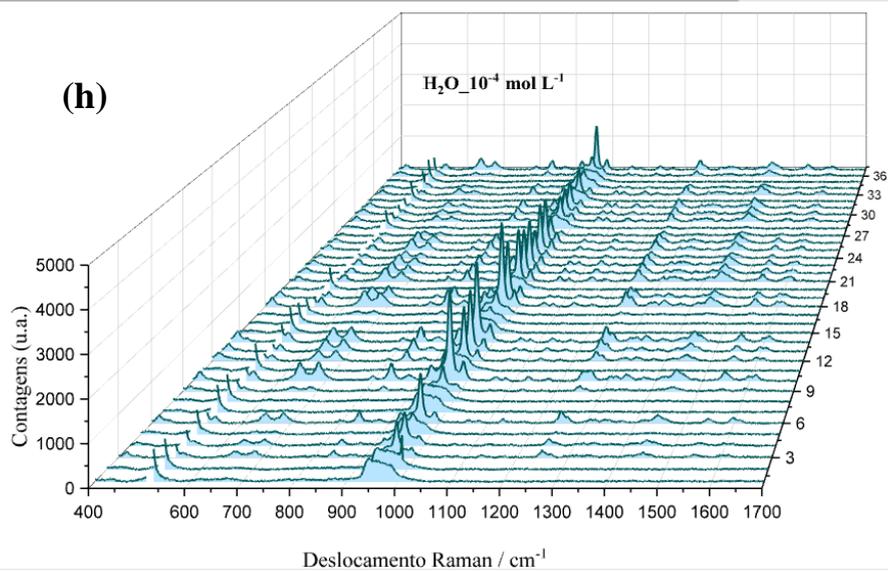
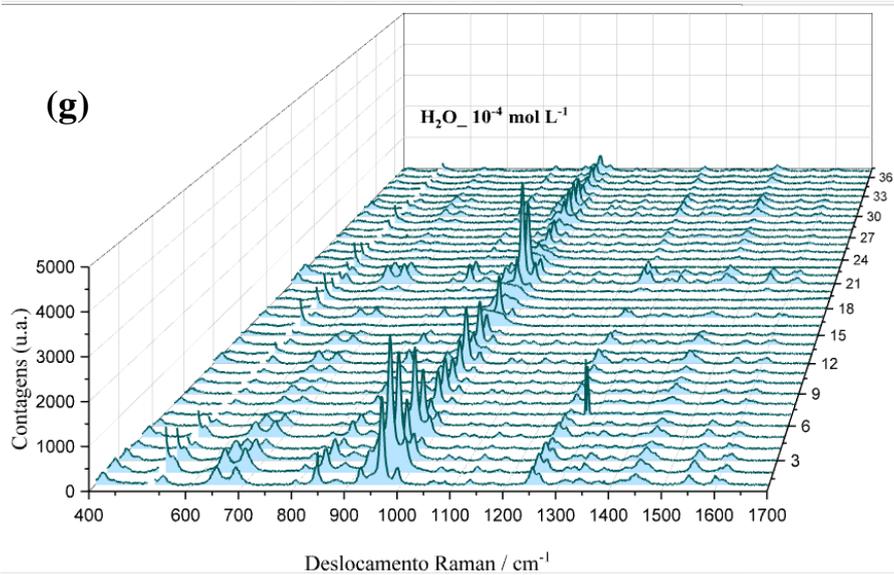
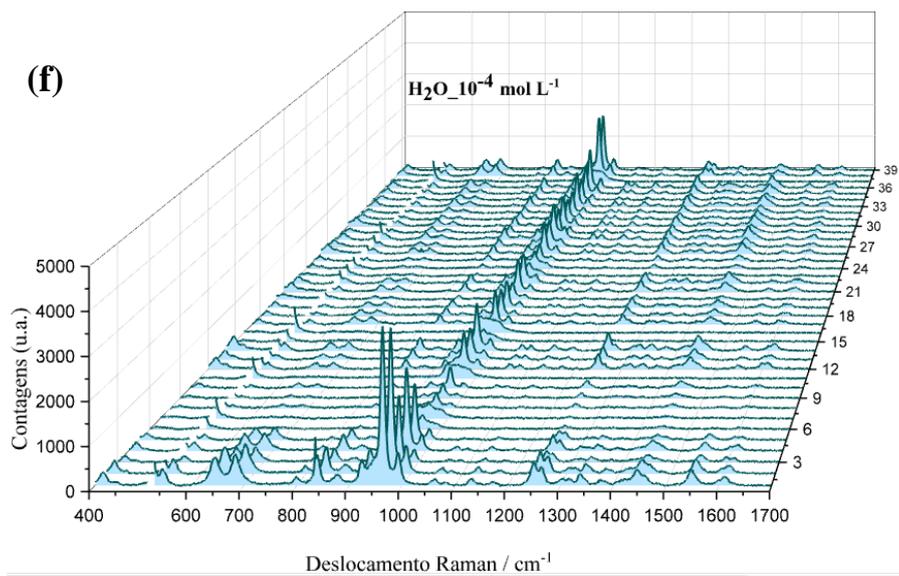


Figura A5. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em metanol, na superfície do substrato de Si plano, na ausência de AuNRs, concentração 10⁻⁶ mol L⁻¹







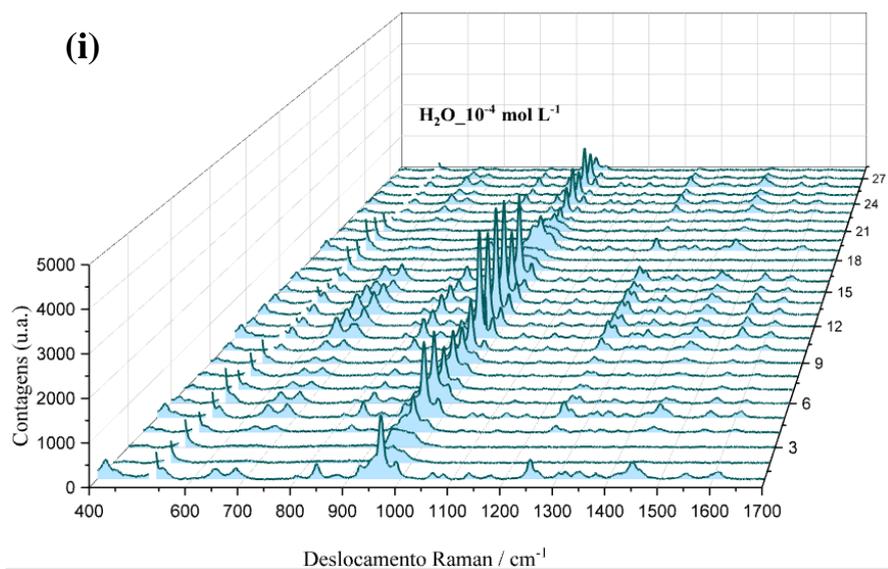
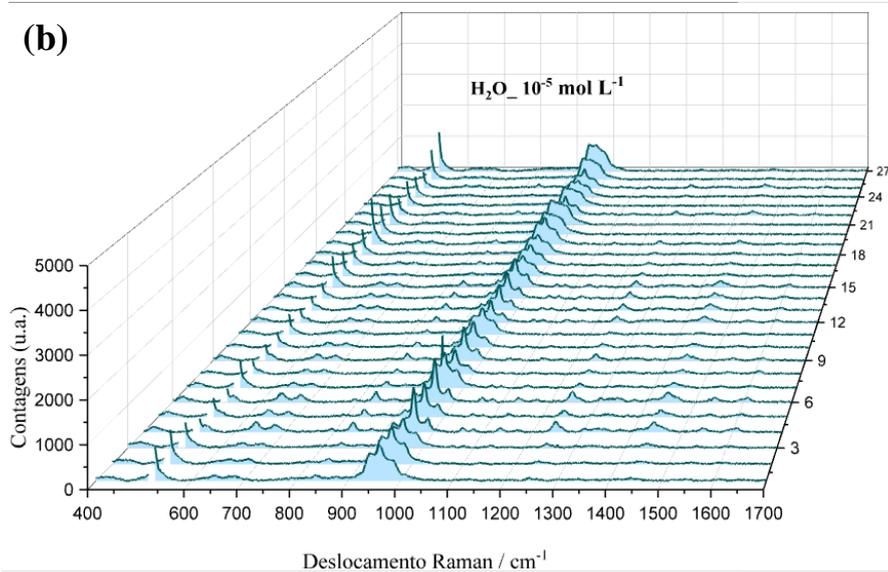
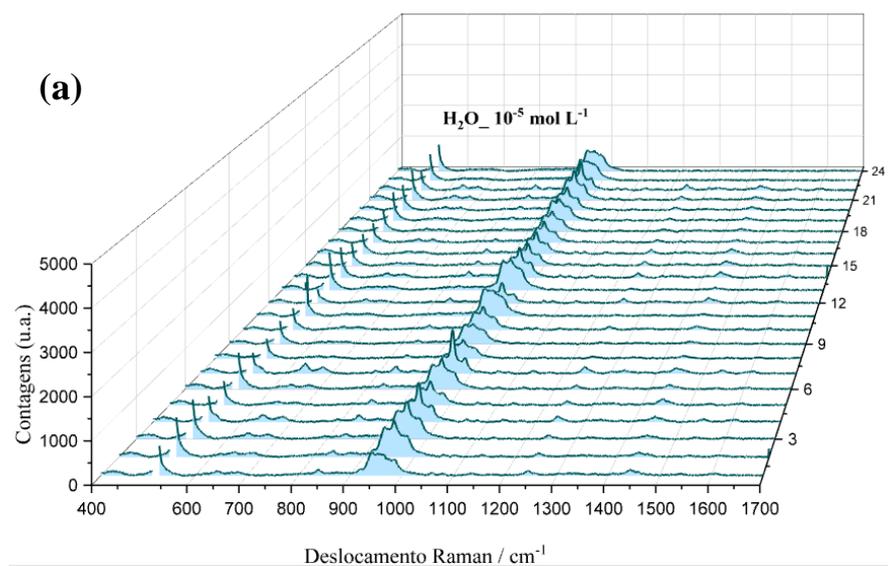
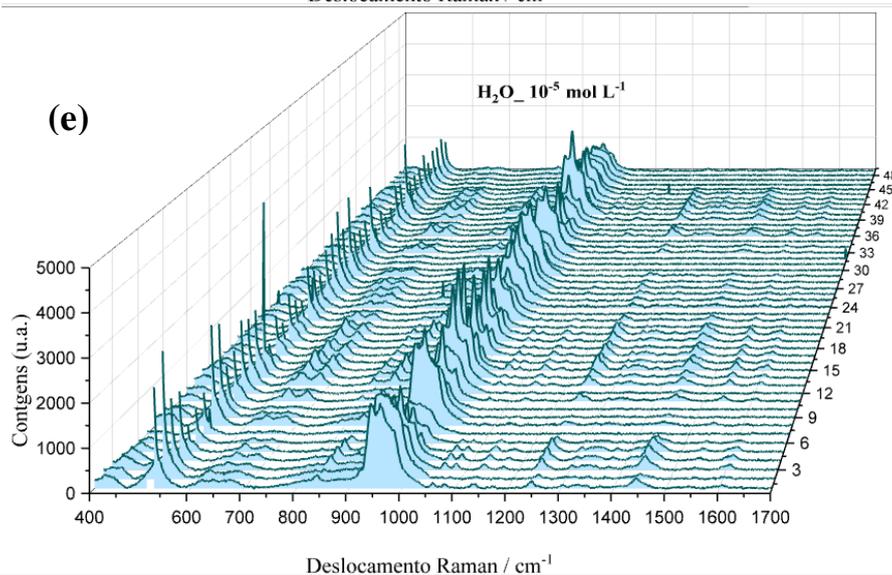
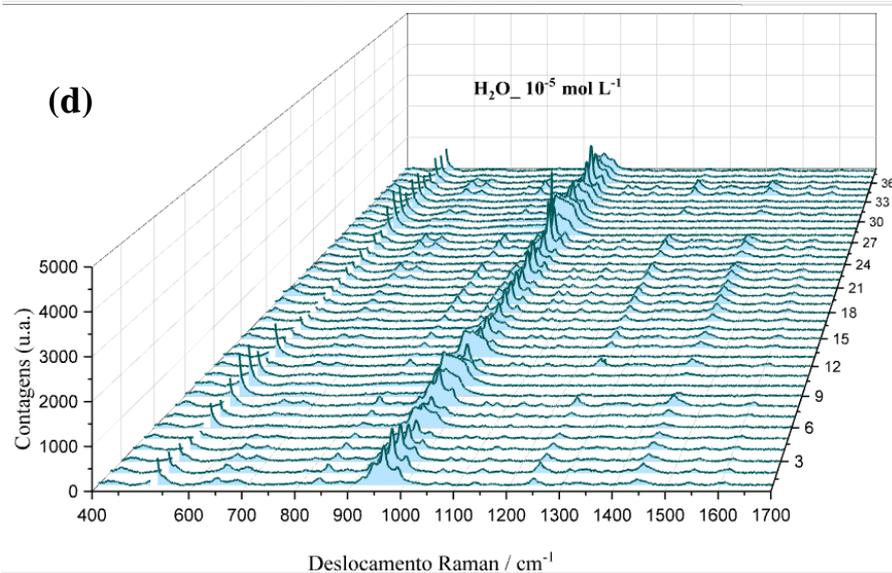
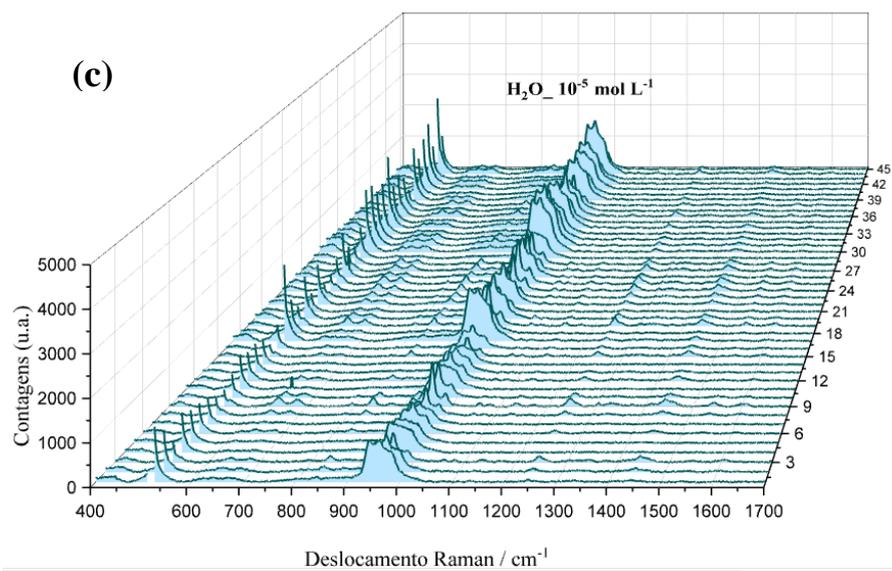


Figura A6. (a-i) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em água ultrapura, na superfície do substrato de Si plano, na ausência de AuNRs, concentração $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.





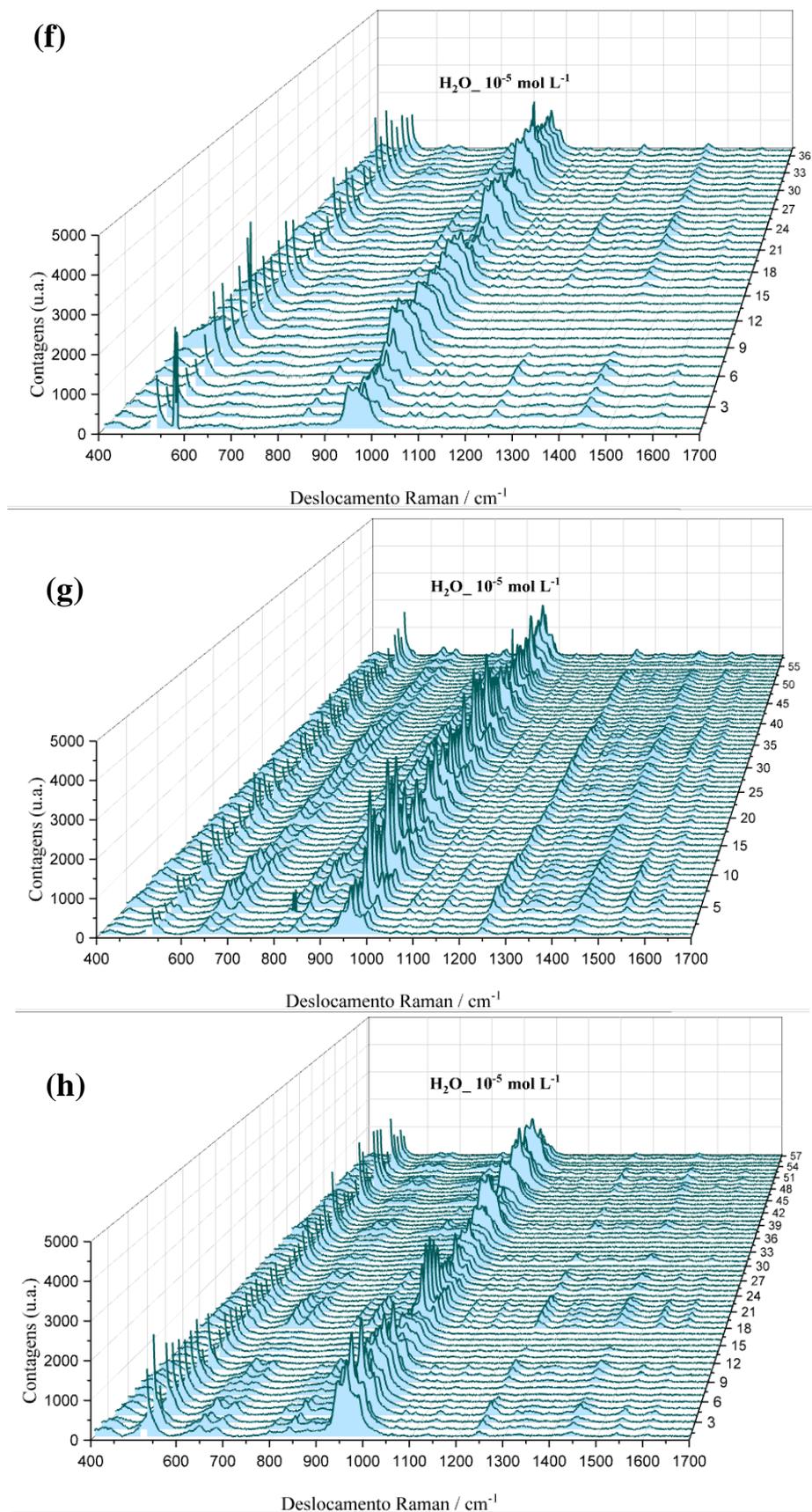
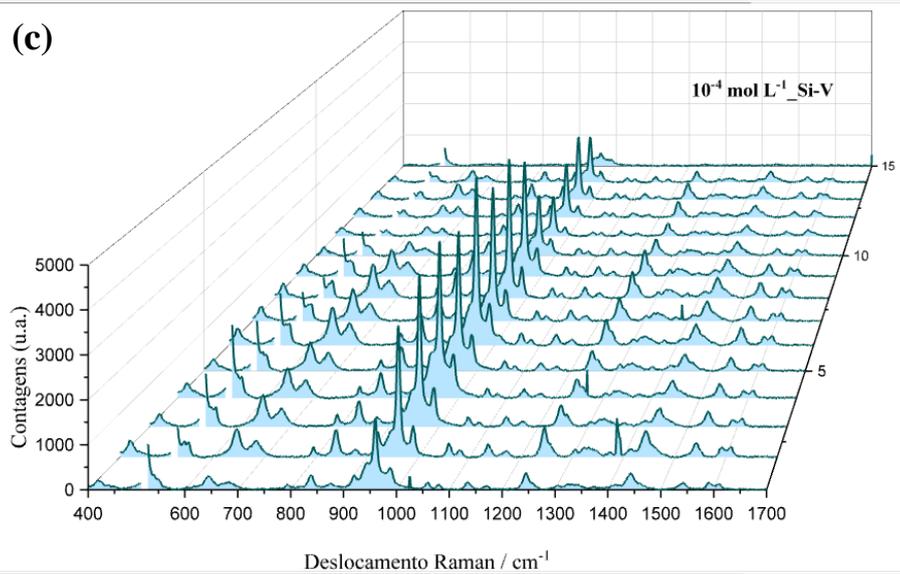
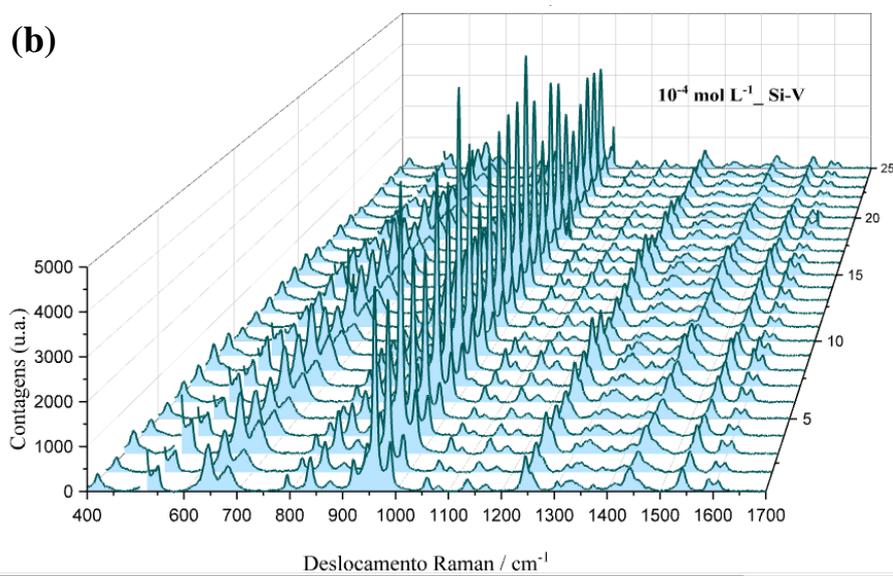
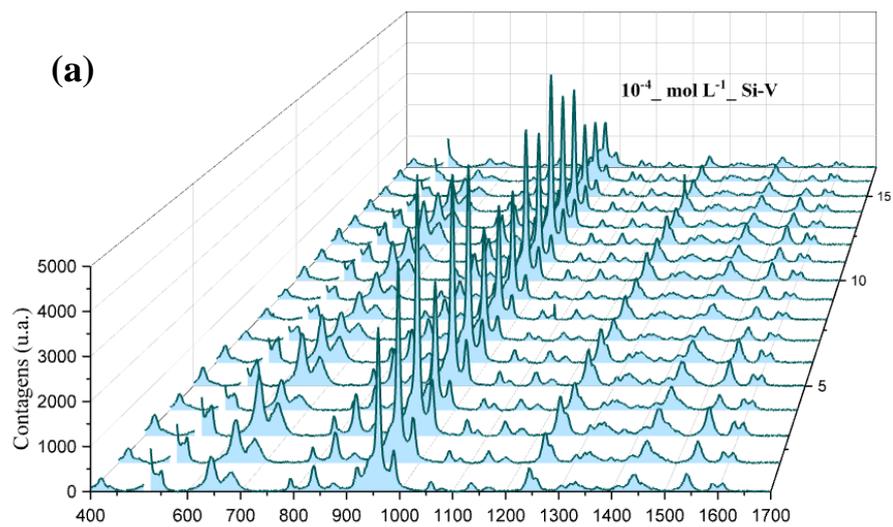
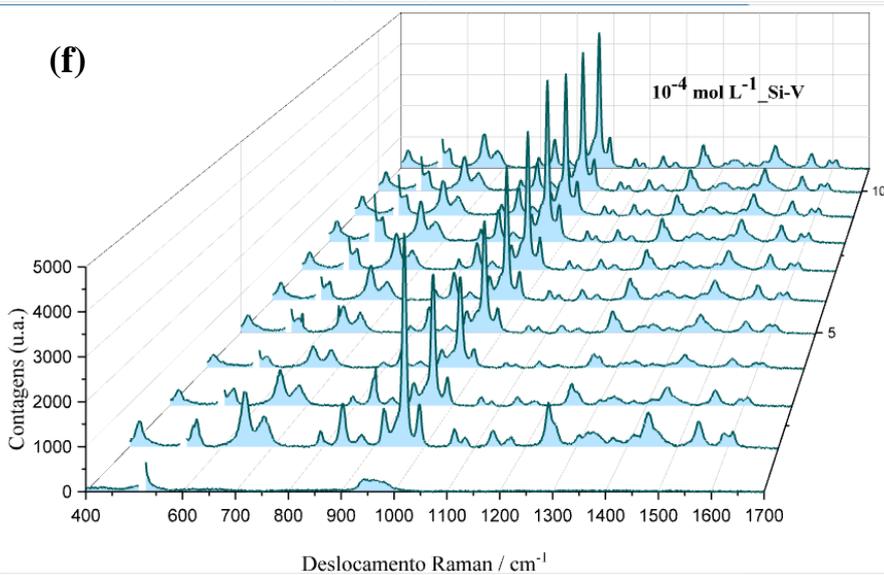
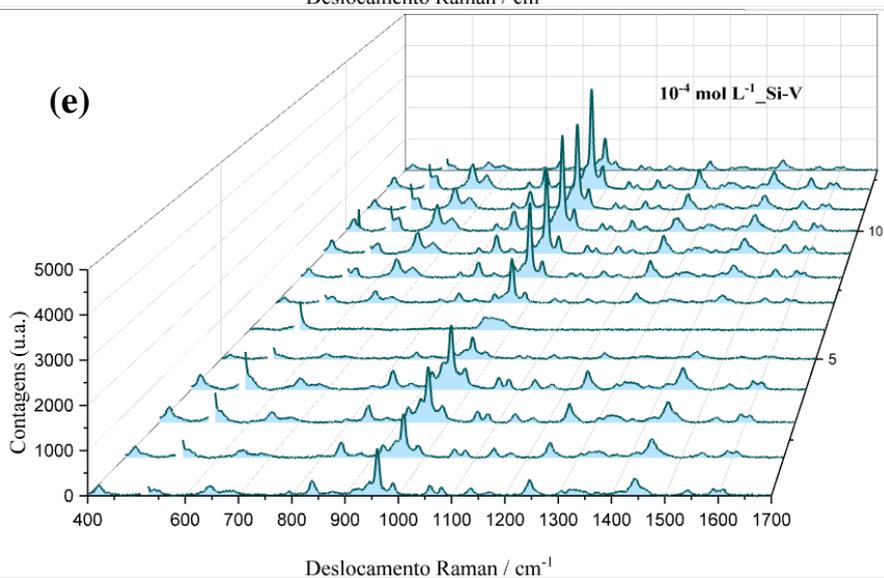
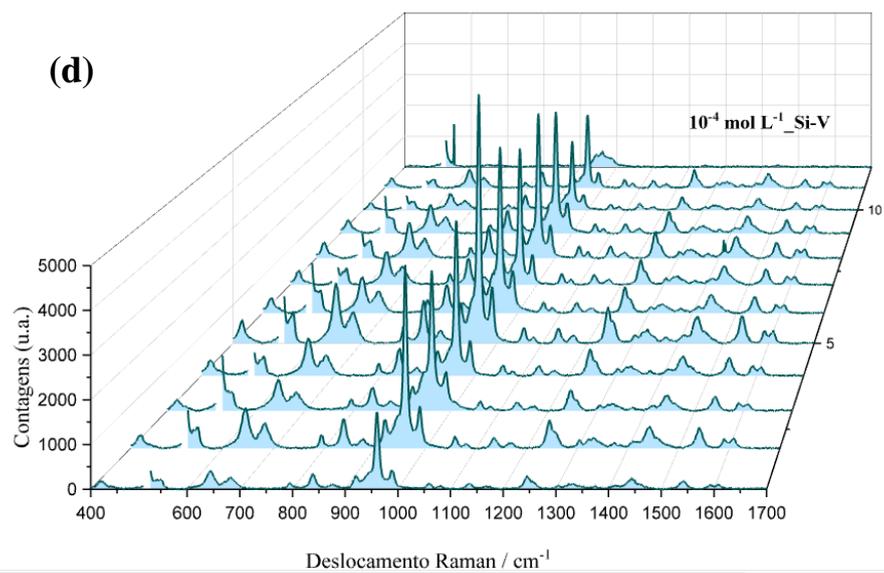
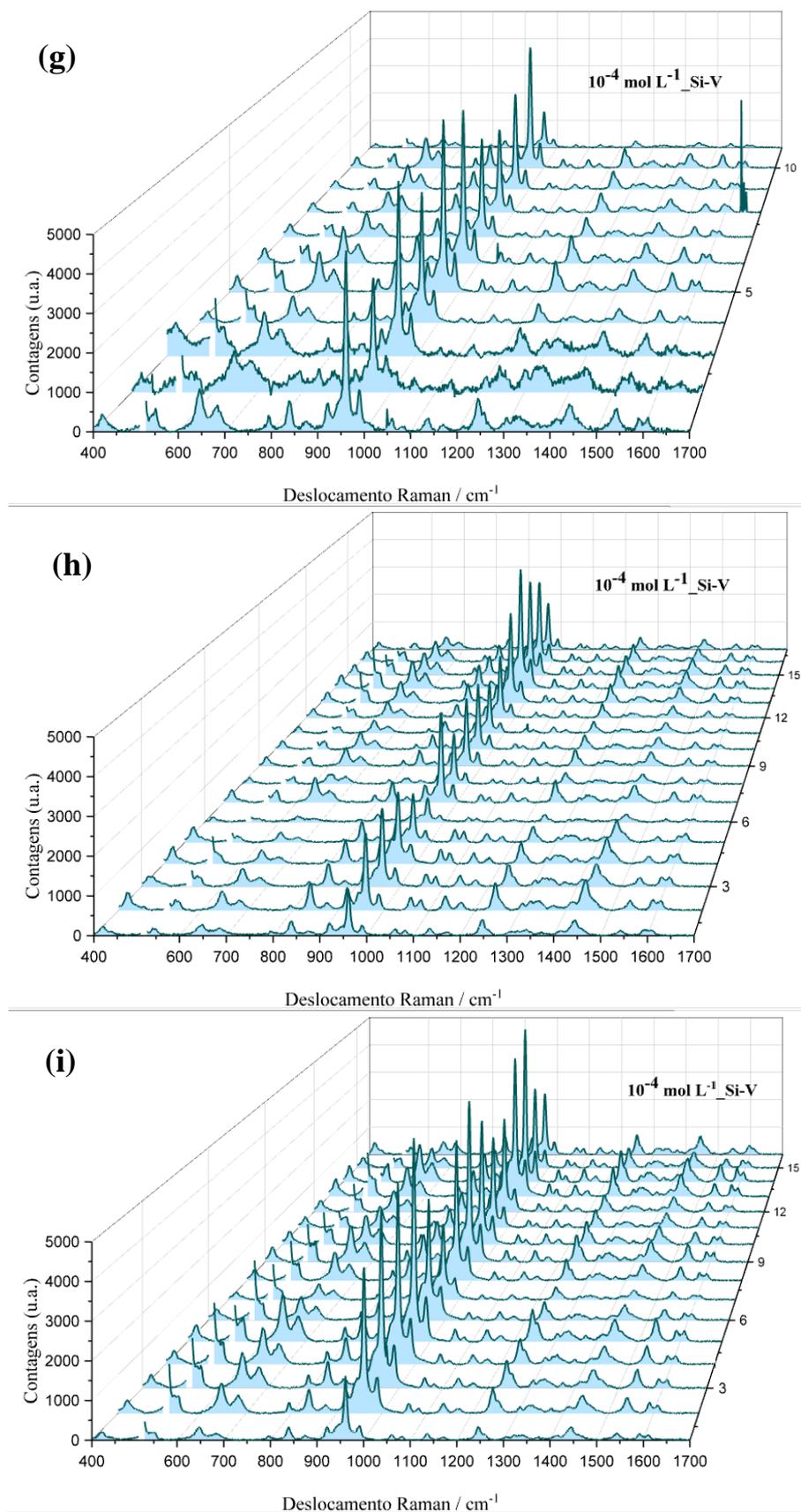


