



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – CCEN
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

**SISTEMAS DUPLAMENTE AUTO-ORGANIZADOS DE NANOPARTÍCULAS DE
LÁTEX E PRATA PARA UTILIZAÇÃO EM SENSORES DO TIPO SERS**

Mônica Rodrigues de Sá
Tese de Doutorado

Recife -PE
2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA – CCEN
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DOS MATERIAIS

Mônica Rodrigues de Sá

**SISTEMAS DUPLAMENTE AUTO-ORGANIZADOS DE NANOPARTÍCULAS DE
LÁTEX E PRATA PARA UTILIZAÇÃO EM SENSORES DO TIPO SERS**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Ciência de Materiais da UFPE
como requisitos necessários para a obtenção do
título de doutora em Ciência de Materiais

Orientador: Prof. Dr. André Galembeck
Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Padrón Hernández

Recife -PE
2024

.Catalogação de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Sá, Mônica Rodrigues de.

Sistemas duplamente auto-organizados de nanopartículas de látex e prata para utilização em sensores do tipo SERS / Mônica Rodrigues de Sá. - Recife, 2024.

92f.: il.

Tese (Doutorado) Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Exatas e da Natureza - CCEN, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais, 2024.

Orientação: André Galembeck.

Coorientação: Eduardo Padrón Hernández.

1. SERS; 2. Nanopartículas de Látex; 3. Nanopartículas de prata; 4. Duplamente auto-organizados; 5. Sensores. I. Galembeck, André. II. Hernández, Eduardo Padrón. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Ata da defesa/apresentação do Trabalho de Conclusão de Curso de Doutorado do Programa de Pós-graduação em Ciência de Materiais - CCEN da Universidade Federal de Pernambuco, no dia 25 de setembro de 2024.

ATA Nº 155

Aos 25 (vinte e cinco) dias do mês de setembro de 2024, às 14 horas, no Programa de Pós-Graduação em Ciência de Materiais, em sessão restrita, teve início a Defesa de Tese intitulada Sistemas Duplamente Auto-Organizados de Nanopartículas de Látex e Prata para Utilização em Sensores do Tipo Sers. da estudante MÔNICA RODRIGUES DE SÁ, na área de concentração Materiais Não Metálicos, sob a orientação do Profo. ANDRÉ GALEMBECK. A doutoranda cumpriu todos os demais requisitos para a obtenção do grau de DOUTORA em Ciência de Materiais.

A Banca Examinadora foi indicada ad referendum do Colegiado do Programa de Pós-Graduação e composta pelos professores: ANDRÉ GALEMBECK, do Departamento de Química Fundamental da UFPE; CID BARTOLOMEU DE ARAÚJO, do Departamento de Física da UFPE; SEVERINO ALVES JÚNIOR, do Departamento de Química Fundamental da UFPE; ANDREAS STINGL, da Phornano Holding GmbH da Áustria e RAMÓN RAUDEL PEÑA GARCIA, da UFRPE. Após cumpridas as formalidades, a candidata foi convidada a discorrer sobre o conteúdo da Tese. Concluída a explanação, a candidata foi arguida pela Banca Examinadora que, em seguida, reuniu-se para deliberar e conceder à mesma a menção aprovada da referida Tese. E, para constar, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, Assistente em Administração da Pós-Graduação, e pelos membros da Banca Examinadora.

Dr. ANDREAS STINGL

Examinador Externo à Instituição

Dr. RAMÓN RAUDEL PEÑA GARCIA, UFRPE

Examinador Externo à Instituição

Dr. CID BARTOLOMEU DE ARAUJO, UFPE

Examinador Interno

Dr. SEVERINO ALVES JUNIOR, UFPE

Examinador Interno

Dr. ANDRE GALEMBECK, UFPE

Presidente

Dedicatória

Dedico este trabalho à Deus, meu Senhor e Salvador, cuja coragem e força me proporcionaram a determinação necessária para concluir este projeto com êxito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, cuja infinita bondade me protegeu, cuidou e guiou ao longo de toda a minha jornada. Sua presença foi essencial para a conclusão deste trabalho. Toda honra e toda glória a Ele.

Agradeço ao meu orientador, André Galembeck, pela orientação, pelas valiosas ideias, pela disponibilidade e pela paciência ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho. Expresso também minha gratidão ao meu co-orientador, Eduardo Padrón Hernández, por seu apoio, motivação e confiança em meu trabalho.

Agradeço ao meu noivo, Ronival Santos, por seu carinho, compreensão e apoio nos momentos mais difíceis. Seu amor e confiança têm tornado meus dias mais leves e me ajudado a superar desafios. Sem você, nada disso teria sido possível.

Agradeço aos meus pais, Maria das Graças e José Nilson, por terem me criado com tanto amor e dedicação, e por não medirem esforços para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos. Sou imensamente grato pelo suporte emocional e material que sempre me ofereceram.

Agradeço à minha irmã, Monalice, por ser um exemplo de força e coragem em minha vida e por seu constante apoio.

Agradeço aos meus amigos do CHICO Lucas, Heliana, Camilla, Yolice, Antônio, Bia, Nicheily, Ewellyn, Inna e Sidicléia por vivenciarem e compartilharem comigo esta jornada, sempre sendo prestativos e solícitos. Em especial, gostaria de expressar minha gratidão à Maria Clara, pelo seu companheirismo, carinho e apoio constante em todos os momentos, e por se tornar minha melhor amiga em Recife.

Agradeço a Daniel Ritcher pelo valioso apoio e pela generosa partilha de seu conhecimento em microscopia.

Agradeço aos meus amigos Simone e Dyego pelo apoio nas análises de Raman e microscopia. Aos meus amigos, Adriana, Cláudia e Janilson por trazerem alegria aos meus dias e por serem um auxílio durante meus momentos difíceis e Irlanne por compartilhar sempre a palavra de Deus.

Agradeço à minha avó Cecília e aos meus avós Alice e Lauro por sua ternura e amor. Seu carinho criou em mim lembranças e pensamentos leves e afetuosos.

RESUMO

A sensibilidade limitada e a dificuldade em obter um sinal reprodutível são dois dos principais desafios que impedem a aplicação prática dos substratos SERS. As nanopartículas de látex apresentam alta monodispersidade, uma característica crucial para a formação espontânea de macrocristais ordenados, que podem ser utilizados em aplicações ópticas. Essas partículas surgem como uma alternativa para a preparação de substratos auto-organizados mais estáveis para Espectroscopia Raman de Superfície Aprimorada (SERS). Arranjos nanostruturados são altamente valorizados para a preparação de substratos SERS devido à sua excelente estabilidade e reprodutibilidade do sinal. Neste estudo apresentamos uma nova abordagem para fabricar substratos SERS ativo a partir de nanofilmes de látex e prata duplamente auto-organizados, possuindo alta sensibilidade ao analito. O método de preparação dos substratos SERS utilizado é econômico, fácil de operar e boa reprodutibilidade, além de reduzir a quantidade de reagentes e amostras e ao tempo de processamento e detecção. Esse método não apenas é rápido e eficiente, mas também apresenta excelentes perspectivas de aplicação. Além disso, o substrato se destaca pela capacidade de utilizar diferentes fontes de lasers de excitação, o que pode potencialmente melhorar a detecção de analitos em traços. A distribuição das AgNPs e sua localização nas bordas das nanopartículas de látex ajudam a criar *hot spots* de campo eletromagnético altamente densos, aumentando a interação entre o analito e o substrato e, conseqüentemente, melhorando os sinais de detecção do analito adsorvido na superfície do substrato. O limite de detecção para R6G nos substratos SERS foi de 0,5 ppb, com um AEF de até 83000 vezes. Foi possível detectar melamina em concentrações de até 100 ppb, e os substratos demonstraram uma estabilidade de 90 dias. A uniformidade macroscópica dos substratos garantiu a reprodutibilidade dos sinais SERS, tornando-os candidatos ideais para aplicações SERS.

ABSTRACT

Limited sensitivity and the difficulty in obtaining a reproducible signal are two major challenges that hinder the practical application of SERS substrates. Latex nanoparticles exhibit high monodispersity, a crucial characteristic for the spontaneous formation of ordered macrocrystals, which can be used in optical applications. These particles emerge as an alternative for preparing more stable self-organized substrates for surface-enhanced Raman scattering (SERS). Nanostructured arrangements are highly valued for SERS substrate preparation due to their excellent stability and signal reproducibility. In this study, we present a new approach for manufacturing an active SERS substrate from doubly self-organized latex and silver nanofilms, which possess high sensitivity to the analyte. The method used for preparing the SERS substrates is cost-effective, easy to operate, and offers good reproducibility, while also reducing the amount of reagents and samples as well as processing and detection time. This method is not only fast and efficient but also presents excellent application prospects. Moreover, the substrate stands out for its ability to utilize different excitation laser sources, which can potentially enhance the detection of trace analytes. The distribution of AgNPs and their location at the edges of the latex nanoparticles help create highly dense electromagnetic field hotspots, increasing the interaction between the analyte and the substrate, and consequently improving the detection signals of the analyte adsorbed on the substrate surface. The detection limit for R6G on the SERS substrates was 0.5 ppb, with an Enhancement Factor (EF) of up to 83,000 times. Detection of melamine at concentrations of up to 100 ppb was achieved, and the substrates demonstrated stability for 90 days. The macroscopic uniformity of the substrates ensured the reproducibility of the SERS signals, making them ideal candidates for SERS applications.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática do modelo de nucleação de micelas	15
Figura 2 - Representação da oscilação do plasmon de superfície localizado de nanopartículas metálicas ao incidir radiação eletromagnética e oscilação da nuvem de elétrons	25
Figura 3 – Diagrama de energia ilustrando a banda de energia de nanoestruturas metálicas e os orbitais HOMO e LUMO das moléculas adsorvidas. Onde ϕ é a função trabalho do metal e IP é o potencial de ionização do adsorbato.	26
Figura 4 - Representação do <i>Hot spots</i>	28
Figura 5 - Método da superfície aquosa (SA)	32
Figura 6 - Método de auto-ordenamento espontâneo (AE)	33
Figura 7 - Método dip coating (DC).....	34
Figura 8 - Método de spin coating (SC)	34
Figura 9 - Deposição das nanopartículas de prata sobre os filmes auto-ordenados de nanopartículas de látex	35
Figura 10 -Micrografia eletrônica de varredura de PS(A) e P(S-HEMA)(B) em diferentes ampliações e histograma das nanopartículas de PS(C) e P(S-HEMA)(D).....	39
Figura 11 - Medidas de ângulo de contato de PS (A) e P(S-HEMA) (B)	45
Figura 12 - Espectros de Infravermelho do látex de PS e P(S-HEMA)	46
Figura 13 – Micrografias dos filmes de nanopartículas de látex obtidos por método da superfície aquosa (SA) (A), método de auto-ordenamento espontâneo (AE) (B) e método de dip coating (C).	47
Figura 14 - Filmes auto-ordenados de nanopartículas PS (A) e P(S-HEMA) (B) por spin coating	49
Figura 15 - Micrografias dos filmes de PS (A) e P(S-HEMA) (B) em três ampliações distintas.....	50
Figura 16 - Micrografia das partículas de PS (A) e P(S-HEMA) (B) mostrando o arranjo	55
Figura 17 -Micrografia por STEM das AgNPs	57
Figura 18 - nanopartículas de prata coloridas em diferentes morfologias e gráfico pizza identificando a porcentagem de cada morfologia referente a sua cor	57
Figura 19 - Distribuição do diâmetro de Ferret das nanopartículas	58
Figura 20 - Espectro de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs).....	59

Figura 21 - Imagens de MEV dos filmes duplamente auto-organizados de nanopartículas de látex e prata (A) AgNPs@PS (B) AgNPs@P(S-HEMA) adquiridas no modo de elétrons retroespalhados	61
Figura 22 - Espectros Raman da R6G sobre o substrato SERS Ag@PS, Ag@P(S-HEMA) e R6G em pó sem substrato SERS	62
Figura 23 - Espectros Raman adquiridos em dez pontos aleatórios diferentes do (A) substrato Ag@P(S-HEMA) (B) substrato Ag@PS (C) e (D) Intensidades das bandas a 750 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} e 1500 cm^{-1}	68
Figura 24 - Espectros Raman adquiridos em dez pontos aleatórios diferentes do (A) substrato Ag@P(S-HEMA) (B) substrato Ag@PS (C) e (D) Intensidades das bandas a 750 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} e 1500 cm^{-1}	70
Figura 25 - Espectros Raman relativos à estabilidade dos substratos SERS em 0, 30, 60 e 90 dias.....	74
Figura 26 - Espectros Raman da melamina sobre o substrato SERS de Ag@P(S-HEMA), Ag@PS e melamina em pó sem substrato SERS	75
Figura 27 - Espectros Raman da melamina sobre os substratos SERS (A) AgNPs@PS (B) AgNPs@P(S-HEMA) em 785 nm e (C) AgNPs@PS (D) AgNPs@P(S-HEMA) em 532 nm	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Preparação do látex de PS.....	31
Tabela 2 – Preparação do látex de P(S-HEMA).....	31
Tabela 3 – Valores obtidos para tamanho de partículas e dados do rendimento reacional: R = rendimento; TS = Teor de sólidos	43
Tabela 4 – Principais atribuições dos espectros de infravermelho obtidos para os látex de PS e P(S-HEMA) em comparação com a literatura.....	46
Tabela 5 – Morfologias das AgNPs e seus respectivos diâmetros máximos e mínimos.....	58
Tabela 6 – Principais atribuições dos modos vibracionais dos espectros Raman da R6G	64
Tabela 7 - Valores de RSD das bandas de 750, 1350 e 1500 cm^{-1} para Ag@PS e Ag@P(S-HEMA) adquiridos de espectros Raman de dez pontos aleatórios dos substratos SERS.....	69
Tabela 8 – Valores de RSD referentes à faixa de 1500 cm^{-1} dos substratos obtidos neste trabalho e substratos reportados conforme literatura.....	69
Tabela 9 – Comparação entre os comprimentos de onda e os resultados obtidos para diferentes sistemas de substratos SERS	72
Tabela 10 - Valores de RSD para substratos Ag@PS e Ag@P(S-HEMA) relacionados ao teste de envelhecimento aos 30, 60 e 90 dias.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

St – Estireno

PS – Poliestireno

HEMA – 2-hidroxi-etil-metacrilato

P(S-HEMA) – Poli(estireno-co-2-hidroxi-etil-metacrilato)

PZ – Potencial Zeta

DLS – Espalhamento dinâmico de Luz

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

STEM – Microscopia eletrônica de transmissão por varredura

IV – Espectroscopia no infravermelho

R6G – Rodamina 6G

AgNPs – Nanopartículas de prata

SERS – Espectroscopia Raman de Superfície Aprimorada

SUMÁRIO

Dedicatória.....	7
AGRADECIMENTOS	8
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
LISTA DE FIGURAS.....	11
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE ABREVIATURAS	14
1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo Geral.....	7
2.2 Objetivos específicos	7
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	8
3.1 Látex	8
3.1.1 Polimerização Radicalar	9
Iniciadores.....	9
Mecanismo polimerização	10
3.2 Mecanismo de formação de partículas.....	13
3.2.1 Polimerização em emulsão	14
3.2.2 Polimerização livre de surfactante	15
3.2.3 Látex de PS e P(S-HEMA)	16
3.3 Auto-organização das nanopartículas de látex.....	19
3.4 Ressonância plasmônica	20
3.5 Efeito SERS	21
3.5.1 Modelo eletromagnético	24
3.5.2 Modelo químico	26

3.6	<i>Hot Spots</i>	28
4	PARTE EXPERIMENTAL	30
4.1.1	Preparação de látex de PS e P(S-HEMA)	31
4.1.2	Preparação substratos SERS auto-organizados.....	32
4.1.2.1	<i>Preparação dos filmes de látex auto-organizados</i>	32
4.1.3	Adição das nanopartículas de prata (AgNPs) sobre os filmes auto-organizados de látex	35
4.2	TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO	35
4.2.1	Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Microscopia eletrônica de transmissão por varredura (STEM).....	36
4.2.2	Espectroscopia na região do infravermelho.....	36
4.2.3	Espectroscopia Raman	36
4.2.4	Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis.....	37
4.2.5	Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta (PZ).....	37
4.2.6	Medida de ângulo de contato	37
4.2.7	Cálculo do Rendimento.....	38
4.2.8	Diâmetro de Ferret	38
4.2.9	Investigação do efeito SERS para detecção de analito	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	Caracterização das nanopartículas de látex de PS e P(S-HEMA)	39
5.1.1	Espalhamento Dinâmico de Luz	42
5.1.2	Potencial Zeta (PZ)	43
5.1.3	Medida de ângulo de contato	44
5.1.4	Espectroscopia na região do Infravermelho.....	45
5.2	Preparação dos filmes de látex de PS e P(S-HEMA)	47
5.2.1	Filmes de látex auto-ordenados por spin coating.....	48
5.2.2	Microscopia eletrônica de varredura.....	50

5.3	Adição de nanopartículas de prata (AgNPs) sobre os filmes.....	55
5.3.1	Potencial Zeta.....	55
5.3.2	Microscopia Eletrônica de Transmissão por Varredura (STEM)	56
5.3.3	Espectroscopia de Absorção UV-Vis.....	59
5.3.4	Filmes de látex/AgNPs duplamente auto-organizados - Microscopia Eletrônica de Varredura por Elétrons Retroespalhado	60
5.3.5	Aplicação e teste dos filmes auto-organizados de nanopartículas de látex para utilização em sensor do tipo SERS	62
5.3.5.1	Teste com analito padrão rodamina 6G (R6G)	62
5.3.6	Teste preliminar com analito (Melamina).....	74
6.	CONCLUSÃO	78
7.	PERSPECTIVAS	78
	REFERENCIAS.....	80

1. INTRODUÇÃO

O efeito de Espectroscopia Raman de Superfície Aprimorada (SERS) ocorre quando moléculas interagem com a superfície de nanoestruturas metálicas, e o comprimento de onda da luz incidente corresponde à faixa de ressonância de plasmon superficial localizado (LSPR) das nanoestruturas. Esse fenômeno resulta em um aumento significativo da intensidade da dispersão Raman, podendo atingir até milhares de vezes, o que permite a detecção de moléculas em concentrações extremamente baixas (SINGH, *et al.* 2002).

A intensidade dos sinais SERS é influenciada pela intensidade dos *hot spots* no campo próximo do substrato e pela distância entre o analito e a superfície metálica. Esses *hot spots* tendem a se concentrar em lacunas, fendas ou características agudas de materiais plasmônicos compostos por nanopartículas metálicas como ouro, prata e cobre, que são os substratos SERS mais comuns (FARCAU, *et al.* 2010). Além disso, os substratos SERS podem incluir nanomateriais metálicos em dispersão coloidal ou imobilizados em substratos sólidos e filmes metálicos nanoestruturados (PANIKAR, *et al.* 2018).

Estudos mostram que a intensidade do sinal Raman pode ser amplificada em até 10^{12} vezes, possibilitando a detecção de traços de produtos químicos como pesticidas (ZHANG *et al.* 2013), contaminantes alimentares (XIAO, *et al.* 2019), produtos farmacêuticos e biomoléculas (YAN, *et al.* 2020). Desde sua descoberta, o efeito SERS tem sido amplamente investigado e aplicado para detecção química e biológica. No entanto, desafios significativos como sensibilidade limitada, vida útil e dificuldade em obter sinais reprodutíveis ainda impedem a aplicação mais extensa dos substratos SERS em contextos comerciais (MOSKOVITS, *et al.* 2023).

A sensibilidade do SERS depende do comprimento de onda da ressonância de plasmon superficial localizado (LSPR), da densidade de *hot spots* e da forma, morfologia e composição da nanoestrutura SERS. Resultados experimentais e teóricos demonstram que o fator de ampliação do sinal SERS aumenta significativamente quando o comprimento de onda LSPR é ajustado para coincidir com o comprimento de onda de excitação e o comprimento de onda de vibração Raman do analito, já que a resposta do analito varia com o comprimento de onda de excitação; portanto, o comprimento de onda LSPR deve ser ajustável para maximizar a sensibilidade (YADAV, *et al.* 2023) (ROY, *et al.* 2017).

Nanopartículas de prata (AgNPs) foram amplamente estudadas para aplicações SERS, permitindo, por exemplo, a detecção de resíduos de pesticidas em vegetais com limites de

detecção de até 1,26 ppb (MAYER, *et al.* 2023). Nanopartículas de látex também foram utilizadas para preparar substratos SERS, com o objetivo de melhorar a reprodutibilidade e aumentar a atividade SERS, já que permitem propriedades plasmônicas ajustáveis. Elas também ajudam na melhor deposição de nanopartículas plasmônicas, pois a ampliação do sinal de uma única partícula isolada é relativamente limitada e substratos fabricados com nanopartículas isoladas exibem baixa reprodutibilidade (XUDONG, *et al.* 2004). Microsfersas de látex também podem provocar um efeito de ampliação óptica, gerando um feixe de luz altamente focalizado sob a ação do laser. Isso significa que essas microsfersas podem concentrar a luz do feixe em uma área muito pequena, permitindo uma interação mais eficiente com estruturas em escala nanométrica (JUNFAN, *et al.* 2020).

Foi desenvolvido um substrato utilizando nanopartículas de poliestireno (PS) para criar plataformas SERS ultrassensíveis, empregando uma técnica de auto-montagem camada por camada para formar um filme contendo AgNPs e ouro sobre nanopartículas de PS, resultando em um substrato do tipo MFON (um sistema metálico aliado a um tipo de polímero). A eficiência do substrato foi testada com um Raman portátil usando amostras de suco de uva, mostrando uma intensidade 25 vezes maior e boa reprodutibilidade (LI, *et al.* 2022).

Outro substrato SERS foi desenvolvido a partir de um filme fino de prata depositado em esferas de poliestireno por pulverização catódica a vácuo para detectar melamina em solução de leite em pó para formulação infantil. Os resultados demonstraram boa capacidade de amplificação do sinal e estabilidade, com uma linearidade de 0,9926 quando a concentração de melamina na solução aumentou de 2 para 25 mg/L (XIAO, *et al.* 2019).

Além disso, foi produzido um substrato SERS com arranjos de micro-tigelas montadas em AgNPs para a detecção de resíduos de pesticidas. O arranjo de AgNPs foi preparado por eletrodeposição em um filme poroso revestido de ouro e um molde monocamada de esferas de PS. Esse substrato mostrou alta sensibilidade na detecção de thiram e metil paration em vegetais (ZHU, *et al.* 2020), com o molde de nanopartículas de PS contribuindo para uma melhor deposição de AgNPs e um aumento no número de *hot spots*.

Apesar dos avanços significativos na preparação de sensores SERS, ainda existem desafios consideráveis para sua aplicação, especialmente em contextos comerciais. Embora os substratos SERS possam detectar moléculas em baixas concentrações, a sensibilidade pode variar dependendo do analito e das condições experimentais. Alguns analitos podem não interagir de maneira eficaz com o substrato, resultando em sinais fracos. Além disso, a eficiência desses substratos pode ser influenciada pelo comprimento de onda de luz utilizada,

tornando a adaptação dos substratos para diferentes fontes de laser um processo complexo que exige ajustes precisos. Além disso, a tecnologia envolvida na fabricação desses substratos pode ser cara e dispendiosa.

O presente trabalho busca superar as limitações encontradas em substratos SERS desenvolvidos anteriormente, incluindo aqueles já utilizados comercialmente, especialmente em relação à reprodutibilidade, sensibilidade e custos elevados das tecnologias envolvidas. A automontagem tem se mostrado uma estratégia promissora, simples e eficaz para a construção de substratos ativos. Neste estudo propõe-se um substrato SERS com uma estrutura auto-organizável formado por nanopartículas de látex e prata, utilizando um método de preparação inovador baseado em auto-organização dupla. Este substrato oferece a vantagem de ser compatível com diversas fontes de laser de excitação, graças às diferentes morfologias das AgNPs empregadas que cobrem uma ampla faixa de absorção. Além disso, é capaz de detectar uma vasta gama de analitos com alta sensibilidade, possibilitando a detecção de analitos em concentrações extremamente baixas.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo principal a preparação de um substrato SERS duplamente auto-organizado, composto por nanopartículas de látex e prata para detecção ultrasensível de uma ampla gama de analitos. Além disso, o substrato é projetado para ser compatível com diferentes fontes de laser de excitação.

2.2 Objetivos específicos

- (i) Síntese de nanopartículas de látex de poliestireno (PS) e poli(estireno-co-2-hidróxi-etil-metacrilato) (P(S-HEMA)) por polimerização em emulsão livre de surfactante;
- (ii) Preparação de filmes auto-organizados de látex de PS e P(S-HEMA);
- (iii) Síntese de nanopartículas de prata (AgNPs) com variadas distribuições de tamanhos e diferentes morfologias;

- (iv) Utilização de nanopartículas de prata (AgNPs) para montagem do dispositivo do tipo SERS;
- (v) Investigação dos efeitos de intensificação do sinal por espectroscopia Raman;
- (vi) Aplicação do dispositivo SERS usando analito padrão e amostra comercial.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Látex

Um látex é uma dispersão coloidal estável de partículas de um polímero em meio aquoso com diâmetro na faixa de 10 nm a 1000 nm. Sua coloração é branca, e o grau de opacidade que está associado ao tamanho e concentração das partículas (BLACKLEY, *et al.* 2012).

O látex apresenta duas vias de origem, a natural e a sintética. O látex natural é originado da seiva leitosa de certas espécies de plantas, no qual a principal fonte comercial é a seringueira (*Hevea brasiliensis*) e possui partículas de borracha natural suspensas em meio líquido. Já o sintético é obtido por meio da polimerização radicalar em emulsão de vários monômeros, através da agregação simultânea das cadeias poliméricas (TRUSCOTT, *et al.* 1995). Um iniciador é utilizado e é ativado pela presença de luz ultravioleta ou sob determinadas temperaturas, dessa forma radicais livres são gerados dando início a formação da cadeia polimérica (HEARN, *et al.* 1981).

A polimerização em emulsão ocorre em água com ou sem a presença de surfactante e, na maior parte dos casos se usa polimerização radicalar. Os sistemas podem ser classificados como homopolímeros, quando há existência de apenas um tipo de monômero e em copolímeros quando há dois monômeros diferentes no meio. Em sistemas mais complexos envolvendo a síntese dos copolímeros, a ocorrência de heterogeneidade do látex está associada principalmente à natureza dos reagentes, tais como: solubilidade e reatividade (CHERN, *et al.* 2006).

A polimerização em emulsão é utilizada na indústria para a fabricação de uma grande variedade de polímeros e envolve um sistema que necessita de compreensão do mecanismo e conhecimento da cinética da síntese e dos procedimentos operacionais do reator, facilitando um melhor controle de propriedades físico-químicas e morfológicas do látex, que estão relacionadas a distribuição e tamanho da partícula, densidade de carga superficial, tipos de

grupos funcionais na superfície da partícula, conformação hidrofóbica polimérica, propriedades óticas e reológicas (KRIEGER, *et al.* 1976).

Todas essas características contribuem significativamente nas propriedades e aplicação final dos produtos, visto que a utilização do látex é de grande importância para a economia mundial, pois este é matéria prima para fabricação de uma ampla variedade de produtos industriais, como plásticos, borrachas, fibras, revestimentos, tintas e outros (XIONG, *et al.* 2002). Além disso, o uso da água como solvente durante a síntese diminui os efeitos prejudiciais dos solventes orgânicos e ainda resulta em um produto promissor para diversas aplicações tecnológicas, como por exemplo, os sensores (ZOSEL, *et al.* 1995) (TURAN, *et al.* 2021).

3.1.1 Polimerização Radicalar

A polimerização radicalar é designada como um processo reativo que ocorre em cadeia, na qual é caracterizada pela existência de três etapas bem definidas, *iniciação*, *propagação* e *terminação* que apresentam velocidades e mecanismos diferentes.

Na etapa de iniciação ocorre a quebra de uma ligação covalente (cisão homolítica equação 1), mediante a presença de um iniciador que é ativado pela presença de luz ultravioleta ou sob determinadas temperaturas, dessa forma radicais livres são gerados dando início a formação da cadeia polimérica (HEARN, *et al.* 1981).

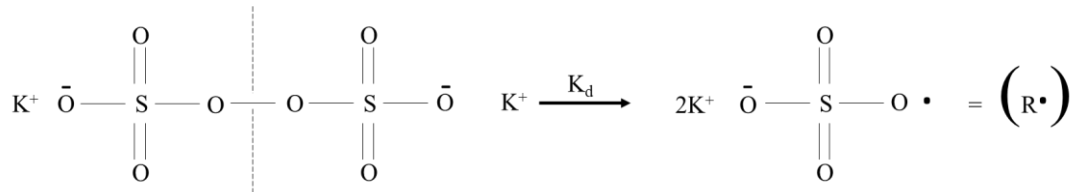
Iniciadores

O uso do iniciador numa reação de polimerização tem o intuito de formar radicais livres, por meio da cisão homolítica ou heterolítica que as moléculas sofrem, e estes são responsáveis pela etapa de iniciação da polimerização radicalar (LOVELL, *et al.* 2020).

Quando aquecido acima de uma temperatura característica o iniciador térmico e alvo deste estudo, forma dois ou mais radicais livres que interagem com o monômero, contribuindo para formação de novas moléculas de monômero à cadeia polimérica.

