



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA
CURSO DE QUÍMICA BACHARELADO

VITÓRIA SOARES DIBO

**INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO SOBRE MONOCAMADA
AUTOMONTADA DE BENZENODITIOL**

FORTALEZA-CE

2019.1

VITÓRIA SOARES DIBO

INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO SOBRE MONOCAMADA
AUTOMONTADA DE BENZENODITIOL

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Química.

Orientadora Didática-Pedagógica: Prof^a. Dr^a. Izaura Cirino Nogueira Diógenes.

Orientadora Profissional: Dr^a. Roselayne Ferro Furtado.

FORTALEZA

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

D539i Dibo, Vitória Soares.
Incorporação de nanopartículas de ouro sobre monocamada automontada de benzenoditiol /
Vitória Soares Dibo. – 2019.
40 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de
Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2019.
Orientação: Profa. Dra. Roselayne Ferro Furtado.
Coorientação: Profa. Dra. Izaura Cirino Nogueira
Diógenes.

1. Monocamada automontada. 2. Nanopartículas de ouro. 3. Benzenoditiol. I. Título.

CDD 570

VITÓRIA SOARES DIBO

INCORPORAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE OURO SOBRE MONOCAMADA
AUTOMONTADA DE BENZENODITIOL

Monografia apresentada ao Curso de Química Bacharelado do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do Título de Bacharel em Química.

Aprovada em: ___/___/_____.

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Roselayne Ferro Furtado (Orientadora Profissional)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA)

Prof^a. Dr^a. Izaura Cirino Nogueira Diógenes (Orientadora Didática - Pedagógica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Dieric dos Santos de Abreu
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Renata e Paulo.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela imensa dedicação a mim e ao meu projeto de vida. Certamente teria sido mais difícil chegar até onde cheguei sem vocês me dando suporte.

A Luiza por todo o suporte que ela me ofereceu e ainda oferece. Por me ajudar a pensar grande, acreditar em mim e nunca desistir de lutar. Você foi peça fundamental no meu desenvolvimento.

A Universidade Federal do Ceará pela oportunidade de estudar em uma universidade de excelência e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pela bolsa que me foi concedida pelos anos que fui aluna de Iniciação Científica.

A minha orientadora, Professora Dra. Izaura Cirino Nogueira Diógenes, por ter me acolhido, me compreendido e direcionado em todo esse caminho. Também agradeço ao meu coorientador, Dr. Dieric Abreu, que esteve sempre me orientando tanto na minha vida profissional como no pessoal, e por aceitar ser membro da banca e fazer parte desse momento importante.

A Dra. Roselayne Ferro Furtado por ter me dado a oportunidade de trabalhar e colaborar com a Embrapa, além de participar como membro da banca.

A todos os alunos e professores do Laboratório de Bioinorgânica que me ajudam todos os dias em ser uma profissional cada vez melhor.

A todos meus amigos e colegas que me deram suporte durante essa jornada.

RESUMO

A monocamada automontada (SAM – *Self-Assembled Monolayer*), que é formada pela adsorção espontânea de espécies químicas sobre uma superfície, quando combinada a nanopartículas de ouro (AuNPs) pode ser utilizada na construção de biossensores eletroquímicos destinados a detecção de moléculas de interesse. Este trabalho teve o intuito de desenvolver uma plataforma de eletrodo modificado quimicamente com a possível proposta de formar um biossensor eletroquímico. Assim, foi utilizado o método de modificação da SAM em que o eletrodo de ouro policristalino foi imerso em uma solução de 1,4-benzenoditiol (BDT), a fim de formar o substrato modificado Au/BDT. Com o eletrodo modificado com a espécie sulfurada, o Au/BDT foi imerso em solução coloidal de AuNPs por 2 horas, resultando no eletrodo Au/BDT/AuNPs. Dessa forma, através da correlação entre os espectros vibracionais SERS (*Surface-Enhanced Raman Scattering*) e Raman normal, particularmente em relação aos modos de deformação e estiramento S–H, foi possível inferir que o processo de adsorção das moléculas de BDT sobre ouro ocorreu através de pelo menos um dos átomos de enxofre. O acompanhamento da formação da monocamada de BDT foi realizado por voltametria cíclica e impedância em solução contendo íons $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ como espécies redox. Com o aumento do tempo de modificação, as curvas voltamétricas apresentaram um aumento na separação de potencial de pico (ΔE_p), e os diagramas de Nyquist obtidos apresentaram a mesma tendência mostrando um aumento da resistência de transferência heterogênea de carga (R_{CT}). Tendo-se o enxofre como átomo responsável pela adsorção sobre o ouro, utilizou-se a dessorção redutiva alcalina para determinar o potencial de dessorção (-0,88 V vs Ag/AgCl) e o recobrimento superficial ($\Gamma = 1,62 \times 10^{-10}$ mol cm^{-2}). As nanopartículas de ouro sintetizadas apresentaram uma banda ao plasmon de superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonance*) com máximo em 534 nm correspondendo a um diâmetro médio de 56 nm. A incorporação das AuNPs foi monitorada por voltametria cíclica e impedância em solução contendo íons $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ como espécies redox. Os resultados eletroquímicos e impedimétricos mostraram que a adição das nanopartículas diminui a separação entre os potenciais de pico e a resistência de transferência heterogênea de carga na interface do eletrodo Au/BDT/AuNPs com a solução de espécies redox. Adicionalmente, os espectros de SERS do eletrodo Au/BDT/AuNPs confirmaram a interação das nanopartículas com a SAM de BDT através do átomo de enxofre terminal.

Palavras Chaves: Monocamada automontada; Benzenoditiol; Nanopartículas de ouro.