Figura A7. (a-i) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em água ultrapura, na superfície do substrato de Si plano, na ausência de AuNRs, concentração 10^{-5} mol L⁻¹.







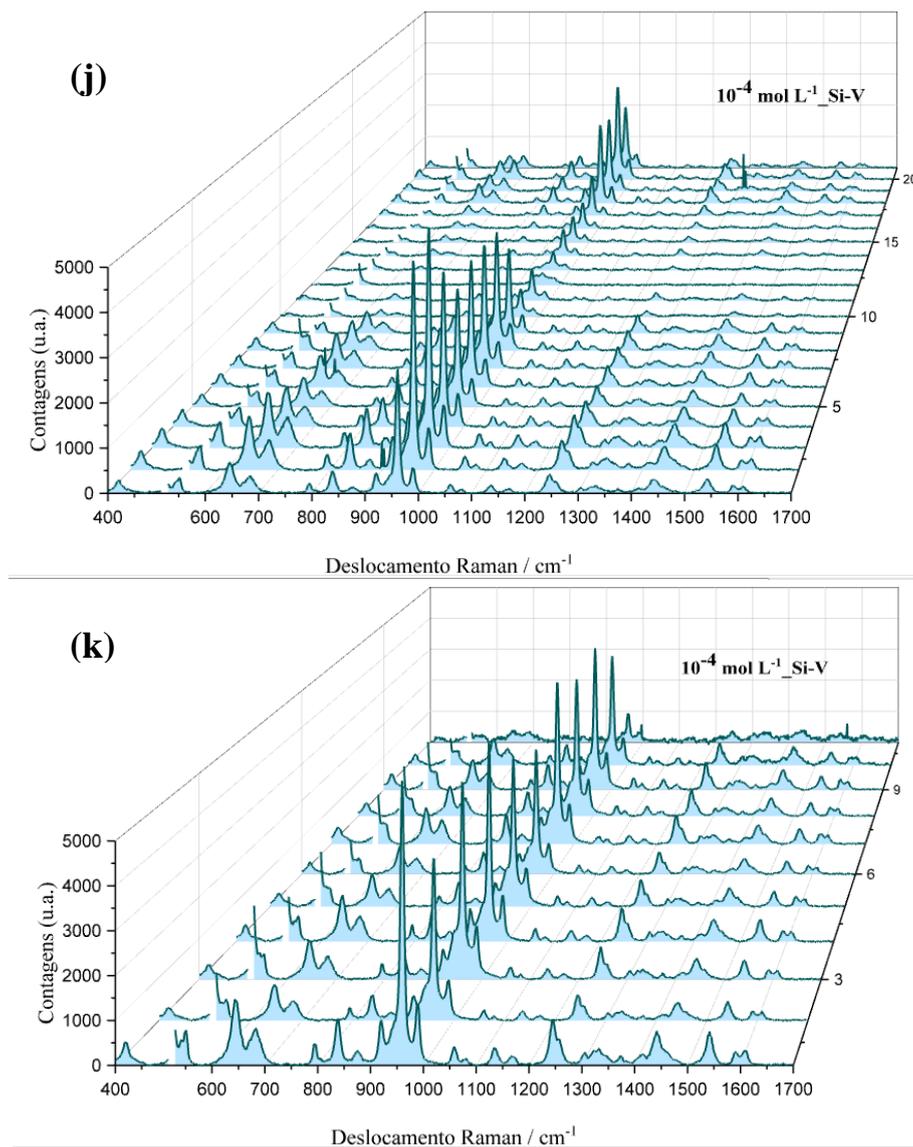
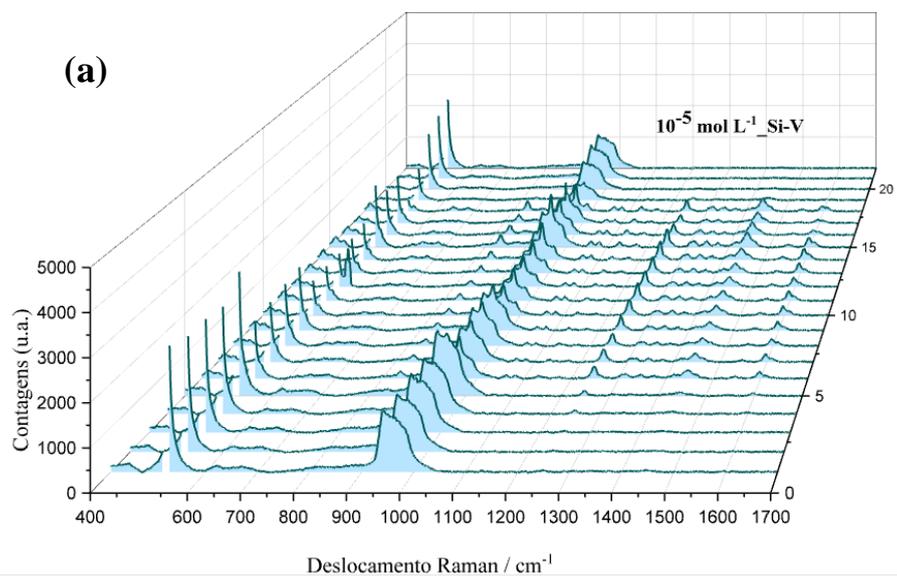
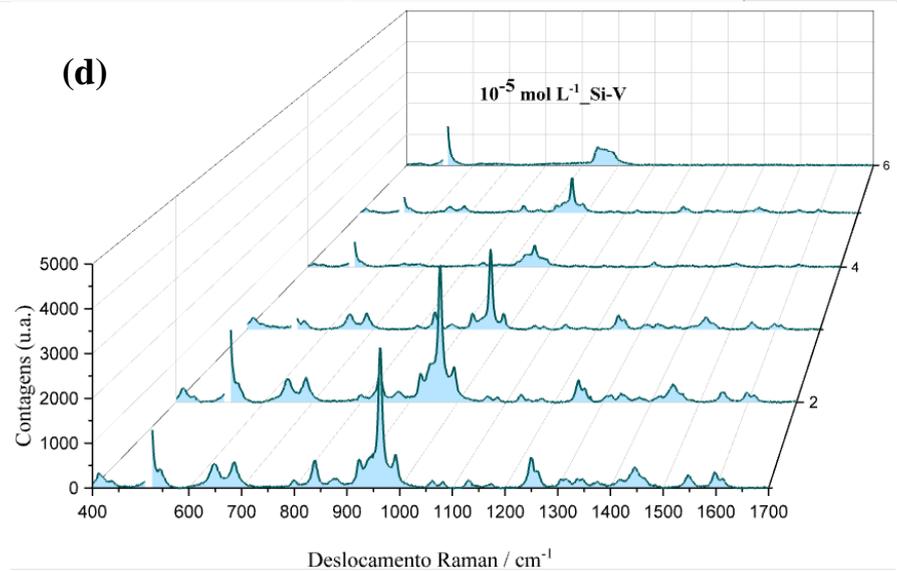
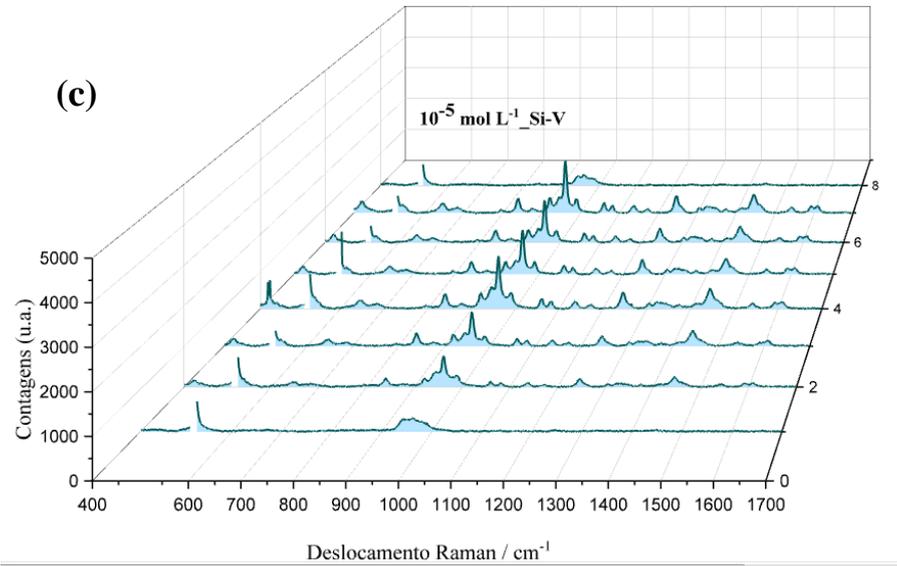
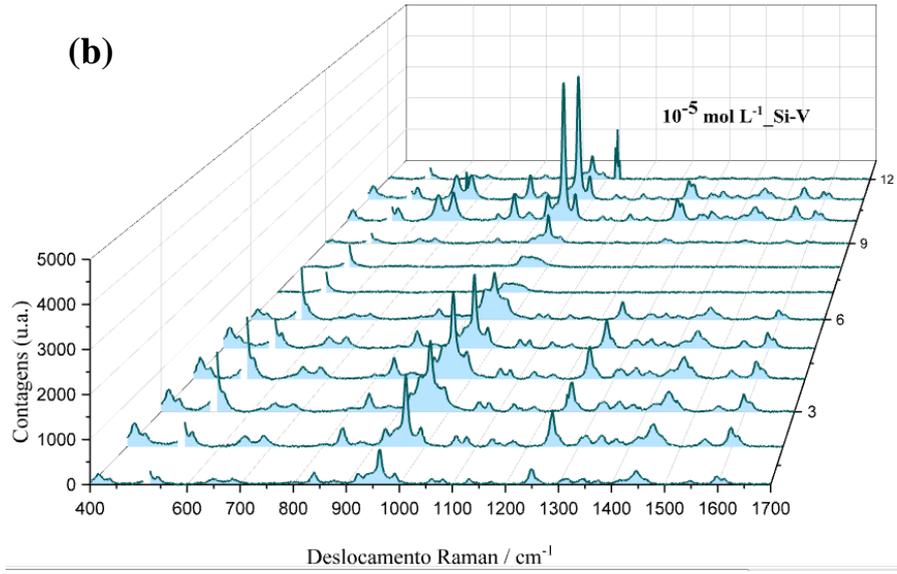
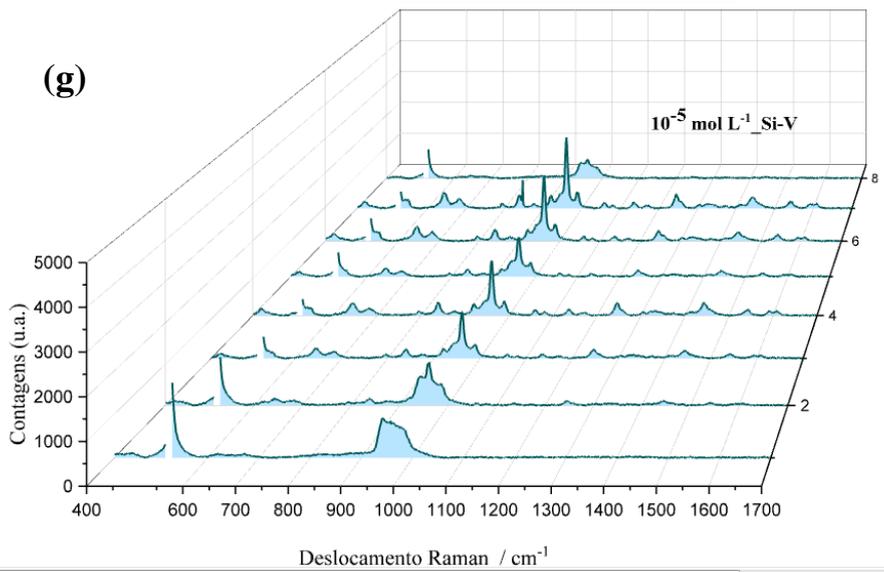
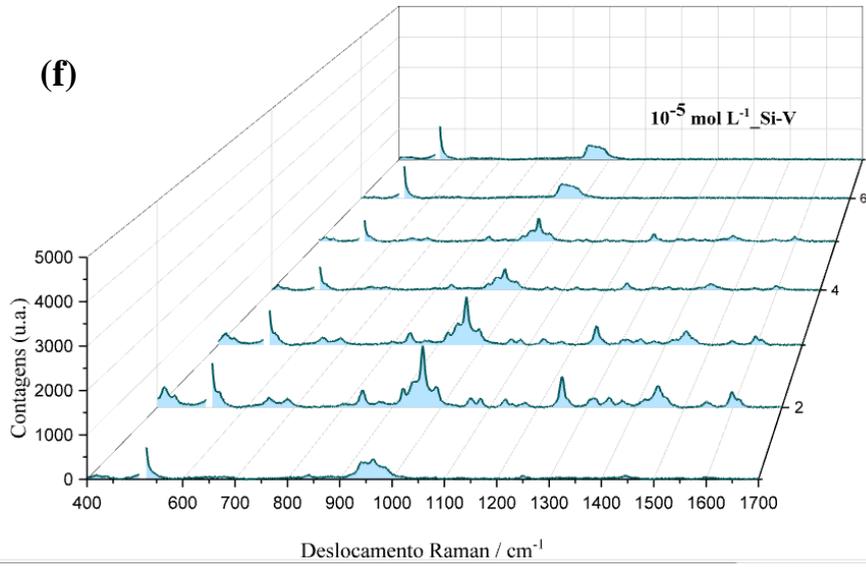
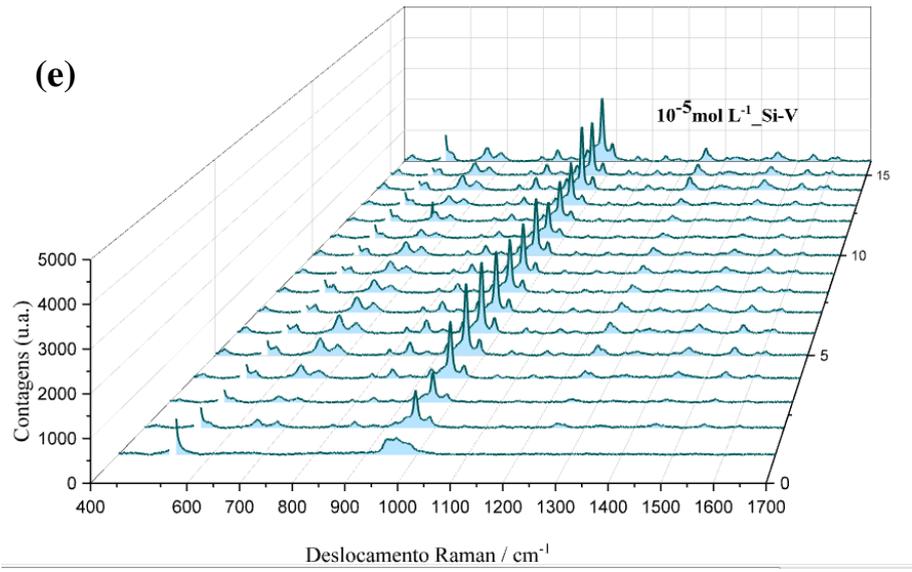
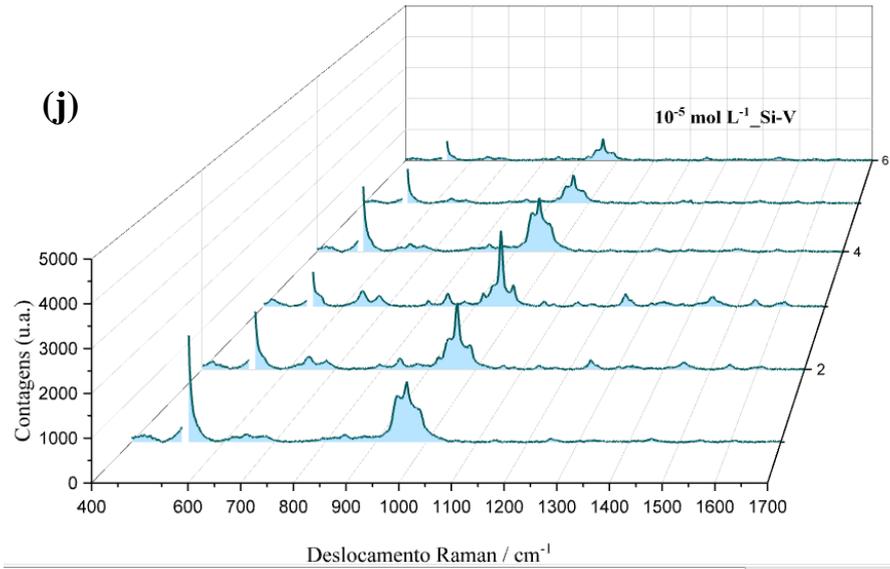
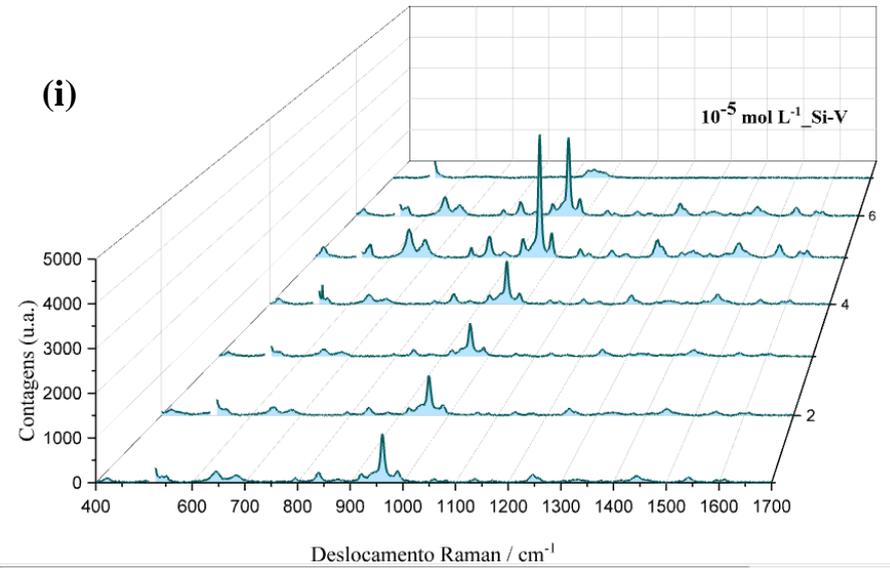
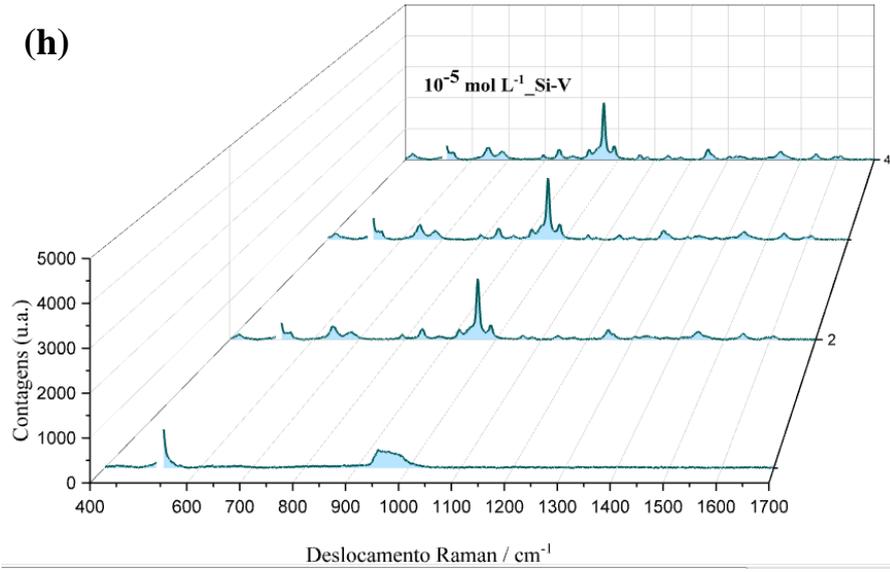


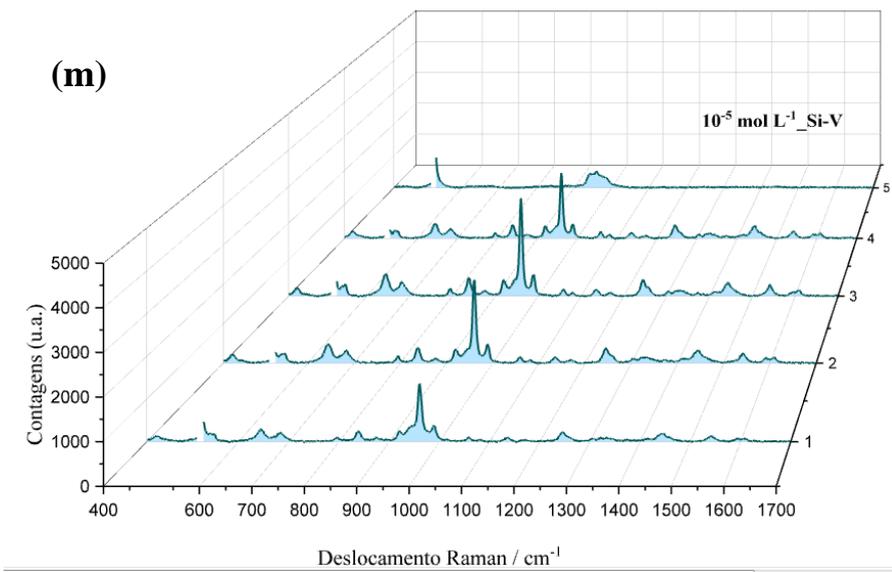
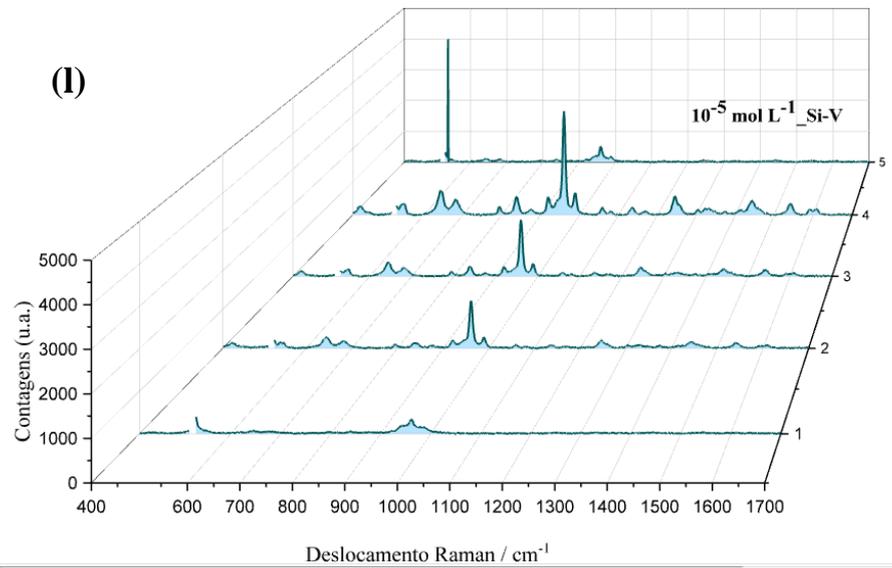
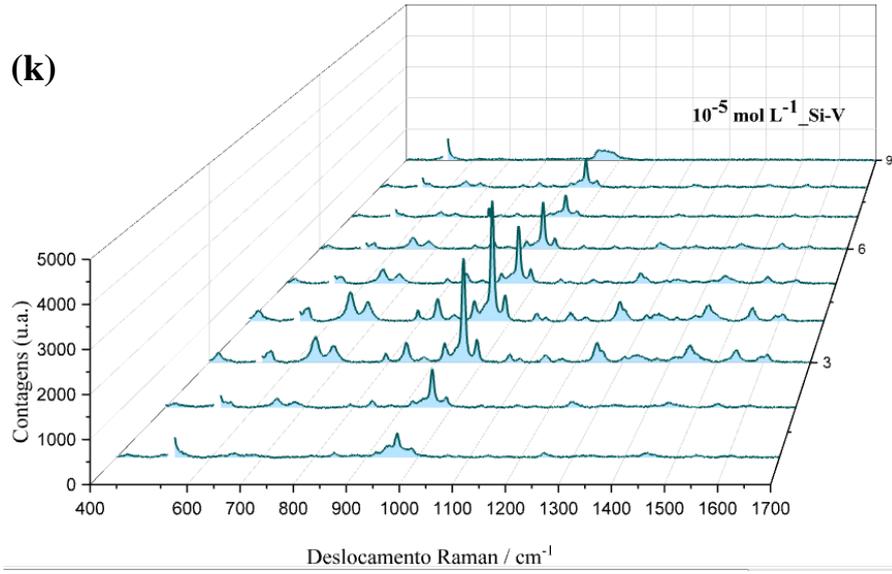
Figura A8. (a-k) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em água ultrapura, na superfície do substrato de Si-V, na ausência de AuNRs, concentração $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.