O persulfato de potássio (KPS) (equação 1) é termicamente instável e é considerado um dos iniciadores hidrossolúveis mais comumente utilizado em reação de polimerização. Ele sofre ionização e decomposição térmica em torno de 50 °C, gerando radicais livres (íons SO_4^-) que atua atacando a dupla ligação do monômero e originando a cadeia polimérica. Para este estudo

foi empregado o KPS seguindo a decomposição térmica proposta por Kolthoff (1946), conforme mecanismo abaixo:



A constante cinética de decomposição do persulfato (Equação 1) e a velocidade de decomposição são sensíveis à temperatura, no qual são determinados pelos parâmetros de Arrhenius, como destacado a seguir:

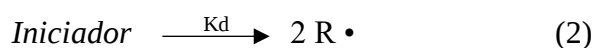
$$k_d(s^{-1}) = 1,23 \times 10^{17} e^{\frac{-142,8(KJ.mol^{-1})}{RT}} \quad (1)$$

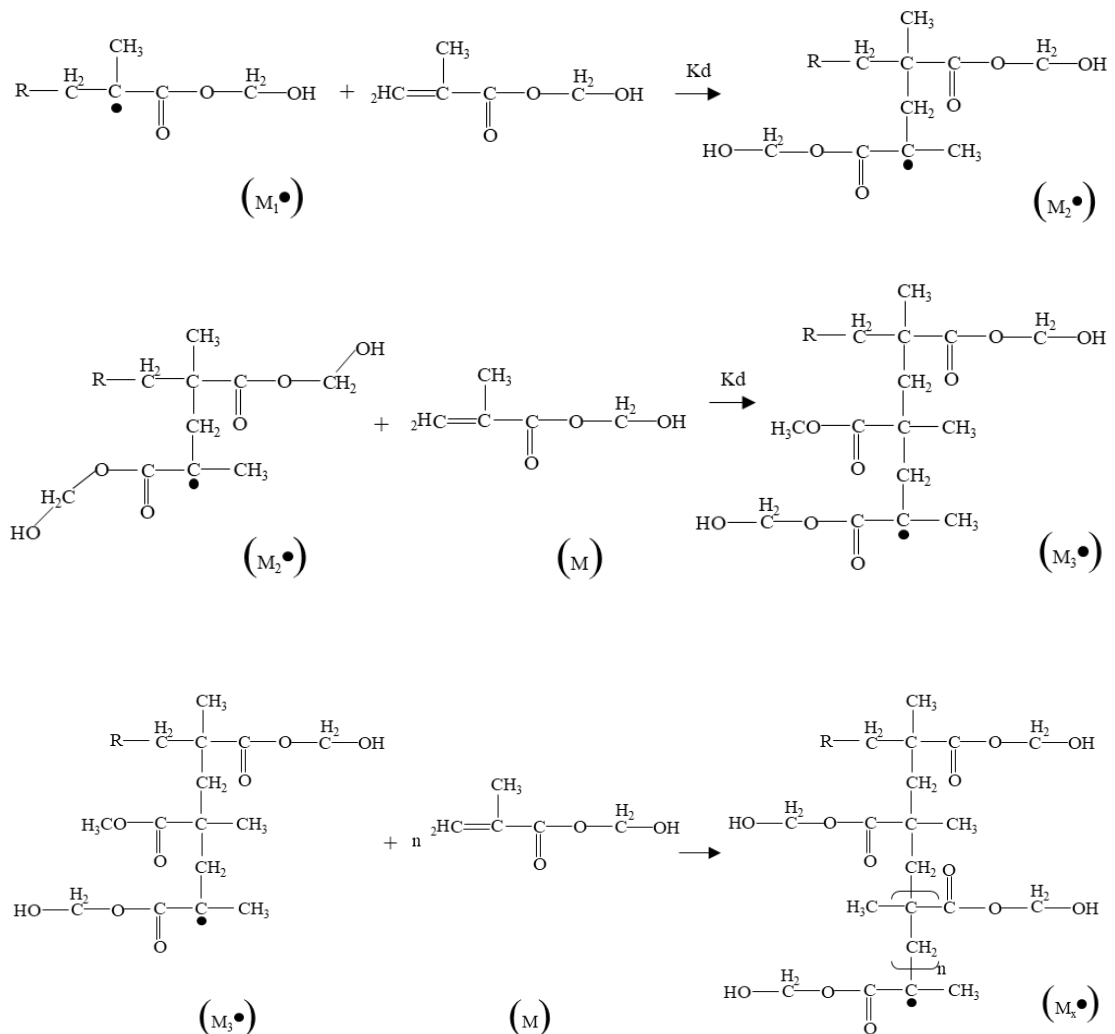
Mecanismo polimerização

O mecanismo de reação inicia-se pela decomposição do iniciador originando duas espécies radicalares ($R\cdot$) que, em seguida, reagem com monômero (M) formando um novo radical ($M_1\cdot$) (equação 2-3). E, para que a polimerização aconteça, o monômero deve ter um grupo funcional que permita a formação de radicais livres, o que é essencial para iniciar a reação.

Assim, é possível apontar o mecanismo de polimerização radicalar do P(S-HEMA), onde o grupo funcional relevante para a polimerização do estireno é a dupla ligação carbono-carbono ($C=C$). O P(S-HEMA) é um dos polímeros estudados neste trabalho e seu mecanismo de polimerização pode ser descritos a seguir:

PROCESSO DE INICIAÇÃO

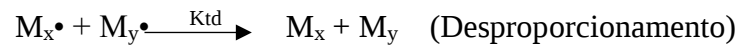
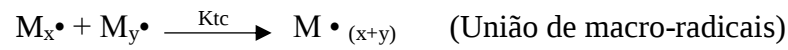




PROCESSO DE TERMINAÇÃO

A terminação ocorre quando dois radicais se encontram e reagem entre si, interrompendo o crescimento das duas cadeias e formando uma ou mais moléculas de polímero, isto pode acontecer principalmente de duas formas diferentes: quando há a combinação entre duas cadeias em propagação com radicais ativos, onde os dois carbonos ativos estão próximos o suficiente para a formação de uma ligação covalente simples C-C entre eles (união de macro-radicaís) ou quando houver transferência intermolecular de hidrogênio do carbono cauda mero localizado na ponta ativada de uma cadeia radial para o carbono cabeça do mero encontrado na ponta ativada de outra cadeia radial (desproporcionamento).

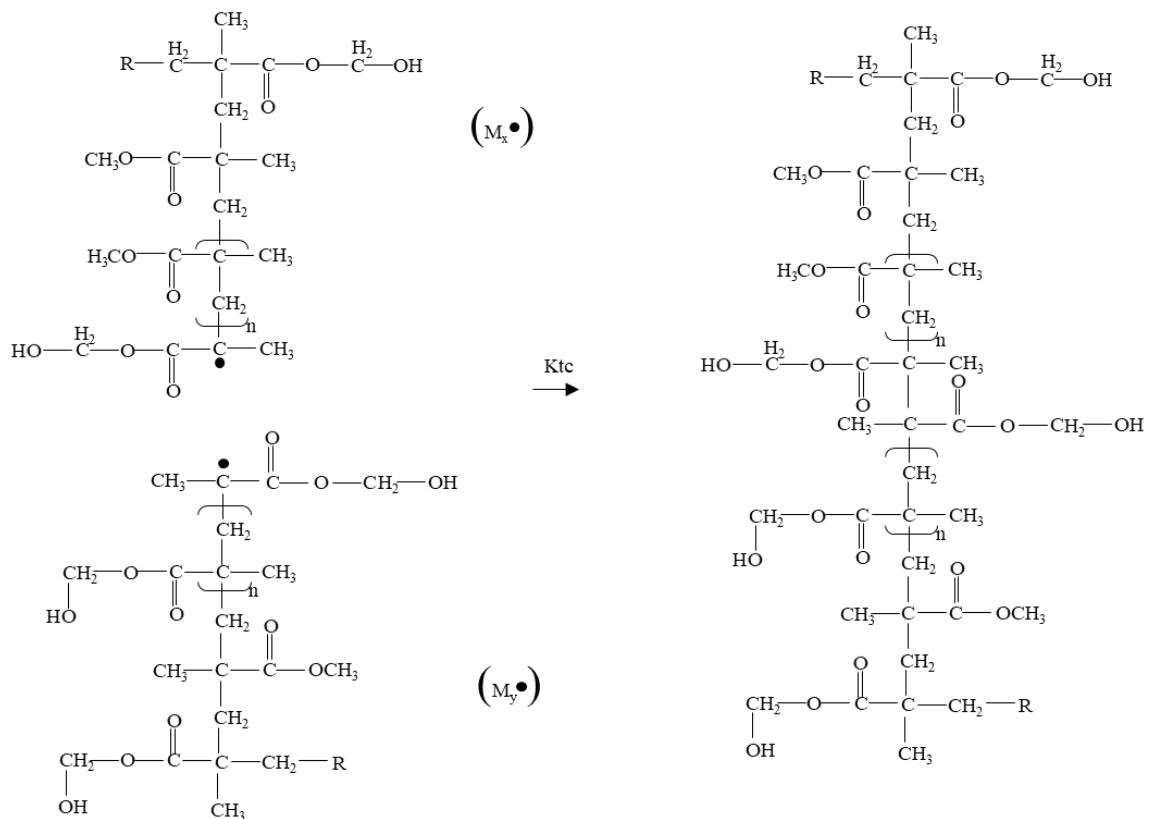
TERMINAÇÃO



Onde K_{tc} e K_{td} são as constantes de velocidade das reações.

TERMINAÇÃO P(S-HEMA)

União de Macro-Radicais



3.2 Mecanismo de formação de partículas

3.2.1 Polimerização em emulsão

A polimerização em emulsão é caracterizada como um processo em que monômeros são transformados em polímeros dentro de pequenas gotas de monômero dispersas em fase aquosa. O método proposto por Harking para polimerização em emulsão pode ser caracterizado por ocorrer em meio heterogêneo, na maioria das vezes, composto por água como agente de dispersão, além de monômero, emulsificante e iniciador. No qual a polimerização ocorre por meio dos radicais livres provenientes do iniciador, formando um polímero como partículas dispersas em meio aquoso. Esse processo utiliza emulsificantes ou surfactantes, para criar e estabilizar as essas gotas. (ASLAMAZOVA, *et al.* 1995).

Ao iniciar a agitação do sistema, o emulsificante ou surfactante, permite a emulsão das partículas dispersas no meio aquoso contínuo, atuando como estabilizante das gotas do monômero e/ ou partículas de polímero (FUKUDA, *et al.* 1992).

Quando a sua concentração está acima da concentração micelar crítica, CMC, as moléculas de emulsificante originam agregados chamados micelas e nelas contém centenas de moléculas de emulsificante, onde os grupos hidrofílicos com suas extremidades polares são voltados para a fase aquosa e os grupos hidrofóbicos da cadeia são orientados para o interior. Para explicar esse processo há um modelo proposto que dividiu a reação em três estágios (Figura 1) (CHERN, *et al.* 2006).

O iniciador que normalmente é solúvel em água se decompõe logo que é adicionado ao sistema, formando radicais livres a uma velocidade que é influenciada pela natureza química e condições do meio. Os radicais livres gerados entram nas micelas para formar as partículas, esta formação de partículas caracteriza o Estágio I, onde há o aumento do número de partículas e da taxa de reação. Ao longo da reação há o crescimento das partículas e a necessidade de uma maior quantidade de emulsificante para estabilizá-las até que ocorra o esgotamento das micelas, caracterizando o final do Estágio I e início do Estágio II (CHERN, *et al.* 2006).

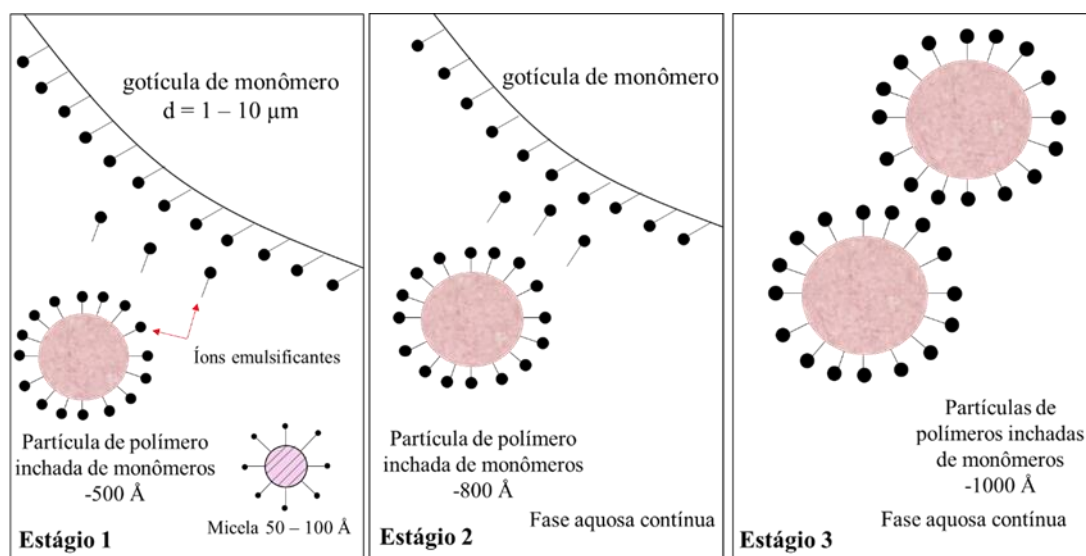
No Estágio II há o período de crescimento das partículas mediante a propagação. Neste caso, a concentração de monômero nas partículas poliméricas encontra-se constante, visto que o monômero começa a migrar das gotas e vai sendo absorvido pelas partículas. Devido a concentração do monômero permanecer constante e não haver alteração do número de partículas, a taxa de polimerização mantém-se constante.

No último estágio (Estágio III) as gotas de monômero desaparecem e a reação continua até que haja o consumo completo do monômero existente nas partículas de polímero. A medida

em que a reação prossegue há uma diminuição da concentração de monômeros nas partículas e a taxa de reação tende a cair (CHERN, *et al.* 2006).

A polimerização em emulsão é um processo que vem sendo amplamente utilizado em uma grande diversidade industrial, principalmente para a produção de látex sintético. São produzidos milhões de toneladas de látex sintéticos poliméricos para as mais variadas aplicações, tais como: borrachas sintéticas, aditivos para materiais de construção, tintas, sistema de liberação de fármacos, testes diagnósticos, imunoenaios e etc (KIM, *et al.* 2010).

Figura 1- Representação esquemática do modelo de nucleação de micelas



FONTE: Adaptado de KIPARISSIDES, *et al.* (1996)

3.2.2 Polimerização livre de surfactante

A presença de surfactante é uma desvantagem para algumas aplicações, como as que envolvem instrumentos de calibração e determinação de tamanho de poros. Uma vantagem da polimerização livre de surfactante é a obtenção de materiais poliméricos com ótima resistência à água e boa propriedade adesiva. Em sistemas tradicionais de polimerização em emulsão, os surfactantes (ou tensoativos) são usados para estabilizar as gotas de monômero na fase aquosa, formando uma emulsão. Sem surfactantes, é necessário encontrar outras maneiras de estabilizar essas gotas ou criar uma emulsão.

O mecanismo denominado agregação nuclear ou nucleação homogênea, foi proposto por Tauer e colaboradores (1999) onde este propõe um mecanismo usando o monômero estireno (St) com iniciador KPS. Neste caso, a solubilidade do estireno (St) aumenta com a adição dos

grupos polares de sulfato oriundos do iniciador e posteriormente diminui com o crescimento da cadeia, esta continua a se propagar se tornando um radical oligomérico livre e não solúvel. Porém, a polimerização continua e a cadeia vai aumentando devido a presença do monômero adicionado naquele meio.

Diante disso, monômeros e oligômeros de cadeia curta, poderão ser agregados aos radicais oligoméricos de cadeia longa, formando pequenos núcleos de partículas, que sendo coloides estáveis poderão se agregar de forma a se repetir o processo até a formação de partículas maiores e vão se expandido à medida que radicais livres e monômeros encontram-se disponíveis. Esse processo permite o crescimento das partículas através da difusão dos monômeros dos reservatórios, ou seja, gotas de monômero. A nucleação termina quando um número suficiente de partículas de látex é originado, podendo absorver todas as espécies oligoméricas e as partículas precursoras primárias. Isto permite a formação de uma molécula anfifílica que apresenta propriedades semelhantes à dos emulsificantes e apontam um grau de polimerização crítico capaz de promover sua precipitação (TOCHIGI, *et al.* 2002).

O crescimento das partículas ao longo do processo de polimerização livre de surfactante também foi estudado por Tanrisever e colaboradores (1996) que identificaram que um ou mais radicais livres $\bullet\text{SO}_4^-$ participam da etapa de iniciação da polimerização onde, no mínimo um deles está ligado ao final da macromolécula e também radicais oligoméricos livres originados não conseguem penetrar o interior das partículas, em virtude da sua natureza hidrofílica, permanecendo na superfície das partículas e facilitando a repulsão entre elas, corroborando para a estabilidade coloidal do meio. O grupo sulfato mencionado, bem como: hidroxila e carbonila também são considerados ótimos grupos estabilizadores.

3.2.3 Látex de PS e P(S-HEMA)

Os látex de PS e P(S-HEMA) são obtidos por meio da polimerização em emulsão, sem a presença de surfactante, usando como monômero o estireno e o 2-hidroxietil-metacrilato.

O látex de PS é formado por partículas totalmente esférica e lisa, diferindo do P(S-HEMA) que apresenta superfície com protuberâncias, semelhante ao formato de uma framboesa, atribuída à formação do P(HEMA) com grande existência de domínios na superfície das esferas (CARDOSO, *et al.* 1999).

Durante a polimerização em emulsão dos monômeros de estireno e HEMA são formadas misturas de cadeias heterogêneas de polímeros, visto que umas apresentam uma riqueza maior

de HEMA e outras contendo pouco desse monômero, tal fato ocorrendo tanto para o HEMA quanto para o estireno (KAMEI, *et al.* 1986).

A presença de diferenças na cadeia polimérica promove uma separação de fases das partículas em no mínimo dois tipos de domínios, ricos em PHEMA e PS, e diante disso, a textura da superfície das partículas é referente a morfologia de uma framboesa. Isto permite ressaltar que, o processo de polimerização em emulsão que possibilita esse tipo de morfologia para o látex de P(S-HEMA) é o mecanismo de nucleação homogênea, diferentemente do que ocorre para o PS, contendo partículas totalmente esféricas (CHERN, *et al.* 2006).

Formação das partículas de P(S-HEMA)

Ao iniciar o processo de polimerização em emulsão onde se tem monômeros como estireno (S) e 2-hidroxietil-metacrilato (HEMA) e o persulfato de potássio (KPS) como iniciador, a agitação origina uma mistura heterogênea contém gotículas de estireno dispersas em água. Embora o HEMA seja solúvel tanto em água quanto em estireno, na polimerização o monômero é mais solúvel na água. Já, o estireno apresenta baixa solubilidade aquosa e o iniciador KPS, por outro lado, é solúvel somente em água. Desse modo, na solubilidade, o iniciador forma o íon persulfato ($S_2O_8^{2-}$) e, por decomposição térmica, os radicais sulfatos $SO_4^{\cdot-}$ reagem com qualquer monômero disponível na fase aquosa, principalmente ao HEMA, devido a sua solubilidade aquosa. Com isso, a reação origina radicais oligoméricos, iniciando a propagação destes radicais em fase aquosa até que o crescimento da cadeia polimérica exceda o limite de solubilidade e atinja a etapa de nucleação e formação das partículas (QUIN, *et al.* 2010).

Embora os radicais reajam primordialmente com o HEMA, é possível que estejam reagindo de forma simultânea com o estireno, originando um copolímero P(S-HEMA), insolúvel em água, como é relatado por Kamei e colaboradores (1986). Onde os autores usaram uma mistura de 80/20 estireno/HEMA, no qual 84% do monômero HEMA migrou para a fase aquosa antes da polimerização; à medida que se inicia a polimerização, a concentração do HEMA diminuiu até 2% do seu valor inicial, quando a conversão atingiu 30% do total de monômeros. Ressalta-se ainda que na demonstração, utilizando a proporção 90/10 estireno/HEMA a composição das partículas formadas durante a fase de nucleação teve uma maior fração de PHEMA.

Crescimento das partículas

Visto que existe um número suficiente de partículas para interagir com todos os novos radicais poliméricos, a nucleação é interrompida. A etapa de nucleação das partículas é curta em relação a do seu crescimento, formando partículas com baixa polidispersão. Embora o estireno não seja um bom solvente para o PHEMA, as partículas de látex que crescem, intumescem com o monômero de estireno osmoticamente ou por difusão das gotas de monômero dispersas em água (CARDOSO, *et al.* 1998).

Durante a fase de crescimento das partículas, toda vez que uma partícula captura um radical oligomérico a partir da solução, há uma continua polimerização do monômero de estireno inchado nas partículas, originando cadeias de polímeros de alto peso molecular. À medida que vai restando pouca quantidade de HEMA, os radicais oligoméricos formados na fase aquosa são, primordialmente, poliestirenos. Esta fase de polimerização ocorre de forma contínua até que todas as gotículas do monômero de estireno sejam consumidas (TOWEY, *et al.* 1990).

Finalização do processo de formação das partículas

Na terceira etapa não há presença de gotículas de monômeros residuais em meio aquoso, neste caso, o monômero de estireno intumescem dentro das partículas e é polimerizado pelos radicais que são formados na fase aquosa e capturado nas partículas. Desse modo, o látex contém dois tipos de moléculas poliméricas: um copolímero rico em PHEMA e outro em poliestireno (QUIN, *et al.* 2010).

A superfície das partículas dos polímeros são distintas, P(S-HEMA) com superfície rica em PHEMA, apresenta morfologia do tipo framboesa, devido a agregação na fase de sua formação e um núcleo rico em poliestireno, que tende a se formar por baixo dos lóbulos. A morfologia framboesa é uma das várias morfologias existentes e obtidas por polimerização em emulsão (SUNDBERG, *et al.* 1992).

As partículas de PS e P(S-HEMA) são bastante estáveis, entretanto, para o P(S-HEMA), mais solúvel e estável, o monômero HEMA contribui significativamente nesse processo, visto que os grupos hidrofílicos (-COO- e -OH), se encontram na superfície da partícula, formando uma camada hidratada, exibindo um efeito estérico que impede a coagulação das partículas. Enquanto isso, o grupo iônico localizado na superfície da partícula, devido a decomposição do

iniciador SO_4^- , pode promover repulsão eletrostática. Estes dois mecanismos de proteção, efeito estérico e repulsão eletrostática, possibilitam uma estabilidade maior do látex (TOWEY, *et al.* 1990).

3.3 Auto-organização das nanopartículas de látex

Sistemas coloidais formados por esferas de látex destacam-se pela relativa facilidade de síntese em quantidades apreciáveis e são monodispersos. O auto-ordenamento em nanopartículas de látex é um processo pelo qual as partículas se organizam espontaneamente em estruturas ordenadas sem a necessidade de intervenção externa, onde as partículas se organizam em padrões regulares devido a interações físicas e químicas entre elas.

As principais forças e mecanismos responsáveis pelo auto-ordenamento das nanopartículas são as forças de Van der Waals, forças eletrostáticas e forças de interação do solvente. As interações atrativas entre as partículas podem levar a uma organização regular, e no caso de partículas que possuem cargas superficiais, a repulsão eletrostática impede o contato direto entre as partículas, causando repulsões e atrações específicas que promovem o auto-ordenamento, interações das nanopartículas com o solvente também podem influenciar nessa organização.

Sistemas auto-organizados de nanopartículas de látex tem se mostrado capazes de formar de modo espontâneo macrocristais auto-ordenados, onde o auto-ordenamento através da associação espontânea das partículas origina uma estrutura supramolecular não-covalente. Uma consequência do elevado grau de ordenamento das partículas é um fenômeno denominado iridescência, notado apenas em materiais que contém estruturas altamente regulares. Refere-se a um fenômeno óptico causado pela interferência da luz difratada por diferentes camadas no interior de um material ordenado, de modo que, de acordo com o ângulo observado, é possível identificar inúmeras cores refletidas na superfície do sólido.

A secagem é um fator muito importante na formação de macrocristais e na estrutura final das nanopartículas de látex. Durante a secagem, à medida que o solvente evapora, a concentração das nanopartículas aumenta. Essa concentração crescente força as partículas a se aproximarem e interagirem mais fortemente, diminuindo a mobilidade das partículas e a distância entre elas diminui continuamente, até que sejam empacotadas em uma estrutura de ordenamento permitido pelo seu estado de dispersão.

Com a evaporação do solvente, as forças de interação entre as partículas (como forças de Van der Waals e interações eletrostáticas) tornam mais significativas. Essas forças podem

promover a formação de estruturas ordenadas, pois a medida que o solvente evapora, as nanopartículas podem se organizar em arranjos ordenados devido às interações entre elas, resultando na formação de padrões regulares ou estruturas cristalinas. A estabilidade e a coagulação das partículas dependem da taxa de evaporação da água e da natureza da força de estabilização da partícula. Por isso, as condições de secagem, temperatura e propriedades das partículas podem influenciar no tamanho e na qualidade dos macrocristais.

Assim, o auto-ordenamento é um processo fundamental na formação de materiais com propriedades específicas e na fabricação de estruturas em escala manométrica bem definidas, despertando grande interesse, pois pode ser aplicado no desenvolvimento de dispositivos eletrônicos tais como sensores (WANG, *et al.* 2004).

3.4 Ressonância plasmônica

A ressonância plasmônica é um fenômeno físico que ocorre quando os elétrons em uma superfície metálica são excitados coletivamente por um campo eletromagnético. Quando a luz incide sobre o metal, ela interage com os elétrons livres, induzindo-os a oscilar em resposta ao campo elétrico da luz. Se a frequência da luz coincidir com a frequência natural de oscilação dos plasmons, que são oscilações coletivas desses elétrons livres, uma ressonância é estabelecida. Esse processo resulta em uma absorção intensa da luz e na amplificação do campo elétrico próximo à superfície do metal (ZAMARION, *et al.* 2008).

A ressonância plasmônica de superfície (SPR) ocorre quando plasmons na superfície de um metal são excitados e interagem com a luz incidente. Esse fenômeno é comumente observado em superfícies metálicas finas ou em filmes metálicos. Por outro lado, a ressonância plasmônica de superfície localizada (LSPR) refere-se à ressonância plasmônica que acontece em nanopartículas metálicas isoladas. Neste caso, a luz interage diretamente com a nanopartícula, gerando uma ressonância local dos plasmons dentro dela.

Observou-se que a estabilidade de uma solução de nanopartículas está fortemente relacionada à interação entre os plasmons. Para uma nanopartícula esférica com um diâmetro muito menor que o comprimento de onda da luz visível ($D \ll \lambda$), um campo eletromagnético incidente com frequência ν pode induzir oscilações coletivas dos elétrons na banda de condução do metal. Nesse caso, todos os elétrons confinados na nanopartícula são expostos ao mesmo campo elétrico durante um intervalo de tempo específico. Como resultado, a nuvem eletrônica se move sob a

influência do campo elétrico, gerando uma separação dipolar de cargas na superfície da partícula.

A medida em que as partículas são iluminadas em comprimentos de onda dentro da faixa de ressonância do plasmon, ocorre um aumento de intensidade do campo próximo à superfície da partícula e muito maior que a intensidade da onda que a excitou. O campo é altamente dependente da forma, dimensão, da proximidade e da magnitude do acoplamento entre os plasmons das partículas adjacentes.

De acordo com a equação simplificada de Maxwell é possível compreender a resposta óptica de nanopartículas metálicas a um campo elétrico. Sob a influência do campo externo aplicado E_0 , o campo elétrico dentro da partícula E_i é dado pela seguinte equação (7):

$$E_i = E_0 \frac{3\epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \quad (7)$$

Em que ϵ_m é a constante dielétrica do meio e ϵ , a constante dielétrica da nanopartícula metálica.

O dipolo gerado (p) pela influência do campo eletromagnético a uma nanopartícula metálica esférica (separação de cargas) mencionado anteriormente, pode ser escrito como $p = \alpha \epsilon_m E_0$, em que a polarizabilidade estática da esfera, α , pode ser obtida pela equação de Laplace, dada por (Equação 8):

$$\alpha = 4\pi\epsilon_0 R^3 \frac{\epsilon - \epsilon_m}{\epsilon + 2\epsilon_m} \quad (8)$$

Metais como ouro (Au), cobre (Cu) e prata (Ag) possuem elétrons livres que permitem oscilações coletivas desses elétrons quando excitados. Essas características fazem com que esses metais sejam extremamente relevantes para a aplicação no efeito SERS. Em comparação com os materiais dielétricos, esses metais apresentam propriedades ópticas distintas, que são fundamentais para a eficácia do efeito SERS.

3.5 Efeito SERS

A espectroscopia Raman é uma técnica capaz de identificar os componentes químicos de um composto através do espalhamento inelástico da radiação eletromagnética incidente,

características dos modos vibracionais dos grupos químicos que constituem o material (RUSHITA, *et al.* 2011).

Ao ser incidida uma luz monocromática sobre uma molécula esta pode originar dois tipos de espalhamento de luz distintos, sendo eles: elástico e inelástico. No espalhamento elástico não há alteração da frequência do fóton ou em seu comprimento de onda e energia, diferente do que ocorre no espalhamento inelástico, onde há um deslocamento de frequência dos fótons referente à excitação, em que o fóton poderá perder ou ganhar certa quantidade de energia (SINGH, *et al.* 2002).

A espectroscopia Raman é uma das técnicas vibracionais amplamente utilizada na caracterização de materiais devido à sua capacidade de análise em soluções aquosa, uma vez que a água possui um espalhamento Raman fraco. Essa técnica permite a obtenção de espectros *in situ* de forma não destrutiva e, possibilita investigações vibracionais em números de onda baixos sem a necessidade de instrumentação adicional. No entanto, o espalhamento Raman convencional apresenta baixa secção de choque, na faixa de 10^{-30} - 10^{-25} cm².molécula⁻¹. Devido a essa pequena secção de choque, é fundamental um número grande de moléculas para realizar medidas adequadas, o que limita a sensibilidade da técnica.

O Espalhamento Raman intensificado por Superfície (SERS) é um fenômeno de análise espectral óptica altamente sensível, baseada na identificação dos componentes químicos de materiais adsorvidos em nanoestruturas metálicas. Este fenômeno baseia-se no aumento dos sinais Raman devido à interação da luz eletromagnética com os metais adsorvidos na superfície. A ampliação dos sinais ocorre por meio da ressonância plasmônica, uma excitação eletrônica que intensifica o campo do laser (PANIKAR, *et al.* 2018).

Quando as amostras são adsorvidas em superfícies metálicas coloidais ou rugosas, o espectro Raman pode ser intensificado em um fator de ordem de 10^2 – 10^4 em relação ao espectro Raman obtido sob as mesmas condições de concentração do adsorbato e de potência da radiação incidente.