ABSTRACT

The Self-Assembled Monolayer (SAM), which is formed by spontaneous adsorption of chemical species on a surface, when combined with gold nanoparticles (AuNPs) can be used to build electrochemical biosensors destined to detect biomolecules. This work had the intention to develop a chemically modified electrode, which is a platform, that might be used to build an electrochemical biosensor. Thus, the SAM modification method was used immersing a polycrystalline gold electrode in 1,4-benzenedithiol (BDT) solution, to form the modified electrode Au/BDT. After this procedure, the Au/BDT was immersed in gold colloidal solution (AuNPs) for 2 hours, resulting on the Au/BDT/AuNPs electrode. So, correlating the vibrational SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering) and Raman spectra, particularly related to the S–H bend and stretching modes, it was possible to infer the adsorption process of the BDT molecules onto gold occurs through one of the sulfur atoms. The monitoring of the formation of the BDT monolayer was performed by cyclic voltammetry and impedance in solution containing $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ions as redox species. With the increase in the modification time, the voltammetric curves presented an increase in the peak potential difference (ΔE_p) and the Nyquist diagrams obtained showed similar trend presenting an increase in the heterogeneous charge transfer resistance (R_{CT}). Have proven that the sulfur atom was responsible to adsorb on gold, the modified electrode was used in a linear sweep voltammetry in alkaline medium to determine the desorption potential (-0.88 V vs Ag/AgCl) and the surface coverage ($\Gamma = 1.62 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$). The AuNPs synthesized presented a band assigned to the surface plasmon resonance (SPR) with maximum at 534 nm being consistent with an average diameter of 56 nm. The addition of the AuNPs on the Au/BDT electrode was followed by cyclic voltammetry and impedance in solution containing $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ ions as redox species. The electrochemical and impedimetric results showed that the addition of the nanoparticles decreases the separation between the peak potentials as well as the heterogeneous charge transfer resistance on the interface Au/BDT/AuNPs with the redox species. In addition, the SERS spectra obtained for Au/BDT/AuNPs confirmed that the interaction of the nanoparticles with the SAM of BDT occurred through the terminal sulfur atom.

Keywords: Self-Assembled Monolayers; Benzenedithiol; Gold nanoparticles.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Representação geral das unidades constituintes das SAMs.	9
Figura 2 - Representação da molécula de 1,4-benzenoditiol (BDT).	10
Figura 3 - Representação geral de um sistema eletroquímico analítico.	11
Figura 4 - Esquema geral de uma plataforma para imobilização de biomoléculas.	12
Figura 5 - Esquema de sinal de excitação para a voltametria cíclica.	13
Figura 6 - Representação de um voltamograma cíclico do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 2,5 mmol L ⁻¹ em KF 0,1 mol L ⁻¹	14
Figura 7 - Representação esquemática de um diagrama de Nyquist de uma resposta de impedância eletroquímica para um sistema onde ocorre transferência de carga controlada por difusão. R_{CT} : Resistência de transferência de carga; R_{Ω} : Resistência da solução.	16
Figura 8 - Esquema representativo da interação da radiação eletromagnética incidente sobre uma espécie e seus níveis vibracionais: (a), (b) e (c) representam, respectivamente, os efeitos Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. S_0 : estado fundamental; S_e : estado excitado; V : estado virtual; e_{ν} : diferença de energia entre os estados S_0 e S_e ; $h\nu_0$: fóton incidente.	18
Figura 9 - Esquema de redução e formação das nanopartículas de ouro (AuNPs).	20
Figura 10 - Esquema da célula eletroquímica. (1) Eletrodo de referência; (2) Eletrodo de trabalho; (3) Tubo para gás inerte; (4) Eletrodo auxiliar.	21
Figura 11 - Voltamograma cíclico a 100 mVs ⁻¹ do eletrodo de ouro policristalino (área geométrica = 0,07 cm ²) em solução de H ₂ SO ₄ 0,5 mol L ⁻¹ a T= 25 °C.	22
Figura 12 - Esquema de modificação do substrato de ouro.	23
Figura 13 - Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro a 100 mVs ⁻¹ , em KCl 0,1 mol L ⁻¹	24
Figura 14 - Espectros Raman normal (A) do composto BDT no estado sólido e SERS dos eletrodos Au/BDT (B) e Au/BDT/AuNPs (C). $\lambda_0 = 785 \text{ nm}$	26
Figura 15- Representação da incorporação das AuNPs sobre o eletrodo Au/BDT.	27
Figura 16 - (A) Voltamogramas cíclicos a 100 mVs ⁻¹ e (B) diagramas de Nyquist do eletrodo modificado (Au/BDT) em diferentes tempos de modificação (0 até 4h). Medidas realizadas em solução de 0,5 mol L ⁻¹ KF contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 2,5 mmol L ⁻¹ a 25°C.	28
Figura 17- Representação esquemática da reação de transferência de carga do par redox com o eletrodo de ouro com dependência do tempo de modificação (a) 0, (b) 1 hora e (c) 2 horas de modificação.	30
Figura 18 - Voltamograma linear a 50 mVs ⁻¹ em solução de KOH 0,5 mol L ⁻¹ da SAM formada após 4h de imersão do substrato de ouro em BDT 1,0 mmol L ⁻¹ a 20°C.	31

Figura 19 - Espectro eletrônico nas regiões do UV-Vis de soluções 0,25 mmol L ⁻¹ de HAuCl ₄ (a) e coloidal de AuNPs.....	32
Figura 20 - (A) Voltamogramas cíclicos a 100 mVs ⁻¹ e (B) diagramas de Nyquist do eletrodo de ouro (—) e dos eletrodos Au/BDT (—) e Au/BDT/AuNPs (—). Medidas realizadas em solução eletrolítica de KF 0,5 mol L ⁻¹ contendo [Fe(CN) ₆] ^{4-/3-} 2,5 mmol L ⁻¹ a 25°C.....	33
Figura 21 - Representação esquemática da reação de transferência de carga das moléculas de prova com os eletrodos (a) ouro, (b) Au/BDT e (c) Au/BDT/AuNPs.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Espectros Raman normal (A) do composto BDT no estado sólido e SERS dos eletrodos Au/BDT (B) e Au/BDT/AuNPs (C). $\lambda_0 = 785 \text{ nm}$	27
Tabela 2 - Parâmetros eletroquímicos e impedimétricos do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em função do tempo de imersão do eletrodo de ouro em uma solução $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ BDT. Dados obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 15.	29
Tabela 3 - Parâmetros eletroquímicos e impedimétricos do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em função da superfície modificada. Dados obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 18...	33

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SAM – Self-Assembled Monolayers