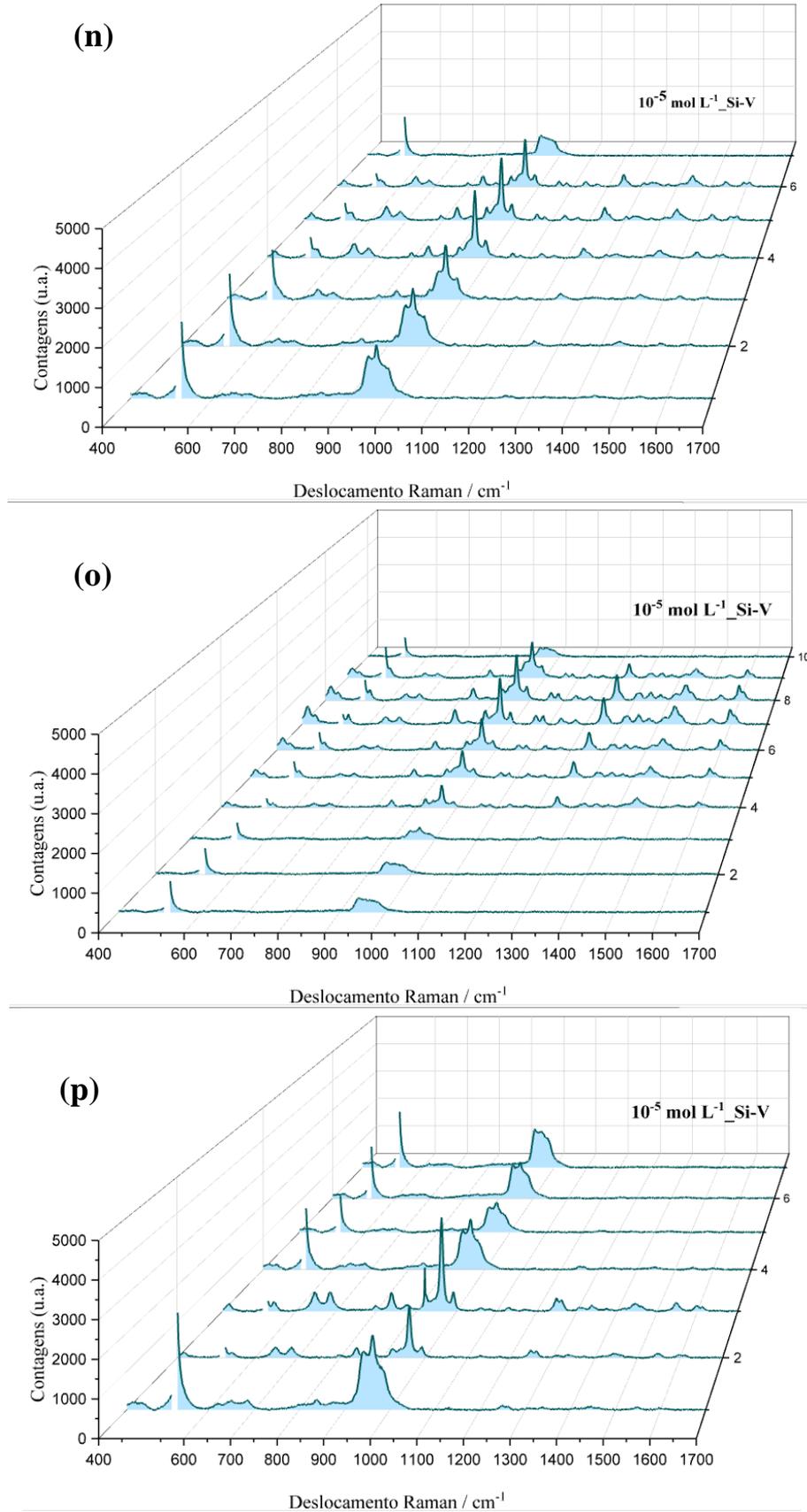
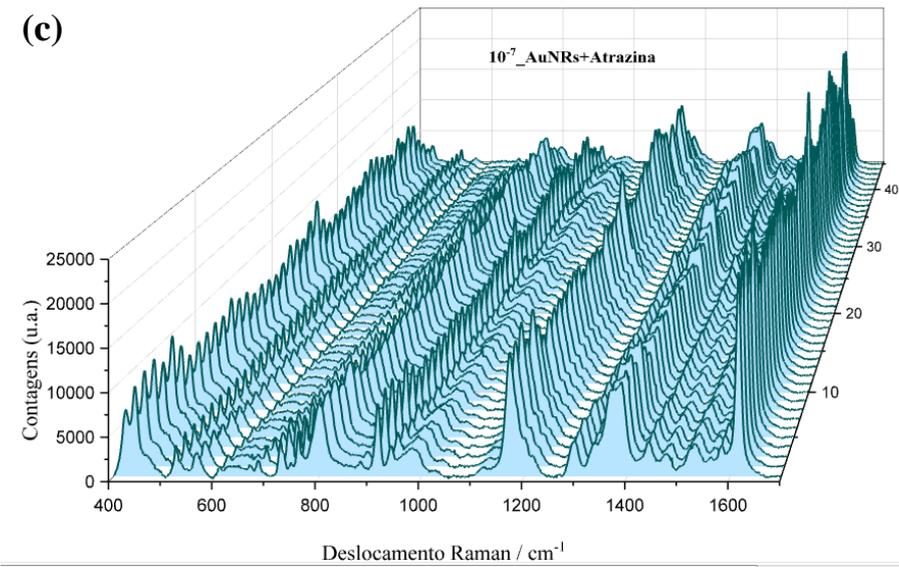
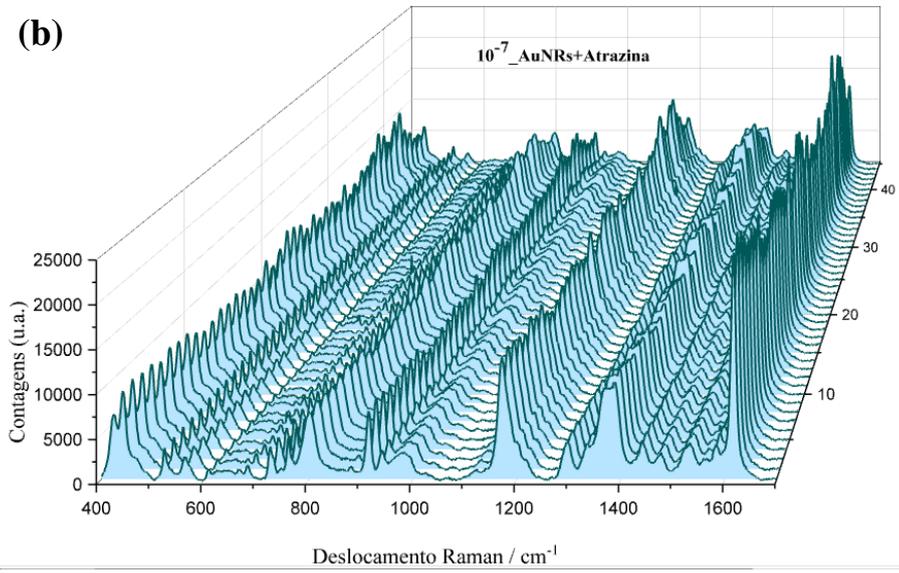
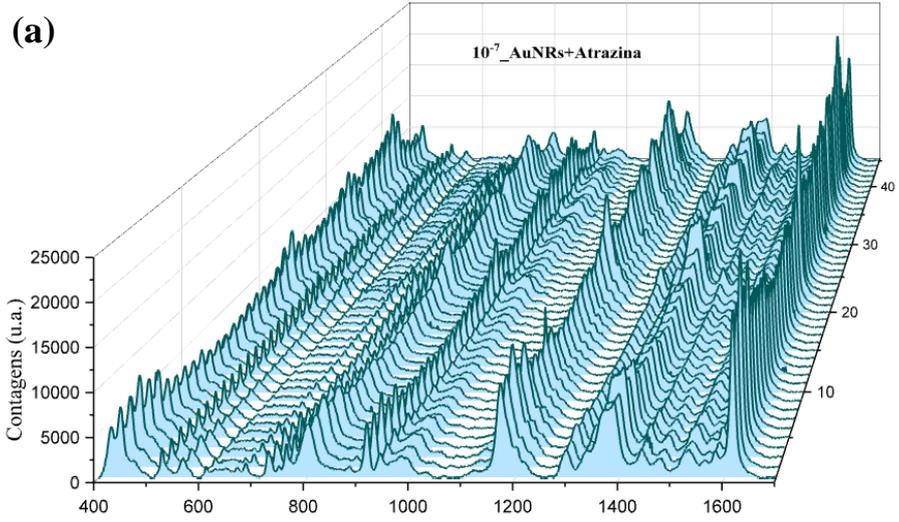


Figura A9. (a-p) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a amostra de atrazina preparada em água ultrapura, na superfície do substrato de Si-V, na ausência de AuNRs, concentração $10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$.



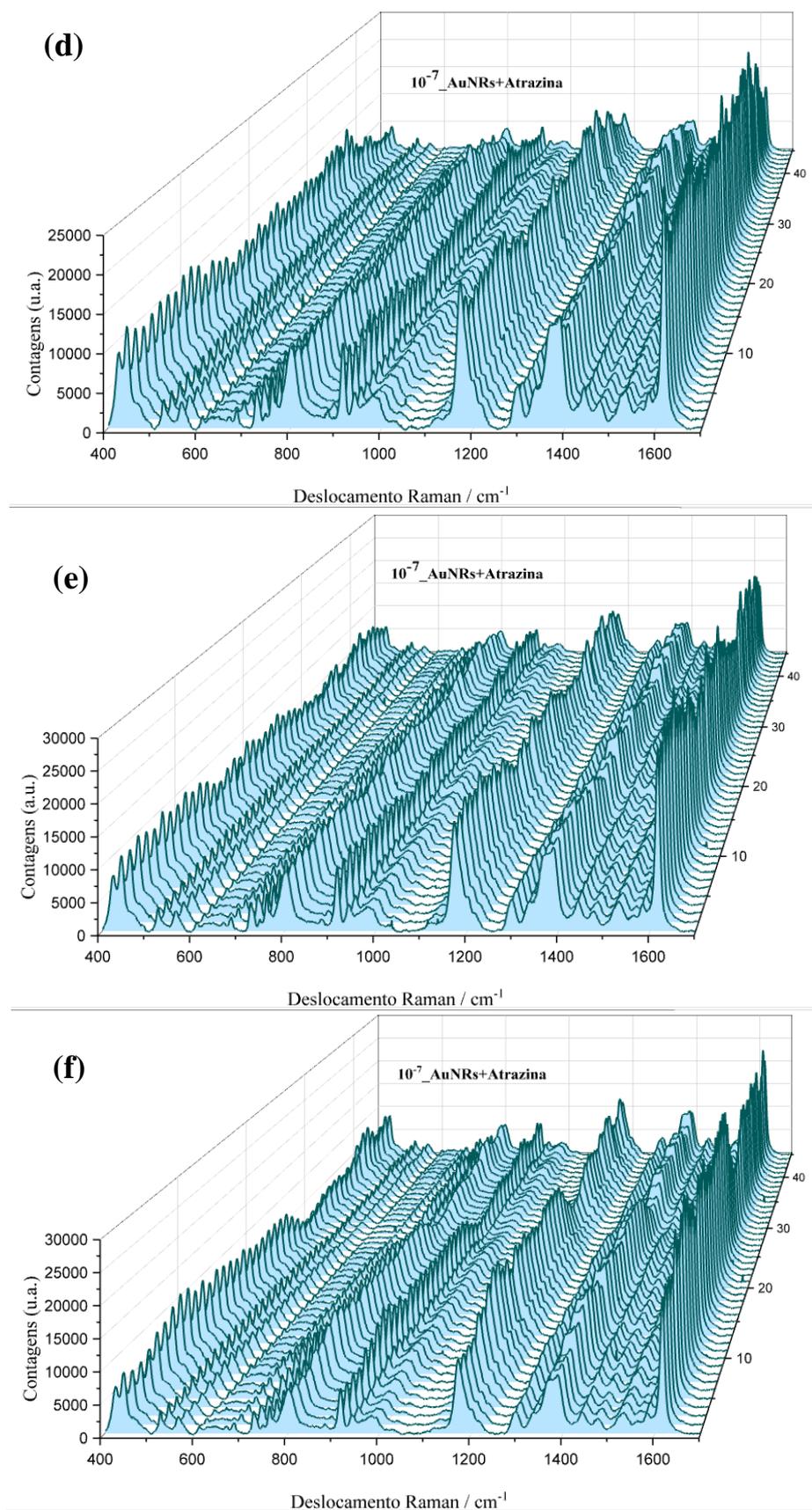
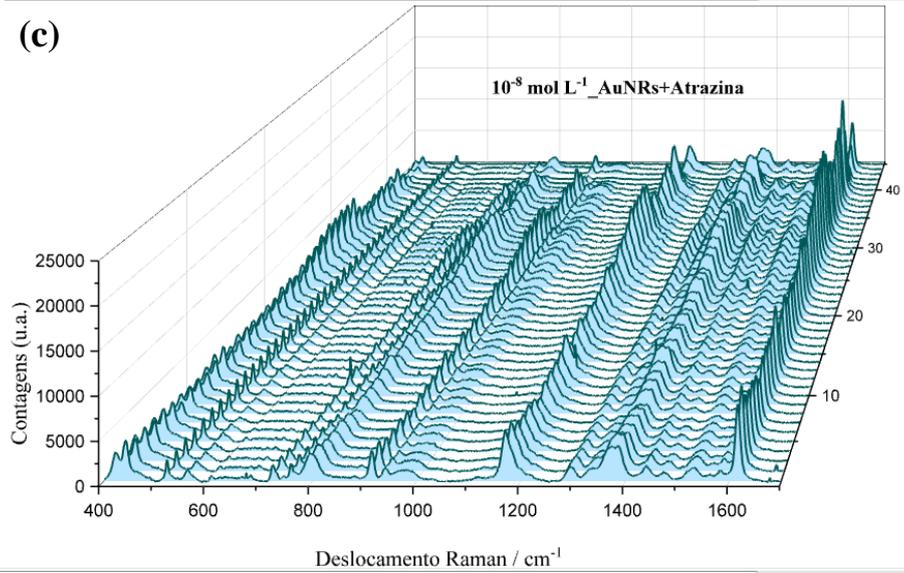
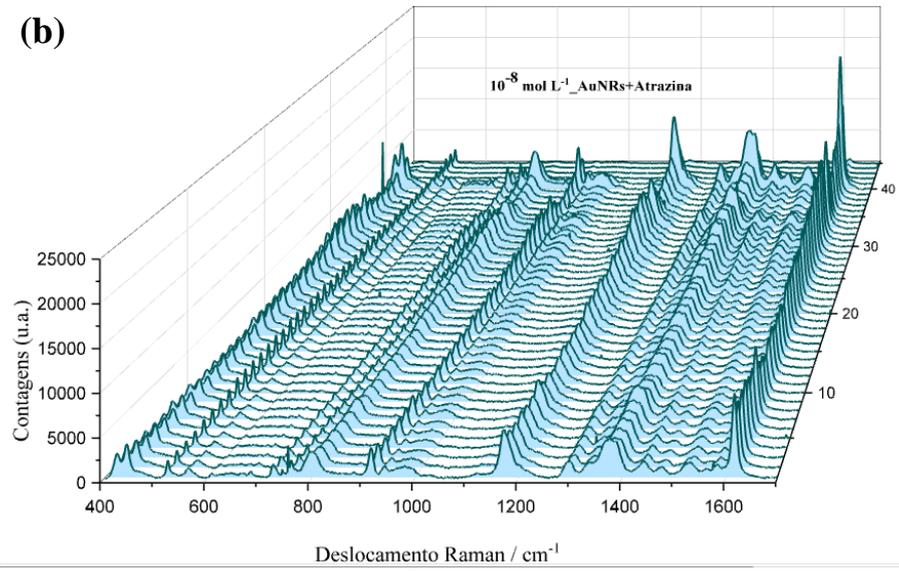
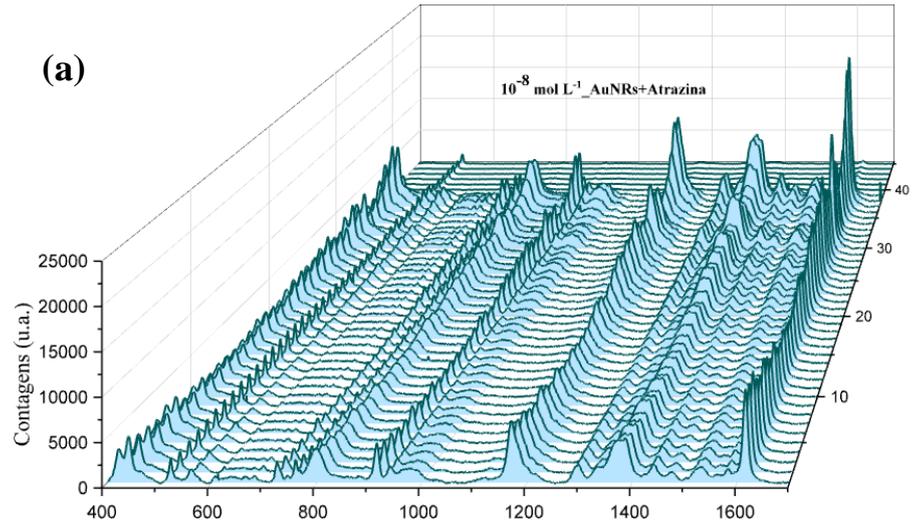


Figura A10. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração 10^{-7} mol L⁻¹.



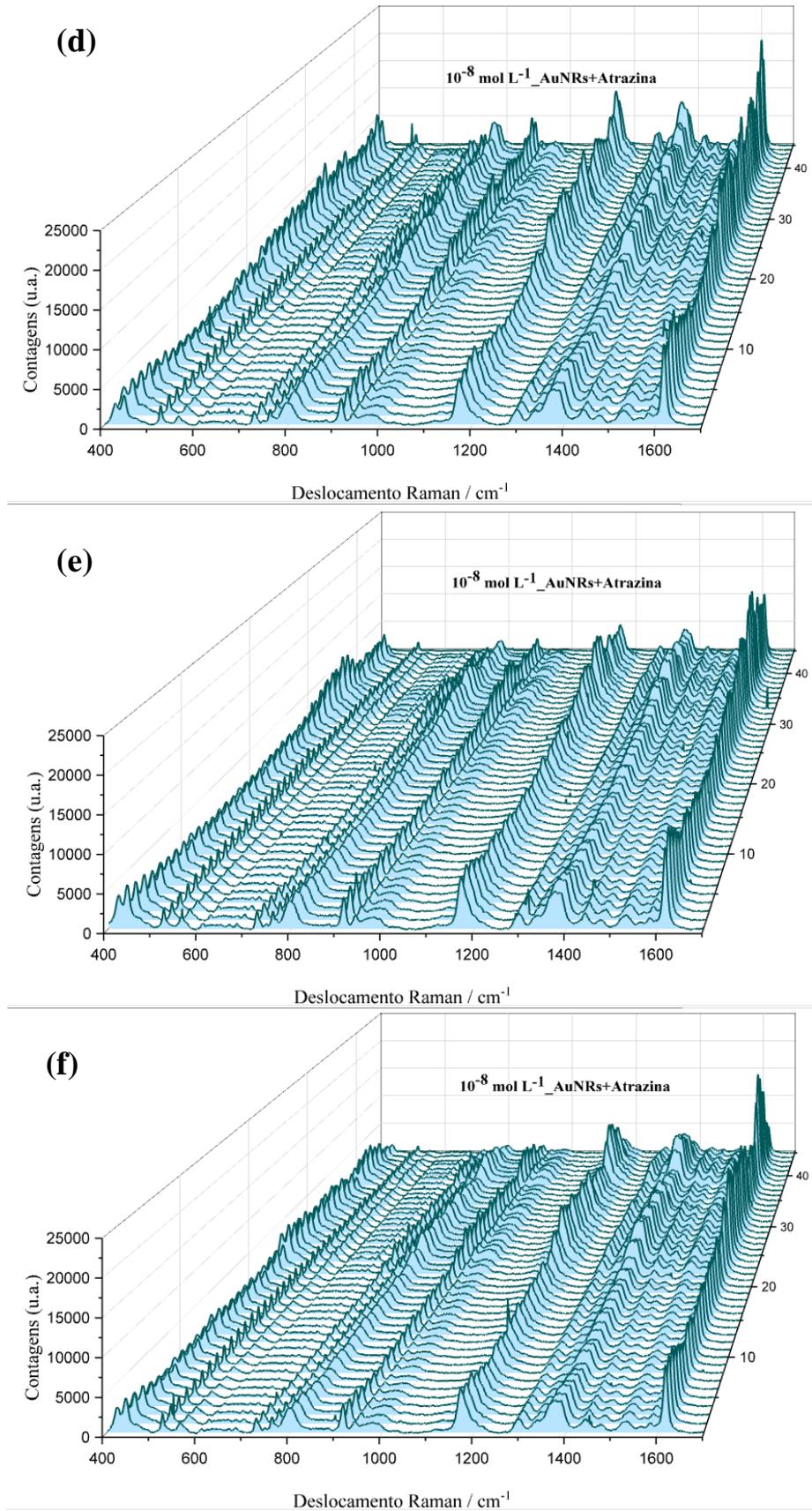
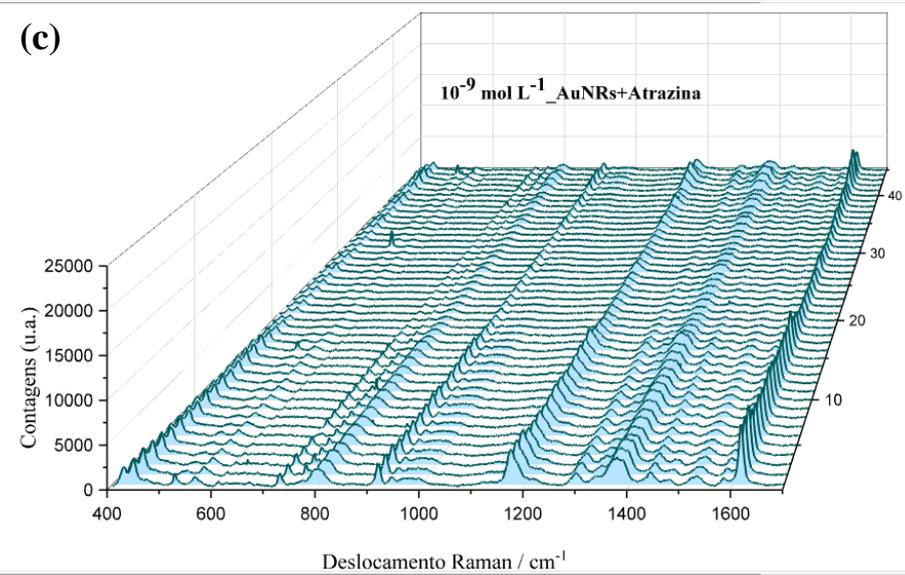
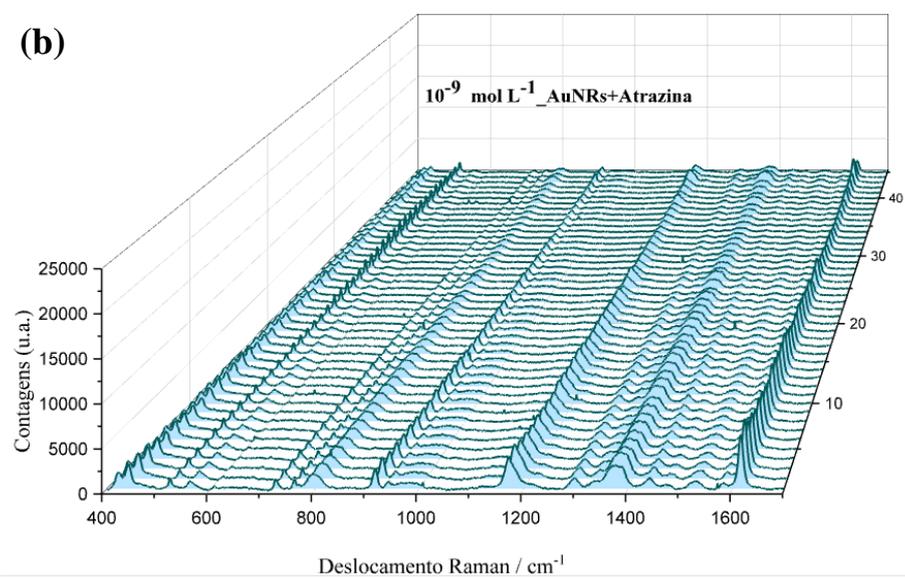
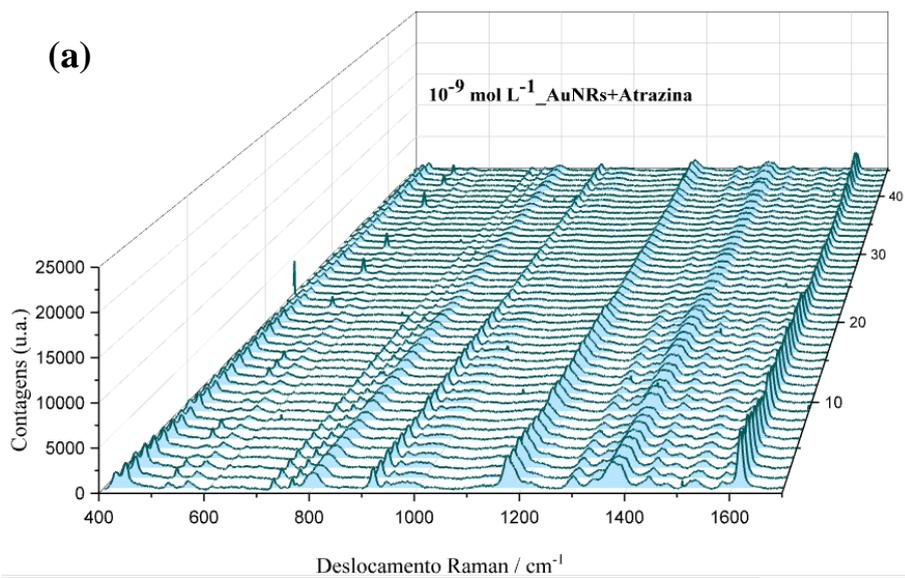


Figura A11. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.