O primeiro registro de um espectro SERS é atribuído a Fleischmann, Hendra e McQuillan em 1973. Eles demonstraram a potencialidade da espectroscopia Raman como uma técnica para analisar fenômenos de superfície ao estudar reações eletroquímicas de piridina adsorvida na superfície de um eletrodo de prata. Naquela época, os processos superficiais eram de grande interesse para eletroquímica e a catálise heterogênea, devido à necessidade de entender e deduzir mecanismos de reação que não podiam ser elucidados com as técnicas de instrumentação disponíveis (SLOAN-DENNISON, *et al.* 2019) (PANIKAR, *et al.* 2018).

No entanto, o efeito de intensificação só foi plenamente compreendido anos depois, com os estudos de Jeanmaire e Van Duyne (1977) e de Albrecht e Creighton (1977). Esses estudos foram fundamentais para a descoberta do efeito SERS. Eles observaram que a intensidade do sinal Raman de moléculas adsorvidas em superfícies metálicas podia ser amplificada por várias ordens de magnitude devido à ressonância plasmônica. Jeanmaire e Van Duyne (1977) propuseram que a amplificação estava associada ao aumento do campo elétrico na superfície, enquanto Albrecht e Creighton (1977) sugeriram que a intensificação era resultado da interação ressonante com os estados eletrônicos das moléculas.

Ambos os estudos independentes revelaram que a amplificação do sinal observada por Fleischmann derivava de um mecanismo específico, e, curiosamente, apresentaram explicações distintas para o fenômeno. A proposta de Jeanmaire e Van Duyne (1977) se baseava na intensificação do campo elétrico na superfície metálica (modelo eletromagnético), enquanto Albrecht e Creighton (1977) relacionavam a amplificação com a interação ressonante entre a luz e os estados eletrônicos da molécula (modelo químico).

O modelo eletromagnético explica a intensificação dos sinais Raman como resultado da amplificação dos campos elétricos das radiações incidente e espalhada nas proximidades de uma superfície metálica, fenômeno este associado à ressonância de plasmons de superfície localizados. Por outro lado, o modelo químico atribui a intensificação à alteração na polarizabilidade da molécula, que ocorre devido às interações entre o adsorbato e o metal. Essas interações promovem transições eletrônicas através da transferência de carga entre as nanoestruturas metálicas e as moléculas adsorvidas na superfície dessas estruturas (CARDINAL, *et al.* 2017) (OTTO, *et al.* 2005) (RU, *et al.* 2009).

De uma forma geral, a intensificação SERS é atribuída a dois mecanismos distintos e complementares: o efeito eletromagnético e o químico. Ambos os mecanismos ocorrem simultaneamente, e a contribuição de cada um para a amplificação total depende das características específicas do sistema. Nenhum dos mecanismos isoladamente é capaz de explicar a magnitude da intensificação observada no espalhamento Raman (LIN, *et al.* 2020). Assim, a combinação desses efeitos pode resultar em um aumento significativo da sensibilidade da técnica SERS (LYON, *et al.* 1998).

A intensificação do sinal SERS é comumente observada em alguns metais, como ouro (Au), prata (Ag) e cobre (Cu), que são altamente eficientes em experimentos SERS. Intensificações menores foram registradas em metais como lítio, cádmio, níquel e platina, embora esses casos não sejam tão frequentes.

Para que um metal seja considerado adequado para o efeito SERS, ele deve exibir uma forte ressonância na faixa de 400 a 1000 nm, que corresponde à região visível e infravermelha do espectro eletromagnético. Ouro e prata são particularmente eficazes devido às suas propriedades plasmônicas, com ressonâncias ocorrendo tanto na região visível quanto na do infravermelho. Essas características os tornam especialmente úteis em uma ampla gama de aplicações.

O espectro de absorção dos materiais plasmônicos exibe bandas associadas à excitação do plasma de superfície do metal, o que os torna ativos para SERS quando irradiados com frequências dentro dessas bandas. Estudos experimentais mostram que o efeito SERS é fortemente influenciado pela natureza da superfície metálica. Metais que apresentam ressonância plasmônica de superfície na região do visível (LSPR) são particularmente eficientes, pois facilitam a ressonância entre a radiação excitante e a banda LSPR das nanopartículas metálicas.

Ao selecionar o metal para aplicações SERS, é importante considerar aspectos práticos, como facilidade de manipulação para produção de estruturas em escala nanométrica, boa disponibilidade, baixa toxicidade, baixo acessível e durabilidade (LE RU, *et al.* 2009). Nesse contexto, a prata se destaca como um substrato altamente sensível para SERS devido ao seu excelente efeito de amplificação, oferecendo um bom custo-benefício na intensificação dos sinais Raman (KHOR, *et al.* 2017).

A prata proporciona melhores espectros quando a radiação excitante tem uma frequência próxima de 500 nm, enquanto metais como ouro e cobre exibem melhor desempenho com radiações próximas de 600 nm. Além disso, nanopartículas plasmônicas, seja de prata ou ouro, que apresentam bandas largas em seu espectro, podem ampliar suas aplicações ao permitir o uso de diferentes fontes de laser para o mesmo material (JIANG, *et al.* 2021).

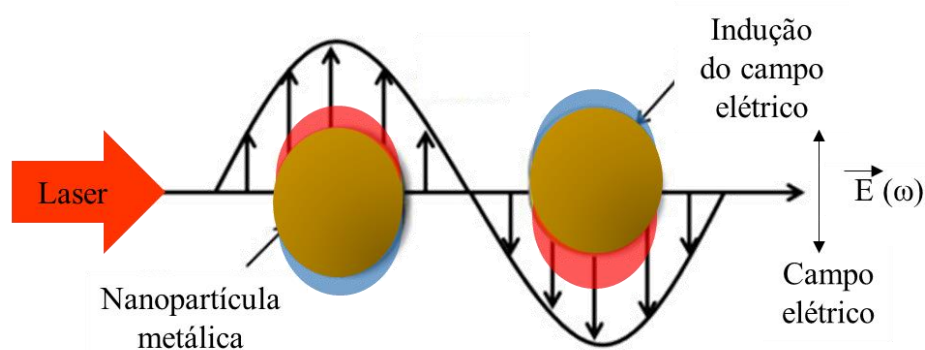
Outra questão importante é o uso de nanopartículas plasmônicas desses metais, que são amplamente empregadas em estudos e aplicações em diversas áreas. O fenômeno de intensificação eletromagnética deve ser definido exclusivamente pelas propriedades ópticas do substrato, sem sofrer influência do analito. Portanto, a escolha do material é crucial para garantir um efeito eficaz de amplificação do sinal (HONG, *et al.* 2020).

3.5.1 Modelo eletromagnético

O mecanismo eletromagnético é responsável pela intensificação do campo elétrico local, tanto o incidente quanto o espalhado, através da ressonância entre a radiação incidente e a frequência de ressonância dos plasmons de superfície localizados (LSPR). As teorias associadas a esse modelo buscam explicar a seletividade do efeito SERS em função do metal escolhido, bem como a dependência da rugosidade da superfície metálica (GIORDANO, *et al.* 2016).

A explicação através do efeito eletromagnético indica um aumento da intensidade do espalhamento Raman proporcional ao momento de dipolo induzido do sistema metal-molécula. Onde uma superfície metálica pode ser compreendida como um plasma, ou seja, originado por um conjunto de elétrons se movendo. A oscilação coletiva desses elétrons que é denominada Plasma de Superfície, apresenta frequência característica dependente da natureza do metal e da rugosidade da superfície (BORGES, *et al.* 2015). Como representando na Figura 2, os elétrons livres na superfície da nanopartícula de metal podem ser induzidos a oscilarem quando excitados com uma radiação de frequência ω e amplitude $\vec{E}_\omega$. A oscilação periódica leva a uma oscilação de cargas transitória na partícula metálica, dando origem a um dipolo induzido oscilante ou LSPR. A medida em que a frequência da radiação incidente se aproxima da frequência do plasma superficial ocorre ressonância, e consequentemente se origina fenômenos de absorção e dispersão elétrica intensos.

Figura 2 - Representação da oscilação do plasmon de superfície localizado de nanopartículas metálicas ao incidir radiação eletromagnética e oscilação da nuvem e elétrons



FONTE: Adaptada de KNEIPP, *et al.* (1997).

A nanoestrutura plasmônica funciona como uma antena óptica, capaz de amplificar a energia da radiação incidente com frequência ω_0 , transmitindo-a com uma nova frequência ω_R .

Para otimizar esse efeito, a molécula deve estar, no máximo, a 10 nm de distância da superfície. Dessa forma, o campo elétrico na superfície é significativamente mais intenso devido à ressonância dos plamons de superfície, em comparação com o campo elétrico da radiação incidente, resultando em uma amplificação do espalhamento (BORGES, *et al.* 2015) (OLIVEIRA, *et al.* 2015) (DOMINGOS, 2020).

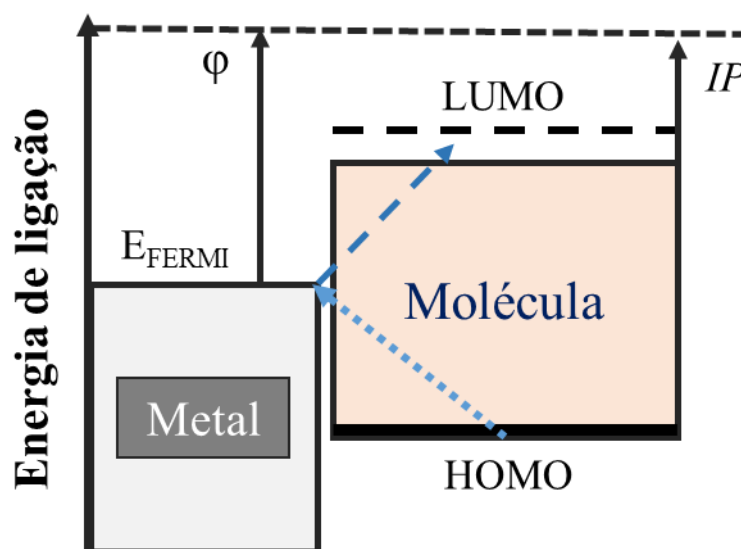
3.5.2 Modelo químico

O espectro SERS fornece informações detalhadas sobre o adsorbato e o ambiente químico, refletindo a interação entre o adsorbato e a superfície metálica, especialmente as interações entre a nanopartícula e a orientação espacial do adsorbato (GIORDANO, *et al.* 2016). Divergindo do modelo eletromagnético, onde a intensificação do momento de dipolo induzido é ocasionada pela intensificação do campo elétrico na superfície metálica, no mecanismo químico, a intensificação acontece por meio do aumento da polarizabilidade, mediante as transições de transferências de carga metal-adsorbato (LEE, *et al.* 2016).

Quando o analito (molécula) é adsorvido sobre a superfície metálica, seus níveis eletrônicos interagem com os elétrons da banda de condução do metal, resultando em um alargamento dos níveis eletrônicos. Dependendo da proximidade entre os níveis de energia dos orbitais de fronteira da molécula e o nível de Fermi do metal, podem ocorrer transições de transferência de carga entre a molécula e a superfície (GOUR, *et al.* 2021).

Assim, como representado na Figura 3, após o adsorbato interagir com a superfície da nanoestrutura metálica, o nível de Fermi do metal se encontra entre o orbital HOMO (orbital molecular de maior energia ocupado) e o orbital LUMO (orbital molecular de menor energia desocupado) do adsorbato. A incidência de radiação com comprimento de onda ressonante, permite gerar a transição de transferência de carga entre o orbital HOMO do adsorbato e o nível de Fermi do metal ou entre o nível de Fermi do metal e o orbital LUMO do adsorbato.

Figura 3 – Diagrama de energia ilustrando a banda de energia de nanoestruturas metálicas e os orbitais HOMO e LUMO das moléculas adsorvidas. Onde ϕ é a função trabalho do metal e IP é o potencial de ionização do adsorbato.



FONTE: Adaptada de AROCA, *et al.* (2006).

O efeito Raman ressonante ocorre quando a radiação incidente tem uma frequência próxima ou coincidente com uma das transições eletrônicas da molécula, resultando em um aumento significativo da intensidade do fenômeno. Este aumento é especialmente notável em transições intensas, como as transferências de carga em complexos, e pode intensificar o sinal em várias ordens de grandeza quando a frequência do laser de excitação está em ressonância com a transição eletrônica da molécula. Assim, o mecanismo químico do efeito SERS pode ser explicado em parte pelo efeito Raman ressonante, que ocorre devido a transições do tipo metal-adsorbato (GOUR, *et al.* 2021).

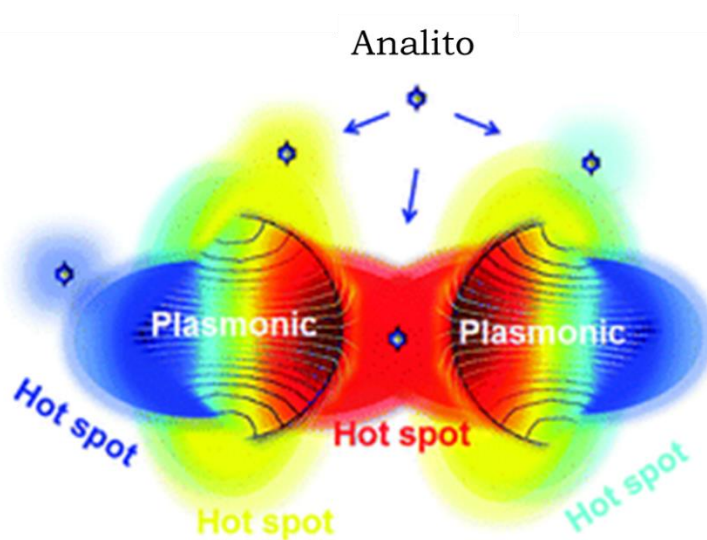
A intensificação do sinal Raman prevista pelo modelo Químico é consideravelmente menor quando comparado com o modelo eletromagnético e representa uma intensificação experimental limitada a ordem de cerca de 10^2 vezes, e, mesmo que este fator seja um dado de grande relevância do ponto de vista de intensidade do sinal, o efeito pelo mecanismo químico ainda é de grande importância, pois envolve o aparecimento de fenômenos significativos responsáveis para a compreensão de algumas observações experimentais (GOUR, *et al.* 2021).

Assim, o mecanismo químico além de ser altamente significativo para a explicação do efeito SERS, ele vai depender da natureza química da amostra a ser analisada, da geometria de absorção da molécula, de sua variação no decorrer dos experimentos, do potencial aplicado e a interação do analito com o substrato (LANGER, *et al.* 2019).

3.6 Hot Spots

Os *hot spots* são regiões de interação que intensificam o espectro de moléculas adsorvidas, formando-se quando a distância entre as nanoestruturas de metais nobres é suficientemente pequena para interagir com a luz incidente de Raman, amplificando assim o campo eletromagnético. Esses *hot spots* são fenômenos localizados e pontuais, e a densidade e uniformidade deles em toda a superfície são cruciais para o desenvolvimento de materiais SERS (Figura 4). Para alcançar um controle preciso da uniformidade espacial e da distância entre esses pontos, têm sido desenvolvidos métodos avançados de fabricação de substratos com superfícies mais reproduzíveis, incluindo litografias, nanoimpressão, filmes de Langmuir e sistemas auto-montados, entre outros (YAN, *et al.* 2020).

Figura 4 - Representação do *Hot spots*



FONTE: Adaptada de RADZIUK, *et al.* (2015).

Comumente os fatores aprimoramento SERS (EFs) são encontrados como sendo mais altos em materiais nobres estruturados em superfície de filmes metálicos ou em nanopartículas de metais nobres. O tamanho, a forma e o espaçamento entre essas nanoestruturas metálicas desempenham um papel crucial no desempenho dos sensores. Essas características influenciam diretamente as propriedades ópticas das nanoestruturas, que estão relacionadas ao plasmon de superfície. Além disso, a distância entre as nanoestruturas é um fator determinante no

desenvolvimento de substratos ativos para SERS. É importante notar que o hot spot criado não pode ser descrito apenas por plasmon de superfície localizado independente (YAN, *et al.* 2020). As nanoestruturas podem assumir várias formas, incluindo esferas sólidas, estruturas sólidas com diferentes geometrias (como elipsoides, triângulos, cilindros, etc.) e agregados de nanopartículas organizados em padrões. Observa-se que enquanto uma esfera pode absorver luz em uma frequência específica, um esferoide pode absorver em até três frequências distintas. Por outro lado, uma estrutura de agregados pode ressoar em uma ampla gama de frequências, abrangendo uma vasta região espectral. Entre os diversos fatores que influenciam a intensificação do efeito SERS, a agregação de partículas se destaca como particularmente importante (LIU, *et al.* 2015). Esse arranjo tem como consequência uma motivação em ter fenômenos de superfície aprimorada, o que pode levar para a obtenção de vários tipos de dispositivos de sensoriamento (LANGER, *et al.* 2019) (YAO, *et al.* 2022).

A utilização de luz com comprimento de onda adequado pode amplificar a intensidade média do campo eletromagnético em partículas individuais de metais nobres. Quando o comprimento de onda da luz de excitação é significativamente maior do que o tamanho da partícula, as partículas agem como dipolos elétricos ressoantes. Quando as partículas estão agregadas, os dipolos se acoplam e intensificam o campo eletromagnético local, criando *hot spots* com aumentos de campo extremamente elevados. Esse efeito de amplificação na superfície torna as estruturas agregadas particularmente importantes e interessantes devido à sua capacidade de amplificar sinais de maneira excepcional (YU, *et al.* 2019).

O uso de materiais que incorporam substratos SERS tem se mostrado cada vez mais promissor devido à sua capacidade de concentrar intensamente o campo eletromagnético. Isso ocorre graças à presença de ressonância de plasmon superficial localizada nos materiais metálicos do substrato e à alta densidade de *hot spots*. A integração direta com sistemas de espectroscopia Raman padrão, bastando substituir substratos comuns por substratos SERS tem possibilitado ao SERS estabelecer-se em uma ampla gama de aplicações, tanto em sensores químicos quanto biológicos, permitindo a detecção de até uma única molécula (YAN, *et al.* 2020).

O presente trabalho visa superar as limitações encontradas em substratos SERS desenvolvidos anteriormente, incluindo aqueles já utilizados comercialmente, particularmente em relação à reprodutibilidade, sensibilidade e custos elevados das tecnologias envolvidas. A automontagem tem se mostrado uma estratégia promissora, simples e eficaz para a construção de substratos ativos. Assim, este estudo propõe um substrato SERS com uma estrutura auto-

organizável composta por nanopartículas de látex e prata, junto com o método de preparação correspondente. Este substrato pode ser utilizado de forma eficaz para detectar diversas classes de analitos com alta sensibilidade. Além disso, o substrato oferece a vantagem adicional de ser compatível com diferentes fontes de laser de excitação, possibilitando a detecção de analitos em concentrações extremamente baixas.

4 PARTE EXPERIMENTAL

Esta seção encontra-se dividida em quatro partes (i) síntese das nanopartículas de látex de PS e síntese das nanopartículas de látex) P(S-HEMA), (ii) preparação dos filmes auto-organizados de PS e P(S-HEMA), (iii) auto-organização de AgNPs nos filmes de látex (iv) e preparação e aplicação dos sensores.

A seguir encontram-se descritos os reagentes utilizados no desenvolvimento deste trabalho:

Lista de reagentes

- ✓ Etanol PA (Vetec)
- ✓ Estireno 99% (Fluka)
- ✓ 2-hidroxietil-metacrilato 99% (Aldrich 99%)
- ✓ Persulfato de potássio $K_2S_2O_8$ (Aldrich 99%)
- ✓ Etanol (Aldrich 99%)
- ✓ Dodecil sulfato de sódio (SDS) (Aldrich 99%)
- ✓ Acetona (Aldrich 99%)
- ✓ Álcool isopropílico (Aldrich 99%)
- ✓ Clorofórmio (Aldrich 99%)
- ✓ Água deionizada 18 M Ω
- ✓ Rodamina 6G (Aldrich 99%)
- ✓ Melamina (Aldrich 99%)

Limpeza do suporte e preparação dos substratos

Lâminas de vidro borossilicato utilizadas em microscopia óptica foram utilizadas como substratos. As lâminas foram cortadas em dimensões de (25x25x1,5) mm. A limpeza foi realizada imergindo em solução de dodecil-sulfato de sódio (SDS) 2% por cerca de 30 minutos em banho ultrassônico para remoção de impurezas orgânicas, seguidos de sonicação em acetona, isopropanol e água deionizada, respectivamente, por 15 minutos, e, posteriormente secos em fluxo de gás nitrogênio (N₂).

4.1.1 Preparação de látex de PS e P(S-HEMA)

As sínteses foram realizadas seguindo a técnica de polimerização em emulsão livre de surfactante descrita na literatura (KAMEI, *et al.* 1986) (REESE, *et al.* 2002). A copolimerização foi realizada em um equipamento tipo (*batch reactor*), composto por um reator de 250 mL, contendo um condensador, termômetro, agitador mecânico e fluxo de gás (N₂). Para o controle da temperatura utilizou-se um circulador de óleo termostatizado e água.

Inicialmente, foram pesados os monômeros e água, nos quais foram adicionados ao reator sob agitação mecânica. À medida que a temperatura do sistema atingiu 70 °C, adicionou-se persulfato de potássio dissolvido em 5 mL de água. O tempo total de reação foi de 5h. O mesmo procedimento foi realizado para o látex de P(S-HEMA).

Tabela 1 – Preparação do látex de PS

Reagente	Quantidade (g)
estireno	23
K ₂ S ₂ O ₈	0,3
água	150

Condições de síntese: Temperatura (°C) = 70 ± 1°C; Fluxo N₂ L.min⁻¹ = 0,1; Tempo de síntese = 5h, Velocidade (rpm) 450

Tabela 2 – Preparação do látex de P(S-HEMA)

Reagente	Quantidade (g)
2-hidroxi-etil-metacrilato	4,20

estireno	31,20
K ₂ S ₂ O ₈	0,108
Água	210,20

Condições de síntese: Temperatura (°C) = 70 ± 1 °C; Fluxo N₂ L.min⁻¹ = 0,1; Tempo de síntese = 5h, Velocidade (rpm) 450

4.1.2 Preparação substratos SERS auto-organizados

4.1.2.1 Preparação dos filmes de látex auto-organizados

As amostras foram centrifugadas por cerca de 20 minutos com taxa de rotação de 6000 rpm e, em seguida, foi feita uma dispersão em etanol com 25% da proporção EtOH/H₂O e colocada no ultrassom por cerca de 30 minutos,

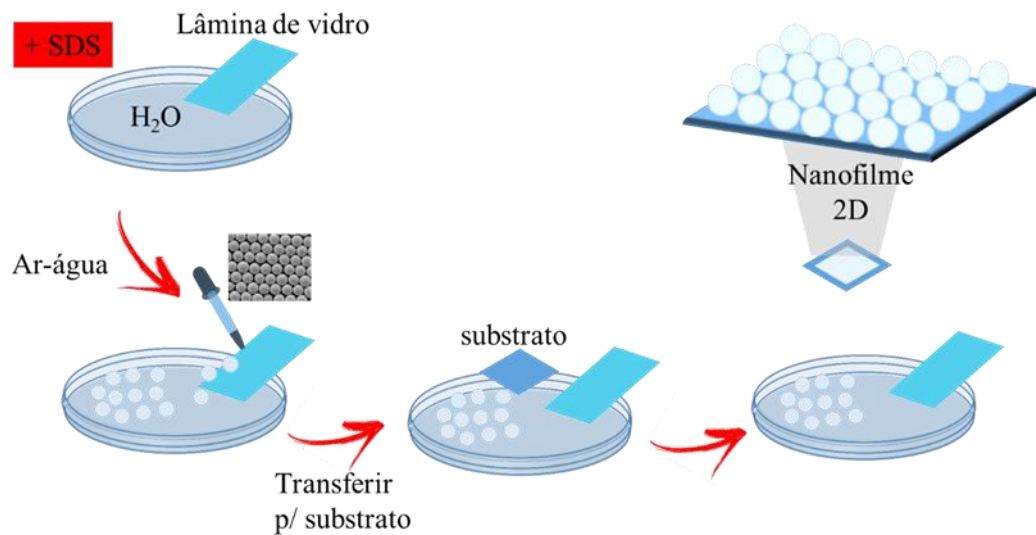
Foram empregadas quatro metodologias distintas para a preparação dos filmes de látex auto-organizados: o método da superfície aquosa (SA), o método de auto-ordenamento espontâneo (AE), o método de dip coating (DC) e o método de spin coating. Entre essas metodologias, o spin coating (SC) foi selecionado devido à sua superior eficiência e aos melhores resultados obtidos na produção dos filmes.

A seguir, apresentamos o processo de cada metodologia utilizada.

Método da superfície aquosa (SA)

A dispersão coloidal das nanopartículas foi aplicada na superfície da água usando uma micropipeta, que foi posicionada na lâmina de vidro em um ângulo de aproximadamente 45° em relação à superfície da água. Ao entrar em contato com a água, as nanopartículas se auto-organizaram e formaram um filme. Para facilitar a formação do filme, foi adicionada uma solução de 0,1 mol/L de surfactante SDS antes da introdução das nanopartículas na superfície aquosa. Em seguida, um substrato de vidro limpo foi imerso na subfase e elevado em um ângulo raso para transferir a camada coloidal para a superfície do vidro. O material foi então seco a 25 °C sob vácuo e posteriormente encaminhado para análise.

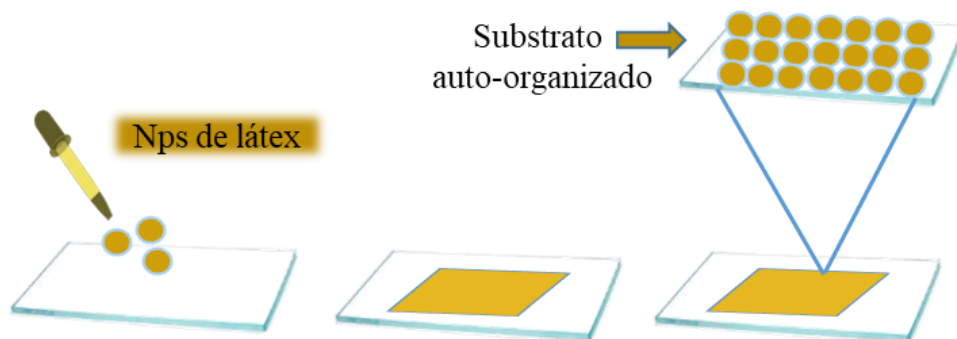
Figura 5 - Método da superfície aquosa (SA)



Método de auto-ordenamento espontâneo (AE)

Para preparar os filmes de nanopartículas de látex auto-montadas, foram adicionados 100 μ L da suspensão das partículas no centro de um substrato de vidro limpo e seco. Em seguida, o substrato foi secado a 25 °C sob vácuo por 24 horas antes de ser encaminhado para análise.

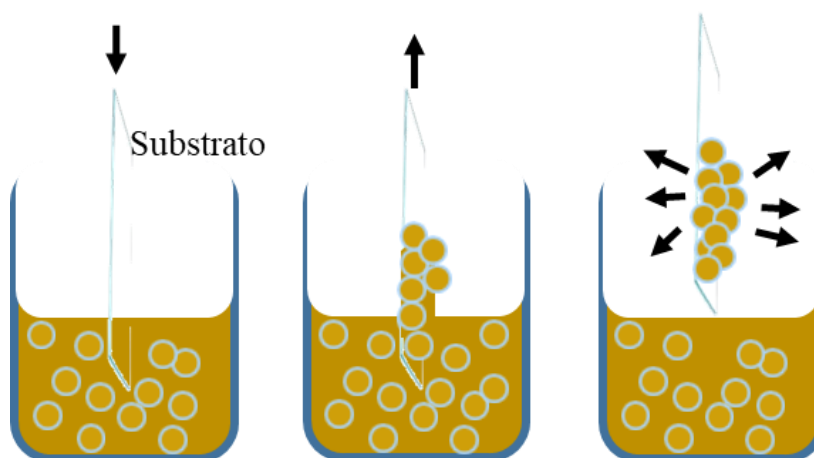
Figura 6 - Método de auto-ordenamento espontâneo (AE)



Método dip coating (DC)

No método de dip coating, a solução contendo as nanopartículas de látex foi colocada em um béquer. Um substrato de vidro limpo foi então imerso nessa solução, e posteriormente removido com as nanopartículas aderidas à sua superfície. Após a imersão, o substrato foi seco a 25 °C sob vácuo por 24 horas antes de ser encaminhado para análise.

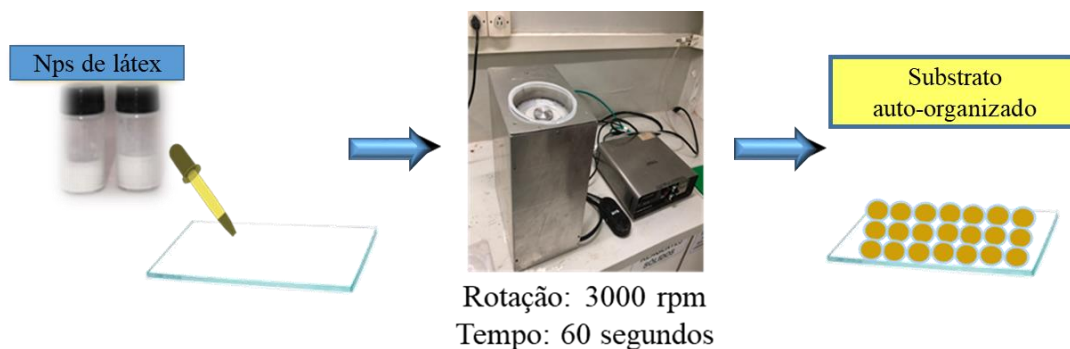
Figura 7 - Método dip coating (DC)



Método de spin coating (SC)

Os filmes foram preparados utilizando a técnica de spin coating. Primeiramente, foram depositados 120 μL da suspensão sobre o substrato de vidro, permitindo que se espalhasse uniformemente por 20 segundos. Em seguida, o substrato foi girado a uma velocidade de 3000 rpm por 60 segundos para promover a formação do filme. Após a rotação, os filmes foram expostos a uma atmosfera de clorofórmio por 1 hora e, em seguida, secos sob vácuo por 24 horas. Posteriormente, os filmes foram armazenados sob vácuo para preservação.