BDT – 1,4-benzenoditiol

AuNPs – Nanopartículas de ouro

SERS – Surface-Enhanced Raman Scattering

VC – Voltametria Cíclica

EIE – Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

SPR – Surface Plasmon Resonance

ORCs – Oxidation-Reduction Cycles

OCP – Open Circuit Potential

SUMÁRIO

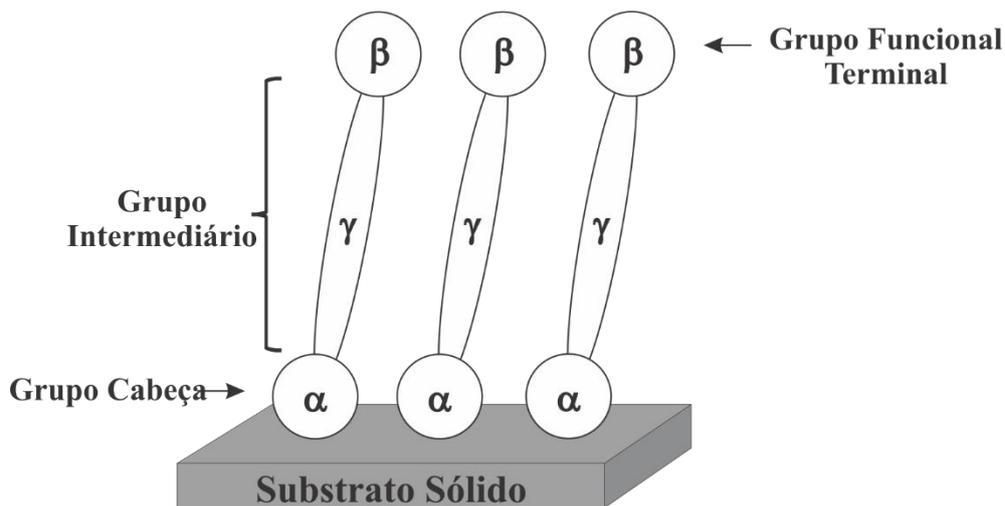
1	INTRODUÇÃO	9
1.1	Monocamada automontada	9
1.2	Nanopartícula de Ouro	10
1.3	Biossensor eletroquímico	11
1.4	Aplicações	12
1.5	Descrição das Técnicas	13
1.5.1	<i>Voltametria Cíclica</i>	13
1.5.2	<i>Espectroscopia de Impedância Eletroquímica</i>	15
1.5.3	<i>Espectroscopia Raman e SERS</i>	17
2	OBJETIVOS	19
2.1	Objetivo geral	19
2.2	Objetivos específicos	19
3	METODOLOGIA	20
3.1	Reagentes	20
3.2	Síntese das Nanopartículas de Ouro	20
3.3	Material e acessórios eletroquímicos	21
3.4	Limpeza do Eletrodo de Ouro Policristalino	21
3.5	Determinação da Área Eletroativa do Ouro	22
3.6	Modificação do eletrodo com BDT e AuNPs	23
3.7	Caracterização da SAM de 1,4-benzenoditiol (BDT)	23
3.7.1	Espectroscopia vibracional Raman e SERS	23
3.7.2	Ativação do Substrato SERS	24
3.8	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
4.1	Espectroscopia Raman e SERS	26
4.2	Modificação do eletrodo de ouro com moléculas de BDT	28
4.3	Dessorção redutiva em meio alcalino	30
4.4	Caracterização das AuNPs	31
4.5	Modificação da SAM de BDT com AuNPs	32
5	CONCLUSÃO	35
6	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

1.1 Monocamada automontada

A monocamada automontada (SAM, do inglês *Self-Assembled Monolayer*) é formada por agregados moleculares ordenados adsorvidos espontaneamente sobre uma superfície metálica ou um surfactante ativo, como descrito na Figura 1 [1]. Devido sua estrutura compacta e estável, as superfícies modificadas pela SAM podem ser aplicadas no campo da corrosão, além de serem promissoras na química e bioquímica, de acordo com a natureza da SAM [1]. As espécies adsorventes possuem, em geral, três regiões distintas. A primeira região é o grupo cabeça (α) que, por sua vez, tem grande afinidade pelo substrato, local onde ocorre a adsorção. A segunda região é o grupo intermediário (γ) que permite interações laterais entre as espécies adsorvidas resultando em uma estrutura organizada da monocamada. A terceira região, a mais externa, é o grupo terminal (β) que irá proporcionar novas propriedades químicas à superfície [1, 2], Figura 1.

Figura 1- Representação geral das unidades constituintes das SAMs.



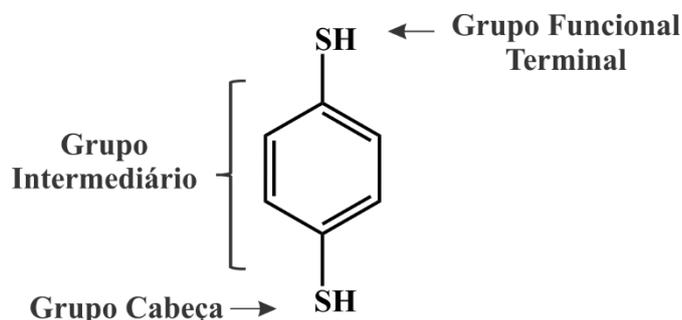
Fonte: Adaptada da referência [2].

Muitos substratos metálicos podem ser usados, como prata, paládio, cobre, ouro entre outros. Assim, o ouro é usualmente utilizado pois é um metal inerte (não reage com O_2 e nem oxida em temperaturas abaixo do seu ponto de ebulição), é facilmente obtido, tanto como filme metálico e como coloide, e pode formar uma ligação covalente forte com compostos que contêm enxofre (grupo cabeça) [1-3], sendo bastante usado para confecção de SAMs de organossulfurados. Dependendo do tipo do grupo funcional terminal da molécula ($-COOH$, $-OH$, $-SH$, $-NH_2$), será proporcionado novas propriedades químicas à superfície. Essas

superfícies funcionalizadas podem ser utilizadas para reações interfaciais, imobilização de biomoléculas, estudo da corrosão e outros [2-6]. Grupos funcionais como ácido carboxílico ($-\text{COOH}$) e amina ($-\text{NH}_2$) são normalmente empregados para interações com biomoléculas (proteínas, por exemplo), uma vez que a adsorção direta dessas espécies sobre a superfície metálica pode resultar em desnaturação e, portanto, perda da atividade biológica [5, 6].