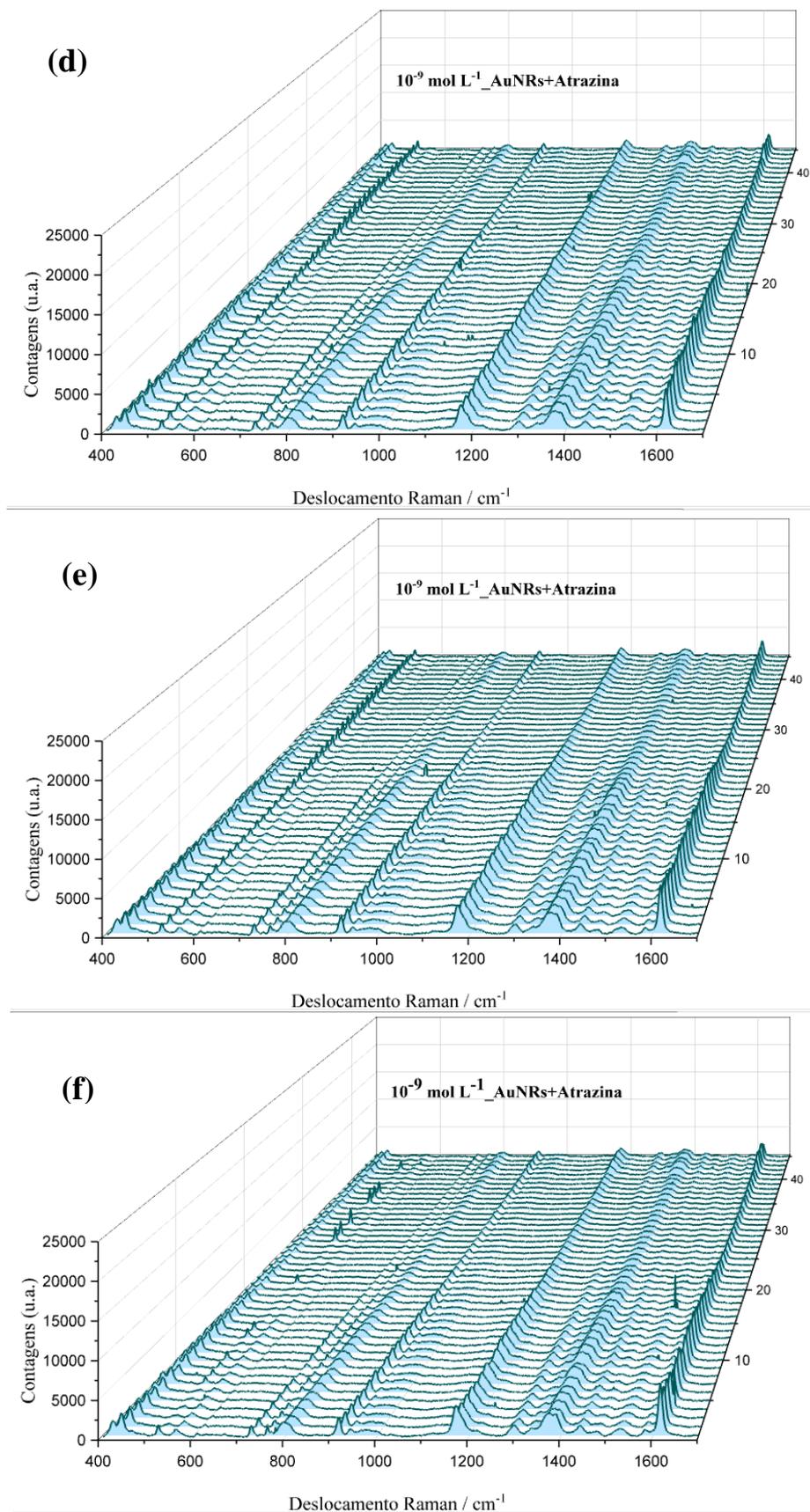
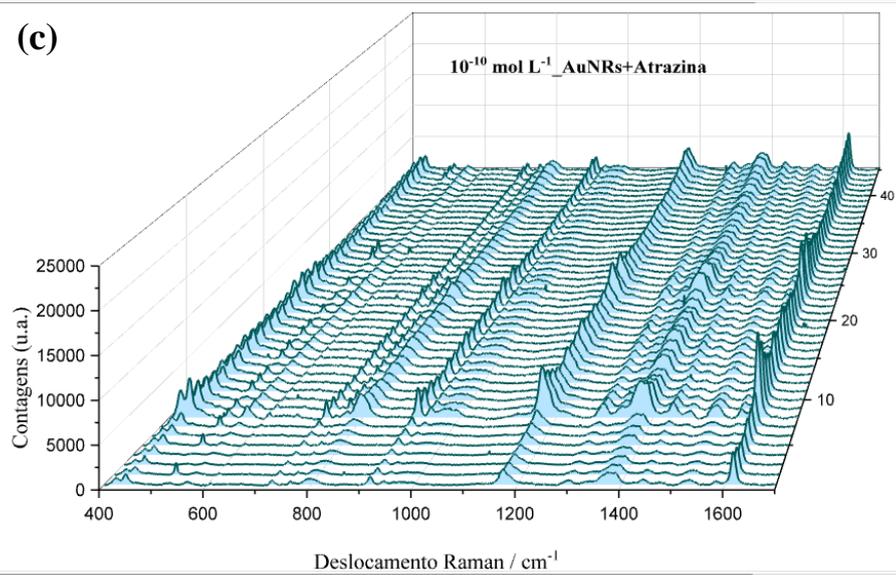
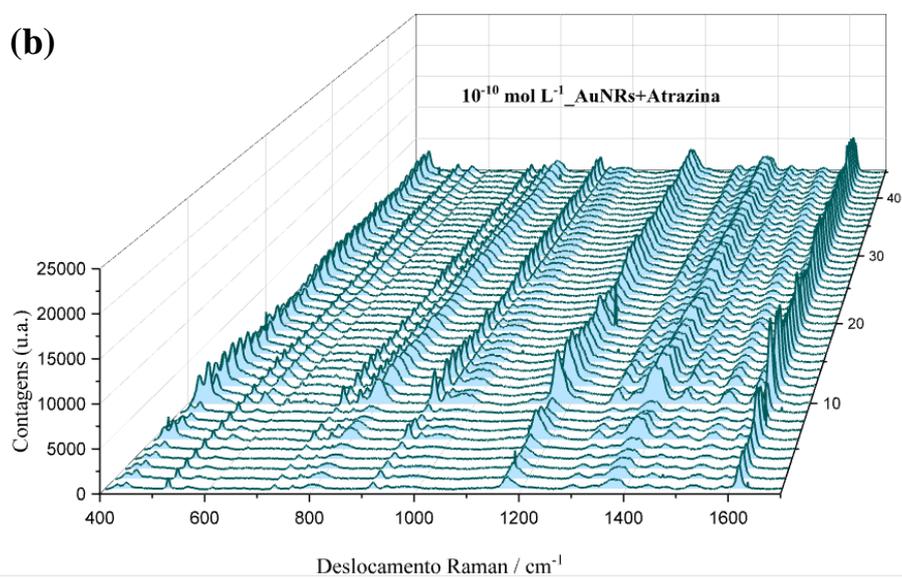
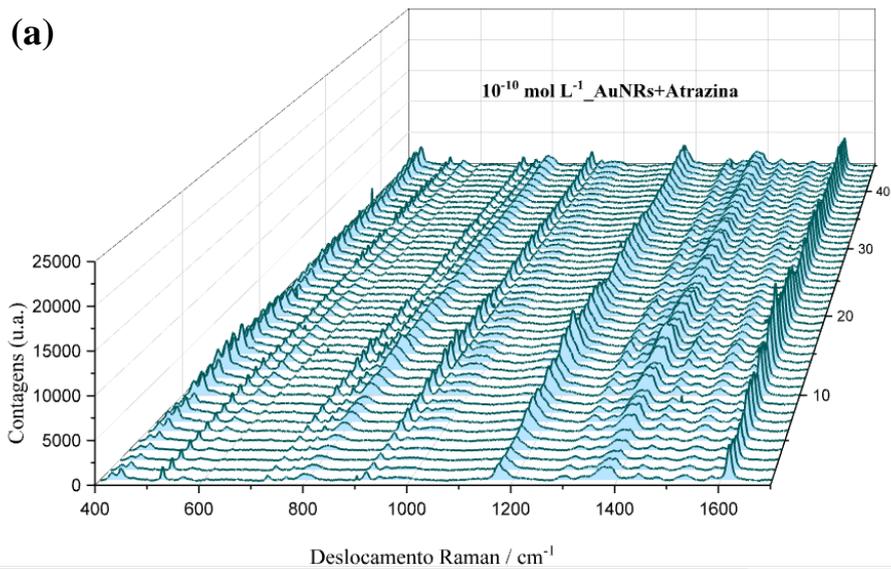


Figura A12. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.



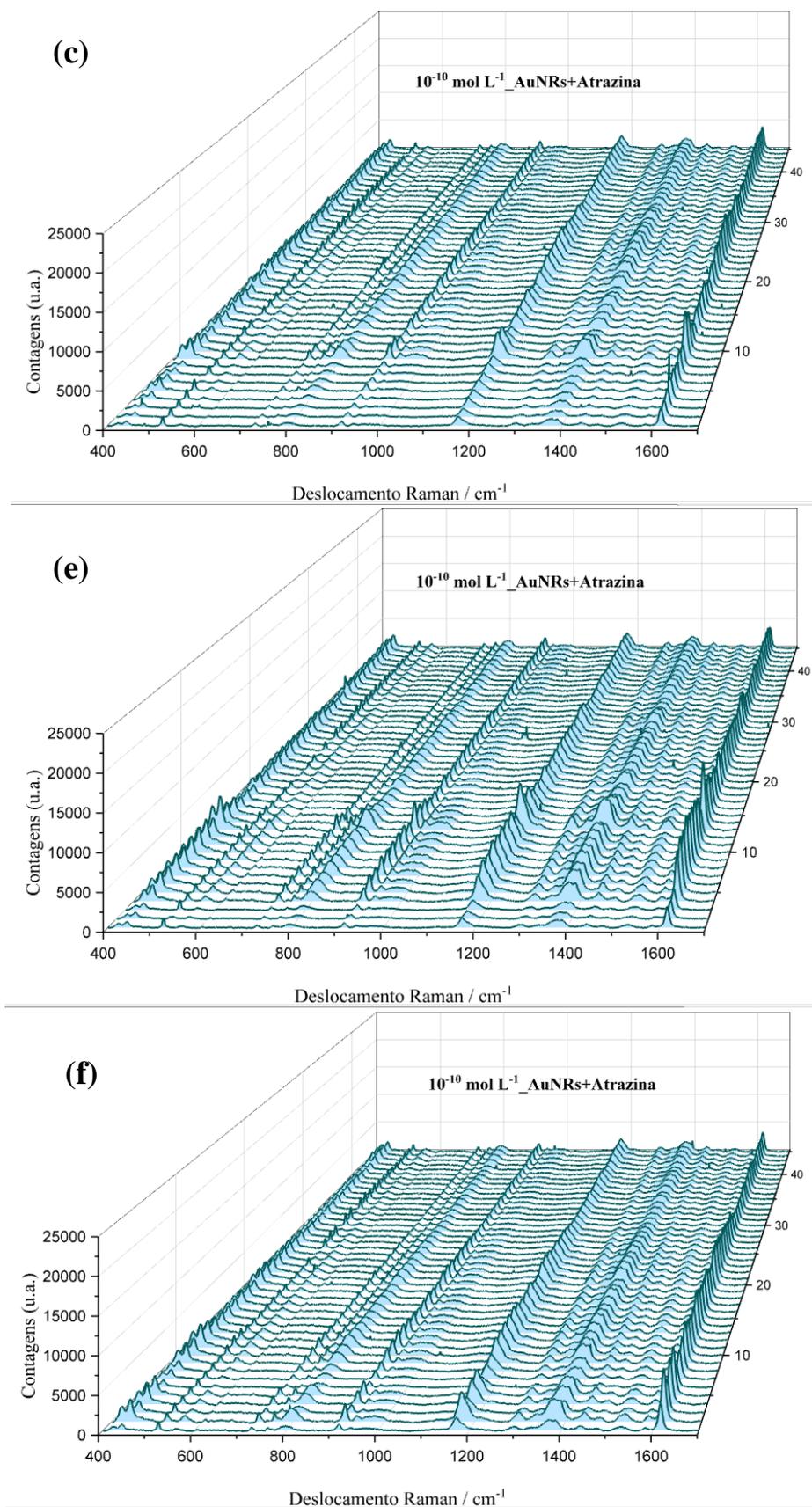
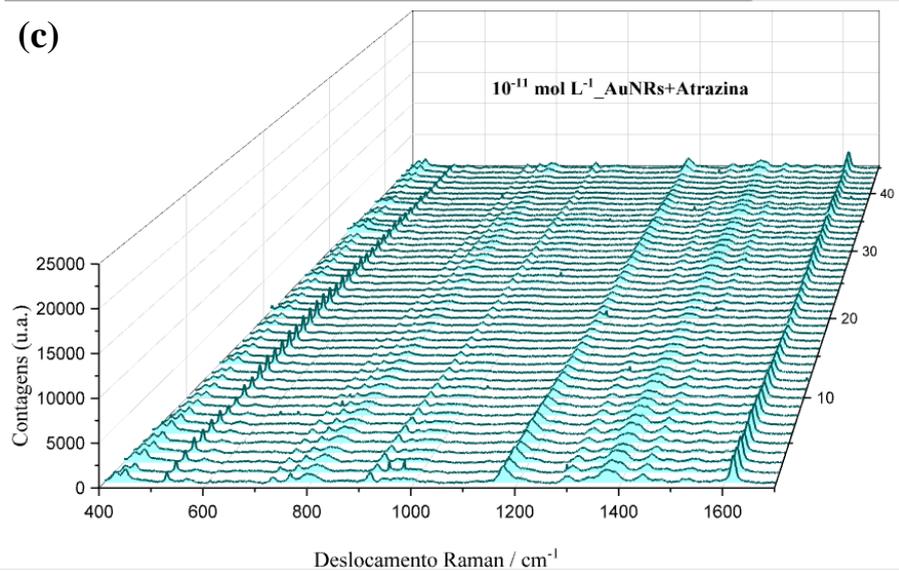
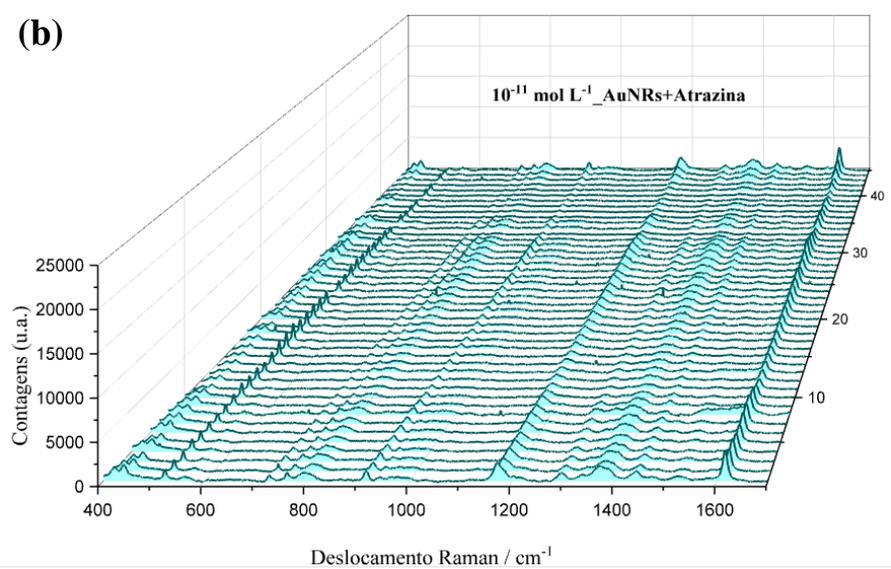
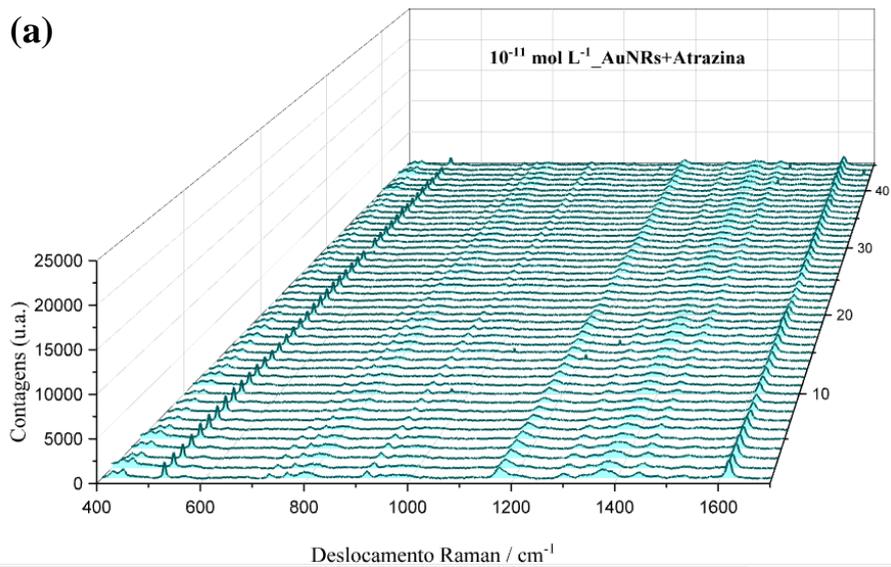


Figura A13. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.



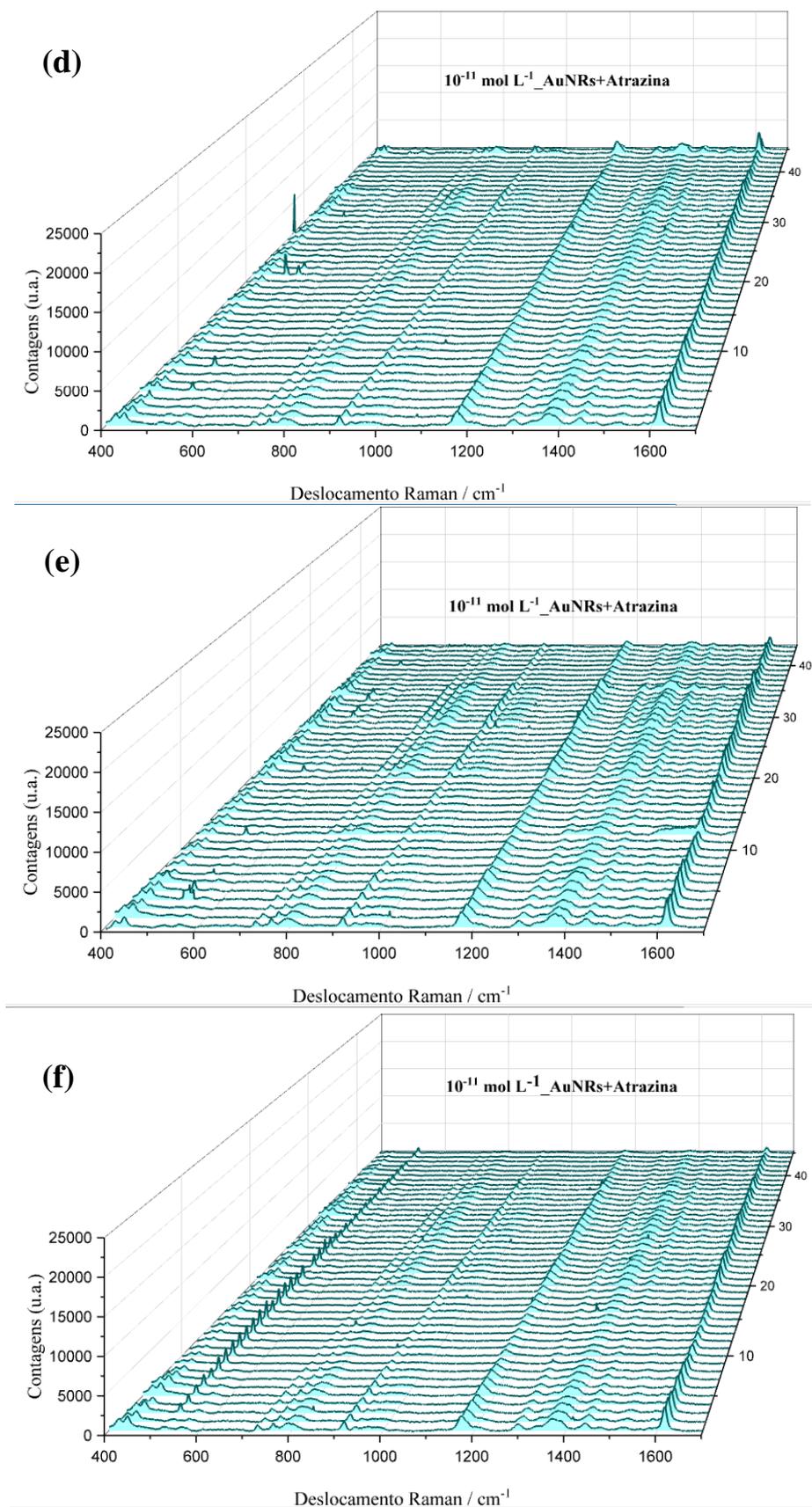
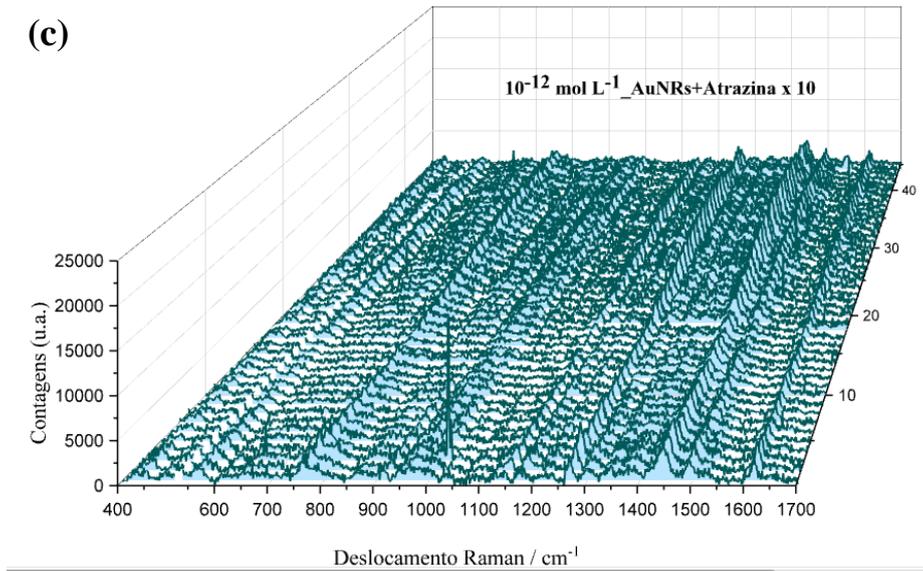
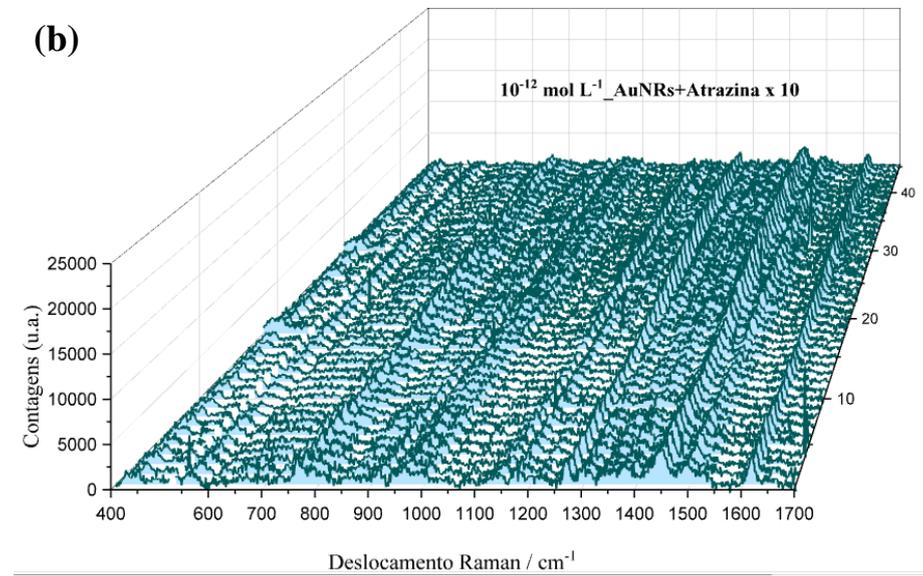
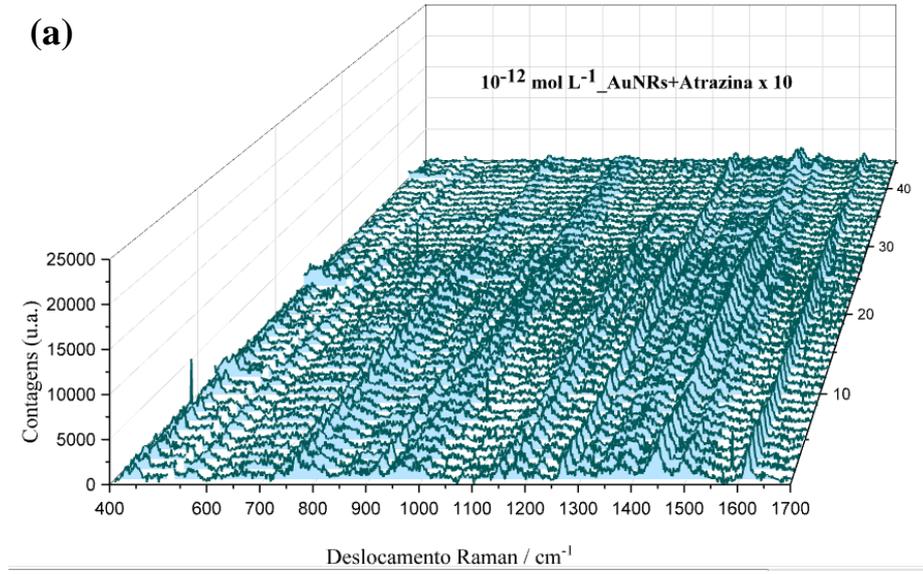


Figura A14. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$.