Figura 8 - Método de spin coating (SC)

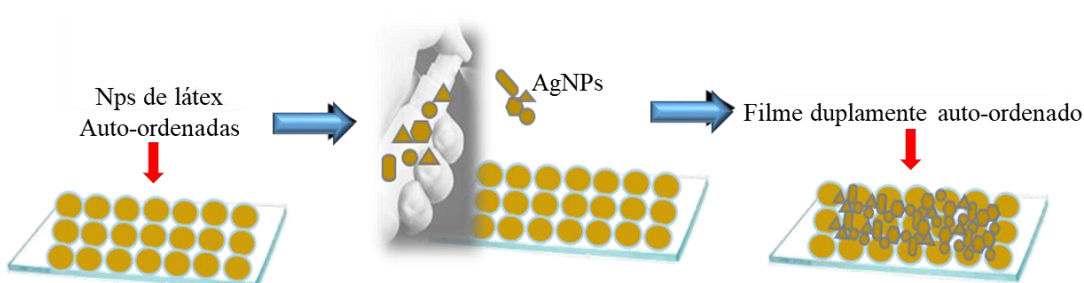


4.1.3 Adição das nanopartículas de prata (AgNPs) sobre os filmes auto-organizados de látex

As AgNPs foram previamente preparadas pelo nosso grupo de pesquisa, de acordo com a metodologia descrita por Andrade e colaboradores (2022) por redução química de íons Ag^+ com NaBH_4 , seguido pela adição de uma solução aquosa de AgNO_3 /ácido ascórbico em temperatura ambiente até a cor mudar para vermelho escuro.

As AgNPs foram adicionadas mediante o uso de um spray diretamente nos nanofilmes de látex auto-montados em até 5 deposições, em seguida o material foi seco à vácuo em temperatura de 25 °C e levado para análise.

Figura 9 - Deposição das nanopartículas de prata sobre os filmes auto-ordenados de nanopartículas de látex



4.2 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO

4.2.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Microscopia eletrônica de transmissão por varredura (STEM)

As análises foram realizadas em um equipamento Tescan modelo Mira 3, sob tensão de aceleração eletrônica de 10 kV. As imagens foram adquiridas no modo elétrons secundários (SEI) a partir de alíquotas das dispersões do látex adicionadas sobre um porta-amostras de zinco. A metalização com ouro (sputtering) foi realizada sob vácuo, em atmosfera de argônio, a 45 mA de corrente, 10^{-5} torr de pressão por um tempo de 90s. Nestas condições foi depositada sob a amostra uma camada de ouro de cerca de 10nm de espessura.

As imagens adquiridas foram usadas para obtenção de tamanho de partícula e análise de morfologia, para tal empregou-se o software JMicro Vision para processamento de imagem.

Os coloides de AgNPs foram diluídos em água deionizada com fator de diluição de 1:10 e um volume de 10 μ L foi adicionado sobre as grades de cobre revestidas com carbono e colocado para secar à temperatura de 25 °C por um período de 24 h. A análise, foi realizada sob tensão de aceleração eletrônica de 25 KV. As imagens obtidas foram utilizadas para verificação e distribuição de tamanho e morfologia das nanopartículas, empregando o software image-J para processamento de imagem.

As distribuições das AgNPs sobre a superfície das camadas auto-ordenadas foram investigadas mediante as análises de microscopia por elétrons retroespalhados.

4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros foram obtidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} , empregando-se a técnica de pastilha de KBr. O equipamento utilizado foi um espectrômetro com transformada de Fourier da Shimadzu, modelo IRTracer-100, na qual as medidas foram analisadas no laboratório de Central Analítica do DF-UFPE.

4.2.3 Espectroscopia Raman

Os espectros foram obtidos em um espectrômetro Raman-AFM da Horiba, modelo iHR320. Este equipamento possui detector CCD (dispositivo sensível a carga), resfriado a ar. A fonte de excitação utilizada foi um laser de Nd: YVO4 operando na linha de 671 nm, potência 10 mW. Os espectros foram obtidos à temperatura ambiente na região de 200 a 3000 cm^{-1} .

Foram obtidos também espectros utilizando um espectrômetro Raman da Horiba, modelo LabRAM HR Evolution, operando na linha de 785 nm e 532 nm, potência 10 mW.

4.2.4 Espectroscopia de absorção na região do UV-Vis

Espectros de absorção na região do UV-Visível foram obtidos usando espectrômetro da marca Ocean Optics, modelo DH-2000 com lâmpadas de deutério e tungstênio e cubeta retangular de quartzo contendo 10 mm de largura. As medidas foram realizadas na faixa de 300-900 nm de comprimento de onda e tempo de integração de 3800 ms. Os coloides foram diluídos em água deionizada com fator de diluição de 1:80, no intuito de evitar saturação do sinal do equipamento.

4.2.5 Espalhamento de Luz Dinâmico (DLS) e Potencial Zeta (PZ)

O diâmetro hidrodinâmico médio das nanopartículas de látex foi determinado por meio do Espalhamento de Luz dinâmico (DLS), empregando o analisador de partículas da Brookhaven Instruments, modelo Nanobrook Omni. Para a análise das nanopartículas realizou-se três ciclos de trinta medidas cada, sendo possível obter o valor médio para o diâmetro e para o índice de polidispersidade. Foi empregada para as medidas do látex uma diluição de 1:40 em água deionizada, utilizando um ângulo espalhamento de 90° para as análises.

As análises de potencial Zeta foram realizadas usando analisador de partículas Brookhaven Instruments, modelo Nanobrook Omni. As amostras foram diluídas em água deionizada, aplicando um fator de diluição 1:40. E, os parâmetros usados pelo software para o cálculo dos valores de PZ foram equivalentes aos da água a 25° (viscosidade = 0,89 cP, índice de refração = 1,331 e constante dielétrica = 78,54). Foi empregado o modelo Smoluchowski para ajuste da curva das medidas adquiridas pelo equipamento.

4.2.6 Medida de ângulo de contato

As medidas de ângulo de contato entre os látex de PS e P(S-HEMA) e o substrato de vidro foram medidos em equipamento caseiro construídos em um pequeno estúdio lightbox, modelo Sagaro e microscópio digital Brastoy conectado a um laptop. As imagens foram analisadas por meio de um software Image J.

4.2.7 Cálculo do Rendimento

Para obtenção do rendimento da reação utilizou-se o cálculo a seguir:

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{m_{\text{polímero produzido}}}{m_{\text{polímero teórico}}} \right) \times 100$$

4.2.8 Diâmetro de Ferret

O diâmetro de Ferret é usado para medir a distância entre dois planos paralelos que restringem um objeto e foi a medida estatística empregada para analisar e descrever a distribuição do tamanho dos contornos, a partir das imagens de microscopia de nanopartículas de prata de diferentes morfologias. O cálculo foi realizado usando o software de análise de imagem Image J, que realiza a análise automática dos contornos e calcula o diâmetro de Ferret baseado na geometria dos contornos.

4.2.9 Investigação do efeito SERS para detecção de analito

A rodamina 6G foi usada como analito alvo para o teste do substrato SERS fabricado. Uma solução de rodamina foi preparada e diluída para atingir a concentração desejada. Foram adicionados 20 μL da solução do analito na área ativa do substrato SERS e seco a temperatura de 25 °C antes de realizar as medições de espectroscopia Raman.

O mesmo procedimento foi empregado para a melamina utilizada como outro analito de teste.

O fator de aprimoramento analítico (AEF) foi estimado para o substrato SERS de acordo com a equação (1)

$$\text{AEF} = \frac{I_{\text{SERS}/C_{\text{SERS}}}}{I_{\text{RS}/C_{\text{RS}}}}$$

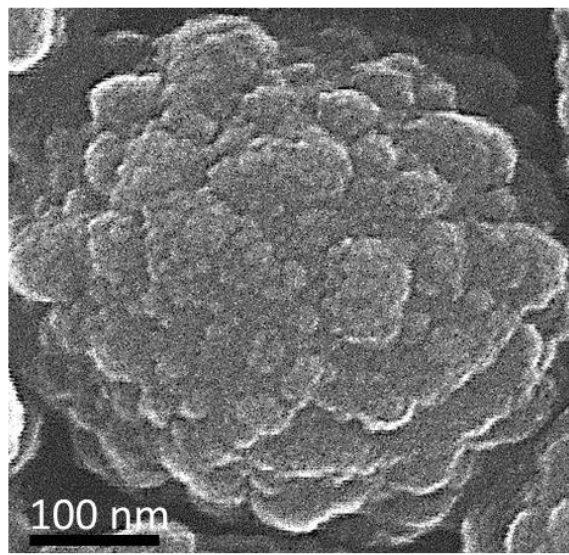
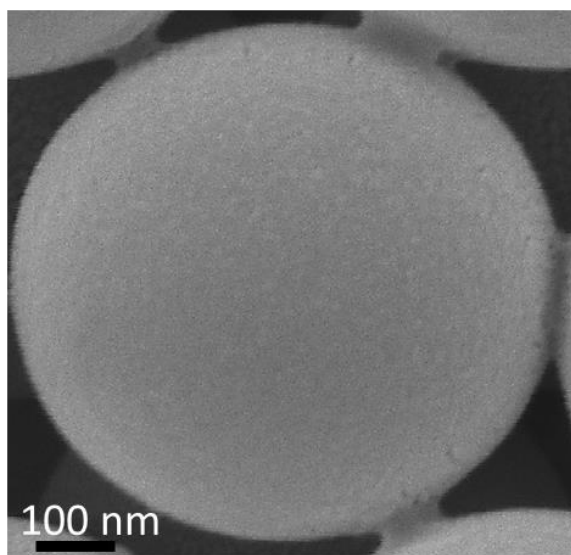
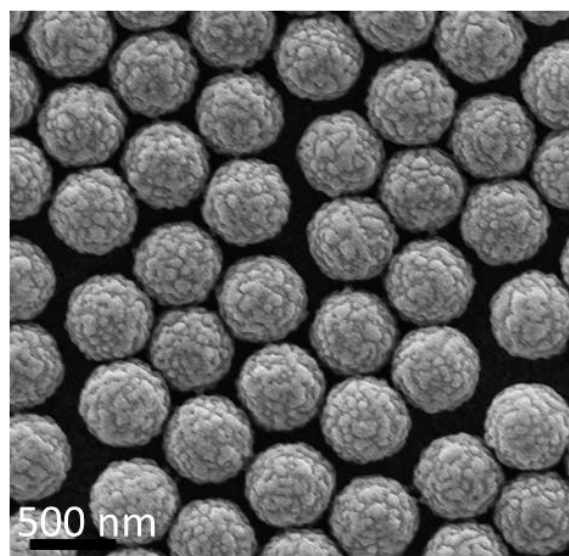
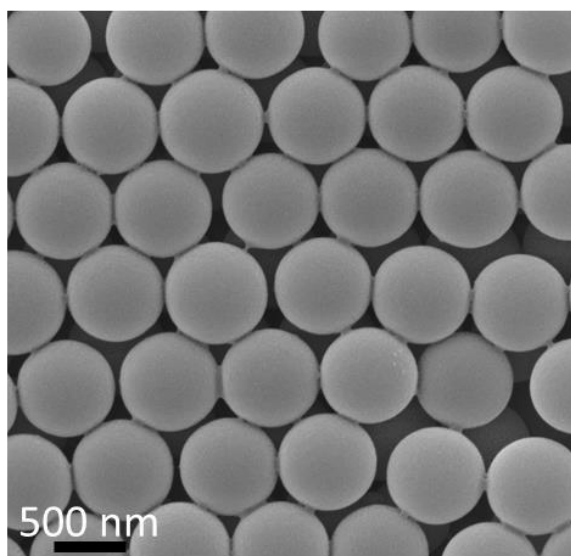
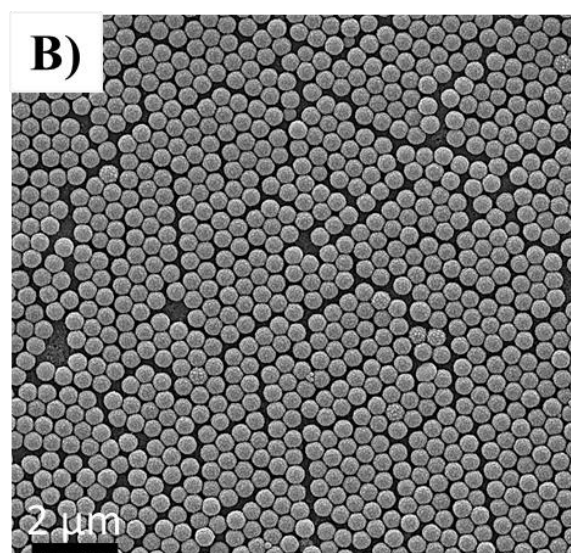
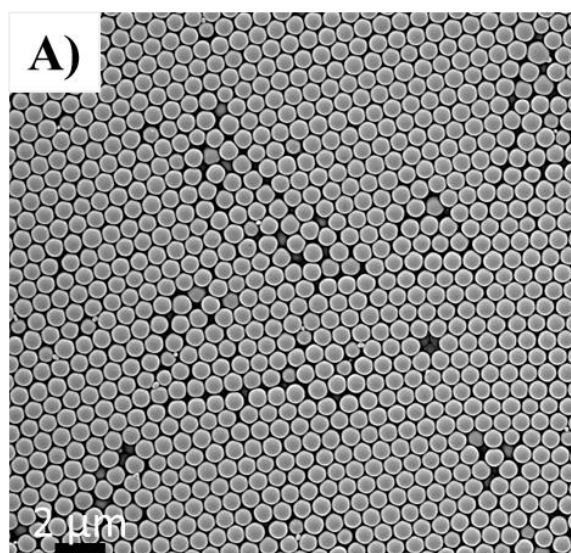
Onde o I_{SERS} e I_{RS} são referentes a intensidade do sinal Raman sob condições SERS e sem aprimoramento de superfície, respectivamente, enquanto, C_{SERS} e C_{RS} representam as concentrações das soluções de analito utilizada para medições com e sem SERS, respectivamente.

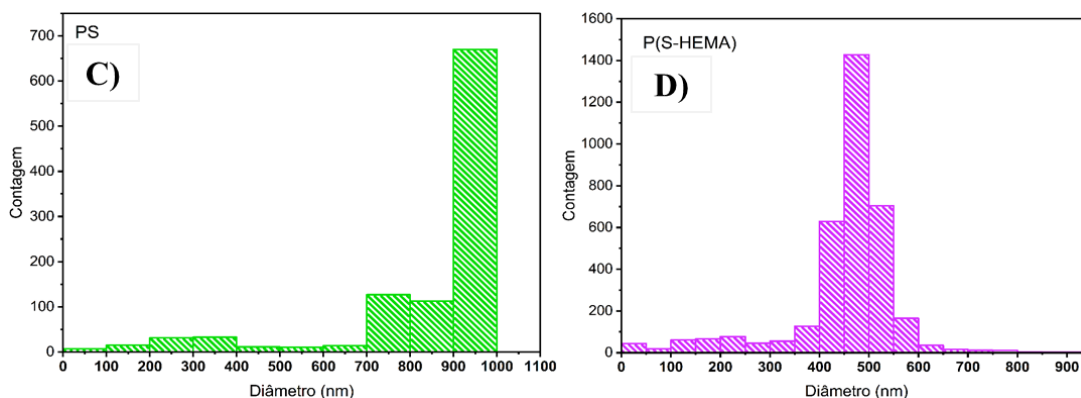
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das nanopartículas de látex de PS e P(S-HEMA)

A 10(A) mostra a imagem de (MEV) das partículas de látex de PS obtidas com o rendimento de 78,50%. A Figura 10(B) apresenta as nanopartículas de P(S-HEMA), no qual obteve-se 96,10% de rendimento.

Figura 10 -Micrografia eletrônica de varredura de PS(A) e P(S-HEMA)(B) em diferentes magnificações e histograma das nanopartículas de PS(C) e P(S-HEMA)(D)





É possível observar a morfologia esférica das nanopartículas de PS com um diâmetro médio de $898 \text{ nm} \pm 31,87 \text{ nm}$ e distribuição uniforme de tamanho, como é destacada por meio do histograma das partículas, apresentando polidispersividade (PDI) de 0,95 (Figura 10(C)). A morfologia esférica das partículas produzidas por polimerização em emulsão é uma forma que o sistema encontra para minimizar sua energia livre superficial e é característica de nanopartículas de poliestireno, como foi observada por Shim e colaboradores (1999), durante a síntese de nanopartículas de PS livre de emulsificantes e utilizada por Geng e colaboradores (2012) para preparação de monocamadas automontadas de PS apresentando diâmetro médio das partículas de 769 nm e polidispersividade inferior a 3%. Também por Telford e colaboradores (2013) e Zhenxing e colaboradores (2011), por exemplo, com nanopartículas de PS de 200 nm de diâmetro médio. Na micrografia do látex de P(S-HEMA), Figura 10(B), observa-se partículas contendo protuberâncias em sua superfície, semelhante a um formato de partícula framboesa. Isso se ocorre devido à presença do 2-hidroxietil-metacrilato adicionado a síntese para formar o copolímero (P(S-HEMA)), gerando à formação de poli (HEMA) rico em domínios na superfície das esferas (SILVA, 2017).

As partículas de (P(S-HEMA)) tem diâmetro médio de $500 \text{ nm} \pm 18,95 \text{ nm}$ e apresenta-se como um sistema monodisperso, assim como foi evidenciado no histograma que mostra a distribuição do diâmetro médio das partículas (Figura 10(D)).

O histograma das partículas de PS apresenta uma distribuição de tamanho mais estreita, visto que essas partículas apontam uma morfologia mais esférica e regular em relação as partículas de P(S-HEMA) contendo uma certa rugosidade na superfície (GOODALL, *et al.* 1977). Com isto, esses fatos indicam que a síntese com as condições de parâmetros empregados foi bem sucedida e permitiu a formação das nanopartículas de PS e P(S-HEMA).

Vimos que há uma grande diferença entre as morfologias dos látex de PS e P(S-HEMA). A adição de um comonômero hidrofílico tem influência não apenas no tamanho das partículas,

mas também na composição da superfície, na nucleação das partículas e na cinética de polimerização. A velocidade de polimerização em emulsão livre de surfactante do estireno contendo HEMA como comonômero é maior do que a contendo apenas estireno, o HEMA como monômero solúvel em água determina o comportamento inicial da polimerização, pois a reação tem início em meio aquoso com a decomposição do persulfato de potássio, e, todos esses fatores influenciam na morfologia das partículas, estando diretamente relacionado as diferenças morfológicas de ambos os látex (TOWEY, *et al.* 1990) (HERZOG, *et al.* 1998).

A morfologia para a preparação de um substrato SERS pode contribuir significativamente na aplicação de superfície rugosas para utilização em SERS. Além disso, a integração de diferentes nanoestruturas em um substrato e a modificação com moléculas de reconhecimento específicas podem tornar o efeito SERS muito mais atrativo e eficiente, visto que existem ainda algumas desvantagens intrínsecas a esse efeito. Por exemplo, o tempo de aquisição do SERS é longo e é difícil de obter imagens de grandes áreas. Uma plataforma que combine as vantagens únicas de reprodutibilidade e a alta sensibilidade do SERS, pode proporcionar uma maior seletividade e consequentemente uma maior precisão, melhorando a detecção.

5.1.1 Espalhamento Dinâmico de Luz

Os valores para diâmetro médio das nanopartículas de PS e P(S-HEMA) obtidos por DLS encontram-se expressos na Tabela 3. Constata-se que o diâmetro médio das partículas adquiridos por DLS estão superiores aos valores obtidos por MEV, esse fato ocorre pois no DLS é medido o raio hidrodinâmico da partícula, no qual, o cálculo realizado pela análise de DLS considera partículas esféricas e medida do raio hidrodinâmico destas partículas, e, por isso há uma pequena diferença entre tamanho do diâmetro médio das partículas medidas por DLS e aquelas adquiridas por imagem de microscopia, que avalia o diâmetro seco das partículas. Assim, a razão entre os diâmetros hidrodinâmico e seco condiz com resultados reportados na literatura para nanopartículas de PS (ANNUNZIATA, *et al.* 2011).

O valor médio obtido pelo DLS para o diâmetro das nanopartículas de PS foi de $907 \pm 2,5$ nm e para as nanopartículas de P(S-HEMA) o diâmetro médio foi de $580 \pm 1,5$ nm.

Quando os radicais oligômeros são gerados homogeneamente na fase aquosa em massa, estes crescem até um tamanho crítico e precipitam para formar micelas de oligômeros, com isso os radicais recém gerados podem ser capturados pelas micelas e iniciam o processo de polimerização, onde as partículas do polímero em crescimento são formadas. Como não há a

presença de tensoativos nesse tipo de polimerização, as partículas de polímero não são estabilizadas, e neste caso, se colidem para formar partículas maiores à medida que a polimerização prossegue. Assim, partículas de polímeros obtidas mediante polimerização em emulsão livre de surfactante apresenta geralmente, tamanho de diâmetro de partículas maiores.

O PDI das partículas de P(S-HEMA) foi de 0,67, usando um índice de refração de 1,3. Quando o valor de PDI é menor que 1,05 o sistema de partículas pode ser considerado monodisperso. Os valores de PDI obtidos foram inferiores a 0,96, indicando que essas esferas de polímeros apresentaram um sistema monodisperso.

Tabela 3 – Valores obtidos para tamanho de partículas e dados do rendimento reacional: R = rendimento; TS = Teor de sólidos

Amostras	Análise				
	MEV (nm)	DLS (nm)	PZ	T (%)	R (%)
PS	898 ± 32	907 ± 30	-37,3 ± 2,9	10,52	78,50
P(S-HEMA)	500 ± 19	580 ± 20	-53,5 ± 3,7	30,80	96,10

5.1.2 Potencial Zeta (PZ)

Os valores de PZ (Tabela 3) estão associados à carga superficial das nanopartículas no sistema e afeta como as partículas se repelem ou se atraem umas às outras em um líquido. Onde os valores de PZ obtidos para as nanopartículas de PS e P(S-HEMA) foram de $-37,34 \pm 2,85$ mV e $-53,50 \pm 3,74$ mV. Em concordância com valores encontrados na literatura e geralmente obtidos para esses tipos de látex (SHIRAHAMA, *et al.* 1984) (CARDOSO, *et al.* 1998). A carga negativa dessas partículas de látex é obtida pois as partículas estando dispersas em água, vários dos íons do potássio (presente no iniciador KPS) são dissociados da partícula, dissolvendo-se na água e contribuindo para um excesso de cargas positivas sobre as negativa, conferindo para as partículas de PS e P(S-HEMA) uma carga global negativa, indicando que a superfície das partículas está negativamente carregada em meio aquoso.

O Potencial Zeta é determinado pela diferença de potencial entre a superfície de uma partícula em suspensão e o fluido adjacente. Esse potencial ocorre na região de dupla camada

elétrica formada ao redor da partícula em suspensão. Assim, o PZ das nanopartículas de PS e P(S-HEMA) pode diferir devido às diferenças em suas propriedades químicas e estruturais. Os grupos carboxílicos no P(S-HEMA) são capazes de interagir com os íons em solução e criar uma carga superficial negativa, resultando em um PZ mais negativo. Por outro lado, para nanopartículas de PS, a ausência de grupos funcionais ativos tende a favorecer um PZ mais próximo de zero (SHIRAHAMA, *et al.* 1984).

Além disso, o PZ tem um impacto significativo em sistemas de auto-ordenamento em escala nanométrica. Em sistemas auto-organizados envolvendo partículas sobre superfícies, o PZ pode influenciar a disposição e a estrutura das partículas na superfície, afetando a formação de padrões ordenados. Um PZ mais alto pode indicar que as forças repulsivas entre as partículas são fortes, promovendo uma estrutura estável e ordenada, auxiliando na distância entre as partículas e a densidade de carga na superfície.

Assim, sua magnitude evidencia estabilidade coloidal, onde uma carga superficial (negativa ou positiva) elevada das partículas em suspensão aponta uma tendência à repulsão eletrostática, evitando a formação de agregados. Análises com PZ superior a valores ± 30 mV, tal qual é mostrado nos resultados obtidos para as nanopartículas denota uma estabilidade coloidal a longo prazo (DELGADO, *et al.* 2018).

5.1.3 Medida de ângulo de contato

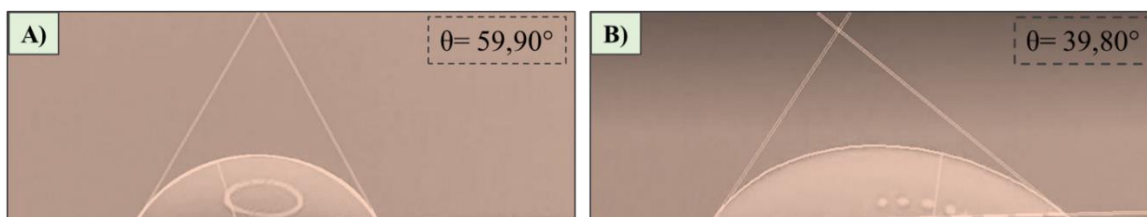
A Figura 11(A) e (B) mostra o resultado da aquisição de imagem e da medida do ângulo de contato entre os látex de PS(A) e P(S-HEMA)(B) e o substrato de vidro limpo realizada em triplicata. É possível observar que o látex de PS(A) molha a superfície do vidro com um ângulo de $59,90^\circ \pm 8,04$. Para o látex de P(S-HEMA)(B) foi medido um ângulo menor ($39,80^\circ \pm 7,96$), este fato pode estar relacionado as propriedades das superfícies e diferenças químicas desses materiais, podendo influenciar consideravelmente na interações entre as nanopartículas de látex e a superfície do vidro. (MCCLEMENTS, *et al.* 2018).

O PS é um polímero não iônico e apolar, de forma que sua superfície não apresenta grupos funcionais carregados, resultando em uma interação limitada. Desse modo, a superfície do PS é menos molhável e conseqüentemente exibe um ângulo de contato relativamente maior que não molha bem superfícies apolares, como é o caso do vidro. Isso ocorre porque as superfícies apolares tendem a formar uma camada de vapor ou bolha de ar entre a partícula e o líquido, originando um ângulo de contato mais alto.

O P(S-HEMA) apresenta grupos carboxílicos em sua composição e a presença desses grupos permite a obtenção de uma superfície mais hidrofílica, polar e atrativa, levando a um ângulo de contato menor. Tendo em vista que, esses grupos podem formar ligações de hidrogênio com moléculas de água, facilitando a formação de uma camada de líquido mais uniforme sobre a superfície, reduzindo o ângulo de contato e melhorando a molhabilidade da superfície.

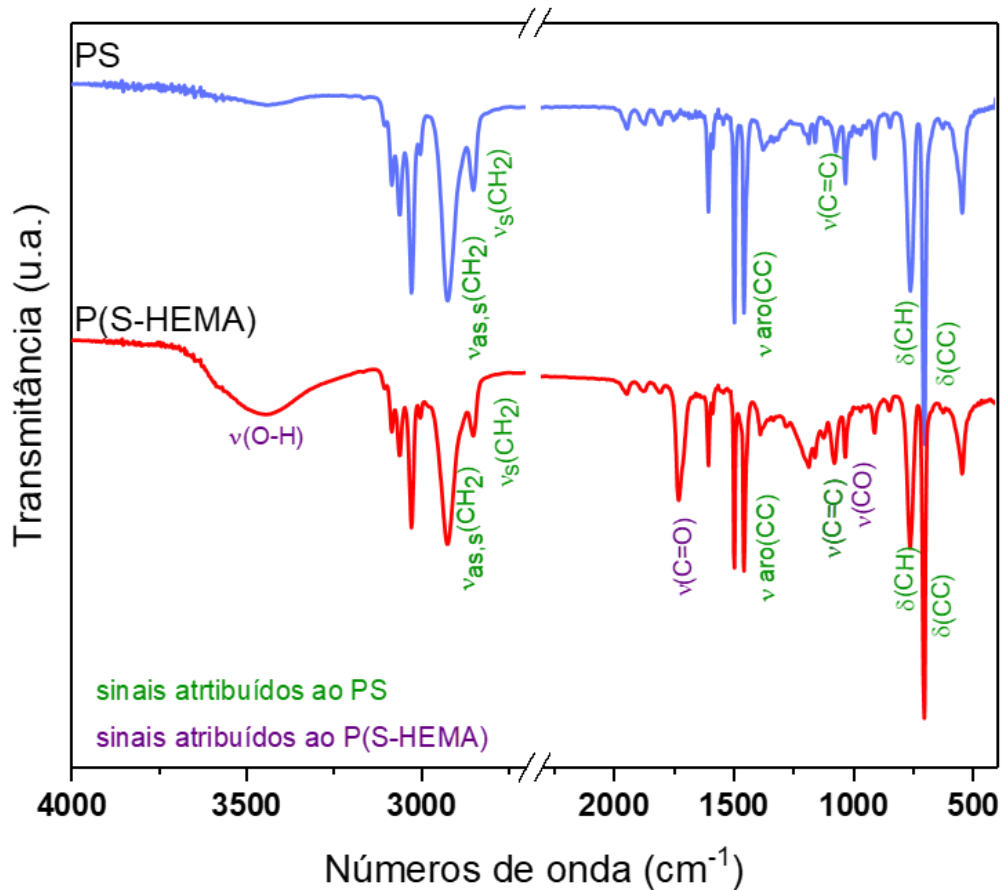
Ambos os látex tendem a se espalhar de maneira uniforme na superfície do substrato de vidro, porém, o látex de P(S-HEMA) que apresenta menor ângulo de contato, pode originar um filme mais homogêneo, visto que o menor ângulo de contato indica uma maior afinidade com o vidro e pode contribuir significativamente na formação e geração de um filme mais compacto de látex. Além disso, os resultados indicaram uma boa molhabilidade para os coloides sobre a superfície do substrato, tendo em vista que ângulos de contato inferiores a 90° são considerados significativos quando um líquido apresenta compatibilidade suficiente com a superfície de um substrato sólido para se espalhar sobre ela (MERCHANT, *et al.* 2018).