A molécula 1,4-benzenoditiol, representada na Figura 2, apresenta dois grupos tióis nas extremidades, e por isso essa espécie é utilizada para a formação da SAM, sendo esperado que ocorram interações covalentes entre os átomos de enxofre e ouro do substrato, tal como reportado na literatura [7]. O átomo de enxofre da porção terminal da molécula proporciona características funcionais a superfície e pode interagir, por exemplo, com nanopartículas de ouro (AuNPs).

Figura 2 - Representação da molécula de 1,4-benzenoditiol (BDT).



Fonte: Elaborado pelo autor.

1.2 Nanopartícula de Ouro

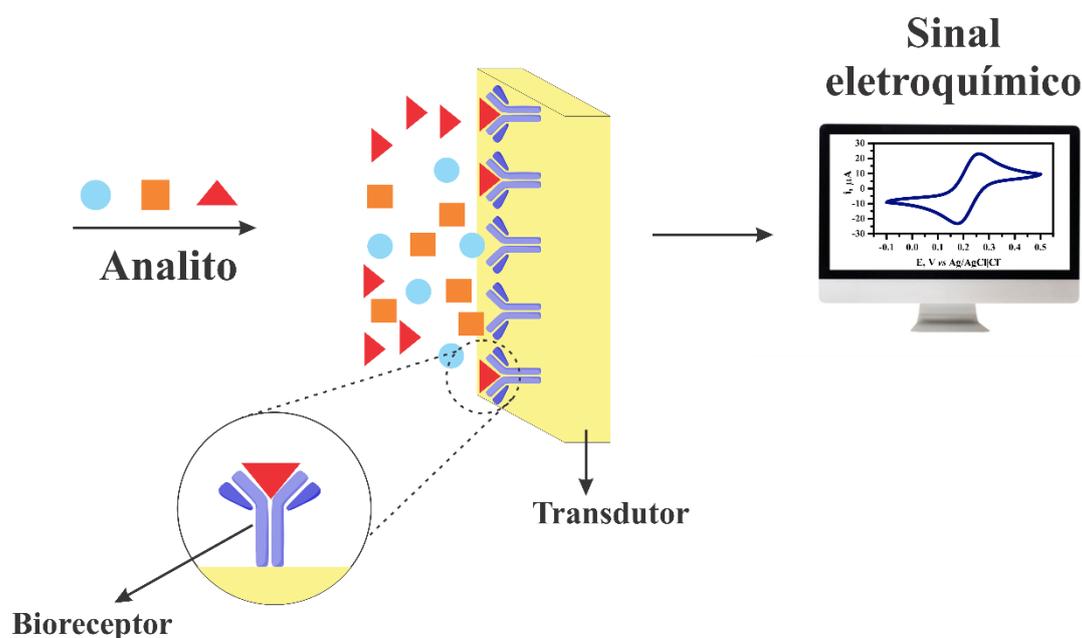
Nanopartículas são partículas que apresentam tamanho entre 1-100 nm e têm propriedades ópticas, magnéticas, eletrônicas e superficiais bastante promissoras nas pesquisas aplicadas em medicina, química, física, eletrônica [8-10], dentre outras. Esses materiais, sendo alguns, formados por metais nobres (ouro, platina, prata) são bastante utilizados devido a fácil síntese e na possível funcionalização da superfície da nanopartícula [8]. As nanopartículas são bastante usadas nos campos da biomedicina, em contraste de imagens, no tratamento de câncer, neste caso as nanopartículas de ouro modificadas quimicamente proporcionam maior biocompatibilidade e interações específicas com as células tumorais [10]. Pode-se citar, ainda, a utilização em biossensores eletroquímicos na detecção de biomoléculas, como na utilização do eletrodo de ouro modificado por uma molécula sulfurada (SAM) acoplada com AuNPs como forma de melhorar o fluxo de elétrons entre o ouro e a espécie biológica (ligação da nanopartícula com o centro metálico da enzima

Galactose oxidase), por exemplo [11, 12]. Devido ao seu tamanho e a alta razão superfície/volume, essas partículas têm ampla aplicabilidade analítica, uma vez que aumenta a sensibilidade do sinal eletroquímico, possibilitando maior interação com as espécies de interesse [12].

1.3 Biossensor eletroquímico

O rápido diagnóstico e a alta sensibilidade na detecção de biomoléculas e bactérias nos pontos de atendimento médico básico [13], na análise de produtos alimentícios [4, 14] e no meio ambiente [15], configura-se em um grande desafio para a comunidade científica. Dessa forma, tem sido proposto o uso de sistemas eletroquímicos que podem superar tal dificuldade. Os sensores químicos são dispositivos que convertem um sinal químico, relacionado a concentração da espécie de interesse (analito), ou da composição total da solução analisada, em um sinal analítico mensurável. Os biossensores eletroquímicos utilizam um sistema de reconhecimento biológico (bioreceptor) acompanhado de um transdutor eletroquímico (eletrodo quimicamente modificado) [16]. Esses dispositivos de análise (Figura 3) funcionam transformando o sinal analítico em sinal eletroquímico mensurável. Esses modelos apresentam especificidade, seletividade e sensibilidade, além de baixo custo e rápida resposta [17].

Figura 3 - Representação geral de um sistema eletroquímico analítico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