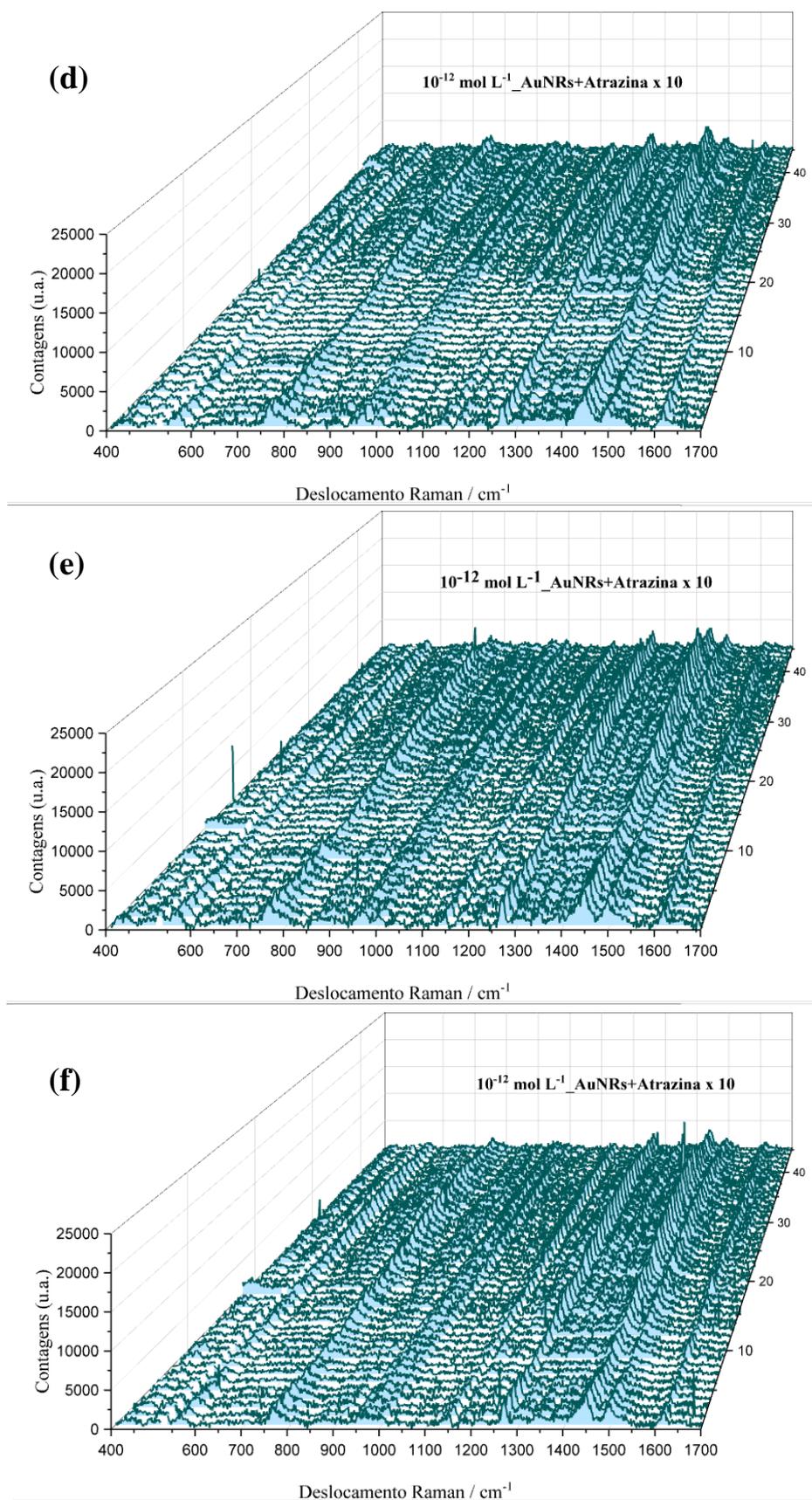
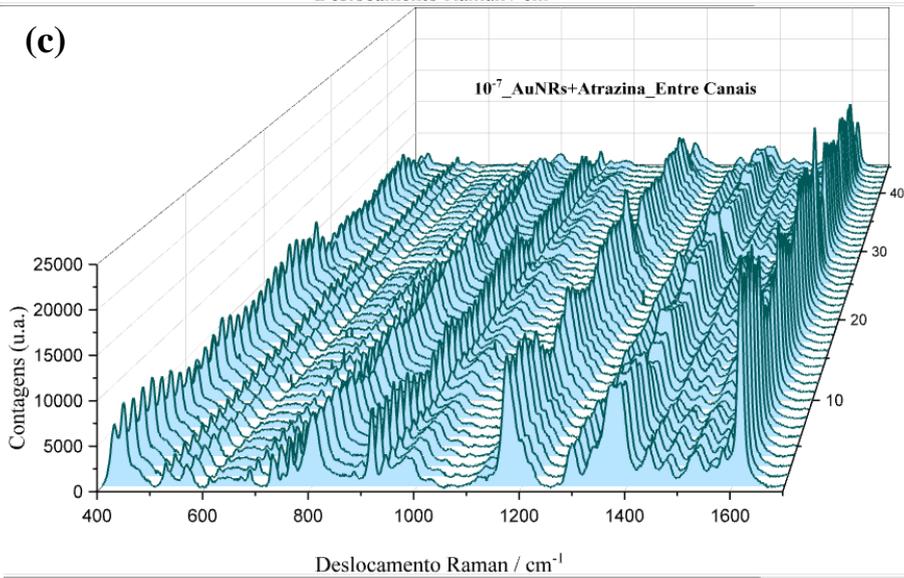
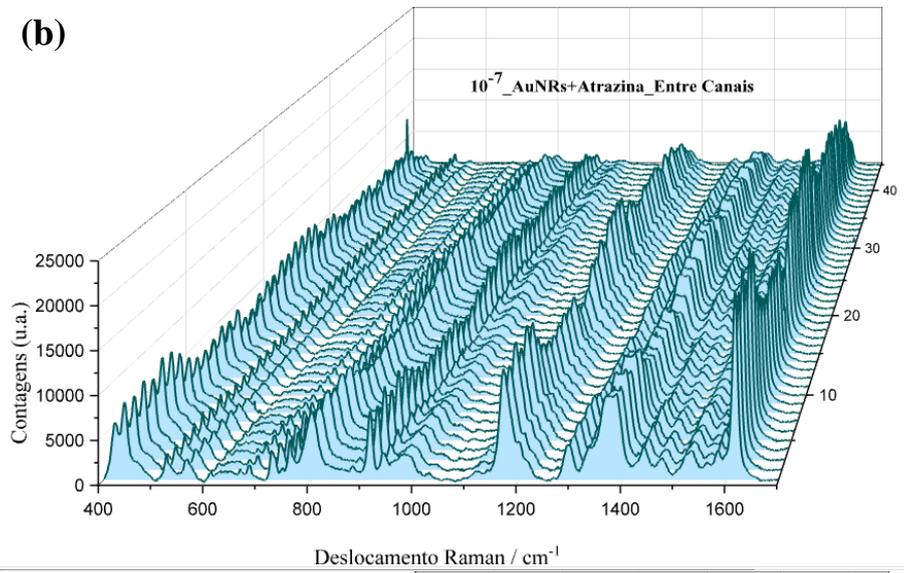
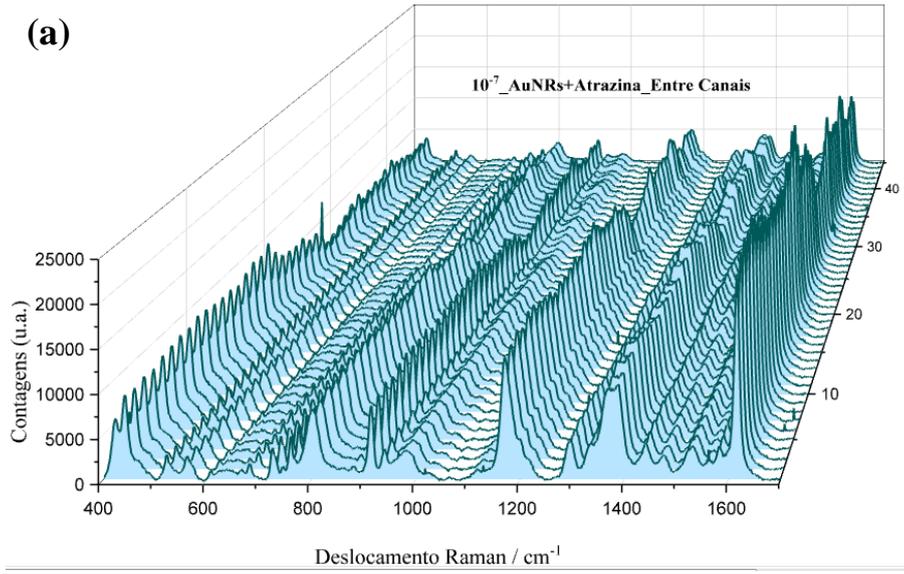


Figura A15. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), dentro dos microcanais do substrato de Si-V, na concentração 10⁻¹² mol L⁻¹.



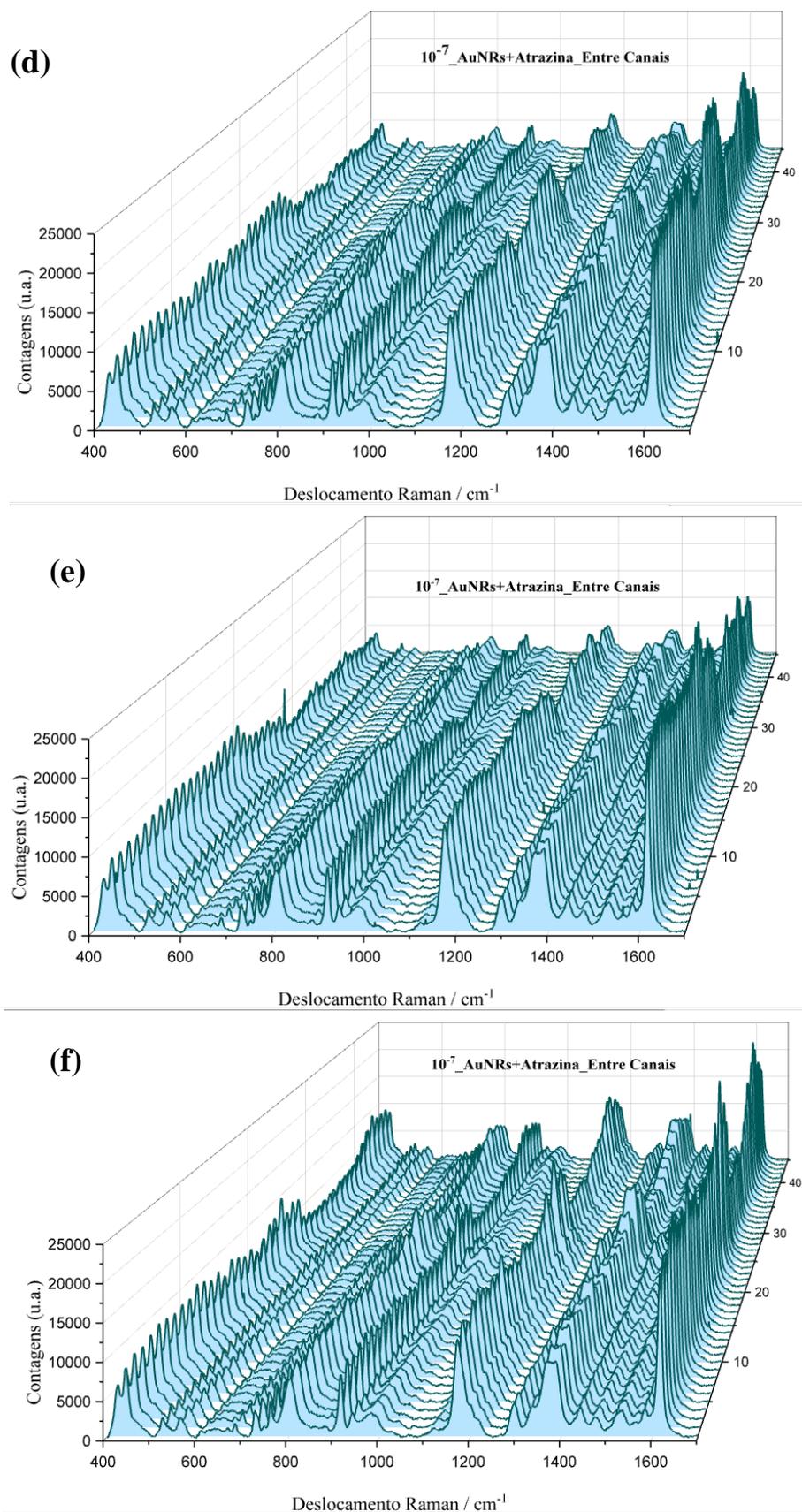
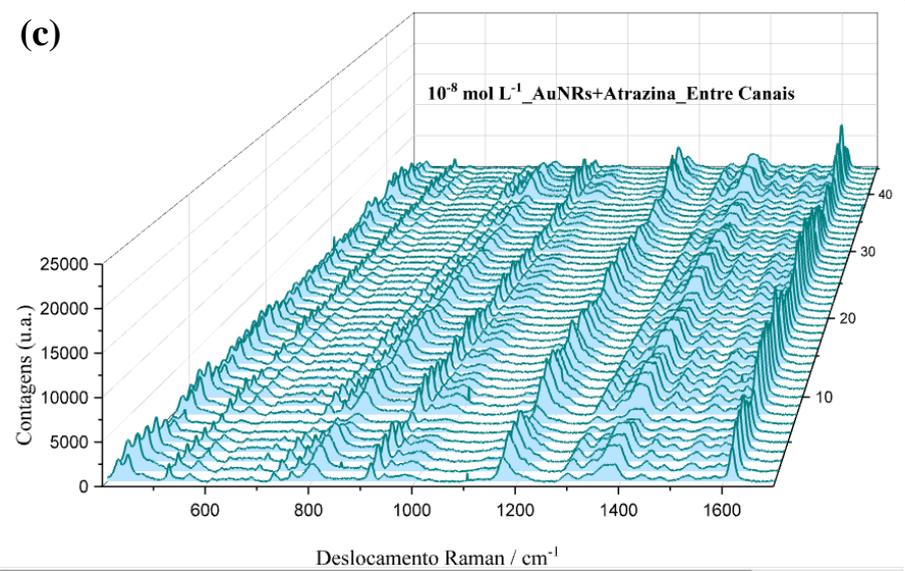
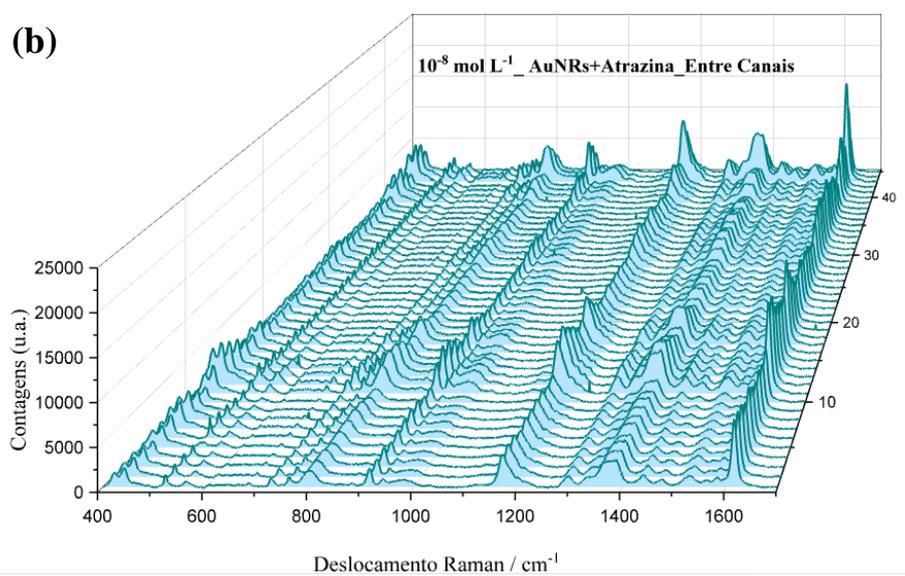
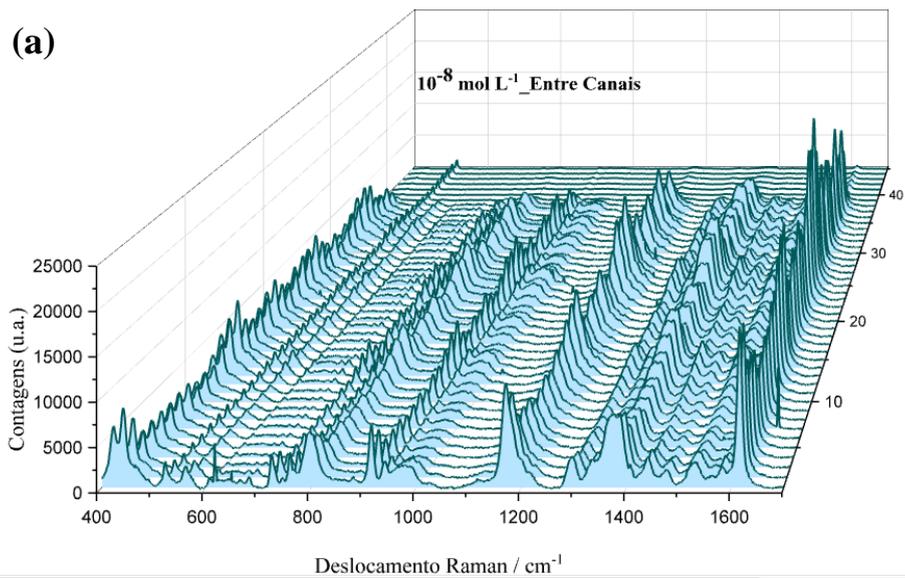


Figura A16. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração 10⁻⁷ mol L⁻¹.



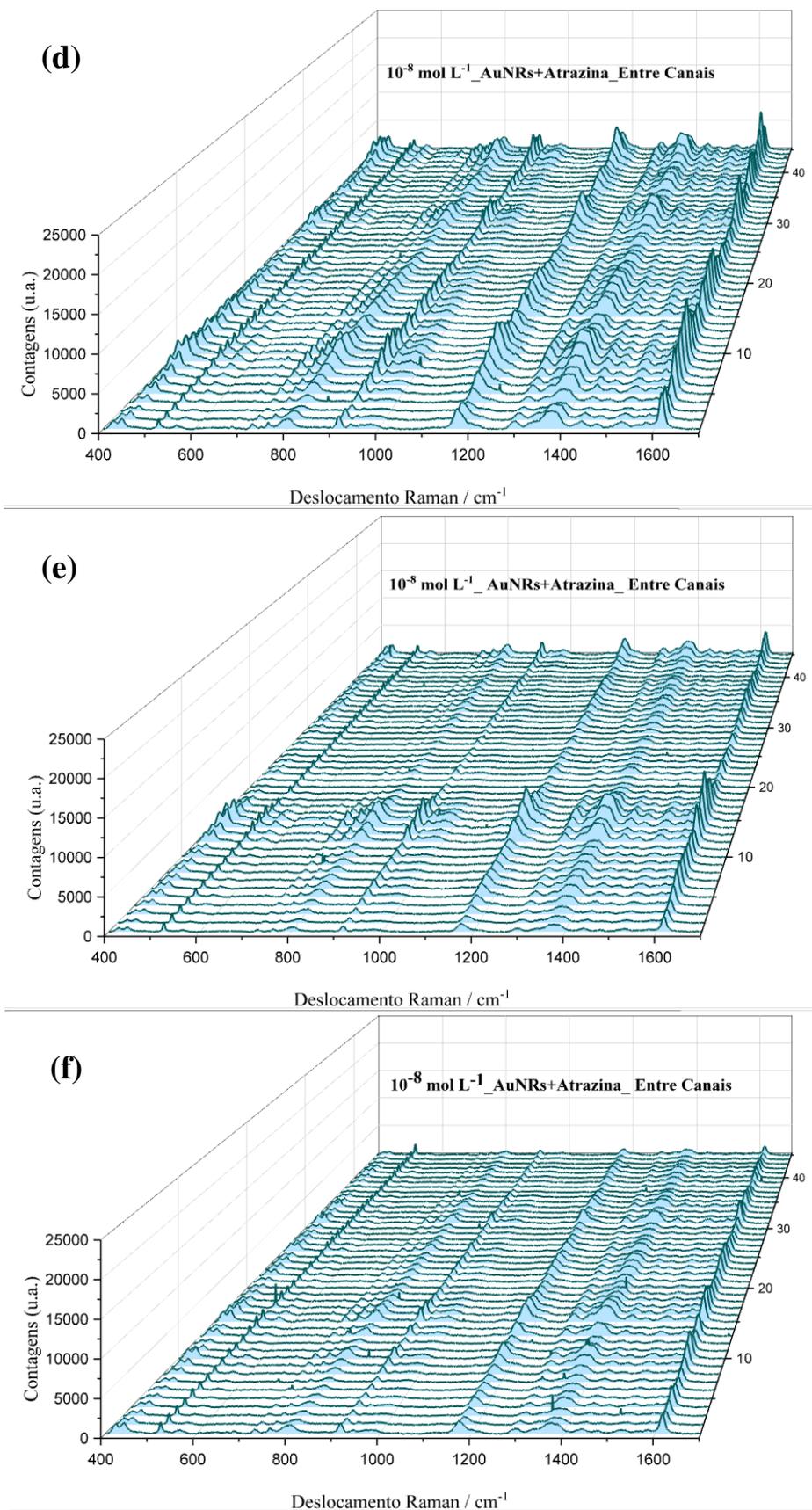
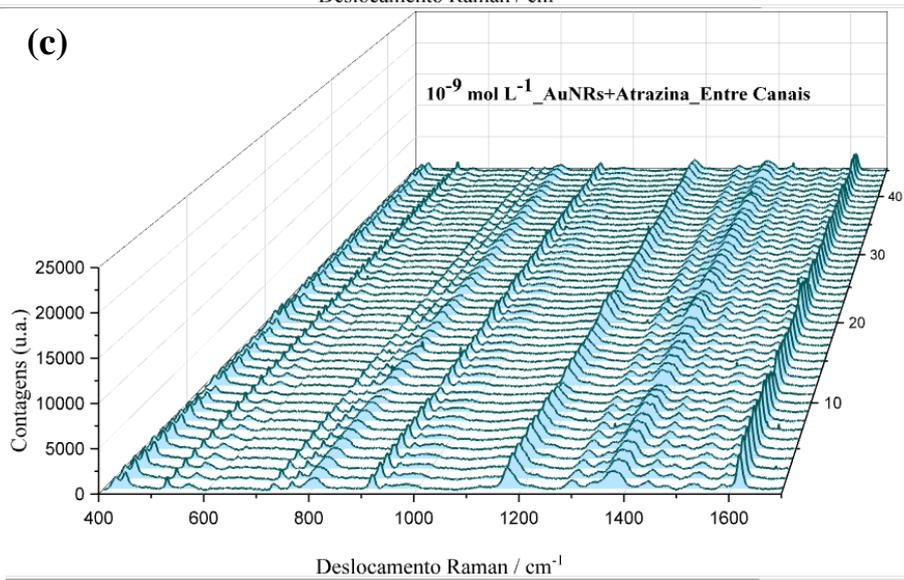
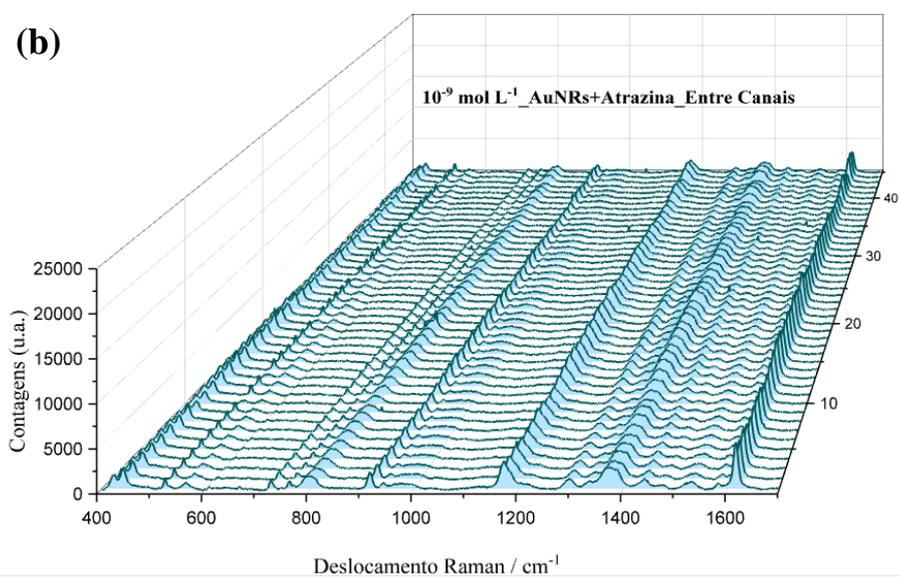
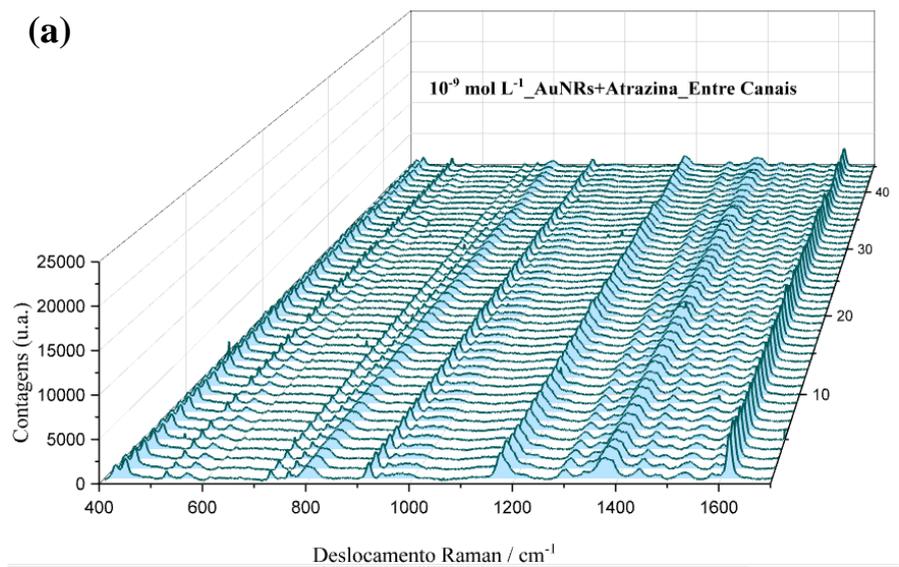


Figura A17. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração 10^{-8} mol L⁻¹.