Figura 11 - Medidas de ângulo de contato de PS (A) e P(S-HEMA) (B)



5.1.4 Espectroscopia na região do Infravermelho

A Figura 12 exibe os espectros de infravermelho dos látex seco, destacando os modos vibracionais das bandas características do homopolímero poliestireno (PS) e as bandas correspondentes ao copolímero P(S-HEMA). Os espectros de PS e P(S-HEMA) apresentam as principais frequências de absorção, que confirmam a identidade do composto e estão consistentes com os modos de vibração descritos em estudos anteriores sobre essas substâncias, descritos na Tabela 4.

Figura 12 - Espectros de Infravermelho do látex de PS e P(S-HEMA)

A Tabela 4 apresenta os principais sinais dos espectros vibracionais envolvidos nos látex de PS e P(S-HEMA), o qual pode ser observado de acordo com a Figura 12 que mostra as atribuições dos modos vibracionais que foram registrados na faixa de 500 a 4000 cm^{-1} . Relacionando os dados encontrados experimentalmente com aqueles observados na literatura (LIANG, *et al.* 1958) (STEVENSON, *et al.* 1987).

Tabela 4 – Principais atribuições dos espectros de infravermelho obtidos para os látex de PS e P(S-HEMA) em comparação com a literatura

Atribuições	Número de onda/ cm^{-1}		
	PS	P(S-HEMA)	Ref
$\delta(\text{CC})_{(1)}$	690	700	(SHIM, <i>et al.</i> 2008)
$\delta(\text{CH})_{(1)}$	760	760	
$\nu(\text{CO})_{(2)}$	-	1008	
$\nu(\text{C}=\text{C})_{(1)}$	1076	1084	
$\nu_{\text{aro}}(\text{CC})_{(1)}$	1450	1452	

$\nu(\text{C=O})$	-	1724	(ABD EL MONGY, <i>et al.</i> 2009)
$\nu_s(\text{CH}_2)$ (1)	2854	2845	STEVENSON, <i>et al.</i> 1987).
$\nu_{as,s}(\text{CH}_2)$ (1)	2920	2926	
$\nu(\text{O-H})$ (2)	-	3450	

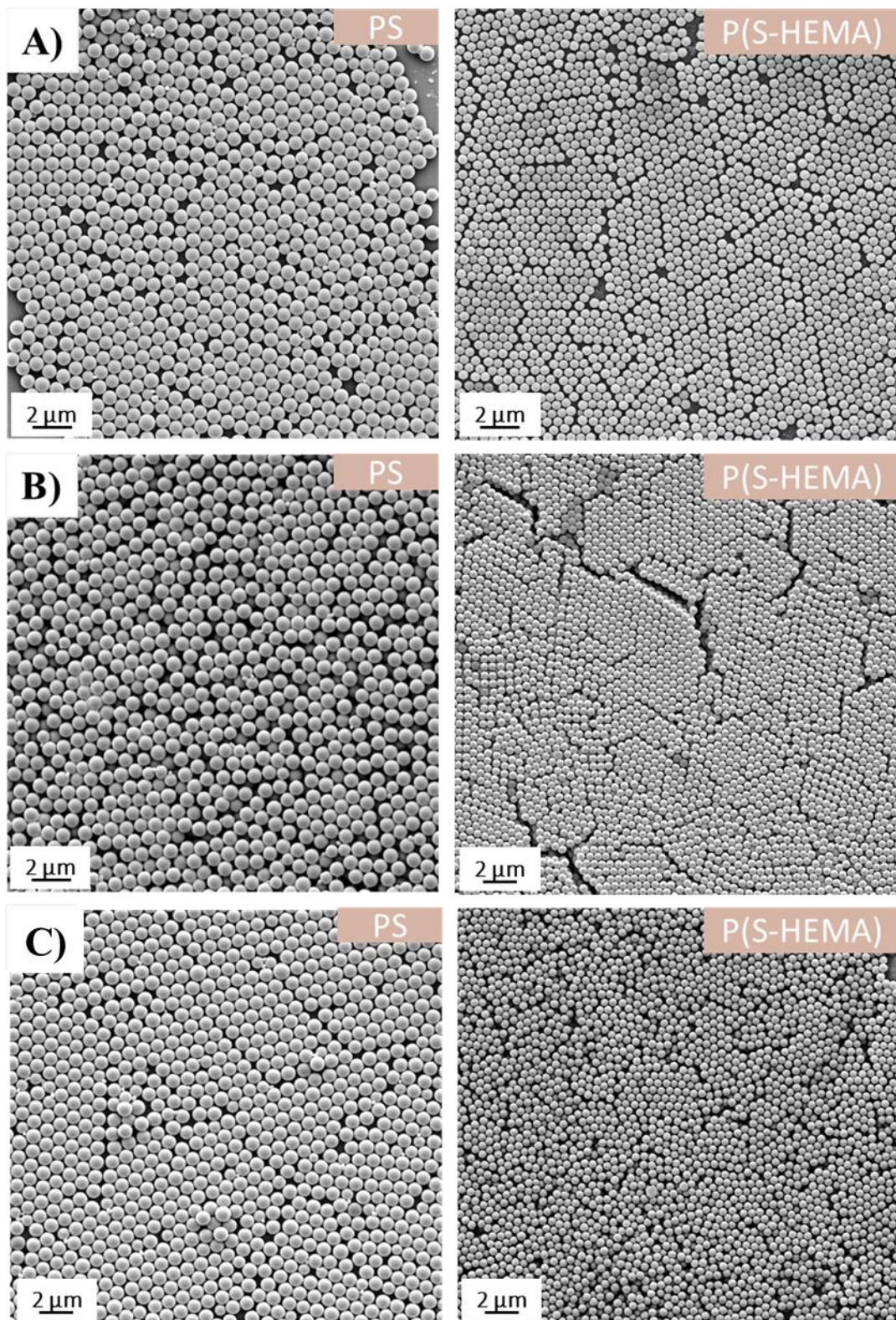
(1) Atribuídos ao poliestireno e (2) ao poli(estireno-co-2-hidróxi-etil-metacrilato)

5.2 Preparação dos filmes de látex de PS e P(S-HEMA)

A preparação de filmes auto-ordenados de nanopartículas de látex é utilizada neste trabalho, no intuito de criar uma superfície de deposição para AgNPs. Busca-se a comparação e avaliação de filmes de nanopartículas de látex de morfologias e tamanhos diferentes obtidos pela metodologia proposta, já que estes aspectos contribuem significativamente na formação de filmes auto-organizados, onde, por exemplo, esferas de diâmetro maiores por terem alta qualidade e velocidade de deposição rápida apresentam uma maior dificuldade em formar arranjos ordenados, podendo influenciar diretamente na compactação do filme e na interação com o substrato, assim como morfologias das nanopartículas e suas diferenças relacionadas as propriedades químicas e estruturais. Os resultados de PZ e medida de ângulo de contato mostram a possibilidade de um filme mais homogêneo para P(S-HEMA) devido às suas características estruturais. A presença de grupos funcionais ativos em P(S-HEMA) permite um PZ maior, melhor molhabilidade e menor ângulo de contato (YUANYUAN, *et al.* 2010).

A seguir estão os resultados das micrografias dos filmes (Figura 13) obtidos por meio das diferentes metodologias: método da superfície aquosa (SA) (A), método de auto-ordenamento espontâneo (AE) (B) e método de dip coating (C). Entretanto, essas técnicas não foram utilizadas na produção dos filmes duplamente auto-organizados destinados ao uso em SERS.

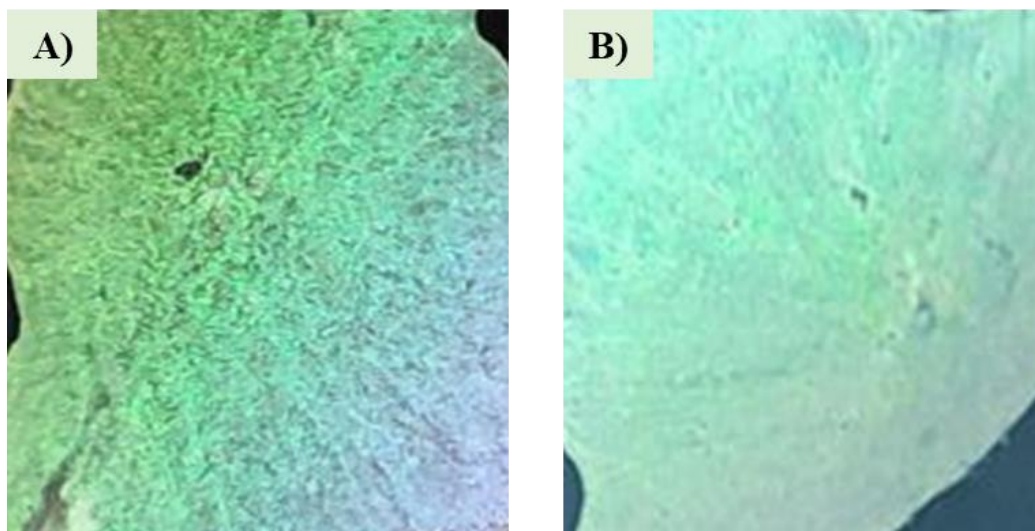
Figura 13 – Micrografias dos filmes de nanopartículas de látex obtidos por método da superfície aquosa (SA) (A), método de auto-ordenamento espontâneo (AE) (B) e método de dip coating (C).



5.2.1 Filmes de látex auto-ordenados por spin coating

As dispersões de PS e P(S-HEMA) resultantes da reação de polimerização, são líquidos brancos e opacos, o que indica a formação de partículas com tamanho suficiente para espalhar luz visível. Essas dispersões foram utilizadas para a preparação de filmes auto-organizados pelo método de spin coating. A seguir, estão as fotografias dos filmes obtidos.

Figura 14 - Filmes auto-ordenados de nanopartículas PS (A) e P(S-HEMA) (B) por spin coating



As Figuras 14 (A) e (B) mostram os filmes de PS e P(S-HEMA) nos substratos após a secagem das dispersões por evaporação da água em temperatura ambiente, originando os macrocristais. Esses macrocristais foram verificados apenas pela observação das imagens, tendo em vista que os padrões de cores são consistentes e regulares, o que sugere uma estrutura ordenada. Os filmes auto-organizados formam domínios de tamanho nanométrico que apresentam uma estrutura coloidal uniforme, densa e ordenada.

De acordo com as fotografias em iluminação natural, é possível verificar que as superfícies dos sólidos desses filmes apresentam uma característica brilhante, onde pode ser visto várias cores produzidas por iridescência. Essa característica brilhante das amostras apontam uma superfície plana de nanoestruturas ordenadas das nanopartículas de látex (LI, *et al.* 2018).

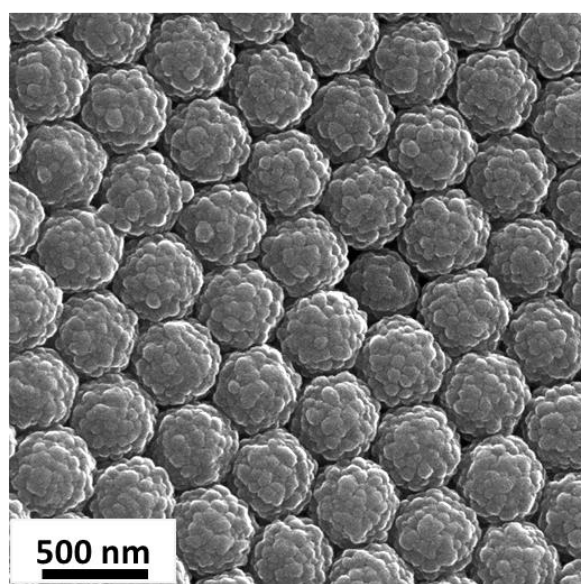
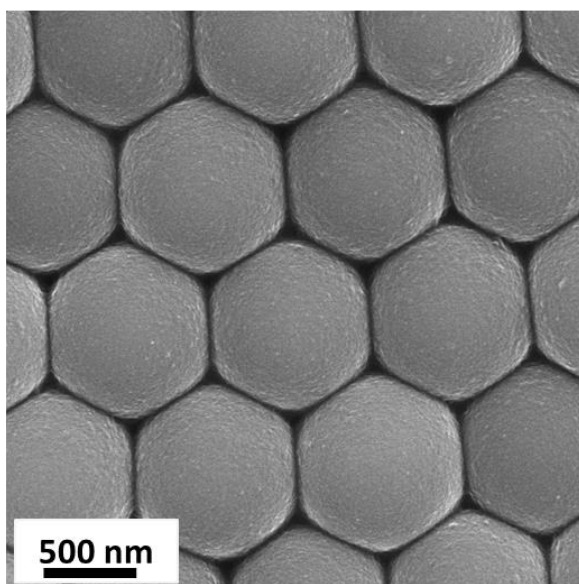
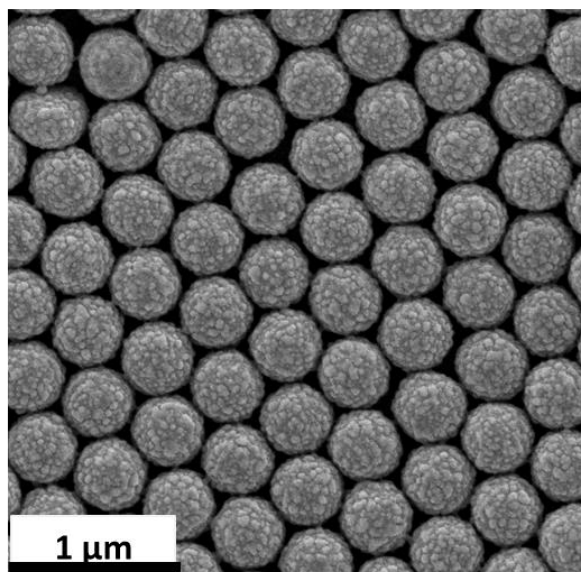
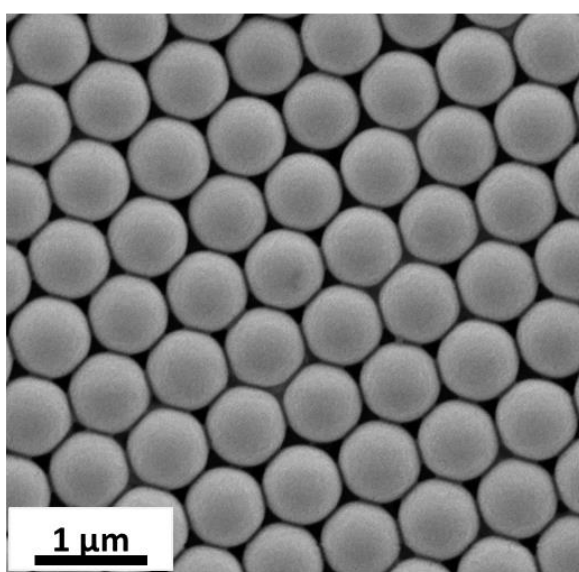
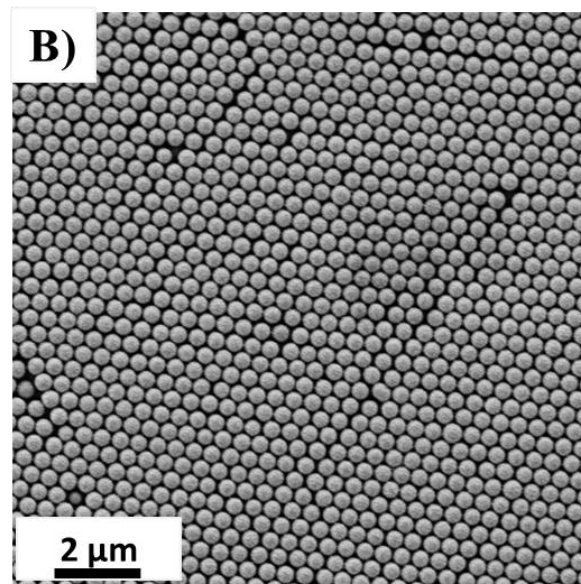
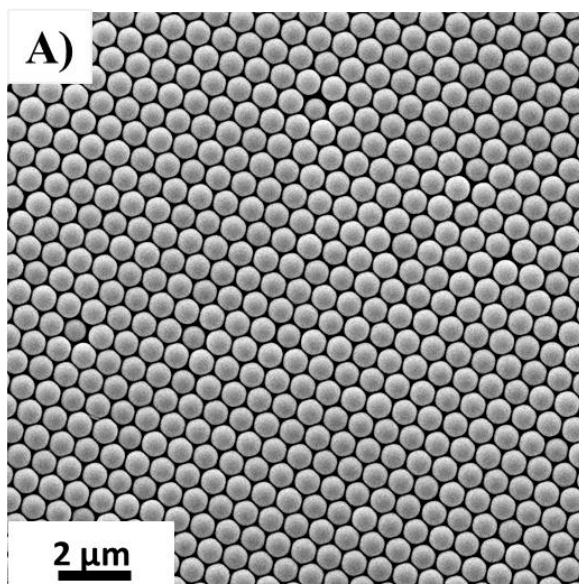
A partir das Figuras é possível verificar no substrato de vidro a variação da cor do sólido com o ângulo de observação. Esse resultado confirma que a interferência entre a luz difratada por diferentes planos do material é a responsável pelas cores observadas para esse caso, descartando possibilidades como fluorescência e absorção da luz. Tais fatos confirmam a obtenção dos filmes por meio das condições de preparação usadas e também indica que estes

foram formados como consequência de diferentes orientações dos arranjos das esferas (WANG, 2004).

5.2.2 Microscopia eletrônica de varredura

As Figuras 15 (A) e (B) mostram as micrografias dos filmes de nanopartículas de PS e P(S-HEMA) obtidos pelo método de spin coating

Figura 15 - Micrografias dos filmes de PS (A) e P(S-HEMA) (B) em três magnificações distintas



Um filme monocamada é bastante delicado, e qualquer vibração física, especialmente durante o processo de transferência das esferas para o substrato e a secagem do filme no substrato, pode comprometer significativamente a formação do filme, resultando em imperfeições.

Para a formação do filme empregou-se o uso de etanol na preparação da amostra com as nanopartículas, visto que ele é altamente volátil e apresenta constante dielétrica baixa, podendo favorecer a formação de sistemas auto-organizados.

A Figura 15 (A) mostra micrografias das nanopartículas de PS. As imagens revelam partículas esféricas distribuídas de forma uniforme em uma monocamada, sem vacâncias visíveis entre elas. Isso indica a ausência de defeitos no filme, evidenciando uma boa organização e um certo grau de auto-ordenamento.

A Figura 15 (B) ilustra a superfície das partículas de P(S-HEMA). A imagem de microscopia revela partículas esféricas com superfície rugosa, organizadas em monocamadas e distribuídas uniformemente na superfície da lâmina. Esse arranjo auto-organizado demonstra que as nanopartículas de P(S-HEMA) são altamente monodispersas e compactas em seu filme monocamada nanométrico, com domínios de espaços vazios e distâncias maiores consideravelmente reduzidos. Esses resultados indicam que a metodologia empregada favoreceu a formação de sistemas organizados em monocamadas tanto para as nanopartículas de PS quanto para as nanopartículas de P(S-HEMA).

Pisco e colaboradores (2017) também prepararam filmes automontados de esferas de látex de diâmetro médio entre 200 nm a 1000 nm na interface ar-água em arranjos hexagonais compactos e ordenados cobertos por uma camada de ouro e demonstraram ser um ótimo substrato SERS, além de ser um procedimento simples e barato.

A Figura 16 (A) exhibe o filme formado pelas partículas de PS. A imagem de MEV apresenta um campo representativo entre as micrografias analisadas, revelando um auto-ordenamento perfeito com domínios de arranjo hexagonal, onde as partículas também assumem uma forma hexagonal. Nesse arranjo, cada partícula é circundada por seis outras, resultando em um empacotamento denso que otimiza o uso do espaço. As bordas lisas e altamente esféricas das partículas confirmam a morfologia esperada para as partículas de PS. Além disso, é notável que as partículas exibem uma forma hexagonal devido à sua formação inicial esférica, influenciada pela intensa pressão capilar durante a secagem da dispersão de látex e pela plasticidade das partículas (LIN, *et al.* 1995).

O filme de látex obtido exhibe características de macrocristais auto-ordenados, formando domínios monocristalinos com extensão macroscópica. Esse efeito é alcançado sem a necessidade de tratamento prévio da amostra, uso de procedimentos especiais, dispositivos específicos ou substratos funcionalizados para orientação das estruturas. A formação dos domínios compactados pode ser atribuída a dois fatores principais. Primeiramente, com a evaporação do solvente, neste caso, a água, a tensão superficial na borda da gota aumenta, intensificando a repulsão eletrostática entre as partículas. Em segundo lugar, durante a evaporação da água, as partículas tendem a se orientar de maneira a minimizar a energia do sistema, influenciadas pela capilaridade, onde as forças de coesão facilitam a atração entre as moléculas do líquido, resultando na formação de domínios compactos. Além disso, a baixa dispersão de tamanho das partículas contribui para esse fenômeno. Assim, emerge uma estrutura ou padrão que se desenvolve espontaneamente a partir das interações locais entre as partículas.

A monocamada coloidal de P(S-HEMA) (Figura 16 (B)) mostrou também uma auto-organização do filme de látex, com empacotamento hexagonal das partículas, onde a micrografia de alta magnificação mostra a distribuição perfeita das partículas sem a presença de defeitos, consistindo em um filme ordenado distribuído de maneira bastante uniforme no substrato e de superfície rugosa das partículas. A técnica de spin coating permite a fabricação de filmes mais finos, com maior controle de espessura, maior reprodutibilidade e menor tempo de fabricação.

Deve ser mencionado ainda que a técnica de revestimento por rotação permitiu a obtenção de filmes de monocamadas para ambos os látex, apresentando uma superfície limpa e organizada, onde a melhor taxa de rotação para se obter tais características foi de 3000 rpm, garantindo uma área de cobertura satisfatória com uma menor quantidade de defeitos e um filme mais compacto, bem como já foi investigado por Zhang e colaboradores (2019) que realizarem o mesmo experimento para o látex de PS obtendo bons resultados para a formação de uma monocamada com a taxa de rotação de 2000 rpm e tempo de 60 segundos.

Como se sabe, a velocidade de rotação afeta a força centrífuga aplicada a suspensão dos látex, assim como a velocidade e a turbulência característica do ar imediatamente acima dela. Existe um equilíbrio entre a força aplicada para cisalhar a suspensão dos látex em direção à borda dos substratos e a taxa de secagem que afeta a viscosidade da suspensão coloidal, assim, baixas velocidades de rotação podem destruir o equilíbrio da força que atua nas nanopartículas de látex contribuindo por diminuir a taxa de evaporação dessas suspensões e permitindo com

que as nanopartículas se agreguem e se arranjam de maneira desordenada com muita facilidade. À medida em que se aumenta e encontra a velocidade de rotação ideal, a força e a taxa de evaporação aumenta até o ponto em que as nanopartículas mantenham o equilíbrio da força.

Com o aumento da velocidade de rotação, uma massa de suspensão coloidal é expelida pela força centrífuga e a evaporação aumenta de maneira que a viscosidade da suspensão dos látex também aumenta acentuadamente, mudando o ambiente das nanopartículas e tornando mais difícil a movimentação deles de forma livre, contribuindo para que se fixem aleatoriamente no substrato antes de serem dispostas em um ordenamento.

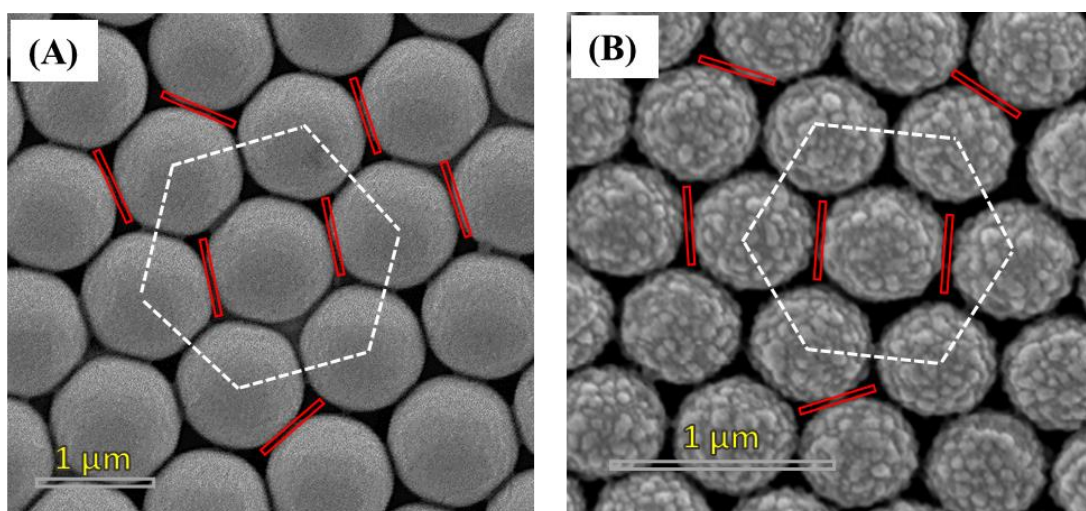
A literatura aponta que nanopartículas de látex de P(S-HEMA) tem se mostrado capazes de formar espontaneamente macrocristais auto-ordenados (CARDOSO, *et al.* 2001), e, são denominados cristais coloidais ou macrocristais, uma vez que ordenam-se de forma análoga aos íons no interior do sólido cristalino (CARDOSO, *et al.* 1999). Isso ocorre devido as cadeias hidrofílicas ricas no homopolímero metacrilato presentes na superfície das partículas, as forças capilares de adesão, bem como a natureza, composição química e distribuição dos elementos na superfície das partículas de P(S-HEMA) que são considerados fatores importantes que influem no auto-ordenamento da mesma na formação desses filmes.

A respeito das informações à cerca do uso de látex para a formação de macrocristais, algumas características têm sido importantes. Como por exemplo: uma maior uniformidade química e morfológica é obtida a partir do fracionamento do látex por sedimentação, originando filmes sólidos macrocristalinos com um grau de organização superior ao látex não fracionado, existe uma distribuição assimétrica dos elementos químicos em cada partícula, as espécies químicas oriundas do iniciador $K_2S_2O_8$ também apresentam distribuição assimétrica: o sulfato distribuído por toda a extensão de volume das partículas e o potássio em maior quantidade na superfície. Permitindo que a distribuição global de carga nas partículas pode ser considerada do tipo core-shell, onde o “caroço” é negativo devido ao enxofre e a “casca” positiva relativa ao potássio.

Assim, devido a distribuição assimétrica de elementos químicos e espécies carregadas, as partículas de P(S-HEMA) passaram a ser consideradas dipolos ou multipolos elétricos, permitindo a formação de um arranjo ordenado de dipolos à medida que as partículas se aproximam e os dipolos vizinhos interagem. Tais interações contribuem significativamente para a auto-organização das partículas. As imagens de MEV de alta ampliação (Figura 16 A e B) exibiram empacotamento próximo das partículas.

Dessa maneira, tais resultados indicaram que as nanopartículas de PS e P(S-HEMA) pelo método de auto-montagem possuem a capacidade de se auto-organizarem em uma série de nanoestruturas de ilhas de monocamadas na superfície do substrato, apresentando tamanho de 15 nm para o látex de PS e 10 nm para P(S-HEMA). E, pode-se afirmar que os filmes auto-organizados de látex foram obtidos com êxito pela metodologia proposta, através de método de baixo custo e eficiente, podendo ser bastante favorável para uso em sistemas nanoestruturados de detecção altamente sensível.

Figura 16 - Micrografia das partículas de PS (A) e P(S-HEMA) (B) mostrando o arranjo



5.3 Adição de nanopartículas de prata (AgNPs) sobre os filmes

As nanopartículas de prata foram caracterizadas conforme itens a seguir para o seu uso na formação dos substratos SERS a partir de nanopartículas de látex.

5.3.1 Potencial Zeta

O valor de potencial Zeta adquirido para o coloide foi de $+32,04 \pm 3,14$ mV. Esse valor está associado com a carga superficial das nanopartículas no sistema. Além disso, sua magnitude enfatiza a estabilidade coloidal para este caso. Uma carga superficial (positiva ou negativa) elevada das superfícies em suspensão aponta uma tendência à repulsão eletrostática, impedindo a formação de agregados. Medidas de PZ com valor absoluto superior a +30 mV,

como é o caso da análise adquirida para as AgNPs, geralmente estão relacionadas a uma estabilidade coloidal a longo prazo (DELGADO, *et al.* 2013) (GAKIYA, *et al.* 2018).

As nanopartículas de prata sintetizadas sem agentes estabilizantes, na maioria das vezes apresentam potencial zeta negativo, diferentemente do que ocorreu para essas medidas, o valor positivo que acabou prevalecendo mesmo com a diluição do sistema pode ser atribuído à natureza catiônica das cadeias de quitosana, devido a existência de grupos NH_3^+ (GAKIYA, *et al.* O PZ de $+32,04 \pm 3,14$ mV, mostrou que este valor representa uma evidencia de estabilidade coloidal para as partículas.