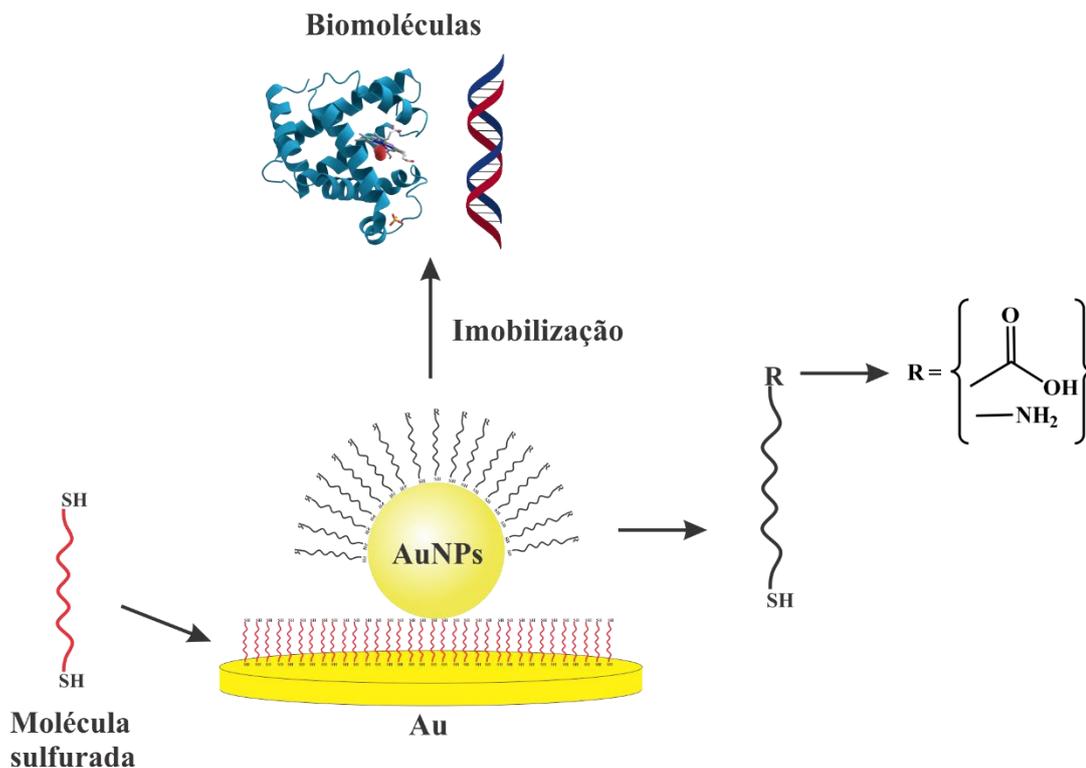
Vários desses biossensores eletroquímicos são usados com a técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) para análises, sendo chamados de

biossensores impedimétricos. A resposta eletroquímica é estabelecida de acordo com a interação da espécie química com a superfície metálica, sendo medida devido a mudança que ocorre com o parâmetro de resistência do substrato. Dentre as inúmeras plataformas propostas como biossensores, os eletrodos quimicamente modificados com uma monocamada espontaneamente adsorvida (SAM, do inglês *Self-Assembled Monolayer*) [1] são usados para a imobilização de espécies biológicas, e sua posterior detecção, visto que não causam desnaturação desses compostos [4, 5, 18-20].

1.4 Aplicações

A vasta aplicação das AuNPs com biossensores eletroquímicos, por exemplo, deve-se à capacidade de imobilizar e estabilizar biomoléculas, conservando sua atividade biológica [21]. A inserção de AuNPs sobre uma superfície modificada (SAM), usando espécies organossulfuradas [11, 22] é um dos métodos utilizados na preparação de biossensores eletroquímicos contendo nanopartículas. Na Figura 4 é retratado um esquema geral da formação de uma plataforma para um sensor eletroquímico com a adição das AuNPs, estas serão modificadas com espécies que contêm os grupos (-SH) e (-COOH) com o objetivo de ancorar a biomolécula de interesse.

Figura 4 - Esquema geral de uma plataforma para imobilização de biomoléculas.



Fonte: Elaborada pelo autor.

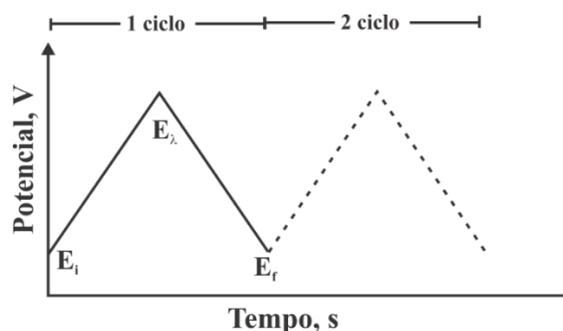
1.5 Descrição das Técnicas

1.5.1 Voltametria Cíclica

A técnica de voltametria cíclica (VC) é uma ferramenta eletroanalítica e se tornou bastante popular no estudo de espécies eletroativas, atuando nos campos da eletroquímica, orgânica e inorgânica devido a sua versatilidade e capacidade de resultados rápidos em relação ao comportamento das espécies redox na interface do eletrodo/solução [23]. Através da VC é possível avaliar intermediários de reação e acompanhar processos que envolvem a formação de produtos nos eletrodos [24], além de elucidar processos reversíveis ou irreversíveis.

A VC consiste na aplicação de uma faixa de potencial no eletrodo de trabalho imerso em uma solução, onde o sinal resultante é a medida de corrente, sendo que a corrente varia linearmente com o potencial aplicado. Nesse tipo de medida, o potencial, também chamado de sinal de excitação, apresenta o perfil de uma onda triangular, conforme a representação na Figura 5.

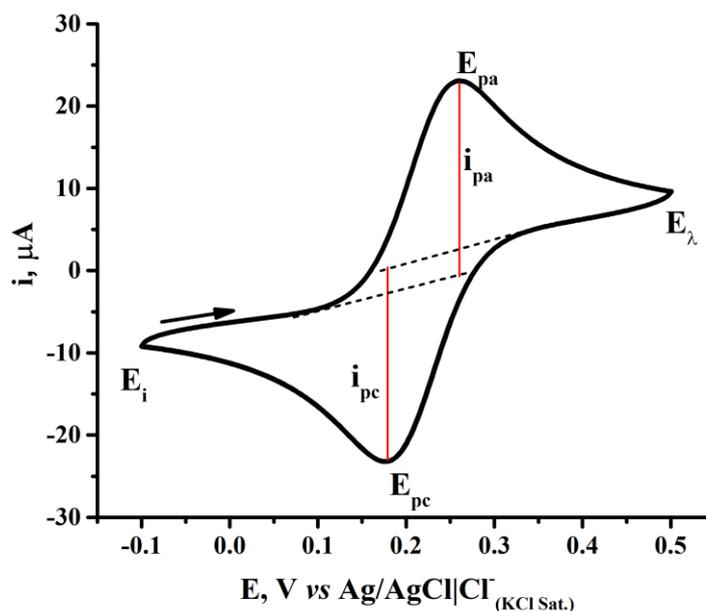
Figura 5 - Esquema de sinal de excitação para a voltametria cíclica.