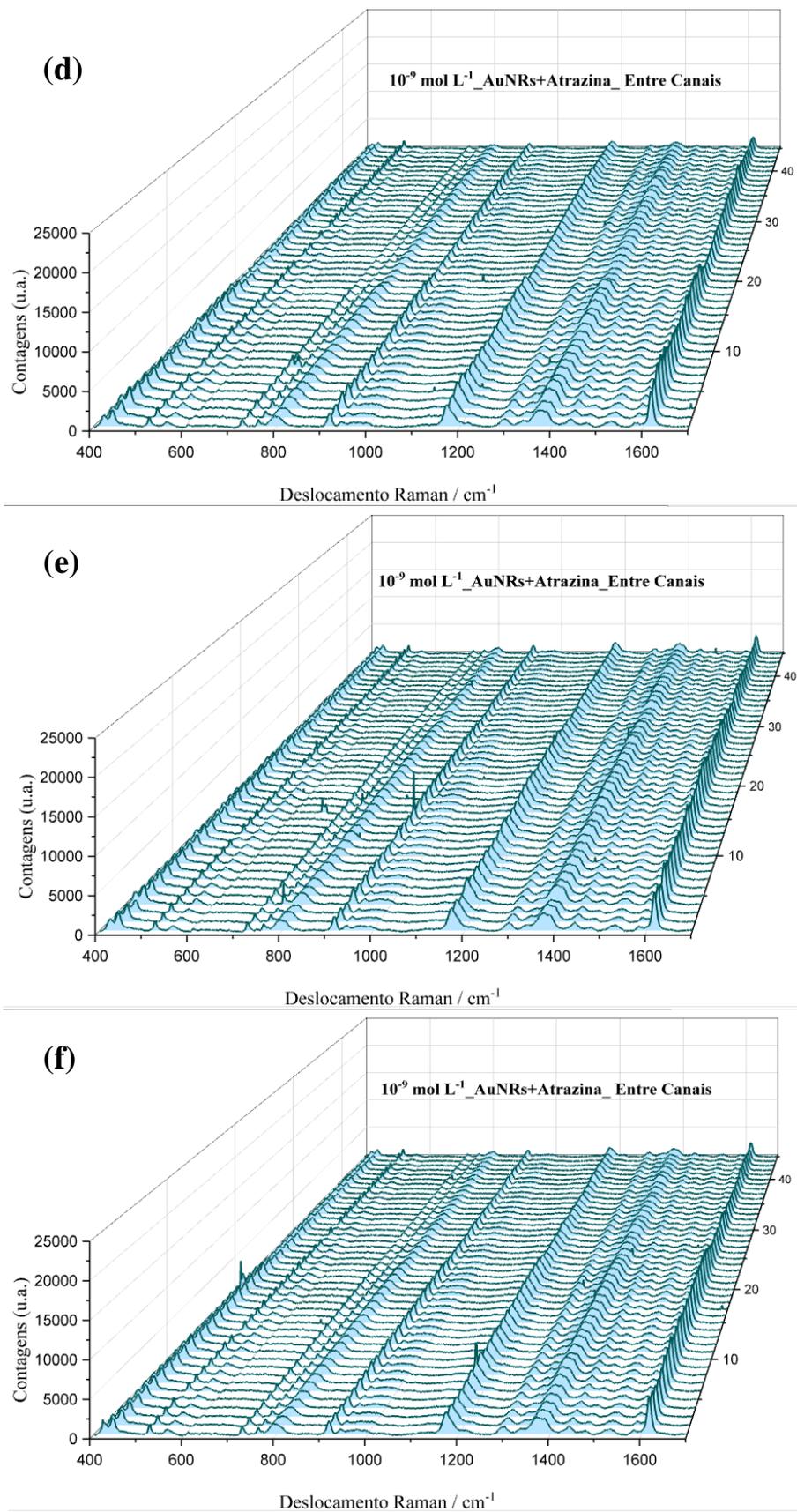
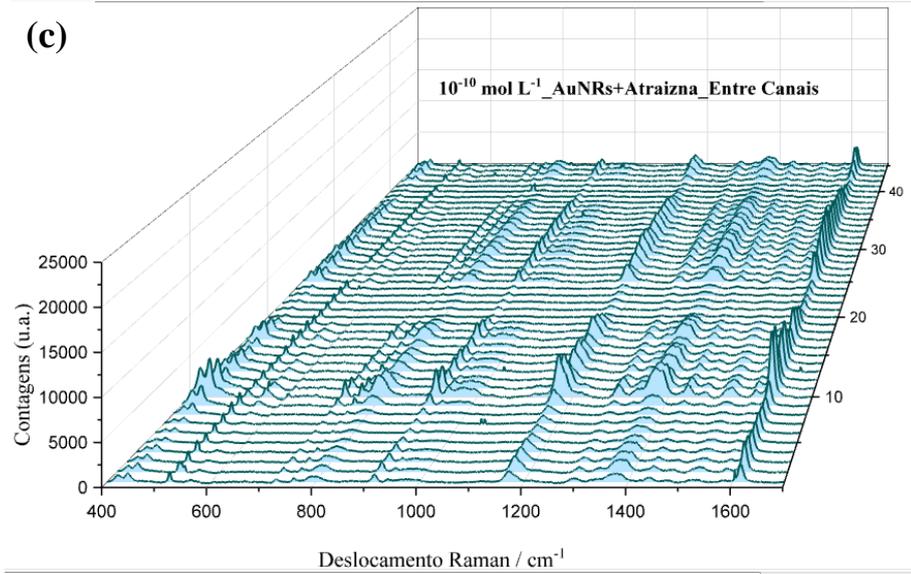
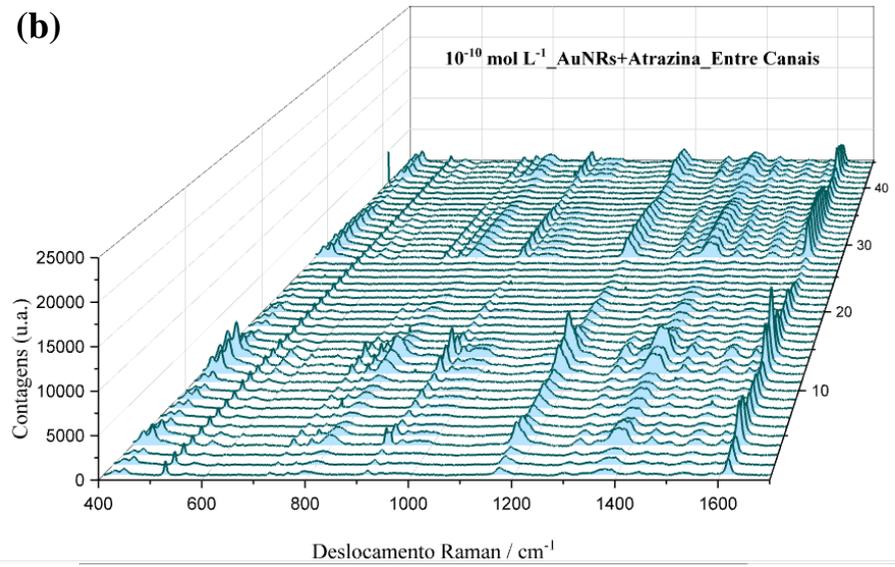
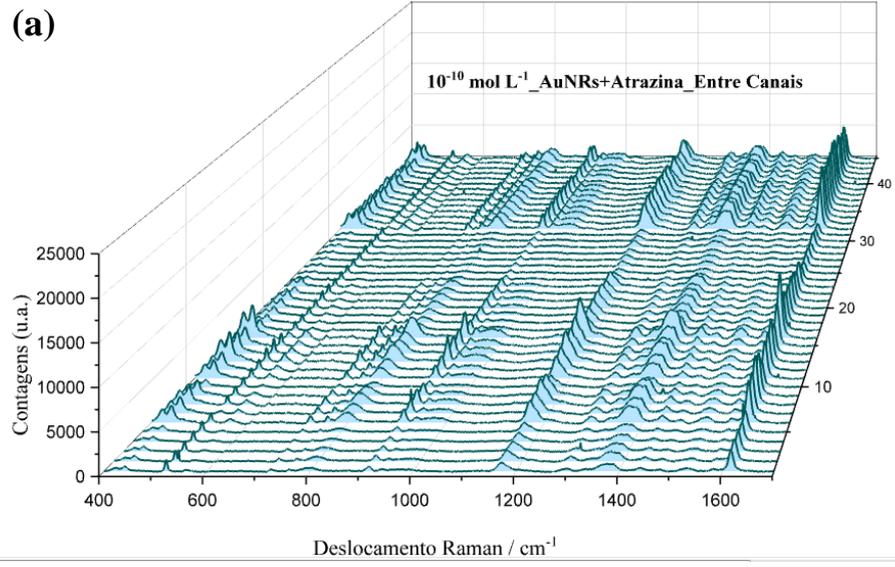


Figura A18. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.



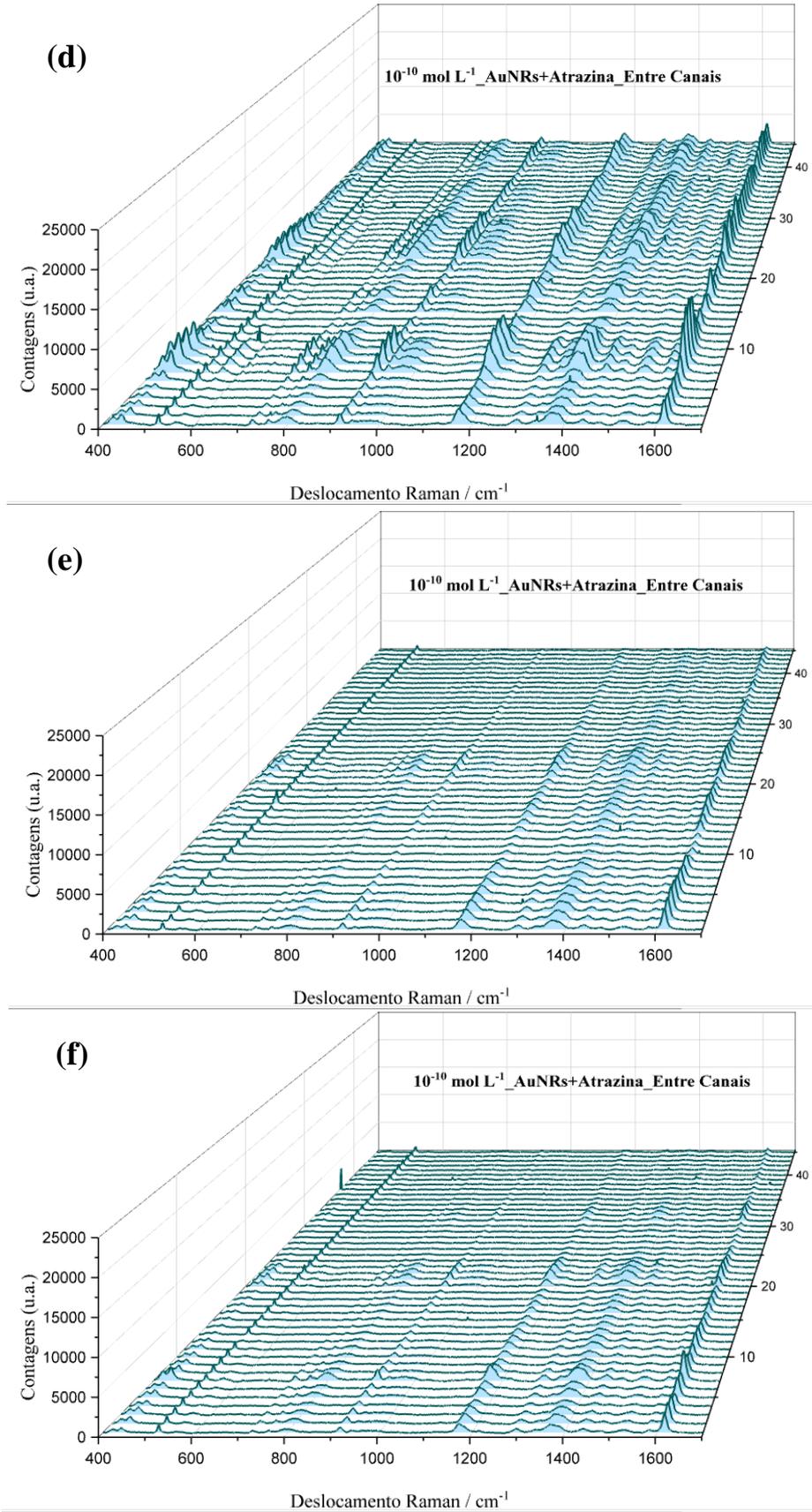
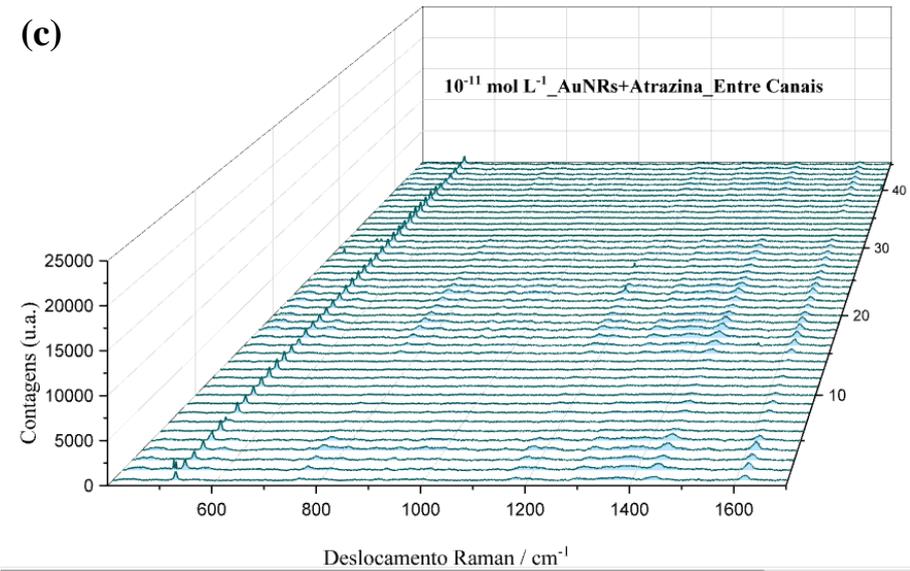
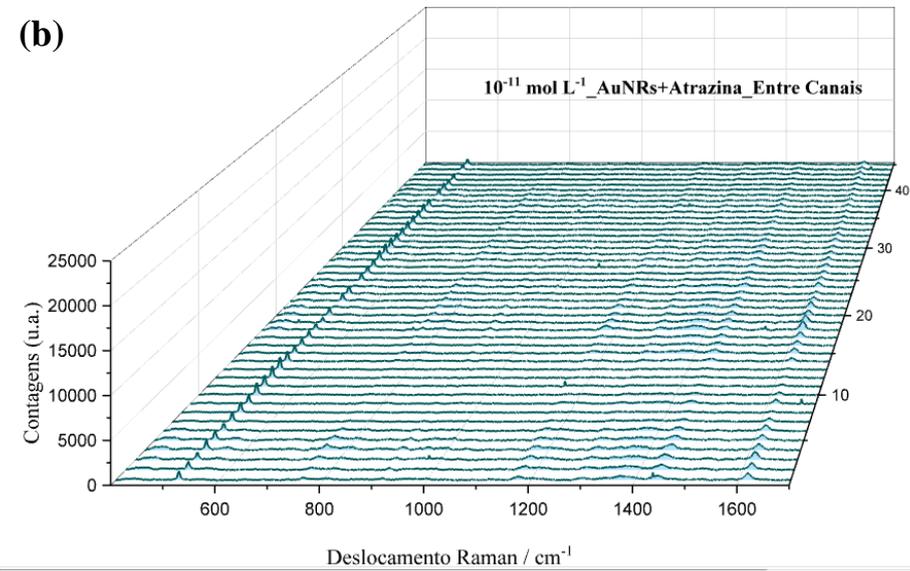
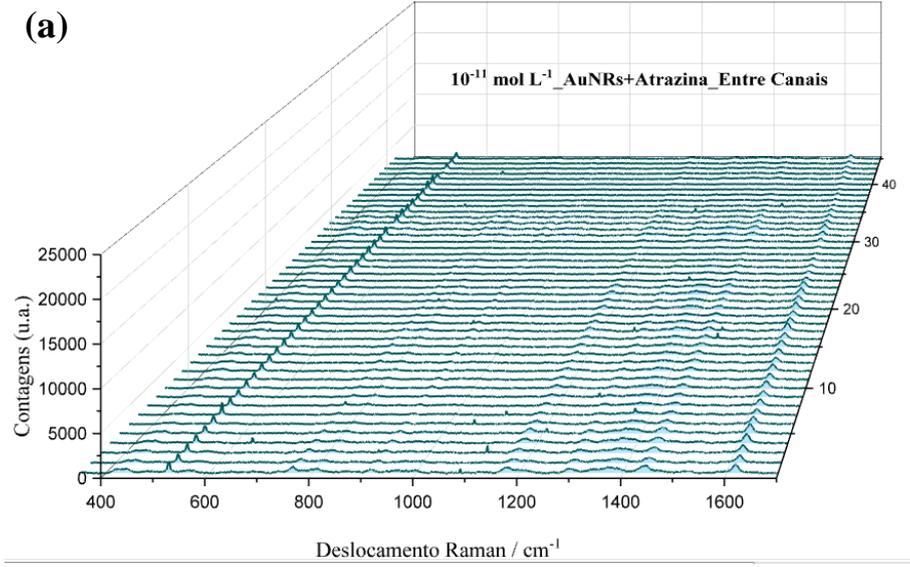


Figura A19. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.



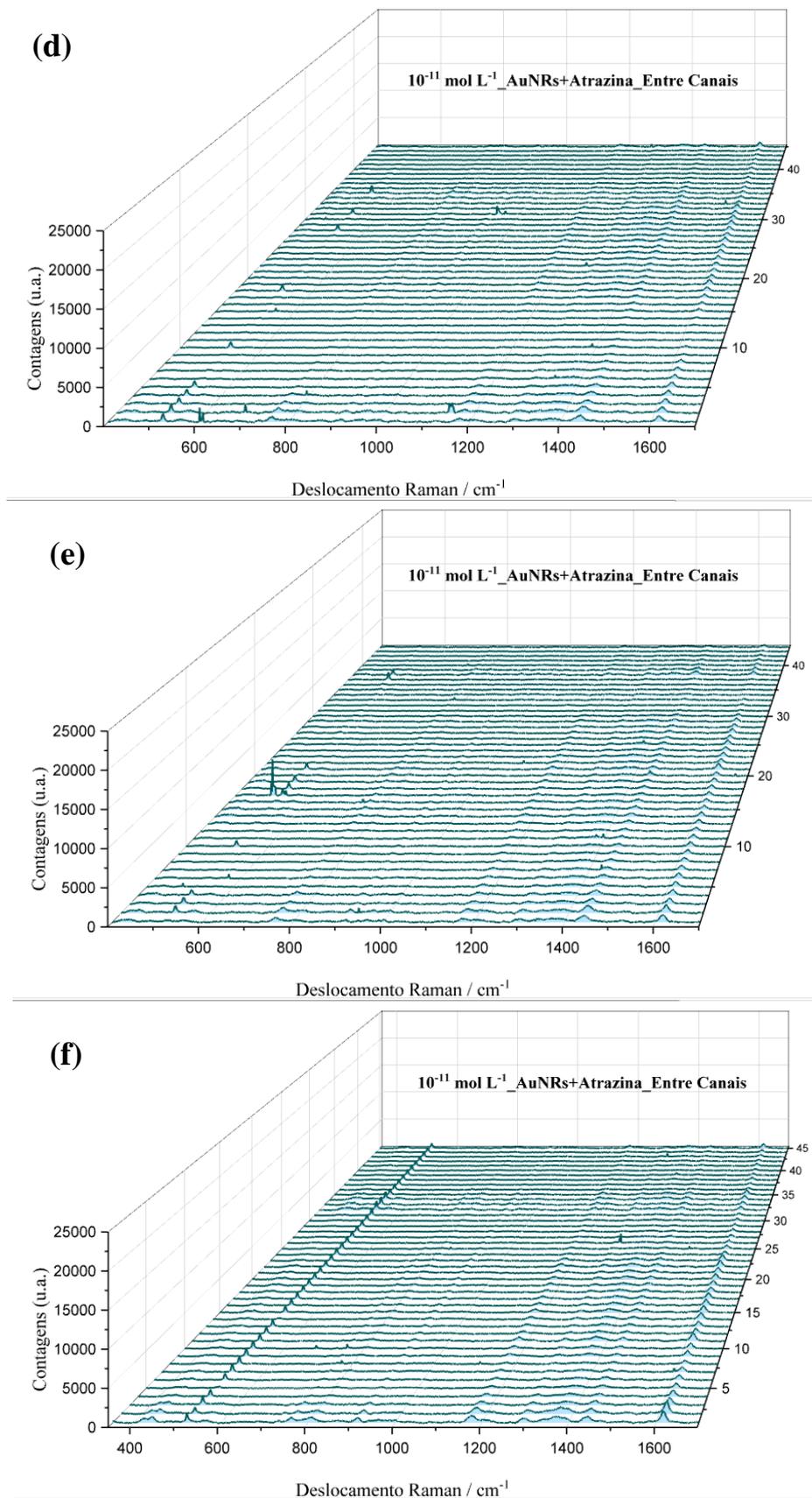
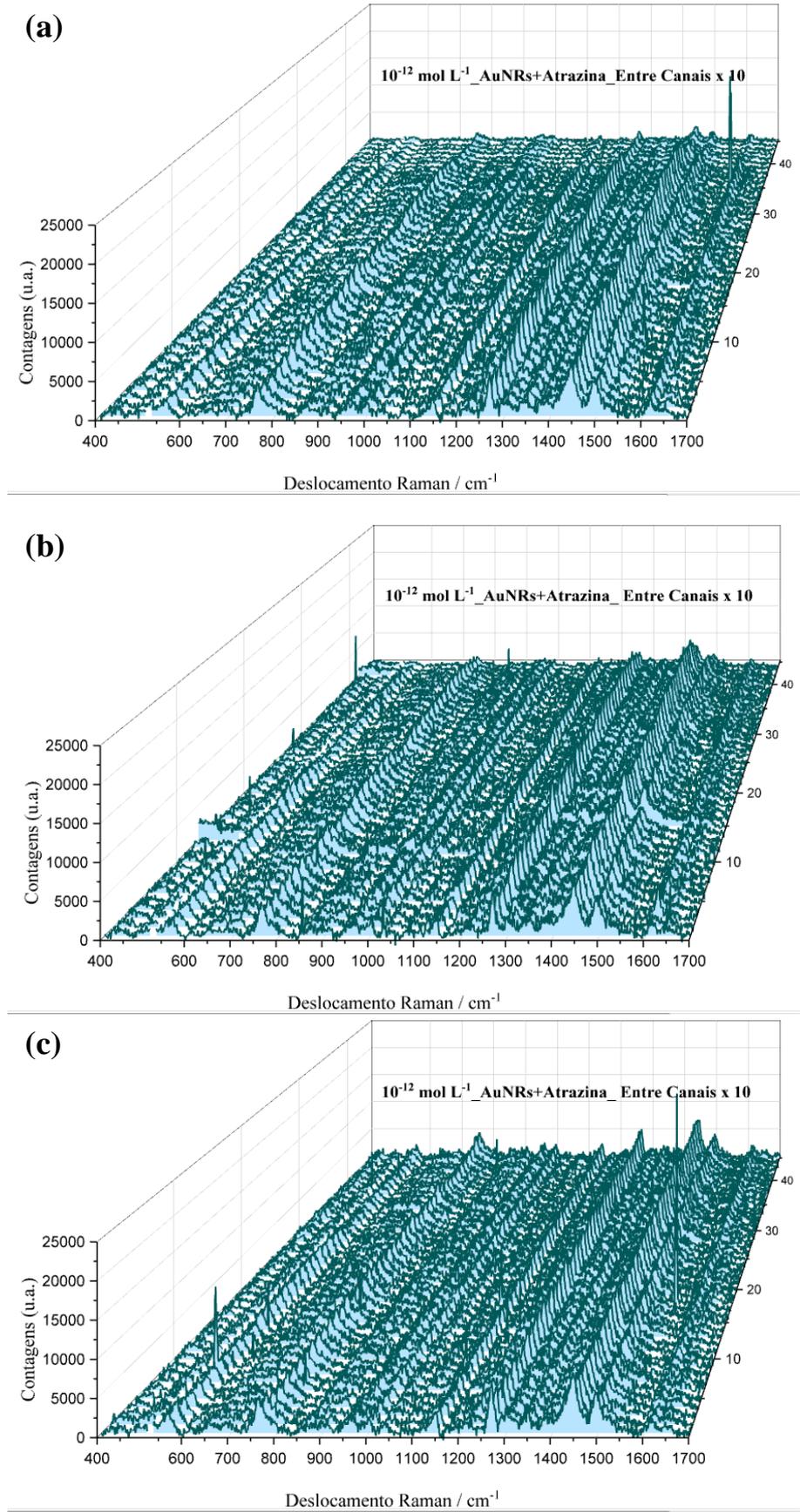


Figura A20. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração 10^{-11} mol L⁻¹.