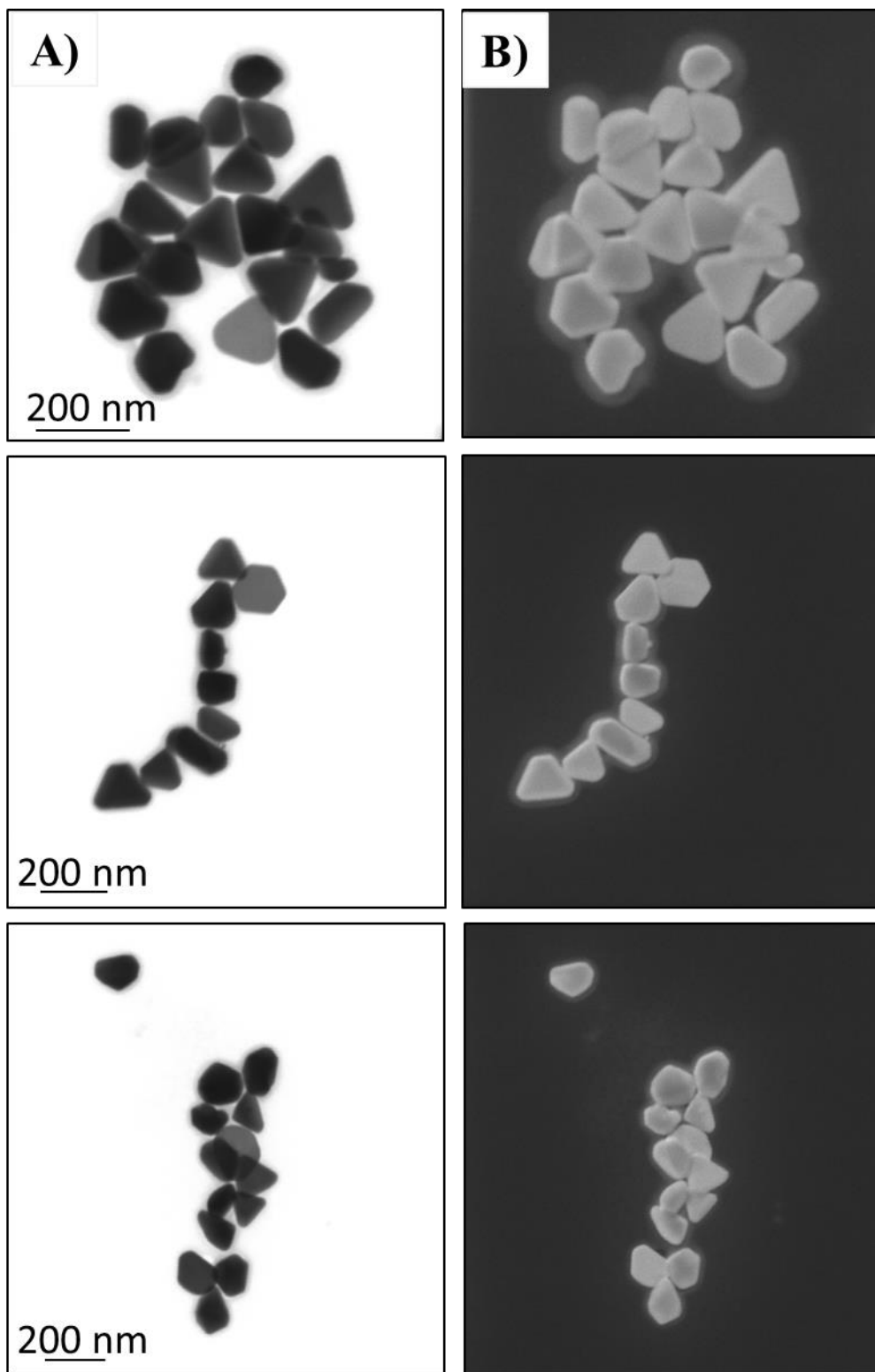
5.3.2 Microscopia Eletrônica de Transmissão por Varredura (STEM)

A Figura 17 mostra a imagem de STEM das partículas de prata, campo claro (Figura A) e campo escuro (Figura B) e a Figura 18 apresenta uma imagem na qual as partículas foram discriminadas por morfologia e a porcentagem de cada morfologia observada em todas as imagens analisadas.

As morfologias AgNP foram classificadas em seis categorias com ampla distribuição de tamanho de partícula, variando de 160,78 a 134,56 nm. Os valores de diâmetro de Ferret das partículas analisadas encontram-se na Tabela 5. As morfologias observadas foram: formato de esfera, trapezoidal, triangular, retangular, pentagonal ou hexagonal e em forma de bastonete. Os tamanhos considerados para o histograma (Figura 19) foram os comprimentos no eixo de dimensão máxima (FDmax) de cada partícula, independente da morfologia. A FDmax média para todas as partículas medidas foi de $141,29 \pm 24,76$ nm.

O cálculo do tamanho da partícula por DLS considera apenas partículas esféricas. A diferença entre os diâmetros médios obtidos por DLS e o diâmetro médio adquirido para as partículas pelas análises das imagens de STEM foi de 11,38 nm. Essa divergência entre os diâmetros encontrada pelos diferentes métodos se deve aos efeitos de solvatação, visto que à medida em que as análises por imagem de microscopia avaliam o diâmetro seco das nanopartículas, medidas de DLS trata do diâmetro hidrodinâmico.

A razão encontrada relativamente alta entre os diâmetros hidrodinâmico e seco condiz com resultados reportados na literatura para nanopartículas de prata estabilizadas por quitosana e ainda pode ser considerado um indicativo da adsorção as moléculas de quitosana na superfície das NPs (MEHR, *et al.* 2015).

Figura 17 -Micrografia por STEM das AgNPs**Figura 18** - nanopartículas de prata coloridas em diferentes morfologias e gráfico pizza identificando a porcentagem de cada morfologia referente a sua cor

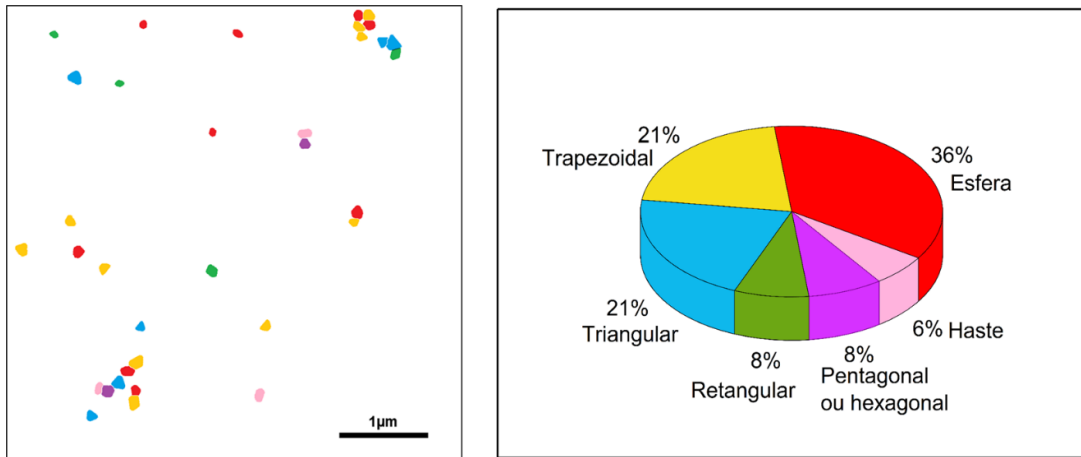


Figura 19 - Distribuição do diâmetro de Ferret das nanopartículas

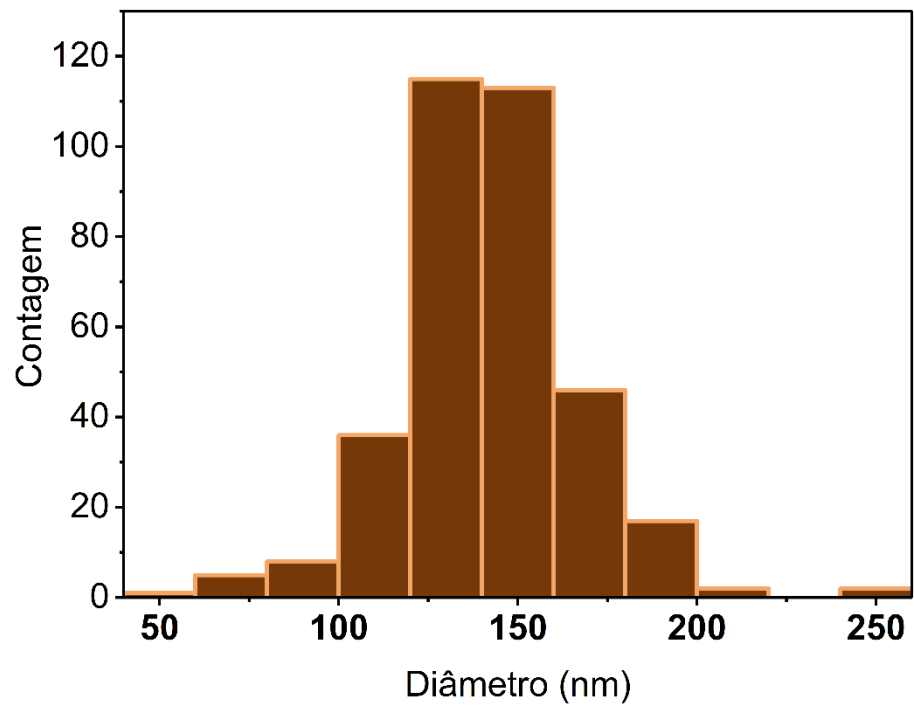


Tabela 5 – Morfologias das AgNPs e seus respectivos diâmetros máximos e mínimos

Morfologias	FDmax (nm)	FDmin (nm)
Esfera	134,56 ± 24,42	109,23 ± 21,46
Trapezoidal	149,51 ± 20,08	109,04 ± 17,60
Triangular	136,32 ± 21,01	114,01 ± 18,35

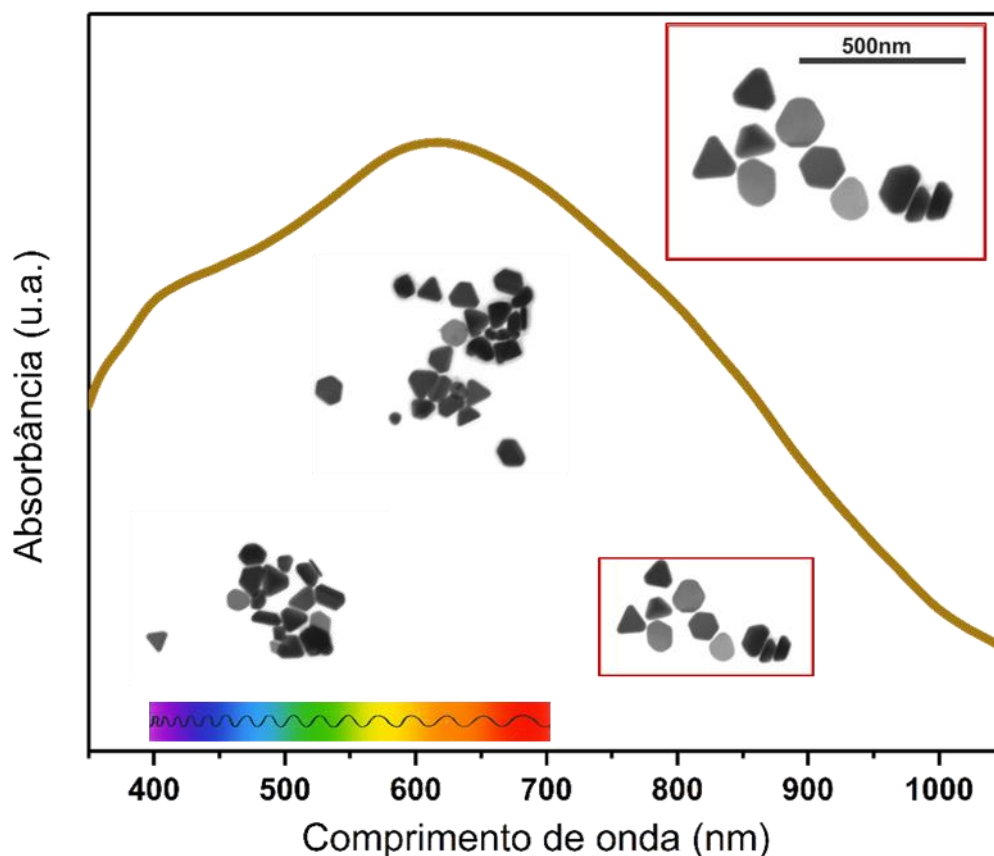
Retangular	$139,67 \pm 20,88$	$100,70 \pm 14,70$
Hexagonal	$149,95 \pm 15,83$	$127,43 \pm 12,98$
Haste	$160,78 \pm 43,97$	$83,76 \pm 25,22$

5.3.3 Espectroscopia de Absorção UV-Vis

O espectro de absorção UV-Vis das AgNPs é ilustrado na Figura 20. O espectro exibe apresenta uma ampla banda de absorção que se estende do ultravioleta até ao infravermelho próximo (NIR), abrangendo a faixa de 400 a 800 nm. O máximo de absorção é observado em 620 nm com alta absortividade em 671 nm, que corresponde ao comprimento de onda do laser utilizado neste estudo. Este padrão é característico de amostras de AgNPs com diferentes tipos de morfologias e uma ampla distribuição de tamanho de partícula (JIANG, *et al.* 2003).

Metais nobres como a prata podem suportar ressonâncias plasmônicas das nanopartículas em regiões do espectro ultravioleta, visível e infravermelho próximo. Essas ressonâncias podem ser ajustadas variando-se o tamanho e a forma das nanopartículas.

Figura 20 - Espectro de absorção das nanopartículas de prata (AgNPs)

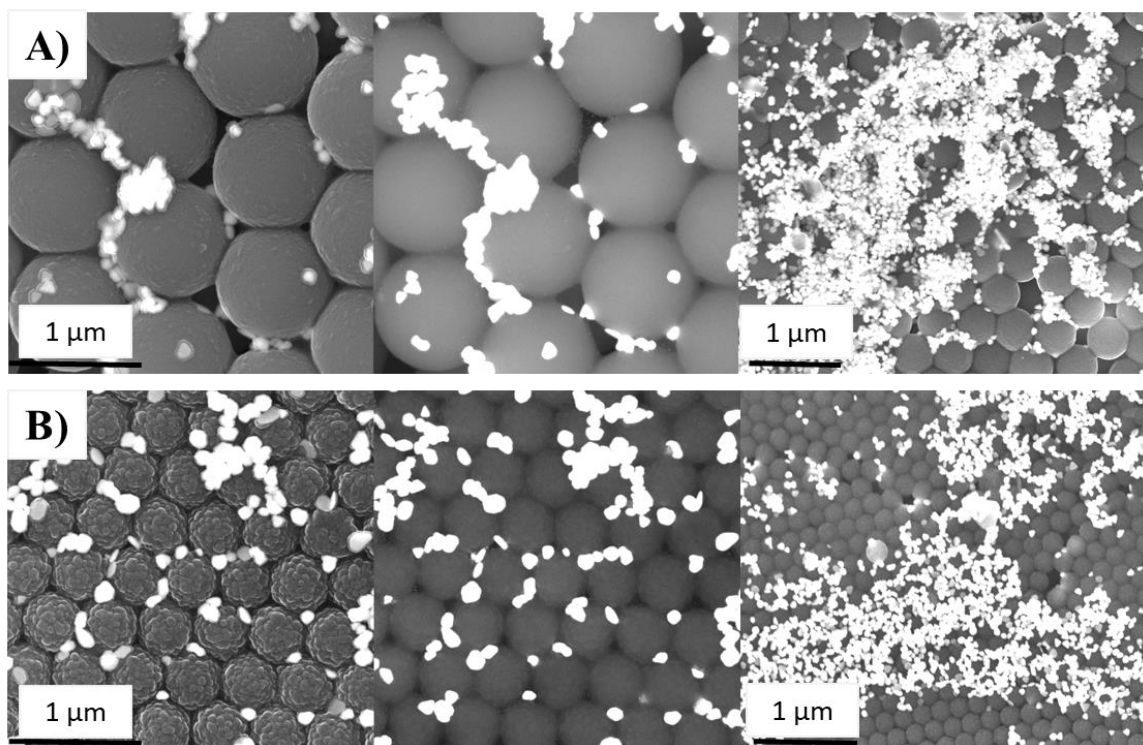


5.3.4 Filmes de látex/AgNPs duplamente auto-organizados - Microscopia Eletrônica de Varredura por Elétrons Retroespalhado

No filme de PS auto-ordenado, as micrografias por elétrons retroespalhados (Figura 21 (A)) revelam a presença de partículas pequenas características de AgNPs dispostas sobre o filme de látex. O diâmetro médio dessas partículas está próximo ao valor obtido pela análise de STEM dessas partículas (Figura 17). Além disso, é notável um brilho distinto nas partículas de AgNPs contrastando com o brilho das partículas de látex de PS organizadas. Esse contraste é evidenciado pelo sinal das AgNPs sobre o filme, resultado da diferença significativa no peso atômico entre a prata e o polímero de látex à base de carbono. O comportamento é o mesmo para os filmes de P(S-HEMA) auto-organizados (Figura 21 (B)) nos quais também foram incorporados AgNPs.

Observa-se ainda que, ao adicionar nanopartículas metálicas sobre os filmes de látex, a disposição das esferas na matriz permanece inalterada. Isso indica que a deposição das AgNPs não comprometeu a estrutura hexagonal dos filmes

Figura 21 - Imagens de MEV dos filmes duplamente auto-organizados de nanopartículas de látex e prata (A) AgNPs@PS (B) AgNPs@P(S-HEMA) adquiridas no modo de elétrons retroespalhados



As micrografias obtidas por elétrons retroespalhados indicam a presença de AgNPs sobre ambos os filmes. As AgNPs distribuídas nas superfícies dos substratos apresentam um brilho mais intenso, o que pode gerar um sinal mais forte na região correspondente à presença de prata. Esses resultados corroboram a hipótese de que a adição de nanopartículas de prata aos substratos de PS e P(S-HEMA) foi eficiente (YU, *et al.* 2013).

Essas partículas estão localizadas em várias áreas do substrato, tanto sobre quanto entre as nanopartículas, sugerindo uma distribuição aparentemente aleatória. Essa distribuição pode estar associada às condições de preparação, deposição e secagem do filme contendo as AgNPs. No entanto, a superfície mapeada revela uma distribuição consistente das partículas por toda a extensão da amostra. Além disso, é notável a presença de aglomerações de AgNPs, que também devem ser consideradas.

Desde que o efeito SERS foi descoberto em eletrodos de prata rugosos, muitos avanços foram realizados no desenvolvimento de substratos ativos de SERS altamente sensíveis com várias nanoestruturas geométricas. No entanto, o aprimoramento do sinal SERS de uma única partícula isolada tem sido relativamente limitado, e o efeito SERS por esses substratos de nanopartículas livres apresenta baixa reprodutibilidade e não uniformidade na distribuição e

propriedades de aprimoramento de *hot spots*, dificultando ainda na focalização do laser usado para excitar o processo SERS (WANG, *et al.* 2022).

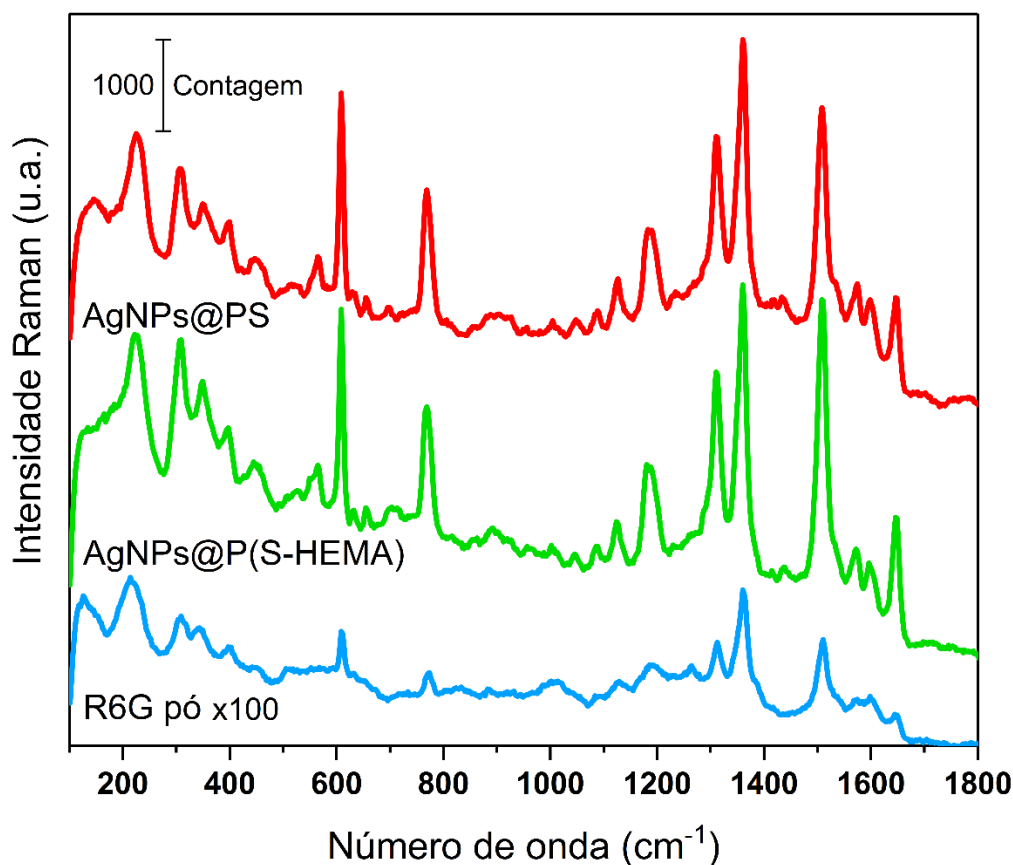
Nanopartículas metálicas rugosas sobre uma superfície auto-organizada podem exibir características físicas e químicas únicas, que diferem significativamente das propriedades de nanopartículas metálicas individuais. Esses efeitos distintos são atribuídos a efeitos de sinergias, confinamento quântico e acoplamento das partículas. Além disso, esses substratos ativos tendem a gerar efeitos eletromagnéticos mais intensos, resultando em sinais altamente amplificados para o analito, com excelente uniformidade e reprodutibilidade. O desempenho do substrato pode ser aprimorado ainda mais quando as nanopartículas são organizadas de forma otimizada nesta configuração.

5.3.5 Aplicação e teste dos filmes auto-organizados de nanopartículas de látex para utilização em sensor do tipo SERS

5.3.5.1 Teste com analito padrão rodamina 6G (R6G)

A Figura 22 apresenta os espectros Raman do pó R6G (0,198 M) e dos filmes automontados dos substratos AgNPs@PS e AgNPs@P(S-HEMA) imersos em uma solução de R6G 10^{-3} mol/L⁻¹, no intuito de comparar e avaliar a sensibilidade e o sinal SERS do corante adsorvido nos substrato SERS em relação à amostra sem substrato SERS. Os espectros foram obtidos entre as regiões de 200 cm⁻¹ a 1800 cm⁻¹, que corresponde à região onde aparecem as bandas vibracionais de R6G, conforme descrito na literatura (HILDEBRANDT, *et al.* 1984). Todos os espectros apresentam as bandas vibracionais típicas de R6G quando excitados com um laser de 671 nm e uma potência de laser de 10 mW (INGRAM, 2015).

Figura 22 - Espectros Raman da R6G sobre o substrato SERS Ag@PS, Ag@P(S-HEMA) e R6G em pó sem substrato SERS



As bandas características da R6G estão listadas na Tabela 6. A banda localizada em 612 cm^{-1} refere-se à flexão no plano do anel C-C-C. Outras bandas incluem 750 , 930 e 1089 cm^{-1} associadas à flexão fora do plano C-H; 1129 e 1186 cm^{-1} , relacionadas à flexão no plano C-H; e 1350 , 1422 , 1500 , 1574 e 1648 cm^{-1} atribuídas ao alongamento CC aromático. Essas bandas são claramente observadas em todas as concentrações analisadas. As posições das bandas estão em boa concordância com os dados da literatura (ZANG, 2021).

O efeito SERS foi investigado com base nos três modos vibracionais mais intensos: 750 cm^{-1} (flexão C-H fora do plano), 1350 cm^{-1} (estiramento C-C aromático) e 1500 cm^{-1} (estiramento C-C aromático). Esses modos estão detalhados na Tabela 6, confirmando a presença da molécula do corante.

Além disso, os substratos desenvolvidos neste estudo exibiram intensidade de espalhamento Raman quase 1000 vezes maior que a amostra de pó R6G, e o substrato AgNPs@P(S-HEMA) apresentou um sinal ligeiramente mais intenso que o AgNPs@PS.

Os espectros revelam a formação de bandas mais estreitas, com boa resolução espectral e um sinal mais claro para a R6G quando aplicada sobre o substrato SERS. Mesmo com uma concentração muito baixa, a R6G ainda é detectável. Em contraste, as bandas localizadas em

1023 cm^{-1} e 1178 cm^{-1} associadas as vibrações de (ν C-C) e (δ C-H), respectivamente, quase não aparecem no espectro da R6G sem o substrato SERS. Além disso, as demais bandas apresentam intensidade reduzida. É importante destacar que, mesmo com uma concentração significativamente maior de R6G (0,198 M) sem o substrato SERS, o espectro obtido foi de menor intensidade quando comparado ao espectro da R6G em baixa concentração sobre substrato SERS.

No substrato ativo, uma baixa concentração de R6G resultou um efeito aprimorado na banda de 1500 cm^{-1} , uma das principais bandas características do corante, também utilizada em estudos anteriores para determinação do AEF (JIN, *et al.* 2021). Os fatores de realce foram estimados em 64000 para o substrato de AgNPs@PS e 83000 para o substrato AgNPs@P(S-HEMA). Esse ótimo desempenho em SERS pode ser atribuído ao efeito da estrutura do nanofilme de AgNPs na superfície do coloide. Assim, a atividade SERS foi significativamente aprimorada, o que pode ser atribuído ao aumento do acoplamento de campo eletromagnético entre as partículas. Esses valores reforçam a excelente sensibilidade SERS de ambos os substratos, obtida por meio de uma metodologia simples e eficaz.

Tabela 6 – Principais atribuições dos modos vibracionais dos espectros Raman da R6G

Atribuições	Valores experimentais (cm^{-1})	Valores de literatura (e cita) (cm^{-1})
ν C-C (anel xanteno)	605	606
δ C-H	760	770
ν C-C anel aromático	993	994
ν C-C	1023	1010
δ C-H	1178	1185
ν N=N	1306	1320
δ C-H, ν C-C	1356	1351
ν C-C	1505	1520
ν C-C	1649	1652

Os estudos SERS de uma única molécula relatada por (MICHAELS, *et al.* 2000) revelam que os sítios ativos provavelmente estão localizados na junção de duas ou mais nanopartículas e o maior aprimoramento ocorre na junção entre elas. Em seu trabalho, pouco

aumento foi observado para nanopartículas de prata isoladas, enquanto um grande aumento foi encontrado para agregados com múltiplas nanopartículas apresentando gaps entre elas. Isso se deve ao acoplamento de plasmon entre nanopartículas próximas, resultando em enormes aprimoramentos de campo eletromagnético em locais de junção ou “pontos quentes” do SERS. Cálculos de XU e colaboradores (1999) apontaram que nanopartículas com espaçamentos de 1 nm podem oferecer um aumento de 10^{10} no interstício de duas partículas.

À medida que o tamanho dos agregados aumenta, conforme é visto nas imagens de MEV dos filmes nanoestruturados obtidas neste trabalho, o número de junções aumenta, e, portanto, proporciona um aprimoramento mais intenso. A teoria eletromagnética clássica prevê que os campos intensificados ao redor de cada nanopartícula podem interferir coerentemente (MARUYAMA, *et al.* 2001). Conforme a distância entre as nanopartículas diminui, a ressonância plasmon acoplada muda e o campo eletromagnético aprimorado aumenta (SCHATZ, *et al.* 1984). A rugosidade resultante da agregação de AgNPs sobre os substratos de látex, conforme obtido neste trabalho, pode aumentar o campo eletromagnético e, conseqüentemente, intensificar o sinal.

Nanopartículas de PS também foram empregadas como substrato na preparação de filmes de prata (AgFON) para detecção dos espectros SERS da melanina em solução de leite em pó infantil de forma direta, sem qualquer tratamento prévio. O substrato preparado apresentou boa uniformidade e a distribuição do campo elétrico do filme (AgFON) foi simulada e revelou um grande aumento dos sinais Raman, que foram atribuídos aos pontos quentes de alta densidade do substrato (XIÃO, *et al.* 2019). Embora a literatura apresente trabalhos relacionados a SERS e aumento de sinal, ainda não há relatos de trabalhos na literatura com esse tipo de sistema.

Substratos metálicos de filme sobre nanoesferas (MFONs) têm sido foco de pesquisas devido à sua estabilidade sob condições ambientais, sensibilidade e ajuste da excitação de plasmons de superfície (KAHRAMAN, *et al.* 2018). Nanopartículas de látex PS já foram utilizadas na preparação de substratos SERS, visando melhorar a reprodutibilidade do substrato e aumentar a atividade SERS, pois sua aplicação permite propriedades plasmônicas ajustáveis. Além disso, as próprias microesferas PS, por exemplo, podem formar um efeito de aprimoramento óptico ao criar um fluxo de nano-feixe sob ação do laser.

De acordo com o estudo de Junfan e colaboradores (2020), os resultados mostram que após o laser ser focado pelo campo próximo das microesferas PS, a intensidade do campo elétrico pode ser aumentada em quase 4 vezes e os pontos quentes são distribuídos na superfície

de silício e tangente às microesferas PS. Observou-se que no conjunto de microesferas PS, devido ao seu arranjo hexagonal compacto (HCP), cada duas microesferas eram tangentes entre si, formando um nano-gap acima da tangente; assim, a intensidade do campo elétrico aumentou bastante, melhorando significativamente o sinal.

Nestes casos, as nanopartículas de PS são apenas adicionadas como moldes e posteriormente removidas (ZHANG, *et al.* 2016), ou utilizadas para o crescimento de partículas metálicas (LI, *et al.* 2014), e também como base superficial para deposição de filmes metálicos. (HSIEH, *et al.* 2011). Além disso, é a primeira vez que nanopartículas de P(S-HEMA) são utilizadas na preparação de substratos SERS. Consequentemente, essas estruturas com alta densidade de *hotspots* obtidas por um método de preparação simples e conveniente são cruciais no desenvolvimento de SERS, considerando que a produção de substratos SERS de nanoestruturas metálicas em larga escala ainda é um desafio, principalmente devido ao tempo gasto e tecnologias extremamente caras (KORCOBAN, *et al.* 2022).