Fonte: Adaptado da referência [23]

Na CV, aplica-se um potencial inicial (E_i) que varia linearmente até o potencial de retorno (E_λ) onde se inicia a varredura reversa até o potencial final (E_f) que coincide com E_i , fechando o ciclo. A resposta obtida nesse processo é uma curva que relaciona cada potencial aplicado durante a varredura com a corrente resultante medida. O resultado experimental da VC está ilustrado na Figura 6, sendo o voltamograma cíclico apresentado obtido em uma solução de KF $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contendo os íons complexos $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ e $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ que representam reações de eletrodo monoelétrônicas.

Figura 6 - Representação de um voltamograma cíclico do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ 2,5 mmol L⁻¹ em KF 0,1 mol L⁻¹.



Fonte: Elaborado pelo autor.

No voltamograma a curva apresenta duas regiões onde a corrente apresenta valores máximos. Os pontos de inflexão nessas regiões são chamados de potenciais de pico de oxidação, E_{pa} , e de redução, E_{pc} , cujos valores da corrente, levando em consideração as linhas de base tracejadas, são denominadas corrente de pico anódico, i_{pa} , e catódico, i_{pc} . Sabendo que a condição de reversibilidade é atingida quando os coeficientes de difusão das espécies oxidada e reduzida são iguais, podemos considerar que um par eletroquimicamente reversível é formado por espécies cuja a reação de transferência de elétrons com o eletrodo de trabalho é muito rápido, onde para um processo monoeletrônico, de acordo com a Equação de Nernst [23] a separação entre os potenciais de pico (ΔE_p) deve ser de 0,059 V. Outro critério de reversibilidade é que o processo da reação redox deve seguir a Equação de Randles-Sevcik (1) [23]:

$$i_p = (2,69 \cdot 10^5) \cdot n^{3/2} \cdot A \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot v^{1/2} \quad (1)$$

onde, i_p é a corrente de pico (A), n é número de elétrons envolvidos na reação, A é a área ativa do eletrodo (cm²), D é o coeficiente difusional (cm²/s), C é a concentração das espécies redox (mol/cm³) e v é a velocidade de varredura (V/s), em que a razão entre os valores de i_{pa} e i_{pc} deve ser 1. À medida que há um grande afastamento entre os valores de E_{pa} e E_{pc} , e que a equação (1) não é aplicada, o processo se torna eletroquimicamente irreversível [23]. A etapa de velocidade determinante, tanto no caso do processo reversível como no irreversível, será a

difusão das espécies redox. O que diferencia esses processos é a velocidade da reação hTE, uma vez que para processos reversíveis os valores da constante de velocidade heterogênea de transferência de elétrons (k^0) é superior a $10^{-1} \text{ cm s}^{-1}$, ao passo que valores inferiores a $10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$ são observados para processos irreversíveis. Valores intermediários de k^0 caracterizam processos denominados “*quasi-reversíveis*” [25].

Nas medidas de voltametria cíclica, alguns cuidados devem ser tomados para que o transporte de massa da solução para a superfície do eletrodo ocorra, majoritariamente, por difusão, ou seja, no movimento espontâneo das espécies contidas no centro da solução para a interface do eletrodo/solução [26], sendo minimizadas as outras formas de transporte que podem acontecer, como migração e convecção. Assim, para evitar a migração, adiciona-se um eletrólito suporte com concentração 100x mais elevada do que a da espécie redox, mantendo o sistema em repouso durante o experimento [26], e para evitar a convecção é minimizados os ruídos, como o uso de agitação da solução. A corrente elétrica decorrente de processos redox é constituída de duas componentes: corrente faradáica que é relativa à reação redox da espécie na interface eletrodo/solução, e a corrente capacitiva que é necessária para carregar a dupla camada elétrica existente na interface [24].

1.5.2 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

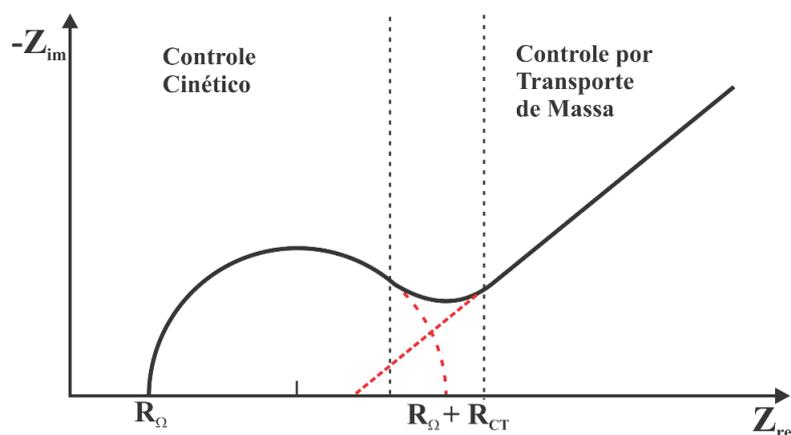
A técnica de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) envolve a combinação de elementos de circuitos elétricos passivos, isto é, resistência, capacitância e indutância, para caracterizar sistemas como baterias, células combustíveis, biossensores e outros [13, 24, 27]. No intuito de identificar biomoléculas, os biossensores impedimétricos vêm ganhando reconhecimento devido ao rápido diagnóstico e a grande quantidade de informação que se pode obter a partir de um único resultado. Esses dispositivos podem ser avaliados na presença de espécies eletroativas (sistema faradáico) para caracterizar o efeito que a imobilização de bactérias, por exemplo, causará no parâmetro da resistência de transferência de carga, R_{CT} , na interface eletrodo/solução.

A EIE requer a aplicação de uma perturbação de potencial ou de corrente no sistema eletroquímico [24]. A perturbação é realizada mediante a aplicação de um potencial contínuo (potencial central aplicado) sobre o qual é superimposta uma variação senoidal de potencial com pequena amplitude. Este método de aplicação do potencial possibilita que o sistema seja perturbado empregando poucos volts de forma a tornar possível a investigação de fenômenos eletroquímicos próximos ao estado de equilíbrio. Mediante o monitoramento da

relação entre o potencial aplicado e a corrente, obtém-se a impedância do sistema e o ângulo de fase (defasagem da corrente em relação ao potencial aplicado). Assim, a partir dessas medidas, é possível avaliar processos como transporte de elétrons (incluindo estimativa de velocidade de transferência) e de carga, condutividade de filmes, capacitância da dupla camada, entre outros.