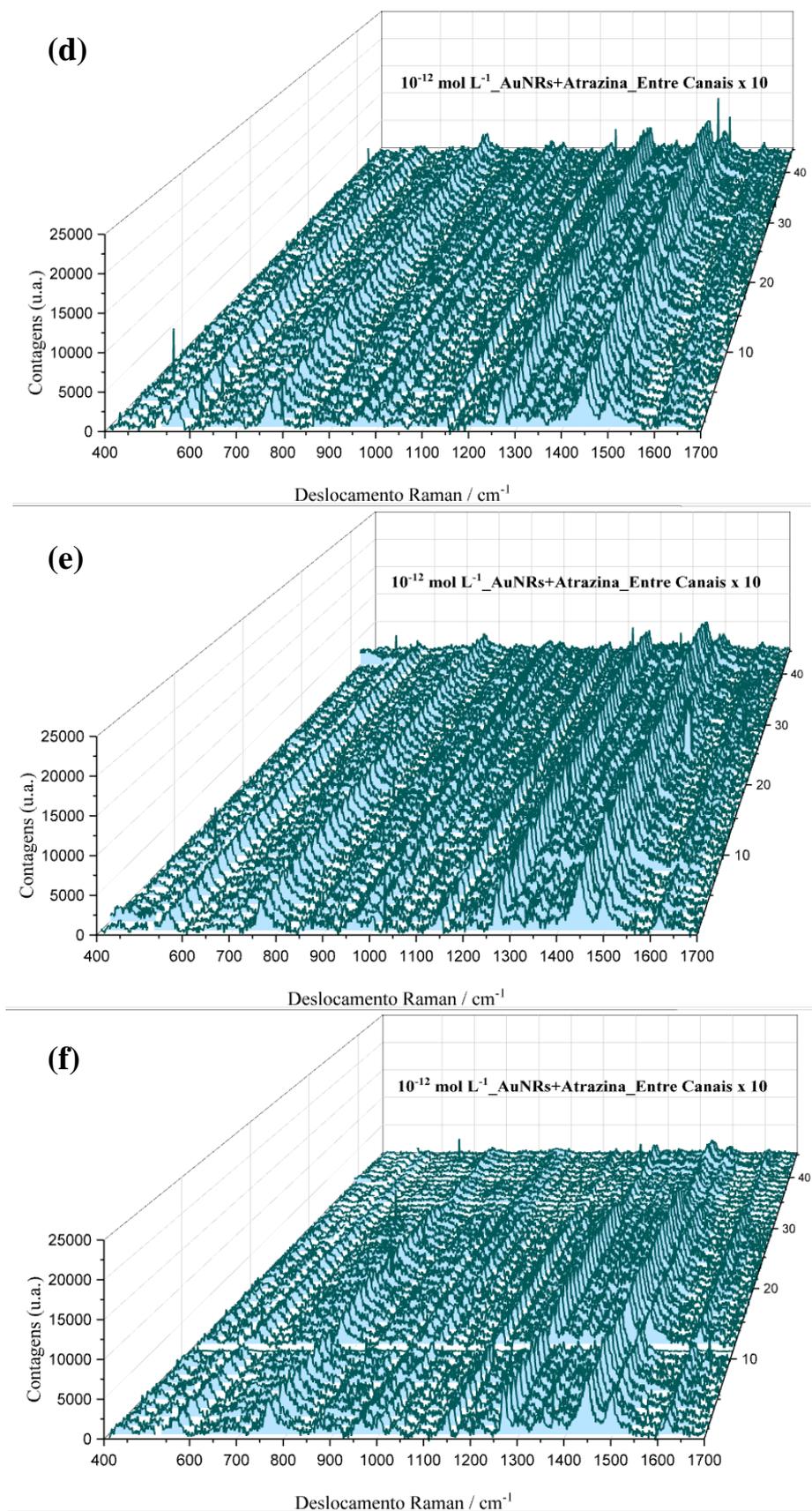
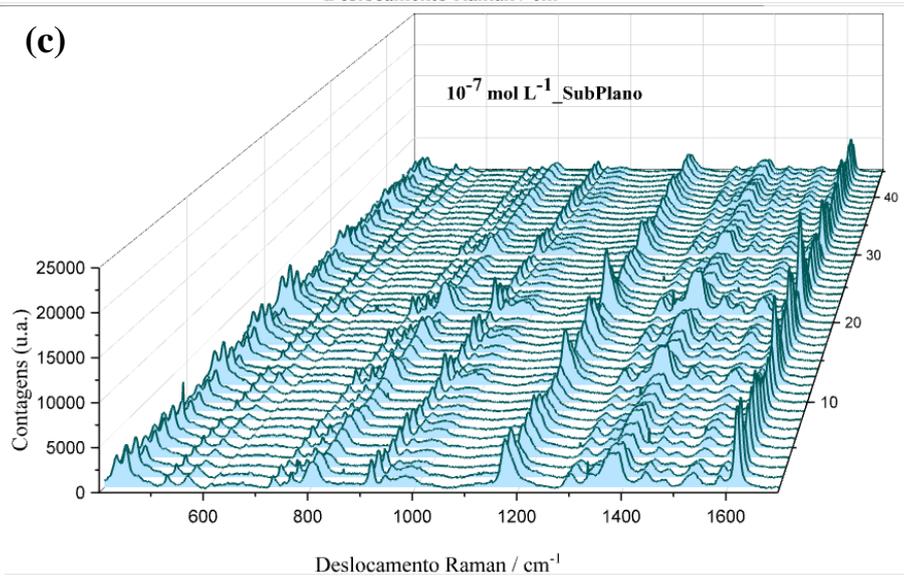
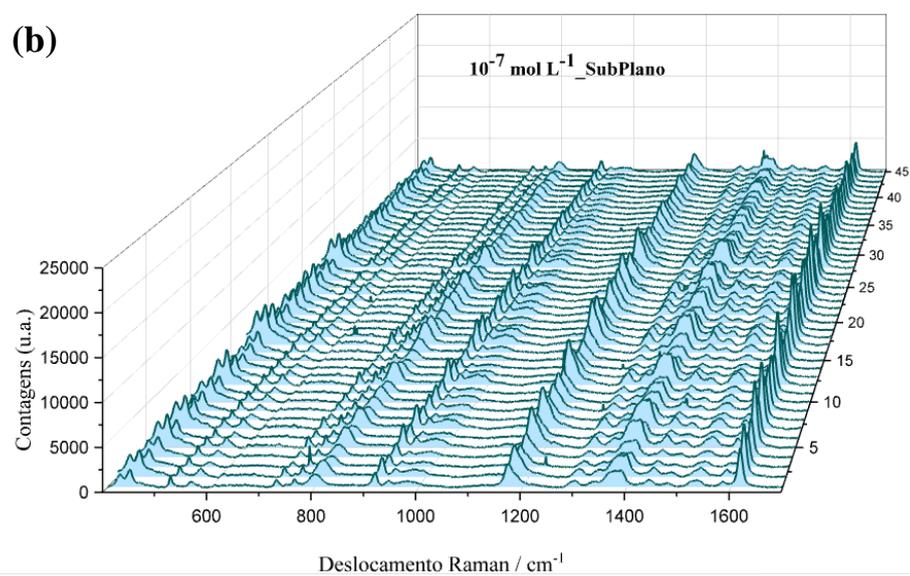
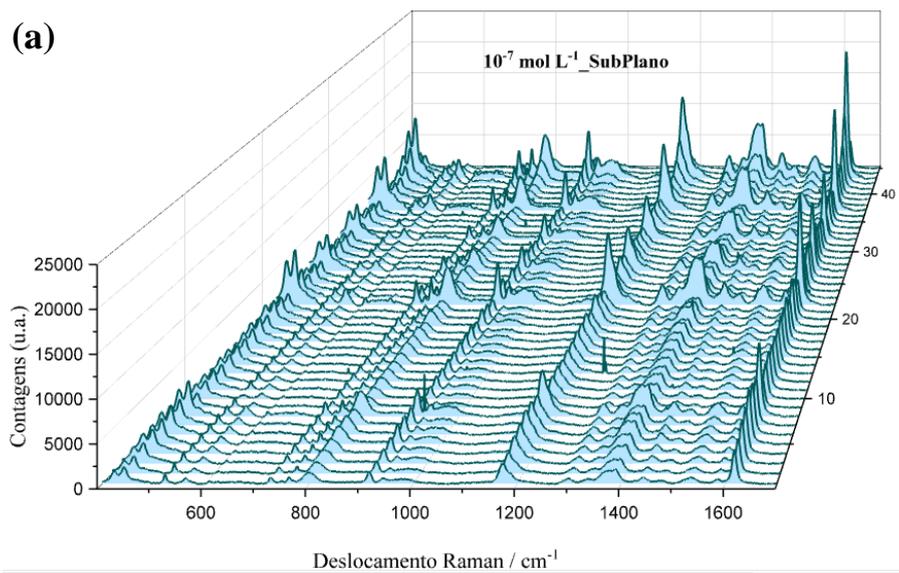


Figura A21. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na região externa aos microcanais do substrato de Si-V, na concentração $10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$.



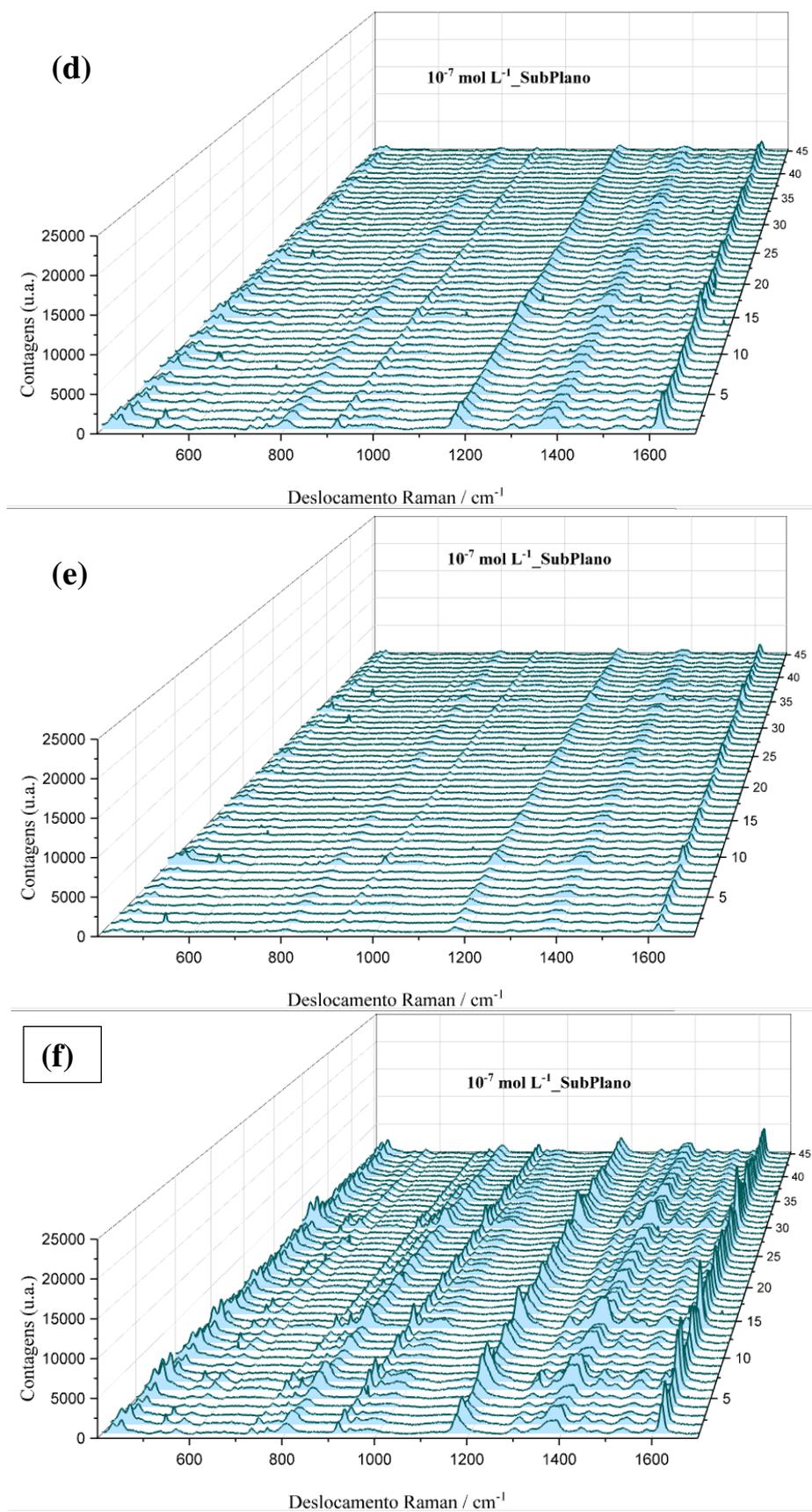
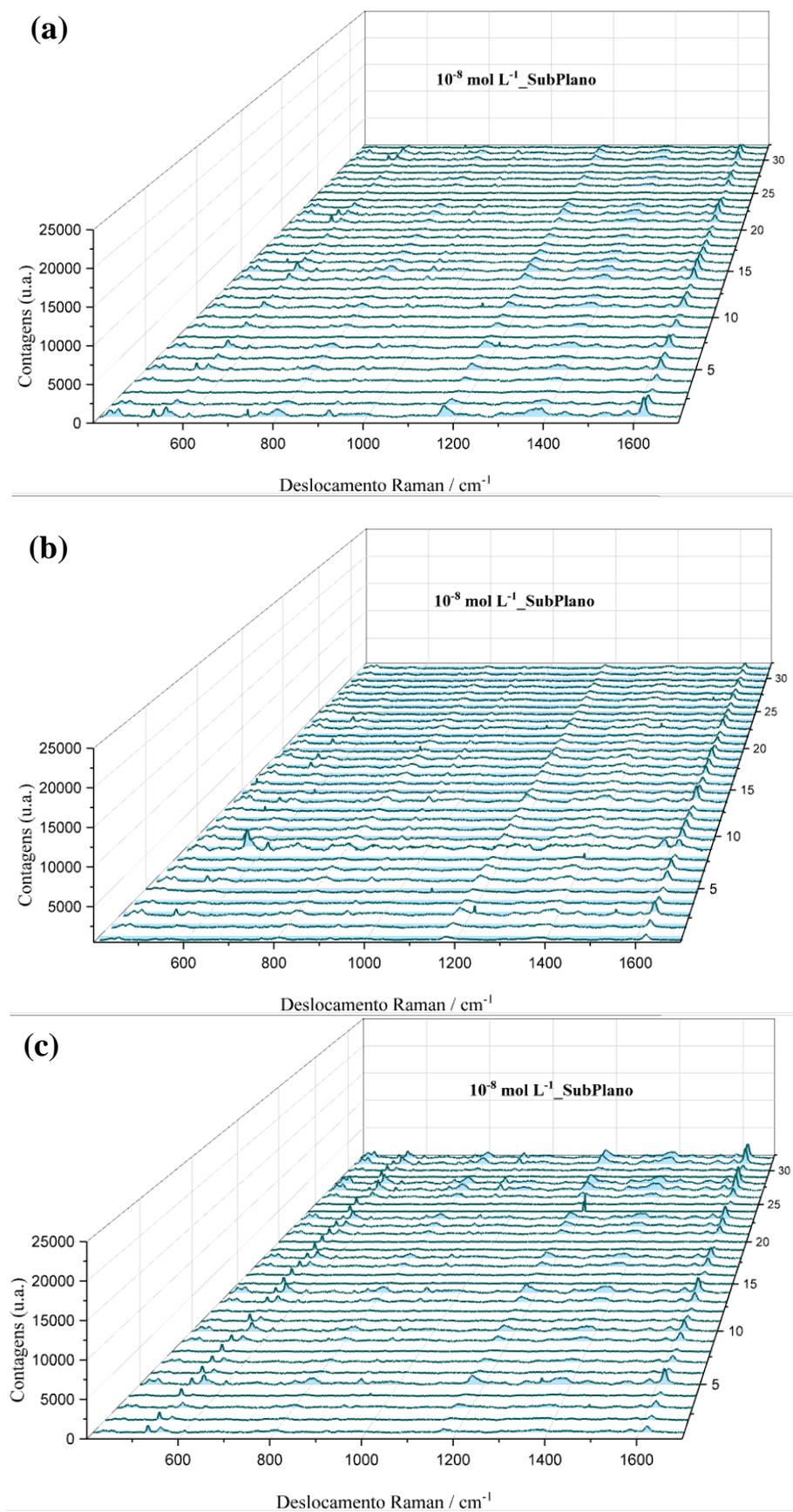


Figura A22. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$.



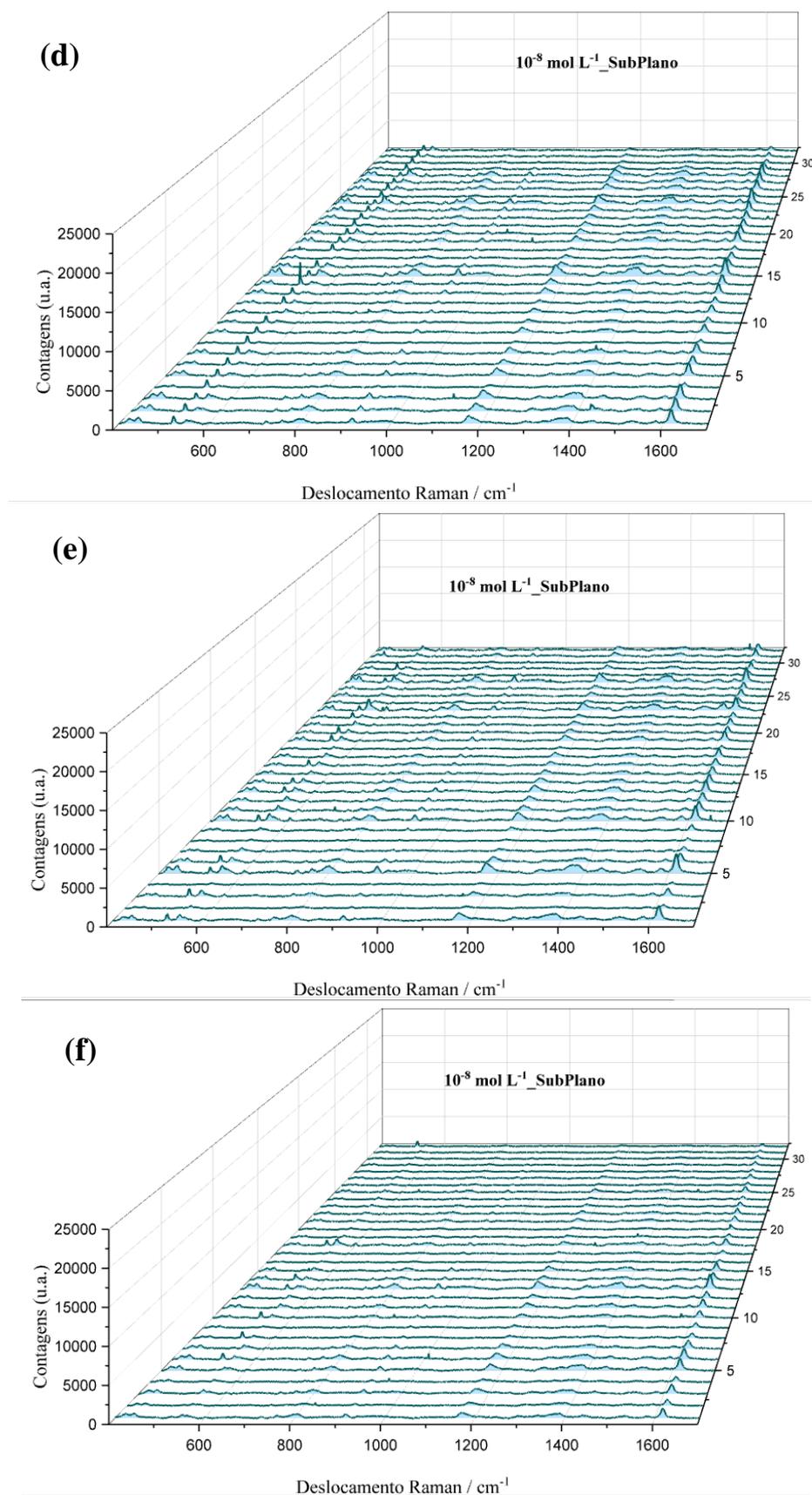
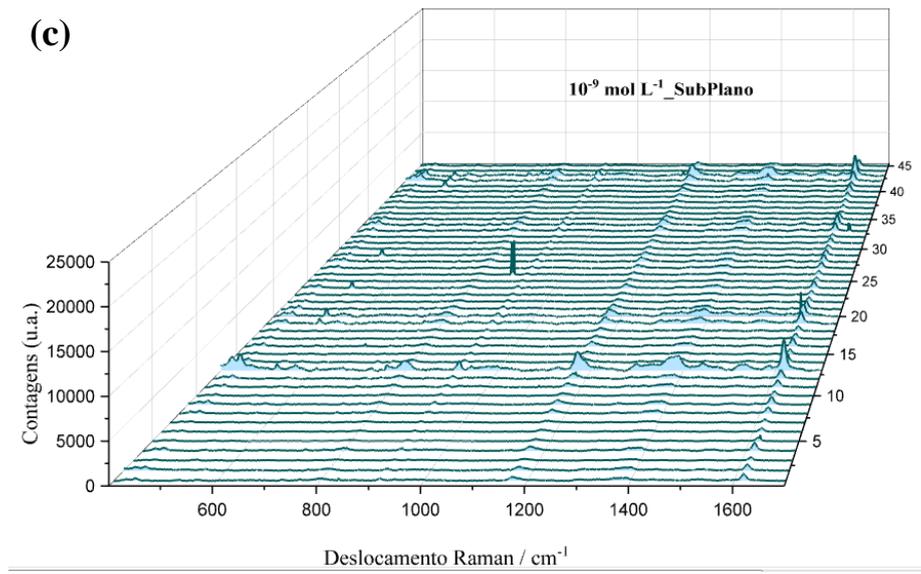
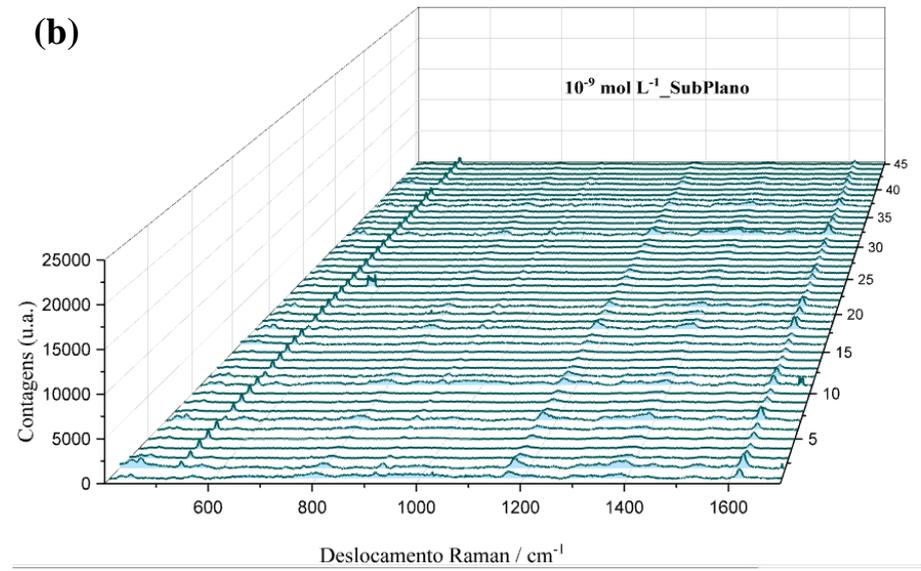
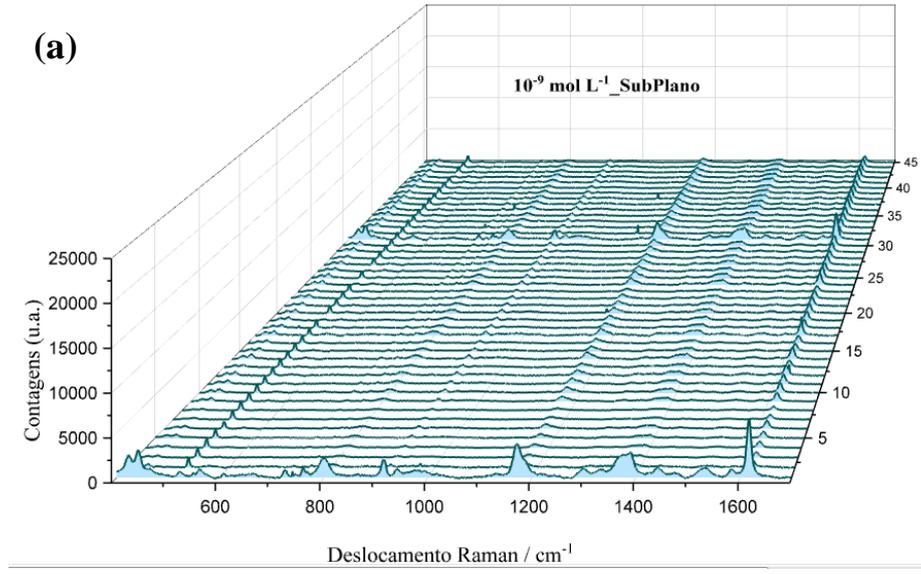


Figura A23. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-8} \text{ mol L}^{-1}$.



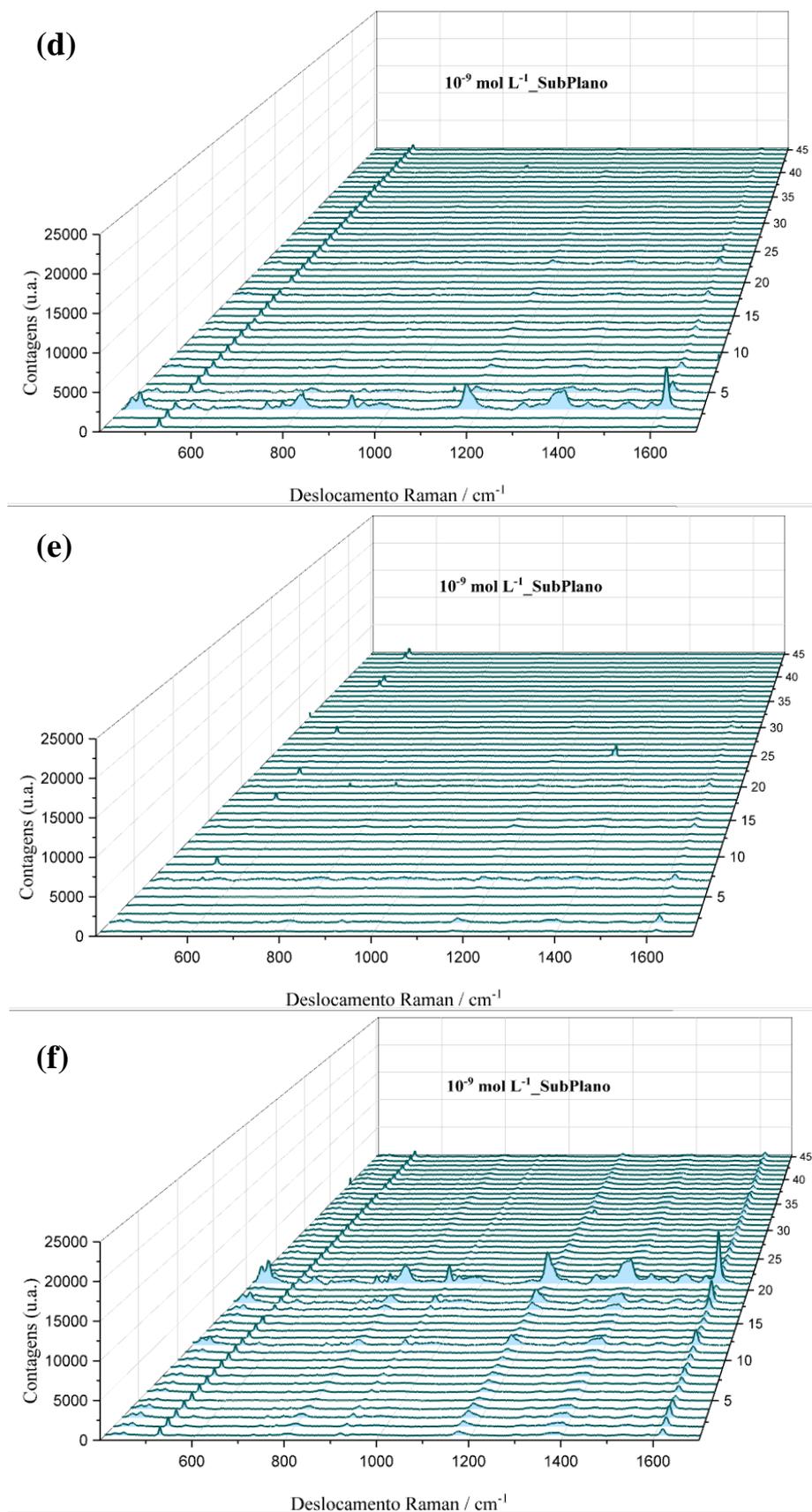
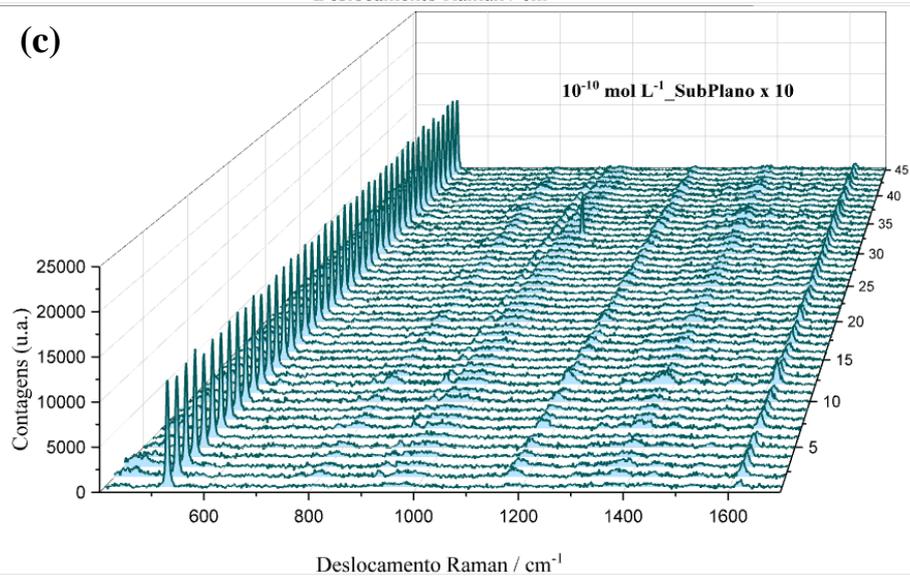
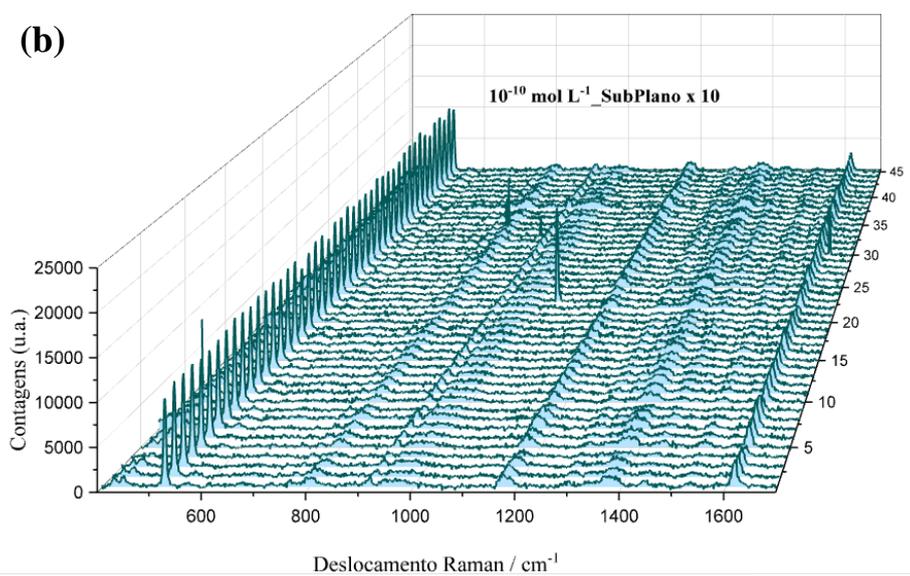
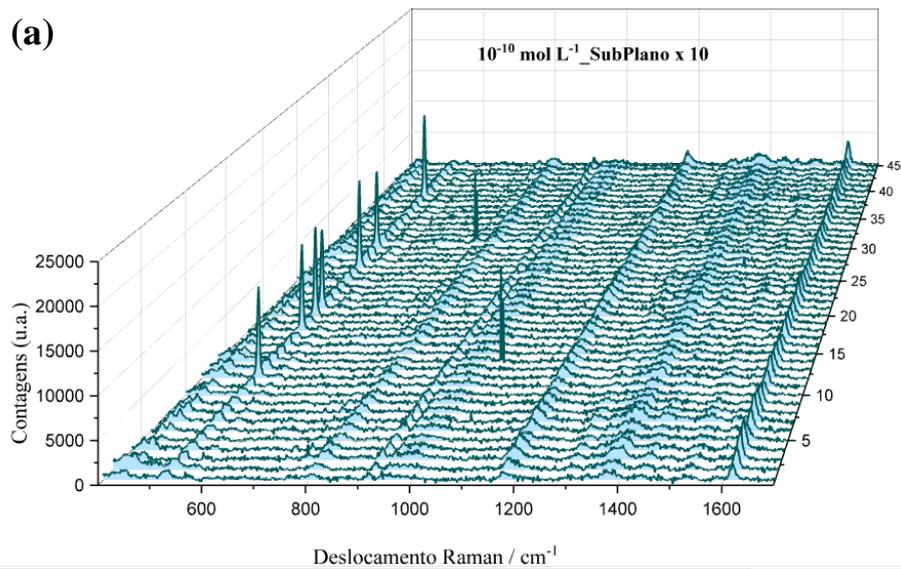


Figura A24. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-9} \text{ mol L}^{-1}$.