Em agregados metálicos, como nanopartículas, o aprimoramento do SERS surge de pequenas saliências acopladas em regiões menores que o comprimento de onda visível, gerando um forte aprimoramento do sinal SERS (WANG, *et al.* 2015). Partículas individuais ativas no SERS também podem gerar aumento de sinal; entretanto, Sztainbuch e colaboradores (2006) mostraram em seu estudo a relação entre o aprimoramento do SERS e a estrutura morfológica da superfície de partículas de ouro individuais e agregadas, com um aumento muito mais significativo no sinal SERS nas partículas que foram agregadas. Os trabalhos de Maxwell e Emory (1997) destacam o aprimoramento dos sinais R6G em agregados de prata, sugerindo um posicionamento preferencial de analitos em *hot spots* SERS levando a baixos limites de detecção. Os *hotspots* podem ser gerados pela montagem de NPs, como esferas, bastões, cubos, barras, etc.

As AgNPs utilizadas na preparação dos filmes duplamente auto-organizados apresentam uma variedade de tamanhos e morfologias, incluindo nanobastões, triângulos, esferas e hexágonos. Essa diversidade morfológica pode ter contribuído para a alta sensibilidade a R6G observada nos substratos, em comparação com o espectro do R6G sem SERS. A morfologia das nanopartículas é uma característica crucial para o aprimoramento do efeito SERS, pois partículas anisotrópicas, como as utilizadas neste estudo, possuem extremidades que proporcionam um maior número de plasmons localizados por partícula. Esses plasmons podem se ajustar melhor às frequências de ressonância óptica, otimizando o aumento do campo elétrico próximo associado às excitações plasmônicas. De fato, o campo eletromagnético em

torno de materiais plasmônicos não é uniformemente distribuído, mas altamente concentrado em regiões espaciais restritas e nas áreas entre as nanopartículas e o substrato.

Diversos formatos de nanopartículas foram investigados para a aplicação do efeito SERS, com foco particular em regiões com cavidades, pontas afiadas ou saliências, que foram incluídas nos cálculos de aumento do campo elétrico. Os resultados indicaram que os campos elétricos em locais com alta curvatura são significativamente maiores, contribuindo para um aumento no fator de amplificação, frequentemente descrito como o efeito "pára-raios". Além disso, o uso de nanopartículas de maior tamanho neste estudo também pode ter favorecido uma maior intensidade de SERS, promovendo um espalhamento mais eficiente e um tempo de amortecimento plasmônico mais rápido para partículas maiores (LIN, *et al.* 2020).

O substrato de látex também pode ter contribuído para o aumento do sinal Raman das moléculas de R6G que se estabelecem na superfície do substrato e nos espaços entre as microesferas, devido à distribuição das AgNPs. A luz incidente, ao ser parcialmente espalhada e refletida difusamente pelo sistema, pode ainda excitar a ressonância plasmônica nas lacunas formadas pelos AgNPs na superfície do substrato, criando *hotspots* em diferentes ângulos.

Baseado nesses princípios, a superfície das microesferas de látex pode acumular uma grande quantidade de AgNPs, resultando em uma distribuição densa de nanopartículas tanto sobre quanto ao redor das microesferas. Esse método de preparação do substrato demonstrou ser eficaz, uma vez que permite um aumento significativo na atividade SERS utilizando um sistema simples, sem a necessidade de tecnologias ou materiais sofisticados, e aproveitando uma variedade de morfologias de nanopartículas.

Não foi possível demonstrar que as morfologias lisas e semelhantes a framboesas, bem como o tamanho das nanopartículas de látex, favorecessem a deposição organizada e reproduzível de AgNPs. No entanto, essas características podem ter contribuído para a formação de agregados de partículas. As nanopartículas tendem a se acumular preferencialmente nos espaços vazios das nanoesferas de látex, que são regiões termodinamicamente mais estáveis. Estudos indicam que agregados de AgNPs, como nanopartículas empilhadas e pouco espaçadas, exibem uma maior eficiência no aprimoramento do SERS em comparação com estruturas compactas e planas (SUN, *et al.* 2008).

Com base no mecanismo de realce eletromagnético do SERS, as AgNPs depositadas na superfície irregular das esferas de PS e P(S-HEMA) podem ter proporcionado um realce sinérgico. Essa combinação com as propriedades plasmônicas dos nanomateriais metálicos

pode torná-los materiais centrais promissores para biossensores baseados em SERS (BAIA, *et al.* 2006), (OSAWA, *et al.* 1994), (ZHU, *et al.* 2004) (CHEN, *et al.* 2024).

A obtenção de espectros reprodutíveis é um grande desafio para a aplicação do SERS como ferramenta analítica. Para avaliar a uniformidade do realce Raman em nossa amostra, foi realizado um teste de caracterização do mapeamento Raman nos substratos, considerando a repetibilidade do sinal como um fator significativo na determinação da praticidade do sensor. Testes de homogeneidade e reprodutibilidade foram realizados utilizando dez espectros R6G SERS coletados após seleção aleatória de diferentes pontos no mesmo substrato, conforme ilustrado na Figura 23, sob condições de teste idênticas (atmosfera de vácuo e temperatura de 25 °C). Um espectro médio obtido a partir de 10 espectros foi utilizado para aumentar a confiabilidade dos resultados. Observou-se então que os espectros apresentam alta similaridade, e os desvios padrão relativos (RSDs) foram calculados considerando as bandas de 750 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} , correspondentes às bandas principais do espectro R6G. Os resultados estão resumidos na Tabela 7.

A banda em 1500 cm^{-1} considerada de maior intensidade, apresentou um RSD de 6,90% para o substrato AgNPs@PS e 8,10% para o substrato AgNPs@P(S-HEMA). Esses valores são considerados bons e ainda abaixo dos valores de RSD encontrados na literatura para substratos preparados em sistemas semelhantes, por exemplo: 8,20% (ZHU, *et al.* 2020), 14,80% (SAKIR, *et al.* 2023), 9,20% (YAN, *et al.* 2020), 12,60% (LI, *et al.* 2020). A Tabela 8 mostra a comparação dos valores de RSD para a banda em 1500 cm^{-1} obtidos neste trabalho com aqueles encontrados na literatura. Os resultados obtidos neste estudo indicam boa uniformidade de sinal em todo o substrato e reprodutibilidade para detecção de SERS em ambos os substratos de látex.

Figura 23 - Espectros Raman adquiridos em dez pontos aleatórios diferentes do substrato Ag@PS (A), Ag@P(S-HEMA) (C), e Intensidades das bandas a 750 cm^{-1} , 1350 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} (B) e (D).

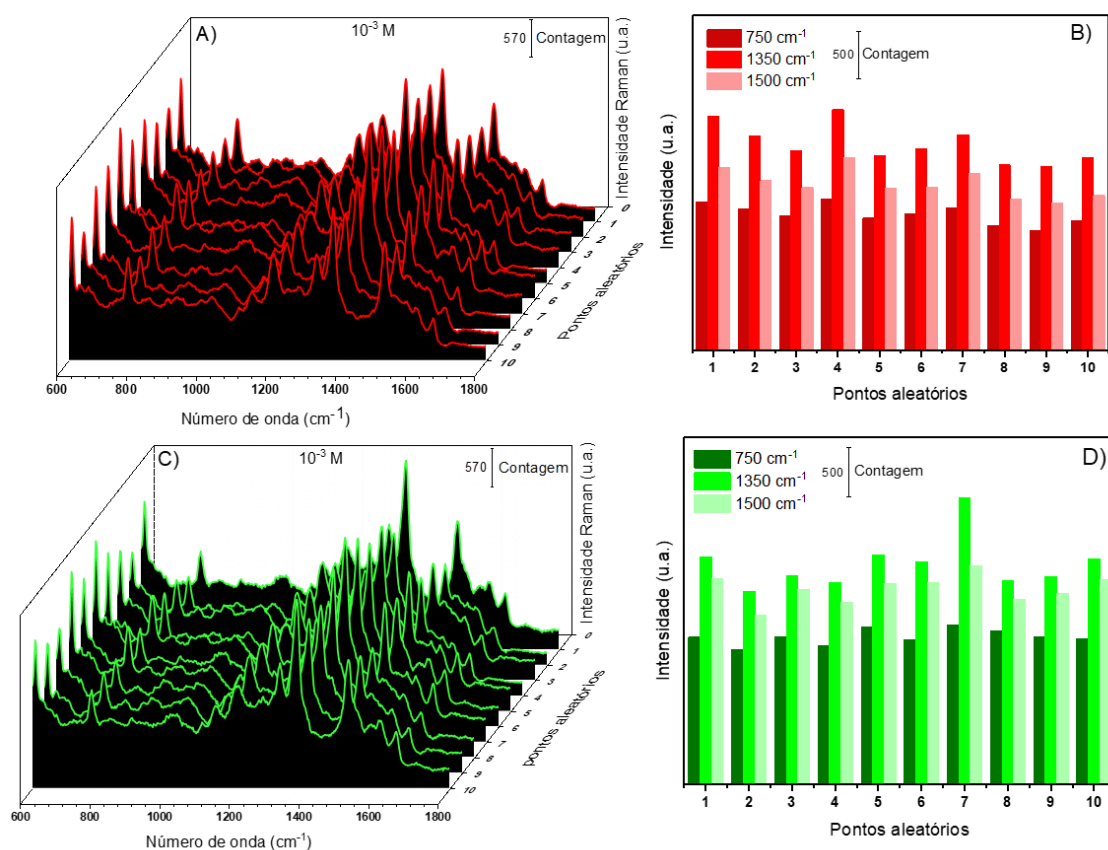


Tabela 7 - Valores de RSD das bandas de 750, 1350 e 1500 cm^{-1} para Ag@PS e Ag@P(S-HEMA) adquiridos de espectros Raman de dez pontos aleatórios dos substratos SERS.

Bandas (cm^{-1})	RSD (%)	
	PS	P(S-HEMA)
750	7,07	5,13
1350	12,37	13,09
1500	6,90	8,10

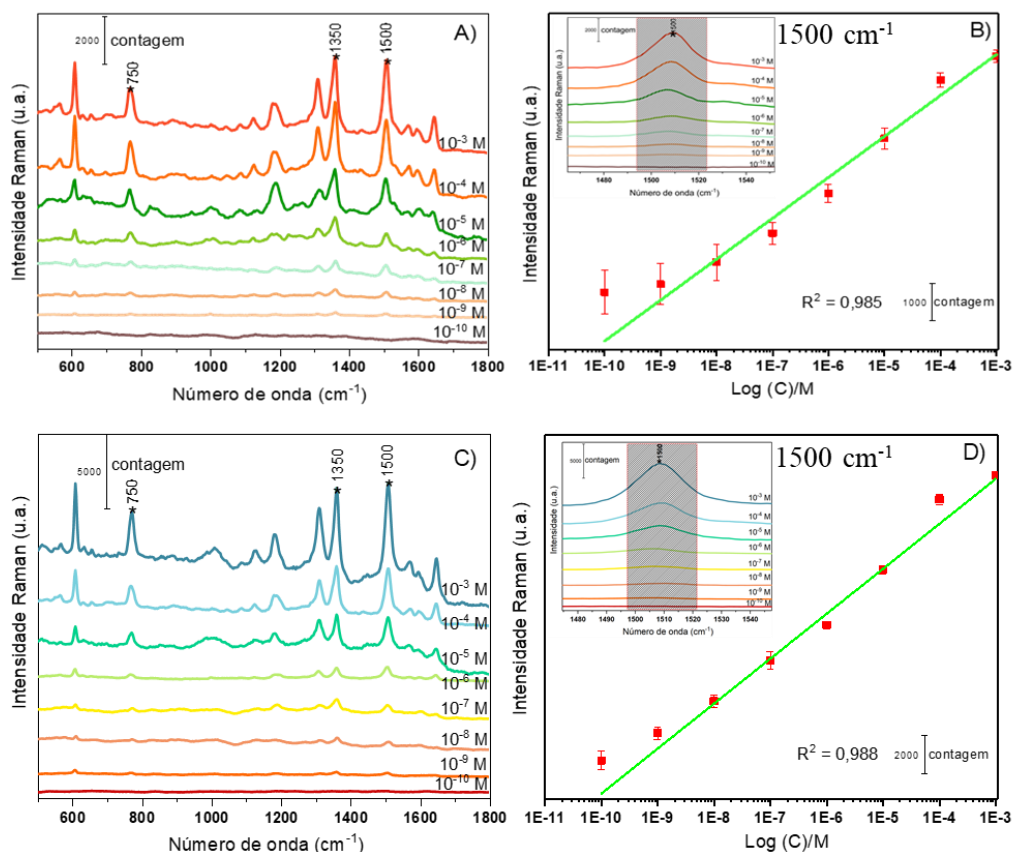
Tabela 8 – Valores de RSD referentes à faixa de 1500 cm^{-1} dos substratos obtidos neste trabalho e substratos reportados conforme literatura.

Substrato	(RSD)	Referência
AgNPs@PS	6,90	-
AgNPs@P(S-HEMA)	8,10	-
Microbowls of AgNPs	8,20	(ZHU, <i>et al.</i> 2020)

AgNFs	14,80	(SAKIR, <i>et al.</i> 2023)
PSN@PAA)/Au	9,20	(YAN, <i>et al.</i> 2020)
ZnS@ Ag	12,60	(LI, <i>et al.</i> 2020)

Para determinar o limite de detecção (LOD) dos substratos SERS, foram investigadas soluções R6G com concentrações variando de 10^{-3} a 10^{-10} mol/L. Os espectros Raman são apresentados na Figura 24 (A) e (C) para os substratos Ag@PS e Ag@P(S-HEMA), respectivamente onde as três bandas mais intensas de R6G ainda podem ser observadas mesmo para a amostra mais diluída, o que corresponde a um LOD de 0,5 ppb. O P(S-HEMA) é um pouco mais sensível.

Figura 24 – Espectros Raman do limite de detecção da R6G para o substrato de Ag@PS (A), Ag@P(S-HEMA) (C) substrato e curvas de calibração (B) e (D)



A rodamina 6G foi empregada como molécula alvo modelo devido à sua forte afinidade e capacidade de adsorção com metal nobre e sua grande seção transversal de espalhamento

Raman. Além disso, de acordo com o aumento da transferência de carga, há uma interação química entre as moléculas R6G adsorvidas e a superfície da nanoestrutura de prata, que reorganiza os elétrons das moléculas adsorvidas para alterar a polarização, resultando em afetar a intensidade e a frequência dos picos de espalhamento Raman (NIE, *et al.* 1997)

Os picos parecem notavelmente nítidos e limpos até uma concentração de 10^{-9} M, onde podem ser claramente distinguidos; contudo, a uma concentração de 10^{-10} M, não puderam ser medidos. A nitidez do pico é muito valiosa para análise quantitativa porque a intensidade do pico é diretamente proporcional à concentração de moléculas. Isto ocorre porque à medida que o número de moléculas R6G por unidade de área aumenta, as moléculas R6G preenchem gradualmente numerosos pontos quentes formados pelas nanopartículas na superfície da microesfera.

A relação entre o número de moléculas contidas na substância e a quantidade da substância situa-se dentro da faixa do espectro de excitação da molécula alvo, contribuindo para a sensibilidade do SERS. Em casos de baixas concentrações de R6G, a relação sinal-ruído dos espectros é baixa, onde a cobertura não uniforme do analito na superfície das AgNPs e as contribuições de efeitos não locais podem afetar a intensidade do SERS.

Embora a concentração de 10^{-10} M não produza bandas R6G bem definidos, o LOD para os substratos ainda é considerado satisfatório (10^{-9} M). Isso sugere que os arranjos ordenados das microesferas combinados com a presença de AgNPs com diversas morfologias, podem melhorar a superfície do substrato SERS. As curvas de calibração para os substratos PS e P (S-HEMA) são apresentadas na Figura 25 (B) e (D). Os coeficientes de correlação são respectivamente 0,985 e 0,988 quando considerada a banda de 1500 cm^{-1} .

O trabalho realizado por Yan e colaboradores (2020), que também utilizou AgNPs na preparação de substratos SERS, alcançou limites de detecção para R6G de até 10^{-9} M; entretanto, a fonte de excitação do laser empregada foi de 532 nm, e em outros estudos que também utilizaram sistemas de substrato AgNPs, fornecendo intensidades de excitação variadas (Tabela 9) (MIKAC, *et al.* 2017), (SAKIR, *et al.* 2023). Adicionalmente, também foram obtidos outros LODs satisfatórios para R6G em substratos do tipo AgFON, tais como: 10^{-6} M (INGRAM, *et al.* 2015), 10^{-7} M (JUNFAN, *et al.* 2021), 10^{-10} M (ZHANG, *et al.* 2019) e 10^{-13} M (CHEN, *et al.* 2024). Porém, apesar dos bons resultados para limites em baixas concentrações em sistemas de substratos semelhantes ao desenvolvido neste trabalho, a preparação e aquisição dos substratos relatados são muito mais trabalhosas e requerem equipamentos sofisticados.

A comparação entre os comprimentos de onda utilizados na literatura para sistemas semelhantes ao utilizado neste trabalho encontra-se na Tabela 9.

Tabela 9 – Comparação entre os comprimentos de onda e os resultados obtidos para diferentes sistemas de substratos SERS

Sistemas	Comprimento de onda (nm)	Potência do laser (mW)	LOD	Referência
PSN@PAA)/Au	532	10	10^{-9}	(YAN, <i>et al.</i> 2020)
Ag(FON)	785	30	10^{-6}	(INGRAM, <i>et al.</i> 2015)
Ag(FON)	532	1	10^{-8}	(JUNFAN, <i>et al.</i> 2021)
AgNPs	532	10	10^{-11}	(ZHANG, <i>et al.</i> 2013)
Ag@SPS	785	2	10^{-13}	(CHEN, <i>et al.</i> 2024)

As nanoestruturas empregadas neste estudo, que incluem partículas com morfologias variadas como nanoesferas, nanotriângulos, nanobastões com diferentes razões de aspecto e nanohexágonos com estruturas topológicas distintas, apresentam campos eletromagnéticos significativamente aprimorados. Esses campos intensificam-se nos cantos e bordas agudas devido às formas das partículas. Além disso, essas estruturas oferecem diversas energias livres de superfície e distribuições de campo eletromagnético, permitindo uma variedade de sensibilidades SERS para moléculas alvo.

Por exemplo, o aprimoramento da prata, utilizado neste estudo, pode ser explorado através de nanopartículas de diversas morfologias, como mencionado anteriormente, e também através de diferenças nos tamanhos das partículas. Obviamente, o tamanho relativo às nanoestruturas é uma característica importante em relação à atividade SERS.

Assim, de acordo com os mecanismos atualmente conhecidos do SERS, a sensibilidade é atribuída às propriedades do material e ao desenho da nanoestrutura dos substratos do SERS. Essas propriedades incluem o comprimento de onda de ressonância do LSPR, a densidade dos pontos críticos e a forma, geometria, tamanho e material das nanoestruturas SERS. Dentre esses fatores, o comprimento de onda LSPR é uma das propriedades mais importantes para a produção de um substrato SERS altamente sensível. Resultados experimentais e teóricos (JIANG, *et al.* 2003), (KAHRAMAN, *et al.* 2018), (KIM, *et al.* 2009), (ZHU, *et al.* 2022), demonstram que o fator de realce de um sinal SERS dramaticamente aumenta quando o

comprimento de onda LSPR é ajustado para ser igual à média do comprimento de onda de excitação e ao comprimento de onda de vibração Raman do analito porque a resposta do analito varia com o comprimento de onda de excitação; portanto, é necessário que o comprimento de onda do LSPR seja facilmente ajustável para produzir economicamente a maior sensibilidade. As nanopartículas sintetizadas aqui podem exibir ressonância plasmônica de superfície localizada em uma ampla faixa de comprimentos de onda possíveis porque possuem diferentes tamanhos e morfologias e, portanto, suas propriedades plasmônicas podem ser ajustadas. Assim, os comprimentos de onda dos plasmons de superfície e a magnitude do campo eletromagnético das nanoestruturas são alterados.

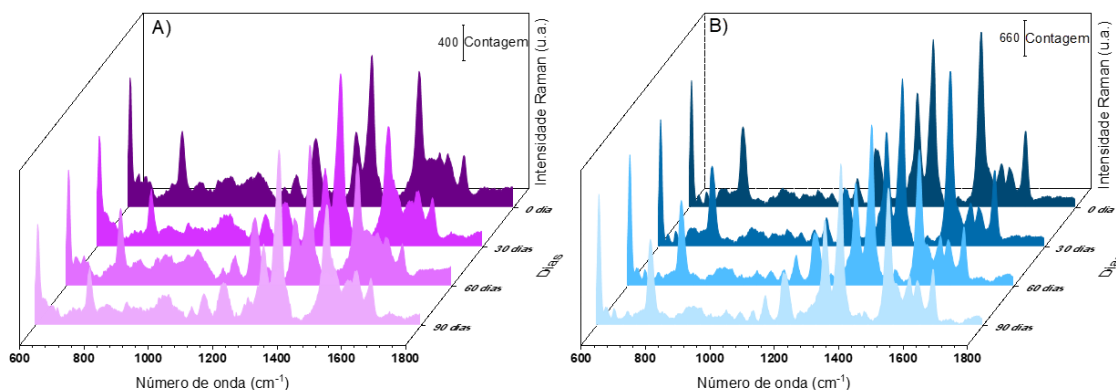
A detecção quantitativa de moléculas foi realizada nos substratos preparados neste estudo com uma potência de laser incidente de apenas 10 mW, uma intensidade extremamente baixa. Estudos anteriores indicam que a atividade de SERS pode ser eficientemente aumentada quando o comprimento de onda de excitação corresponde à banda de absorção das AgNPs. Portanto, foi escolhida a luz incidente com comprimento de onda de 671 nm. Esse comprimento de onda foi selecionado para minimizar a excitação do sinal de fluorescência do R6G, um corante fluorescente comum, enquanto ainda se mantém dentro da faixa de absorção das nanopartículas plasmônicas utilizadas neste estudo. O R6G foi utilizado para avaliar a capacidade SERS dos substratos (WU, *et al.* 2009).

A boa relação linear entre a intensidade de SERS e a concentração de R6G para o substrato de látex e Ag (AgFON) preparado indica que os substratos podem oferecer locais de ligação suficientes para a captura eficiente de moléculas R6G da solução de carga. Os resultados confirmam que as variedades morfológicas de AgNPs depositadas na superfície das microesferas de látex podem alcançar detecção ultra-traço do analito, exibindo sensibilidade ideal para os substratos preparados.

A estabilidade dos sinais Raman é um parâmetro chave que afeta o desempenho e a aplicação prática de substratos SERS confiáveis (YAN, *et al.* 2020). Para investigar a estabilidade de substratos de nanofilmes compósitos para medições de SERS, foram medidos sinais Raman de R6G adsorvido nos substratos. Claramente, após diferentes durações de envelhecimento, a intensidade do sinal diminuiu em graus variados sob as mesmas condições ambientais (Figura 25 (A) e (B)), onde foram armazenados sob atmosfera de vácuo, a uma temperatura de 25 °C, e testados após 0, 30, 60, e 90 dias utilizando solução de R6G 10^{-6} mol/L, considerando a absorção a 1500 cm^{-1} . Os resultados estão resumidos na Tabela 10. Após 30 dias, a diminuição da intensidade foi de quase 40% para ambos os substratos, após 60 dias a

redução de intensidade foi de 15% para o substrato PS e 10% para P(S-HEMA), mas nenhuma diminuição adicional significativa ocorreu até 90 dias.

Figura 25 - Espectros Raman relativos à estabilidade dos substratos SERS em 0, 30, 60 e 90 dias.



Esses resultados indicam que o nanofilme de látex com AgNPs apresentou estabilidade ainda maior (90 dias) do que outros substratos utilizados na detecção de R6G, que apresentaram estabilidade de até 30 dias (NGUYEN, *et al.* 2022) e 40 dias (YAN, *et al.* 2020). Além disso, outro fator digno de nota é a uniformidade e reprodutibilidade dos sinais dos substratos ativos do SERS produzidos, que foram avaliados com base em sinais obtidos em pontos selecionados aleatoriamente, apresentando um desvio padrão relativo (RSD) inferior a 12%.

Tabela 10 - Valores de RSD para substratos Ag@PS e Ag@P(S-HEMA) relacionados ao teste de envelhecimento aos 30, 60 e 90 dias

Dias	RSD (%)	
	Ag@PS	Ag@P(S-HEMA)
30	39	38
60	15	11
90	13	10

5.3.6 Teste preliminar com analito (Melamina)

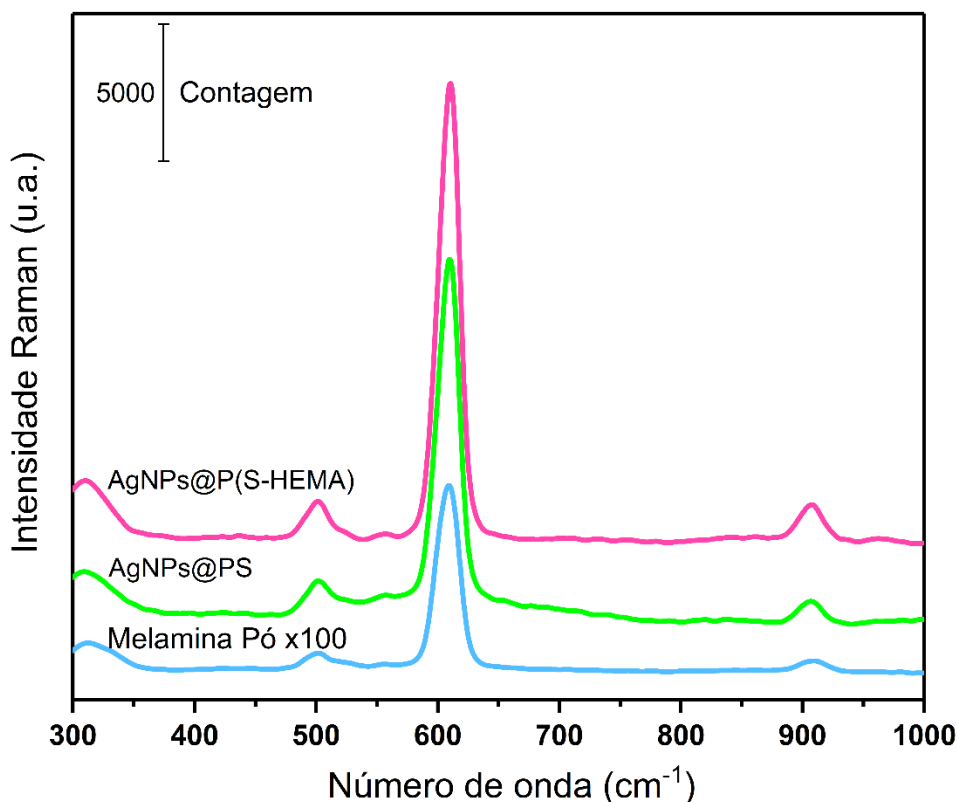
A Figura 26 apresenta os espectros Raman do pó de melamina e dos filmes automontados dos substratos AgNPs@PS e AgNPs@P(S-HEMA) imersos em uma solução de

melamina em 10^{-3} mol/L⁻¹. O objetivo é comparar e avaliar a sensibilidade e a atividade SERS das amostras reais nos substratos preparados em comparação com a amostra sem substrato SERS. Os espectros foram obtidos na faixa as regiões de 300 cm⁻¹ a 1000 cm⁻¹, que cobre a principal região de vibração da molécula.

Nos espectros da melamina destacam-se bandas distintas centradas em torno de 610 cm⁻¹ e 920 cm⁻¹. A banda em 610 cm⁻¹ é atribuída à deformação do anel interno α (C-N-C), enquanto a banda em 920 cm⁻¹ está associada ao modo de flexão no plano β (HNH) do grupo –NH₂ ligado externamente à molécula (ROY, *et al.* 2017). Outras assinaturas vibracionais no espectro Raman são identificadas por sinais fracos na faixa de 1300–1630 cm⁻¹, relacionados às vibrações de estiramento ν (C-N).

Os fatores de aprimoramentos analíticos para os substratos SERS foram estimados com base nas áreas de picos dos picos de melamina a uma concentração de 1000 ppm para substratos AgNPs@PS e AgNPS@P(S-HEMA), comparados ao pó de melamina, sob excitação com laser de 785 nm, como mostrado na Figura 26. Os resultados indicam que os substratos AgNPs@PS e AgNPS@P(S-HEMA) apresentam AEFs na ordem de 21000 e 54000, respectivamente, em comparação com a melamina em pó.