O diagrama de Nyquist, ilustrado na Figura 7, o mais utilizado para representar os fenômenos de impedância eletroquímica, apresenta os dados de impedância por meio da relação entre os valores de impedância imaginária (Z_{Im}) e real (Z_{re}).

Figura 7 - Representação esquemática de um diagrama de Nyquist de uma resposta de impedância eletroquímica para um sistema onde ocorre transferência de carga controlada por difusão. R_{CT} : Resistência de transferência de carga; R_{Ω} : Resistência da solução.



Fonte: Adaptado da referência [24].

No diagrama de Nyquist, a presença de espécies eletroativas em solução é observada, geralmente, por um semicírculo (arco capacitivo) na região de mais alta frequência. Esse arco está relacionado ao processo de transferência de carga das espécies eletroativas (par redox) na interface eletrodo/solução. Na região de mais baixas frequências, pode ser visualizada uma distribuição linear dos pontos experimentais que deve estar relacionado ao processo difusional do par redox. A extrapolação ao eixo de impedância real (Z_{re}) permite a estimativa do parâmetro de R_{CT} .

Sendo que aumento da capacitância é devido ao efeito de bloqueio resultante da formação, por exemplo, da SAM de 1,4-benzenoditiol sobre um eletrodo de ouro, o parâmetro de recobrimento superficial (θ) pode ser determinado a partir do diagrama de Nyquist de acordo com a Equação (2) [28];

$$\theta = 1 - \left(\frac{R_{CT}}{R_{CT}^*} \right) \quad (2)$$

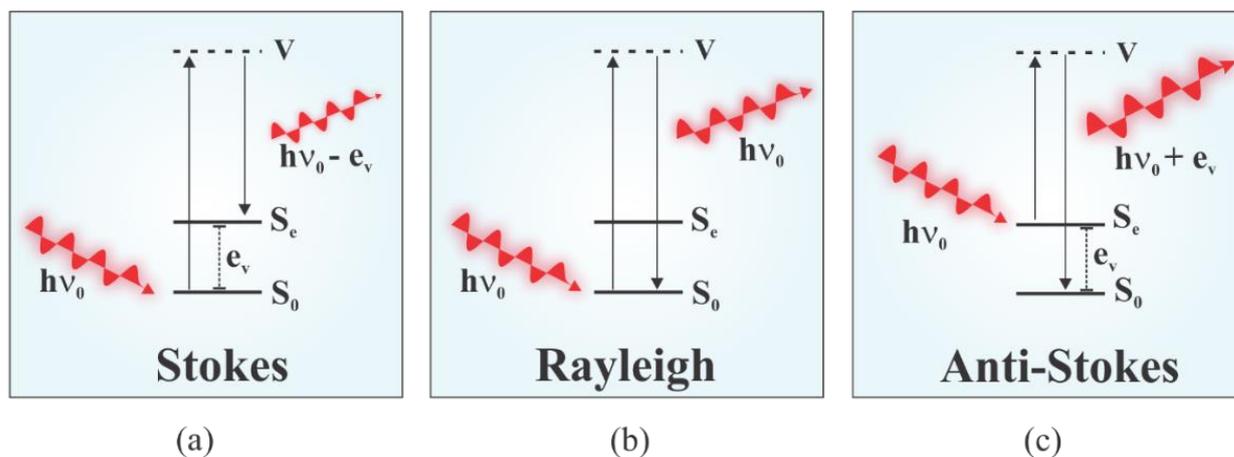
onde, R_{CT} e R_{CT}^* são, respectivamente, os valores da resistência a transferência de carga para o ouro limpo e para a superfície modificada.

1.5.3 Espectroscopia Raman e SERS

As técnicas espectroscópicas estudam a interação da radiação eletromagnética com a matéria de interesse fornecendo informações sobre os níveis de energia de átomos ou moléculas [29]. A espectroscopia vibracional Raman (ER) permite investigar a natureza química e estrutural de moléculas, visto que as vibrações das ligações entre os átomos acontecem em valores específicos de frequência [30]. A ER tem por vantagens ser uma técnica não destrutiva e permitir a obtenção de espectros em meio aquoso, além de acoplar alguns recursos especiais, como o efeito SERS que proporciona maior sensibilidade e intensificação do espectro, podendo investigar a formação de monocamadas sobre superfícies metálicas.

A espectroscopia vibracional Raman atua com o efeito do espalhamento da luz, ou seja, é incidido uma radiação monocromática sobre a amostra onde os fótons ($h\nu_0$) irão interagir, causando excitação dos modos vibracionais. O retorno para o estado vibracional fundamental caracteriza o espalhamento Rayleigh (espalhamento elástico), enquanto a volta para um estado final diferente, resulta no espalhamento inelástico. Dentro dessa categoria de espalhamento, o fóton resultante pode ter energia menor ou maior, dependendo do nível de energia do estado vibracional que ele incidiu. Assim, como ilustrado na Figura 8, no primeiro caso, $h\nu_0$ incidente encontra a espécie em seu estado fundamental (S_0) e a excita para o estado virtual (V), retornando para um estado vibracionalmente excitado (S_e). O fóton espalhado é dito de espalhamento Stokes. No terceiro caso, Figura 8 (c), o que o difere do primeiro, é que o fóton será incidido no estado excitado, S_e , onde o modo vibracional é excitado para um estado virtual (V), retornando para o S_0 , tendo um acréscimo de energia do fóton espalhado. Nessa situação, tem-se o espalhamento Anti-Stokes [29, 30].

Figura 8 - Esquema representativo da interação da radiação eletromagnética incidente sobre uma espécie e seus níveis vibracionais: (a), (b) e (c) representam, respectivamente, os efeitos Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. S_0 : estado fundamental; S_e : estado excitado; V : estado virtual; e_v : diferença de energia entre os estados S_0 e S_e ; $h\nu_0$: fóton incidente.



Fonte: elaborado pelo autor.

Os espectros vibracionais Raman retratam, geralmente, o espalhamento Stokes, visto que no Anti-Stokes, a radiação incide sobre um estado excitado. Nessa condição tem-se uma menor probabilidade na densidade dos modos vibracionais excitados nas condições normais de temperatura e pressão.