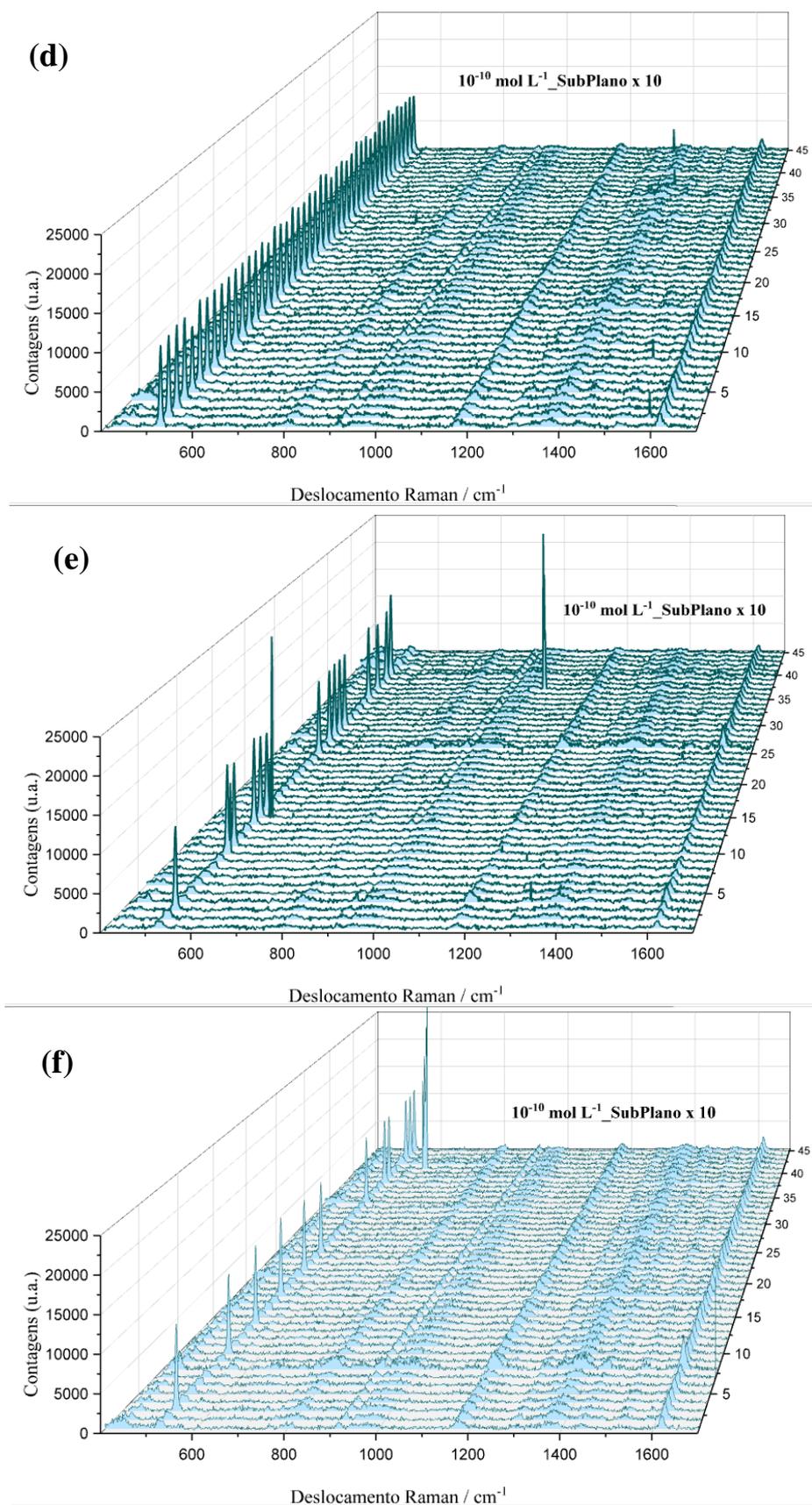
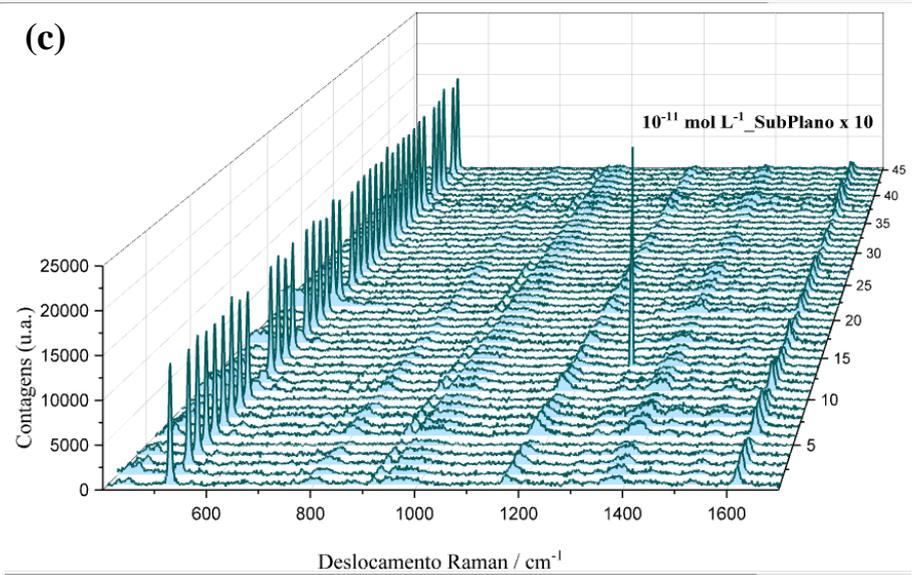
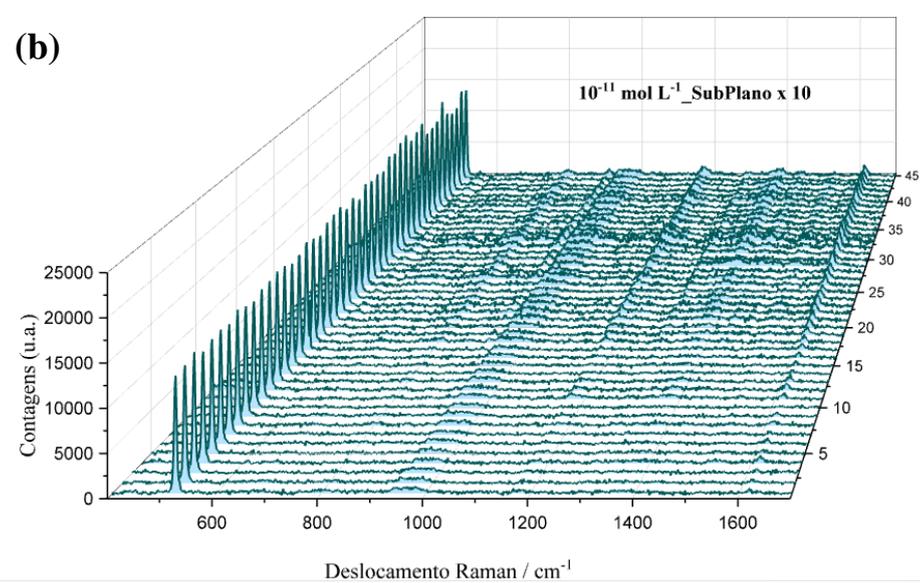
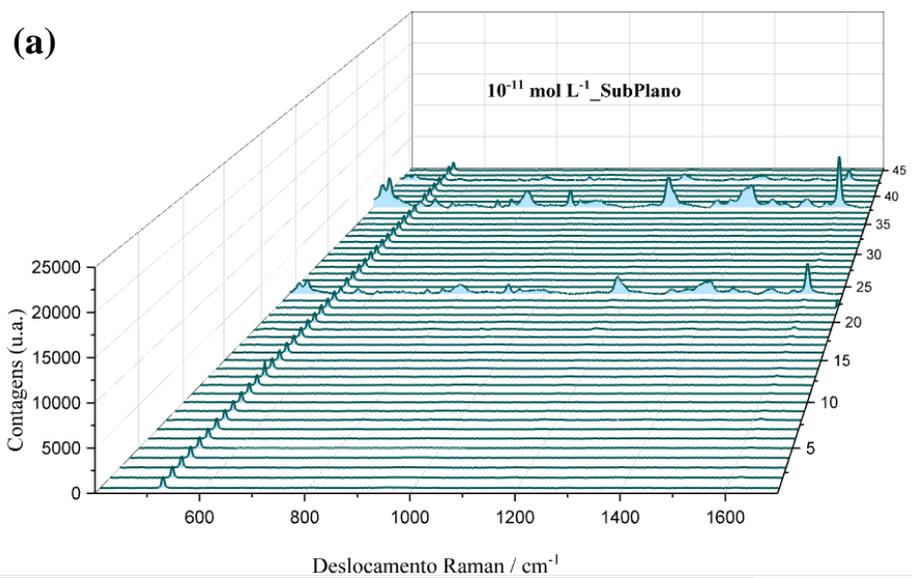


Figura A25. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-10} \text{ mol L}^{-1}$.



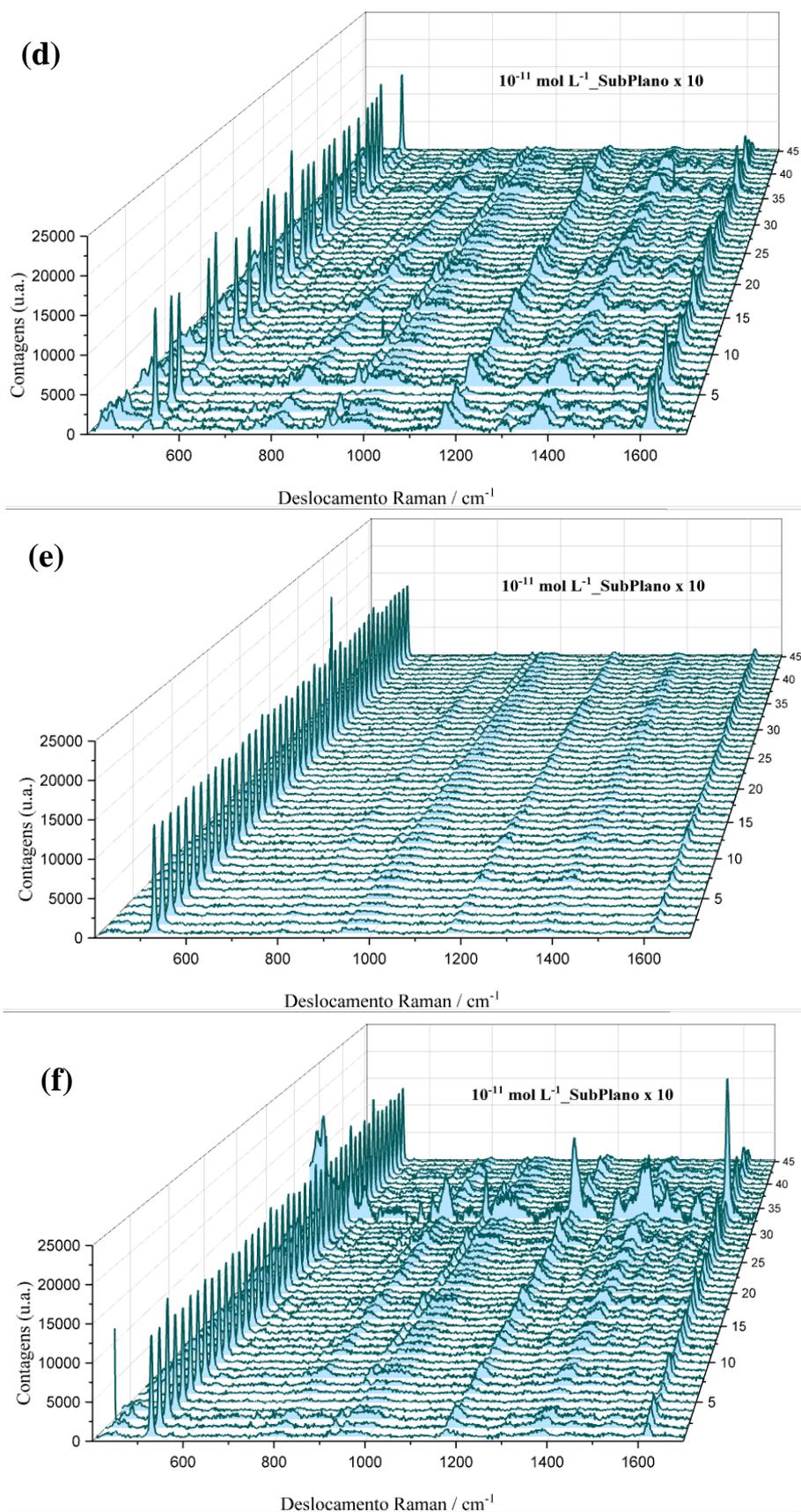
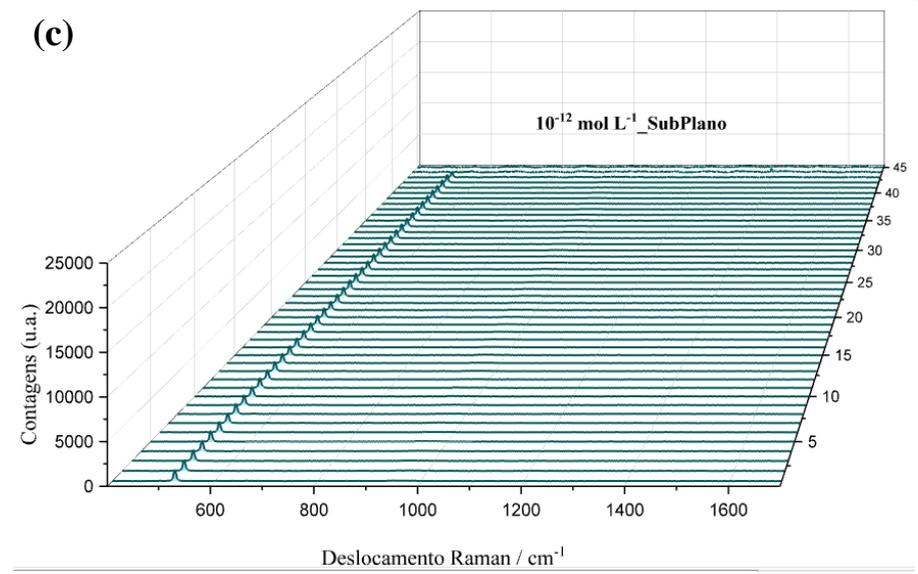
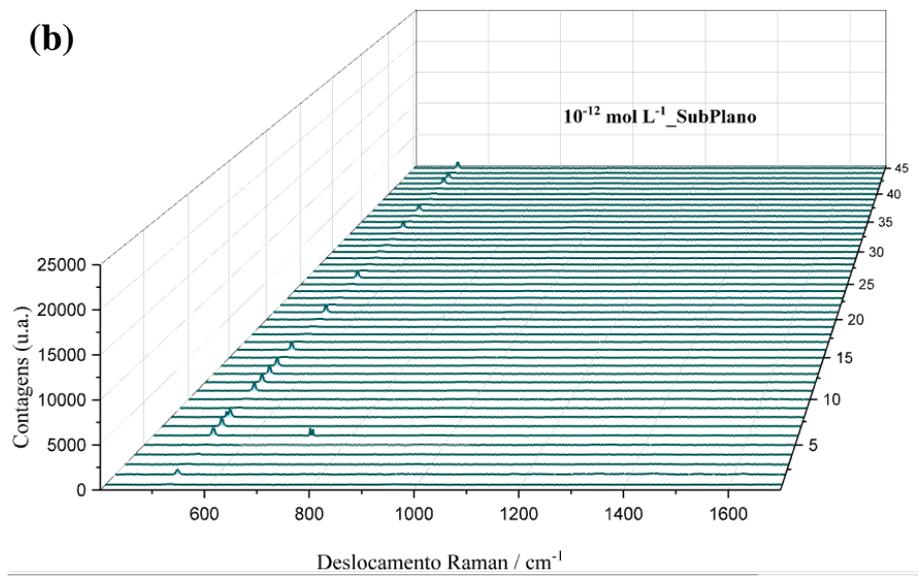
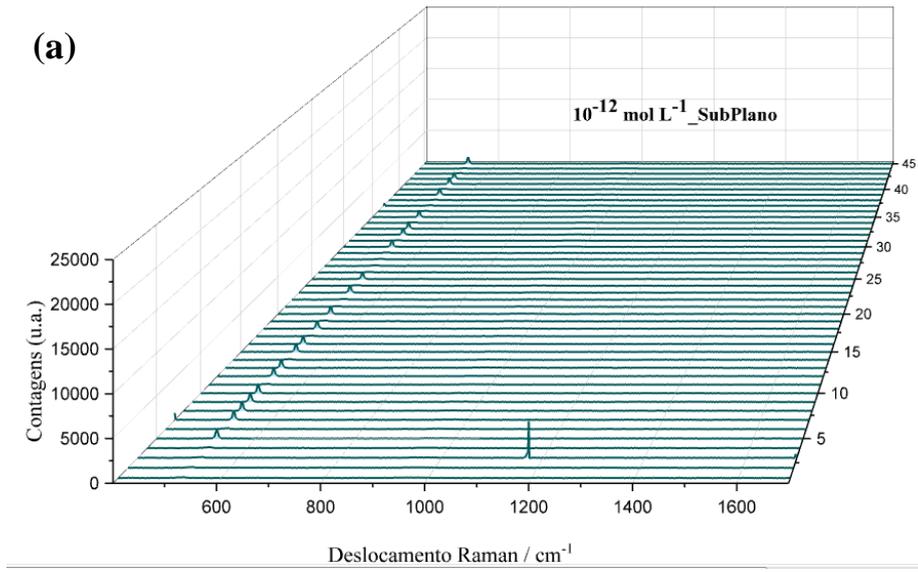


Figura A26. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-11} \text{ mol L}^{-1}$.



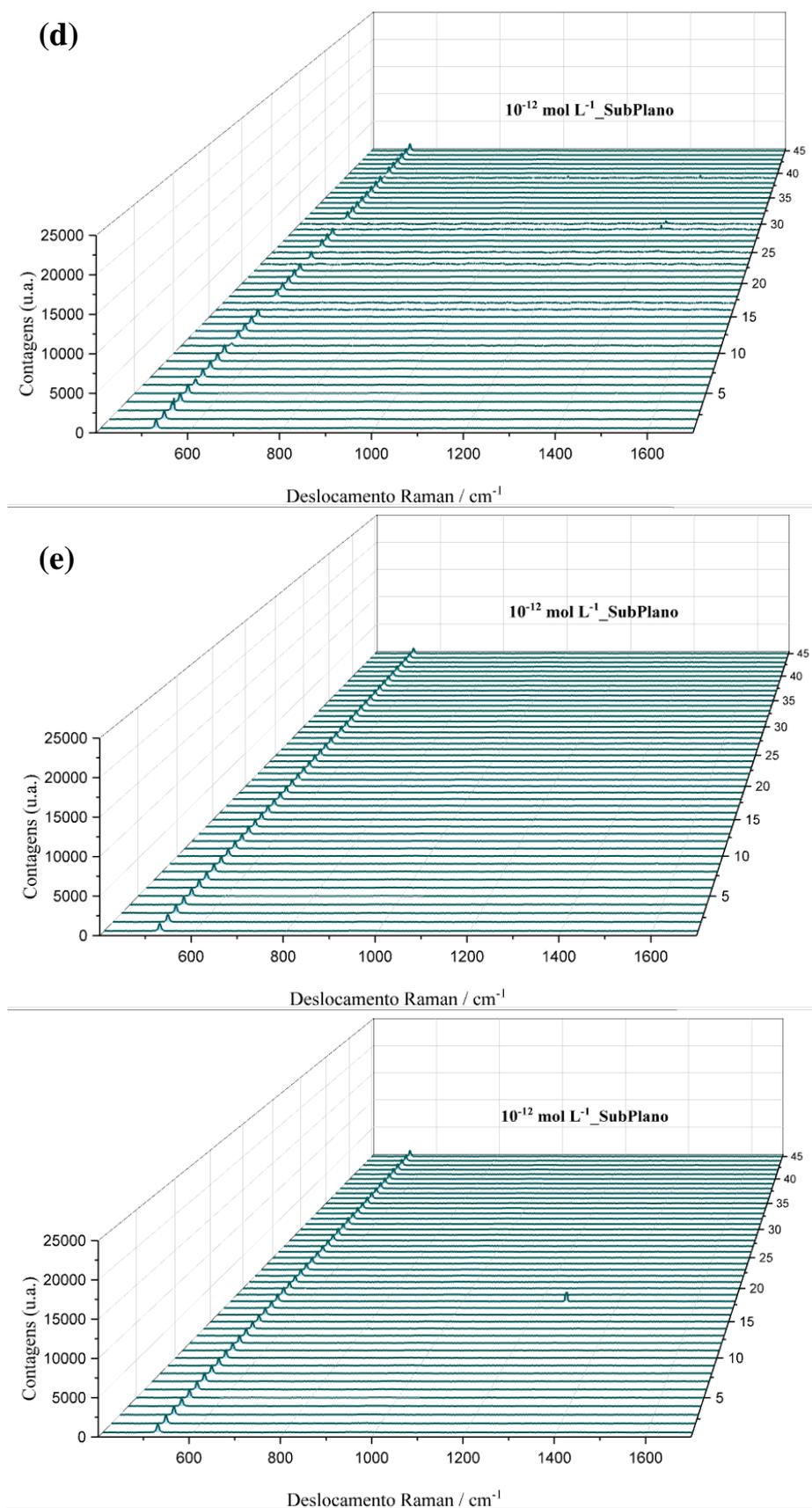


Figura A27. (a-f) Mapeamentos de espectros Raman obtidos para a mistura (AuNRs + Atrazina), na superfície do substrato de Si plano, na concentração $10^{-12} \text{ mol L}^{-1}$.

ANEXO I

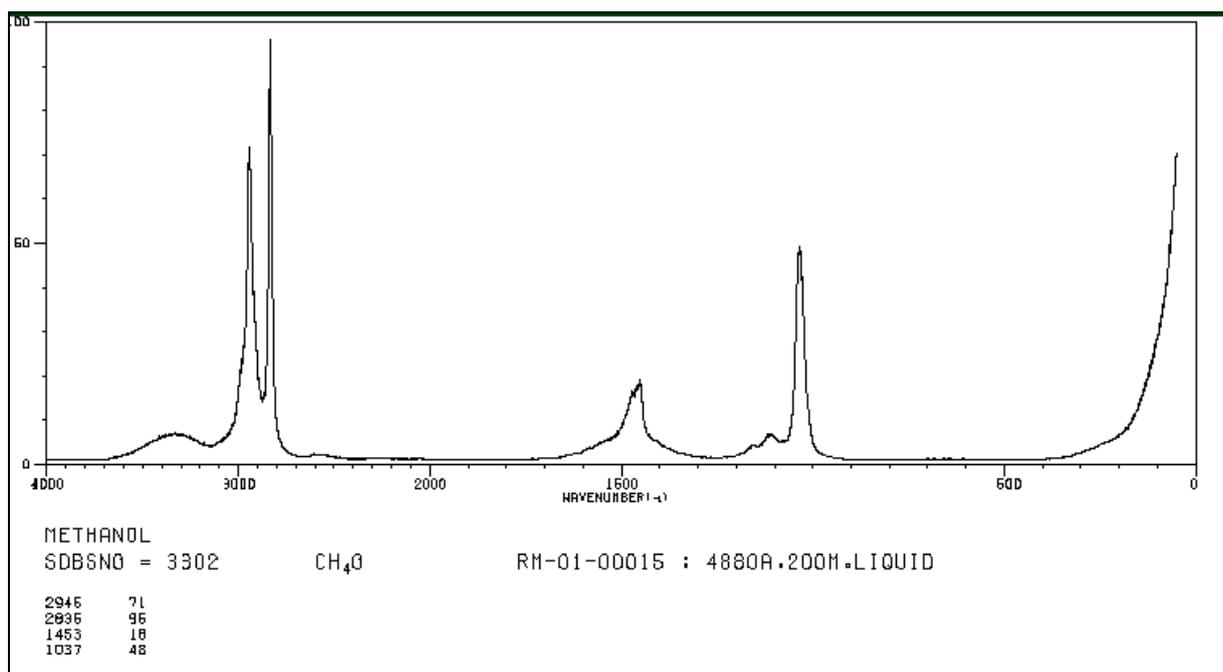


Figura 1. Espectro Raman do Metanol em fase líquida. Retirado do banco de dados: AIST:Spectral Database for Organic Compounds,SDBS