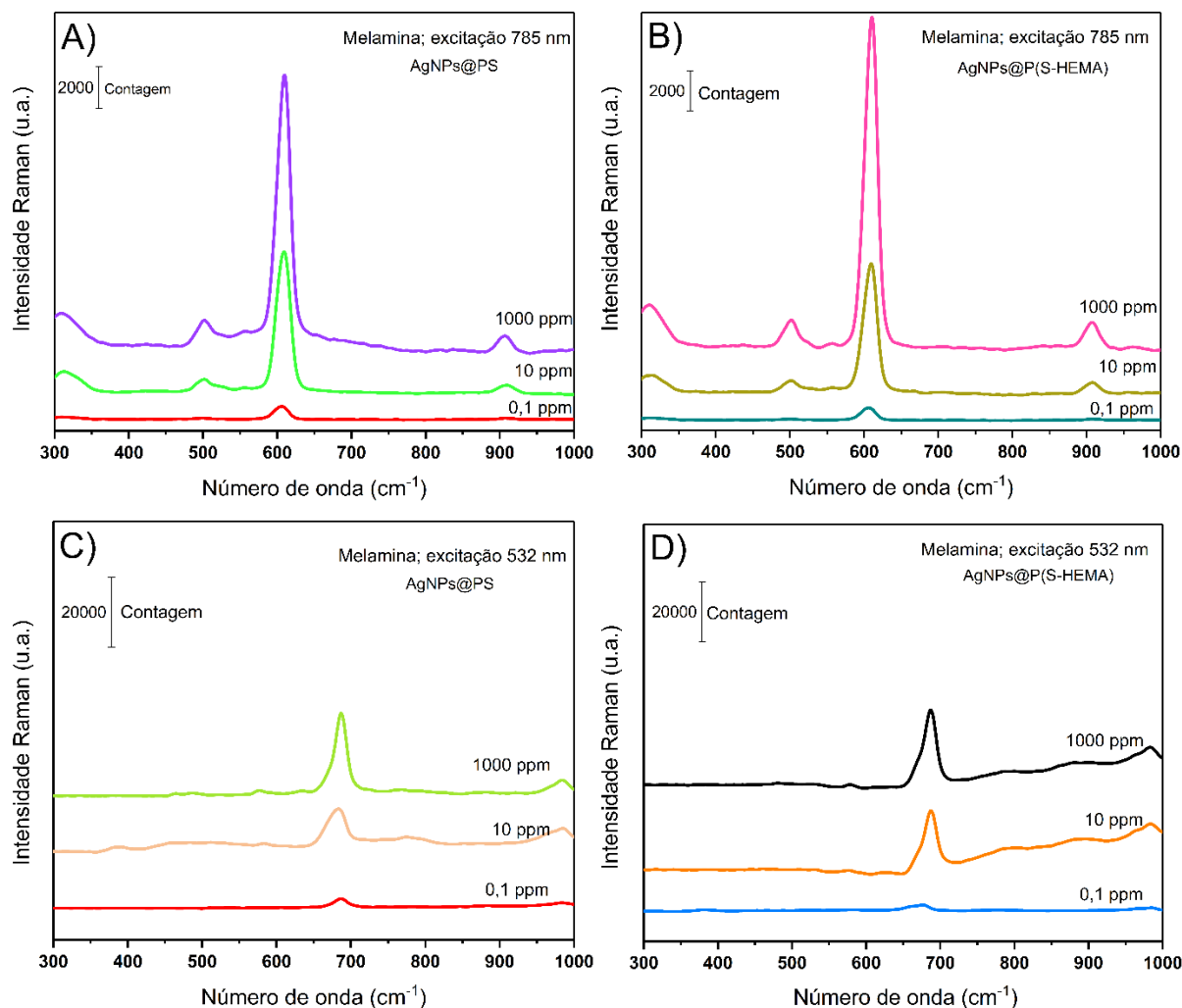
Figura 26 - Espectros Raman da melamina sobre o substrato SERS de Ag@P(S-HEMA), Ag@PS e melamina em pó sem substrato SERS



Para avaliar a eficácia dos substratos fabricados na determinação quantitativa de analitos, eles foram usados para detecção baseada em SERS da melamina, a partir de soluções aquosas com três diferentes concentrações. A Figura 27 (A) e (B) mostra os espectros obtidos para melamina depositada em substratos SERS de AgNPs@PS e AgNPs@P(S-HEMA) com concentrações de 1000 ppm, 10 ppm e 0,1 ppm, utilizando excitação com laser 785 nm. Já a Figura 27 (C) e (D) apresenta espectros obtidos com excitação a 532 nm.

Conforme estudos anteriores (LUO, *et al.* 2023), a atividade SERS pode ser significativamente aprimorada quando o comprimento de onda de excitação coincide com a banda de absorção das nanopartículas de prata. Assim, foram selecionadas duas fontes de excitação com comprimentos de onda de 785 nm e 532 nm, para avaliar o comportamento do sensor e sua eficiência de detecção em diferentes condições e como o comprimento de onda pode afetar ou não o desempenho do substrato. Ambos os comprimentos de onda estão dentro da faixa de absorção das nanopartículas plasmônicas neste estudo.

Figura 27 - Espectros Raman da melamina sobre os substratos SERS (A) AgNPs@PS (B) AgNPs@P(S-HEMA) em 785 nm e (C) AgNPs@PS (D) AgNPs@P(S-HEMA) em 532 nm



Para ambos os substratos, com excitação por um laser de 532 nm, foi possível detectar melamina a uma concentração de 0,1 ppm, com o pico correspondente a 687 cm⁻¹ claramente visível. No entanto, ao usar um laser de comprimento de onda de 785 nm, a banda da melamina desloca-se 610 cm⁻¹, onde também é bem definida e apresenta uma intensidade significativamente maior. Este deslocamento pode estar associado ao tipo de laser utilizado, indicando que ele pode influenciar a forma dos espectros obtidos.

Os resultados mostram os nanofilmes duplamente auto-ordenados de látex usados como substrato para deposição das AgNPs e para detecção ativa por SERS, são eficazes em termos de sensibilidade. A aplicação desses substratos para detecção de melamina em concentrações baixas quanto 0,1 ppm é relativamente relevante para o monitoramento da água potável e da qualidade dos alimentos. A detecção sensível é crucial devido à nocividade da melamina e seu uso frequente como adulterante no leite e em formulações infantis, um problema que tem levado a um número significativo e até fatalidade entre lactantes (XIÃO, *et al.* 2019).

6. CONCLUSÃO

Os substratos SERS duplamente auto-organizados, compostos por nanopartículas de látex e prata, foram obtidos com sucesso por meio da técnica de spin coating. As imagens de MEV revelaram um sistema auto-organizado com as partículas dispostas de forma hexagonal no substrato, apresentando poucas lacunas e defeitos. A disposição ordenada das nanopartículas de látex provavelmente favoreceu a deposição das nanopartículas de prata, contribuindo para a formação de *hot spots* essenciais para o aumento da intensidade em SERS.

A presença de AgNPs na superfície dos substratos de nanopartículas de látex foi confirmada por micrografias obtidas com elétrons retroespalhados, onde o alto contraste decorre do maior peso atômico da prata em comparação com os polímeros de látex baseados em carbono.

Os substratos SERS preparados foram avaliados qualitativamente com o analito padrão R6G. O espectro Raman de R6G sobre os substratos de nanopartículas de PS demonstrou um aumento na intensidade do sinal de até 64.000 vezes, enquanto os substratos de P(S-HEMA) apresentaram um aumento de até 83.000 vezes, permitindo a detecção de R6G em concentrações tão baixas quanto 0,1 ppb. Os substratos também exibiram boa linearidade e excelente reprodutibilidade, com um desvio padrão relativo (RSD) abaixo de 8,10% e estabilidade de até 90 dias.

Além de uma excelente capacidade de ampliação para R6G, os substratos SERS duplamente auto-organizados também mostraram um aumento de até 53.000 vezes para a detecção de melamina. As características dos substratos incluem boa estabilidade, regularidade, eficiência e baixo custo de produção, fatores importantes para a aplicação de substratos SERS.

Esses resultados demonstram que os substratos duplamente auto-organizados são uma alternativa promissora para a detecção de diversos analitos, oferecendo um significativo potencial para análises de moléculas individuais e baixas concentrações. Além disso, a compatibilidade com diferentes fontes de laser de excitação amplia o potencial de detecção em concentrações extremamente baixas. Esta é também a primeira vez que nanopartículas de P(S-HEMA) são utilizadas para a preparação de substratos SERS.

7. PERSPECTIVAS

As perspectivas futuras deste trabalho incluem a continuidade dos testes de envelhecimento do sensor desenvolvido para avaliar sua durabilidade e desempenho a longo prazo. Além disso, pretende-se estudar a variação da potência do laser para investigar a estabilidade e a eficácia do substrato SERS sob diferentes condições de excitação.

Outras áreas de investigação envolvem a análise de diferentes tipos de analitos, com o objetivo de aprimorar a detecção de moléculas com alta precisão e baixa concentração de amostra, expandindo assim as aplicações do substrato SERS. Simulações computacionais também serão realizadas para compreender como diversas configurações de nanopartículas influenciam a amplificação do sinal.

Além disso, pretende-se explorar técnicas para a produção em larga escala de substratos SERS, garantindo a manutenção da qualidade e eficiência. O desenvolvimento de dispositivos portáteis baseados em SERS para monitoramento em campo é outro objetivo importante. Por fim, será essencial investigar como a estrutura e a organização dos nanomateriais impactam a eficiência do realce SERS, a fim de otimizar ainda mais o desempenho dos substratos.

REFERENCIAS

A. H. CARDOSO, “Auto-organização de partículas coloidais: o caso do látex copolimérico de poli[estireno-co-(metacrilato de 2-hidroxietila)]”, Tese de Doutorado, Instituto de Química da UNICAMP, (1999)

ABD EL MONGY, S. Preparation and Spectroscopic Studies of Rhodamine 6G Doped Polystyrene. **Aust. J. Basic Appl. Sci**, v. 3, p. 1954-1963, 2009.

ANDRADE, M. C. M., ROSENBLATT, A., GALEMBECK, A. Silver nanoparticles penetration in dentin: Implications for long-term caries arrestment. **Materialia**, v. 24, p. 101489, 2022.

ANNUNZIATA, L., RODRIGUES, A. S., KIRILLOV, E., SARAZIN, Y., OKUDA, J., PERRIN, L., CARPENTIER, J. F. Iselective Styrene Polymerization Catalyzed by ansa-Bis (indeyl) Allyl rare Earth Complexes. **Stereochemical and Mechanistic Aspects**, Macromolecules, 44(9) 3312-3322, 2011.

AOUANI, HEYKEL. Crucial role of the adhesion layer on the plasmonic fluorescence enhancement. **ACS nano**, v. 3, n. 7, p. 2043-2048, 2009.

AROCA, R. **Surface-Enhanced Vibrational Spectroscopy**. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2006.

BLACKLEY, DAVID CHARLES. **Polymer latices: science and technology volume 3: applications of latices**. Springer Science & Business Media, 2012.

BORGES, LUCIANA M.; SILVA, VALÉRIA L. DA. Preparação e caracterização de soluções coloidais de nanopartículas de prata para estudo de SERS. 2015. Tese (Doutorado em Química) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BRAGA, M., LEITE, CARLOS, A. P., GALEMBECK, F. Hydrophobic polymer modification with ionic reagent: polystyrene staining water-soluble dyes. **Langmuir**, v. 19, n.18, p. 7580-7586, 2003.

CARDOSO, A. H., LEITE, C. A. P., ZANIQUELLI, M. E. D., GALEMBECK, F. Easy polymer latex self-assembly and colloidal crystal formation: the case of poly [styrene-co-(2-hydroxyethyl methacrylate)]. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 144, n. 1-3, p. 207-217, 1998.

CARDOSO, A. H., LEITE, C. A. P. AND GALEMBECK, F. Latex particle self-assembly and particle microchemical symmetry: PS/HEMA latex particles are intrinsic dipoles. **Langmuir** 15, 4447–4453 (1999).

CHEN, S., CHEN, L., ZHANG, Y., XU, D., HU, C., ZHANG, L., CHEN, J. Silver nanosheets self-assembled on polystyrene microspheres to form "hot spots" with different nanogap distances for high sensitive SERS detection. **Talanta**. 268 (2024).

CHERN, C. S. Emulsion polymerization mechanisms and kinetics. **Progress in polymer science**, v. 31, n. 5, p. 443-486, 2006.

CUI, XUEJUN; ZHONG, SHUANGLING; WANG, HONGYAN. Emulsifier-free core-shell polyacrylate latex nanoparticles containing fluorine and silicon in shell. **Polymer**, v. 48, n. 25, p. 7241-7248, 2007.

DELGADO, J. M. F. Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa. **Instituto Politécnico de Bragança**, p. 1–117, 2013.

DELGADO, J. M. F. **Preparação e caracterização de nanotransportadores (nanocápsulas, nanoesferas, lipossomas e transportadores lipídicos nanoestruturados) sem substância ativa. Instituto Politécnico de Bragança**, p. 1–117, 2013.

FARCAU, C., ASTILEAN, S. Mapeamento da eficiência SERS e localização de pontos quentes em filmes de ouro sobre substratos de nanoesferas. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 114, n. 27, pág. 11717-11722, 2010.

FLORES, M. A. P. **Síntese e Caracterização de Nanopartículas de Prata para Tratamento de Lesões de Cáries**. [s.l.: s.n.].

GALEMBECK, FERNANDO; DE SOUZA, ELIZABETH FÁTIMA. Latex Particle Heterogeneity: Origins, Detection, and Consequences. In: **Polymer Interfaces and Emulsions**. CRC Press, 2020. p. 119-166.

GENG, CHONG. Thermal annealing of colloidal monolayer at the air/water interface: a facile approach to transferrable colloidal masks with tunable interstice size for nanosphere lithography. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 42, p. 22678-22685, 2012.

GIORDANO, MARIA CATERINA. SERS amplification from self-organized arrays of plasmonic nanocrescents. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 8, n. 10, p. 6629-6638, 2016.

GOODALL, A. R., WILKISON, M. C., HEARN, J. Mechanism of emulsion polymerization of styrene in soap-free systems. **Journal of Polymer Science : Polymer chemistry edition**, v. 15, n.9, p.2193-2218, 1977.

HEARN, J.; WILKINSON, M. C.; GOODALL, A. R. Polymer latices as model colloids. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 14, n. 2-3, p. 173-236, 1981.

HERZOG CARDOSO, A. L. Chemical heterogeneity in poly [styrene-co-(butyl methacrylate)] copolymer latexes prepared using different monomer addition modes. A study by isopycnic centrifugation in density gradient. **Colloid and Polymer Science**, v. 275, p. 244-253, 1997.

HERZOG CARDOSO, A., LEITE, C. A P., ZANIQUELLI, M. E. D. AND GALEMBECK, F. Easy polymer latex self-assembly and colloidal crystal formation: The case

of poly[styrene-co- (2-hydroxyethyl methacrylate)]. **Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.** 144, 207–217 (1998).

HONG, YAN. Optoplasmonic hybrid materials for trace detection of methamphetamine in biological fluids through SERS. **ACS applied materials & interfaces**, v. 12, n. 21, p. 24192-24200, 2020.

HUHTINEN, P., KIVELA, M., KURONEN, O., HAGREN, V., TAKALO, H., TENHU, H., HARMA, H. Synthesis, characterization, and application of Eu (III), Tb (III), Sm (III), and Dy (III) lanthanide chelate nanoparticle labels. **Analytical chemistry**, v. 77, n. 8, p. 2643-2648, 2005.

INGRAM, W. M., HAN, C., ZHANG, Q., ZHAO, Y. Optimization of Ag-coated polystyrene nanosphere substrates for quantitative surface-enhanced Raman spectroscopy analysis. **The Journal of Physical Chemistry C**. 49 (2015) 27639-27648.

JIANG, CAILING. Highly uniform self-assembled monolayers of silver nanospheres for the sensitive and quantitative detection of glutathione by SERS. **Dalton Transactions**, v. 50, n. 30, p. 10436-10445, 2021.

JIN, XUAN. Light-trapping SERS substrate with regular bioinspired arrays for detecting trace dyes. **ACS Applied Materials & Interfaces**, v. 13, n. 9, p. 11535-11542, 2021.

JUNFAN, C., TAO, L., JIE, Z. Raman enhancement properties of a high uniformity PS microsphere-Ag nanoparticle substrate. **Optical Materials Express**. 12, 2020, 3215-3225, 2020.

KAHRAMAN, M. Tunable plasmonic silver nanodomes for surface-enhanced Raman scattering. **Plasmonics**, v. 13, p. 785-795, 2018.

KAMEI, S., OKUBO, M., MATSUDA, T., MATSUMOTO, T. Adsorption of trypsin onto styrene-2-hydroxyethyl methacrylate copolymer microspheres and its enzymatic activity. **Colloid and Polymer Science**, v. 264, n. 9, p. 743-747, 1986.

KIM, HYUNGJOO; LEE, DO-HYUN; SON, YOUNG-A. Electrochemical Study on Rhodamine 6G-Indole Based Dye for HOMO and LUMO Energy Levels. **Textile Coloration and Finishing**, v. 25, n. 1, p. 7-12, 2013.

KRIEGER, IRVIN M.; EGUILUZ, MIGUEL. The second electroviscous effect in polymer latices. **Transactions of the Society of Rheology**, v. 20, n. 1, p. 29-45, 1976.

LEE, W. W. Y. Surface-enhanced Raman spectroscopy of novel psychoactive substances using polymer-stabilized Ag nanoparticle aggregates. **Chemical Communications**, v. 52, n. 3, p. 493-496, 2016.

LI, CHENYAN. Monolayer ZnS@ Ag Nanospheres SERS Substrate for Highly Sensitive Dye Molecules Detection. **Nano**, v. 15, n. 09, p. 2050122, 2020.

LI, X. LIN, X., FANG, G., DONG, H., LI, J., CONG, S., YANG, S. Interfacial layer-by-layer self-assembly of PS nanospheres and Au@ Ag nanorods for fabrication of broadband and sensitive SERS substrates. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 620, p. 388-398, 2022.

LI, Xiuyan. Large-scale fabrication of ordered monolayer self-assembly of polystyrene submicron spheres. In: **Applied Sciences in Graphic Communication and Packaging: Proceedings of 2017 49th Conference of the International Circle of Educational Institutes for Graphic Arts Technology and Management & 8th China Academic Conference on Printing and Packaging**. Springer Singapore, p. 827-832, 2018.

LI, ZHUOYAO; HUANG, XIAO; LU, GANG. Recent developments of flexible and transparent SERS substrates. **Journal of Materials Chemistry C**, v. 8, n. 12, p. 3956-3969, 2020.

LIANG, C. Y.; KRIMM, S. Infrared spectra of high polymers. VI. Polystyrene. **Journal of polymer science**, v. 27, n. 115, p. 241-254, 1958.

LIN, F.; MEIER, D. J. A study of latex film formation by atomic force microscopy. 1. A comparison of wet and dry conditions. **Langmuir**, v. 11, n. 7, p. 2726-2733, 1995.

LIN, SHUANG. A dual-functional PDMS-assisted paper-based SERS platform for the reliable detection of thiram residue both on fruit surfaces and in juice. **Analytical Methods**, v. 12, n. 20, p. 2571-2579, 2020.

LUO, QIONGYA. Highly sensitive Ag/PMMA SERS substrate with dense and uniform nano-forest structure for the detection of melamine in milk. **Optical Materials**, v. 143, p. 114241, 2023.

MARUYAMA, YOSHIHIRO; ISHIKAWA, MITSURU; FUTAMATA, MASAYUKI. Surface-enhanced Raman scattering of single adenine molecules on silver colloidal particles. **Chemistry Letters**, v. 30, n. 8, p. 834-835, 2001.

MAYER, F., ZIMMERLEITER, R., P. FARIAS., BEDNORZ, M., SALINAS, Y. A., GALEMBECK., CARDOZO, O., WIELEND, O., OLIVEIRA. D., MILANI, R., SILVA, T.,. BRANDSTETTER, M., PADRÓN-HERNÁNDEZ, E., BURGHOLZER, P. STINGL,nA., SCHARBER, A. N. Sariciftci. Sensitive and high laser damage threshold substrates for surface-enhanced Raman scattering based on gold and silver nanoparticles. **Analytical Science Advances**. 4 (2023) 335-346.

MEHR, F. P.; KHANJANI, M.; VATANI, P. Synthesis of nano-Ag particles using sodium borohydride. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 1831– 1833, 2015.

MERCHANT, G. J.; KELLER, J. B. Contact angles. *Physics of Fluids A*, v. 4, n. 3, p. 477–485, 1992.

MICHAELS, AMY M.; JIANG, JIANG; BRUS, LOUIS. Ag nanocrystal junctions as the site for surface-enhanced Raman scattering of single rhodamine 6G molecules. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 104, n. 50, p. 11965-11971, 2000.

NIE, S.; EMORY, S. R. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. **Science**, v. 275, n. 5303, p. 1102-1106, 1997.

OLIVEIRA, KAROLYNE VILELA DE. Desenvolvimento de substrato para uso com efeito Raman intensificado por superfície (SERS–Surface-Enhanced Raman Scattering) e aplicações para compostos modelo. 2015.

PANIKAR, SANDEEP SURENDRA. Ultrasensitive SERS substrate for label-free therapeutic-drug monitoring of paclitaxel and cyclophosphamide in blood serum. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 3, p. 2100-2111, 2018.

PENZKOFER, ALFONS; SPERBER, P. Measurement of absorption cross sections in the long-wavelength region of the S0 $\rightarrow$ S1 absorption band of dyes. **Chemical physics**, v. 88, n. 2, p. 309-313, 1984.

PISCO, M.; GALEOTTI, F.; QUERO, G.; GRISCI, G.; MICCO, A.; MERCALDO, L.V.; VENERI, P.D.; CUTOLO, A.; CUSANO, A. **Nanosphere lithography for optical fiber tip nanoprobe**s. *Light Sci. Appl.* 2017, 6, e16229.

REESE, C. E. AND ASHER, S. A. Emulsifier-free emulsion polymerization produces highly charged, monodisperse particles for near infrared photonic crystals. *J. Colloid Interface Sci.* 248, 41–46, 2002.

RADZIUK, D., MOEHWALD, H. Prospects for plasmonic hot spots in single molecule SERS towards the chemical imaging of live cells. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 33, p. 21072-21093, 2015.

ROY, R., SAHOO, J., CHOWDHURY, T. S., BHATTACHARYA, R., AGARWAL, R. Directional growth of Ag nanorod from polymeric silver cyanide: A potential substrate for concentration dependent SERS signal enhancement leading to melamine detection. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**. 183 402-407, 2017

SANDRINO, B., TOMINAGA, T. T., NOBRE, T. M., SCORSIN, L., WEOBEL, E. C., FIORIN, B. C., WOHNATH, K. Correlation of [RuCl₃ (dppb)(Vpy)] cytotoxicity with its effects on the cell membranes: an investigation using Langmuir monolayers as membrane models. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 118, n. 36, p. 10653-10661, 2014.

SCHATZ, GEORGE C. Theoretical studies of surface enhanced Raman scattering. **Accounts of Chemical Research**, v. 17, n. 10, p. 370-376, 1984.

SHIM, SANGDEOK; STUART, CHRISTINA M.; MATHIES, RICHARD A. Resonance Raman cross-sections and vibronic analysis of Rhodamine 6G from broadband stimulated Raman spectroscopy. **ChemPhysChem**, v. 9, n. 5, p. 697-699, 2008.

SHIM, SANG-EUN. Size control of polystyrene beads by multistage seeded emulsion polymerization. **Journal of applied polymer science**, v. 71, n. 13, p. 2259-2269, 1999.

SHIRAHAMA, HIROYUKI; SUZAWA, TOSHIRO. Surface characterization of soap-free carboxylated polymer latices. **Polymer journal**, v. 16, n. 11, p. 795-803, 1984.

SILVA, SIDICLEIA BEZERRA COSTA. Estudo da influência das condições de síntese na morfologia das partículas em látex P (S-HEMA). 2017. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

SINGH, RAJINDER. CV Raman and the Discovery of the Raman Effect. **Physics in Perspective**, v. 4, n. 4, p. 399-420, 2002.

SLOAN-DENNISON, SIAN. Protein corona-resistant SERS tags for live cell detection of integrin receptors. **Analyst**, v. 144, n. 18, p. 5538-5546, 2019.

SOUTHARD, G. E., HOUTEN, K. A. V., OTT JR, E. W., MURRAY, G. M, **Analytica Chimica Acta**, 581 (2007) 202.

STEVENSON, W. T. K., EVANGELISTA, R. A., BROUGHTON, R. L., SEFTON, M. V. Preparation and characterization of thermoplastic polymers from hydroxyalkyl methacrylates. **Journal of Applied Polymer Science**, v.34, n.1, p. 65-83, 1987.

TANRISEVER, TANER; OKAY, OĞUZ; SÖNMEZOĞLU, INCI ÇETIN. Kinetics of emulsifier-free emulsion polymerization of methyl methacrylate. **Journal of applied polymer science**, v. 61, n. 3, p. 485-493, 1996.

TAUER, K. A comprehensive experimental study of surfactant-free emulsion polymerization of styrene. **Colloid and Polymer Science**, v. 277, n. 7, p. 607-626, 1999.

TELFORD, ANDREW M. Micron-sized polystyrene particles by surfactant-free emulsion polymerization in air: Synthesis and mechanism. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 51, n. 19, p. 3997-4002, 2013.

TOCHIGI, KATSUMI. Estimation of PVT for Polymers and Solvent Activities in Polymer Solutions Using Simplified Parameters for the Sako– Wu– Prausnitz Equation of State. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 41, n. 5, p. 1094-1097, 2002.

TOWEY, A. TOWEY, T. F., KHAN-LODHI, ROBINSON, B. H. Kinetics and Mechanism of Formation. **J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.** v. 28, p.2547–2561, 1990.

T. F., KHAN-LODHI, ROBINSON, B. H. Kinetics and Mechanism of Formation. **J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.** v. 28, p.2547–2561, 1990.

TRUSCOTT, WAVA. The industry perspective on latex. **Immunology and allergy clinics of North America**, v. 15, n. 1, p. 89-121, 1995.

TURAN, HASAN Poly (L-DOPA)-mediated bimetallic core– shell nanostructures of gold and silver and their employment in SERS, catalytic activity, and cell viability. **Nanotechnology**, v. 32, n. 31, p. 315702, 2021.

VISSCHERS, MARCEL; LAVEN, JOZUA; GERMAN, ANTON L. Current understanding of the deformation of latex particles during film formation. **Progress in Organic Coatings**, v. 30, n. 1-2, p. 39-49, 1997.

WANG, L., YU, D., HUANG, B., OU, Z., TAO, L., ZHAO, Y. Large-area ReS₂ monolayer films on flexible substrate for SERS based molecular sensing with strong fluorescence quenching. **Applied Surface Science**, v. 542, p. 148757, 2021.

WANG, X., XIAO, M., ZOU, Y., LAI, W., PEI, H., ALAM, M. F., LI, L. Nanoprobes Fractal SERS para perfilamento de genes quantitativos multiplexados. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 156, p. 112130, 2020.

WANG, XIMO. Ultra-sensitive detection of streptomycin in foods using a novel SERS switch sensor fabricated by AuNRs array and DNA hydrogel embedded with DNAzyme. **Food Chemistry**, v. 393, p. 133413, 2022.

WANG, XUDONG; SUMMERS, Christopher J.; WANG, Zhong Lin. Large-scale hexagonal-patterned growth of aligned ZnO nanorods for nano-optoelectronics and nanosensor arrays. **Nano letters**, v. 4, n. 3, p. 423-426, 2004.

WU, DAN. Observation of the interference between the intramolecular IR– visible and visible– IR processes in the doubly resonant sum frequency generation vibrational spectroscopy of rhodamine 6G adsorbed at the air/water interface. **The Journal of Physical Chemistry A**, v. 113, n. 21, p. 6058-6063, 2009.

XIAO, G, LI, L., YAN, A., HE, X. Direct detection of melamine in infant formula milk powder solution based on SERS effect of silver film over nanospheres. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 223, p. 117269, 2019.

XIAO, T.; YE, Q.; SUN, L. J. Phys. Chem. B 1997, 101, 632-637.

XIONG, MINGNA. Preparation and characterization of acrylic latex/nano-SiO₂ composites. **Polymer International**, v. 51, n. 8, p. 693-698, 2002.

XU, HONGXING. Spectroscopy of single hemoglobin molecules by surface enhanced Raman scattering. **Physical review letters**, v. 83, n. 21, p. 4357, 1999.

YAN, S., AN, R., ZOU, Y., YANG, N., ZHANG, Y. Fabrication of polymer colloidal/Au composite nanofilms for stable and reusable SERS-active substrates with highly-dense hotspots. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 302, p. 127107, 2020.

YAO, DONGMEI. On-signal amplification of silver nanosol RRS/SERS aptamer detection of ultratrace urea by polystyrene nanosphere catalyst. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 265, p. 120353, 2022.

YU, J., ZHENG, L., GENG, C., WANG, X., YAN, Q., WANG, X., SHEN, D. Colloidal monolayer at the air/water interface: Large-area self-assembly and in-situ annealing. **Thin solid films**, v. 544, p. 557-561, 2013.

YU, QIAN. Polystyrene encapsulated SERS tags as promising standard tools: simple and universal in synthesis; highly sensitive and ultrastable for bioimaging. **Analytical chemistry**, v. 91, n. 8, p. 5270-5277, 2019.

YUANYUAN W, DAN G. The fabrication of PP-nanoparticles monolayer and measurement of elastic properties. **China Surf Eng** 23(2):86–90.

ZHAN, C. From plasmon-enhanced molecular spectroscopy to plasmon-mediated chemical reactions. **Nature Reviews Chemistry**, v. 2, n. 9, p. 216–230, 2018.

ZHANG, XUEHUA. Fabrication of large scale PS monolayer colloidal crystal film by using a novel secondary self-assembly method for nanoimprint technique. **Journal of Crystal Growth**, v. 508, p. 82-89, 2019.

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

ZHENG, YU-MING. Electrochemical decoloration of synthetic wastewater containing rhodamine 6G: behaviors and mechanism. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 51, n. 17, p. 5953-5960, 2012.

ZHENXING, HU. An investigation of the effect of sodium dodecyl sulfate on quasi-emulsifier-free emulsion polymerization for highly monodisperse polystyrene nanospheres. **European polymer journal**, v. 47, n. 1, p. 24-30, 2011.

ZHU, C., ZHAO, Q., MENG, G., WANG, X., HU, X., HAN, F., LEI, Y. Silver nanoparticle-assembled micro-bowl arrays for sensitive SERS detection of pesticide residue. **Nanotechnology**, v. 31, n. 20, p. 205303, 2020.

ZOSEL, ALBRECHT. Mechanical properties of films from polymer latices. **Polymers for advanced technologies**, v. 6, n. 5, p. 263-269, 1995.

ROY, ANINDITA. Directional growth of Ag nanorod from polymeric silver cyanide: A potential substrate for concentration dependent SERS signal enhancement leading to melamine detection. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 183, p. 402-407, 2017.

ZAMARION, VITOR DE MORAES. **Estudos e aplicações de ressonância plasmônica superficial em nanosondas SERS**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

YADAV, A. S. K., SRIVASTAVA. A highly reliable, integration-time and laser-power independent, self-referenced SERS sensor with an extended dynamic range for the detection of melamine in milk. **Sensors and Actuators B: Chemical**. 396, 2023.

XIAO, G. Direct detection of melamine in infant formula milk powder solution based on SERS effect of silver film over nanospheres. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 223, p. 117269, 2019.

XUDONG, W. C., SUMMERS, J., WANG, Z. L. Large-scale hexagonal-patterned growth of aligned ZnO nanorods for nano-optoelectronics and nanosensor arrays. **Nano letters**. n. 3 (2004) p. 423-426.