As medidas Raman podem ser acopladas com o efeito SERS, proporcionando uma intensificação do sinal causada pelo uso de uma superfície metálica, em que é possível avaliar a formação de monocamadas de moléculas adsorvidas. Há dois modelos principais que tentam elucidar o efeito de intensificação sobre superfície: o modelo eletromagnético e o químico. O primeiro atribui a intensificação ao campo magnético próximo ao substrato em ressonância com o plasmon da superfície (SPR, do inglês *Surface Plasmon Resonance*). Já o modelo químico baseia-se em alterações de polarizabilidade molecular após a interação entre a espécie adsorvida e o metal (ouro-enxofre, por exemplo), podendo causar intensificação, deslocamento ou até aparecimento de novas bandas [31].

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O intuito desse trabalho foi avaliar a interação de nanopartículas de ouro (AuNPs) sobre o substrato de ouro modificado com moléculas de 1,4-benzenoditiol (Au/BDT).

2.2 Objetivos específicos

- Modificar e caracterizar pelas técnicas de Voltametria Cíclica, Impedância Eletroquímica e SERS (do inglês, *Surface-Enhanced Raman Scattering*) o eletrodo de ouro com moléculas de BDT.
- Sintetizar e caracterizar por Espectroscopia de absorção nas regiões UV-Visível as nanopartículas de ouro.
- Modificar e caracterizar pelas técnicas de Voltametria Cíclica, Impedância Eletroquímica e SERS a SAM de BDT com nanopartículas de ouro.

3 METODOLOGIA

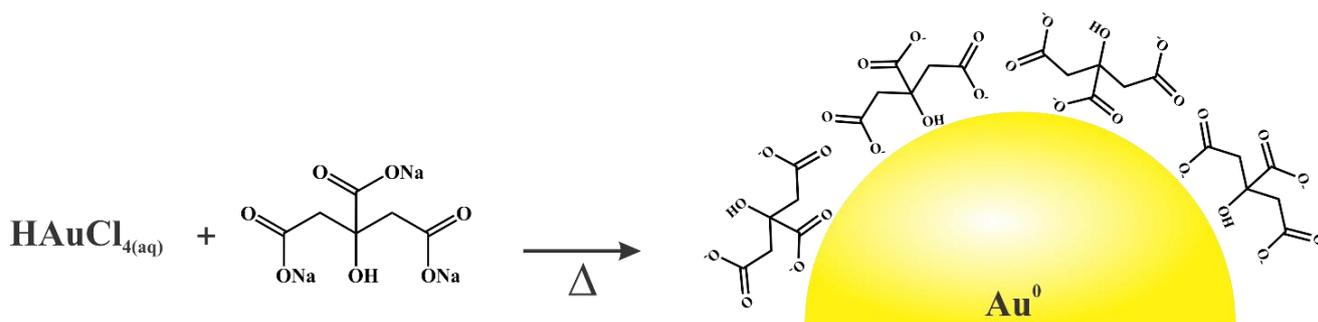
3.1 Reagentes

Água deionizada (18,2 MΩ cm a 25 °C, Milli-Q®) foi utilizada para preparar todas as soluções aquosas. N, N-dimetilformamida (DMF) (98%, Tedia-Brasil), cloreto e fluoreto de potássio (99%, Sigma-Aldrich), hidróxido de potássio (KOH) grau semiconductor (99,99% Sigma-Aldrich), ácido sulfúrico (99,99%, Sigma-Aldrich), hexacianoferrato(II) de potássio e (K₄[Fe(CN)₆]) (98,5%, Acros Organics), hexacianoferrato(III) de potássio (K₃[Fe(CN)₆]) (99+%, Acros Organics), tetracloreto de ouro(III) (HAuCl₄.4H₂O) (Merck), citrato de sódio (Na₃C₆H₅O₇) (99% Sigma-Aldrich) e 1,4-benzenoditiol (BDT) (99% Sigma-Aldrich) foram utilizados sem purificação prévia.

3.2 Síntese das Nanopartículas de Ouro

De acordo com a alta aplicabilidade, durabilidade e controle de tamanho, as nanopartículas de ouro (AuNPs) podem ser facilmente produzidas a partir do método da redução do tetracloreto áurico (HAuCl₄) (Au^{III} → Au⁰) utilizando citrato de sódio aquoso (Na₃C₆H₅O₇) como agente redutor, desenvolvido por Turckevich *et al.* [32] e aprimorado por Frens *et al.* [33]. O esquema de redução e formação das AuNPs encontra-se representado na Figura 9.

Figura 9 - Esquema de redução e formação das nanopartículas de ouro (AuNPs).



Fonte: adaptada da referência [34].

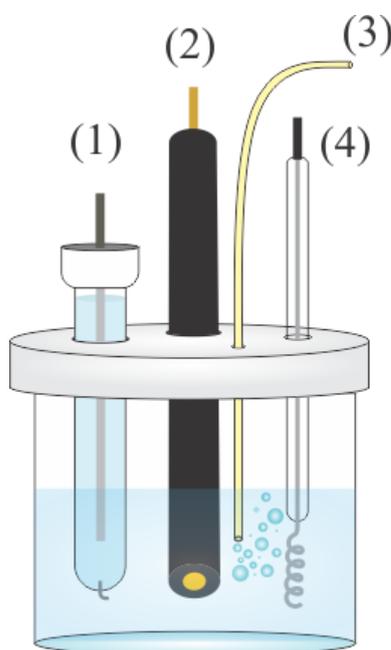
Uma solução aquosa de HAuCl₄ 0,25 mmol L⁻¹ (50 mL) foi submetida à constante agitação, a temperatura de 80 °C, em um balão de fundo redondo (100 mL). Em seguida, foi adicionado uma alíquota de 0,5 mL da solução 0,1 mol L⁻¹ Na₃C₆H₅O₇. O sistema continuou em agitação por 10 minutos até se observar uma coloração vermelha indicando a formação das nanopartículas. A solução coloidal de AuNPs foi analisada usando a técnica de espectroscopia eletrônica de absorção nas regiões do ultravioleta e visível (UV-Vis),

utilizando o espectrofotômetro *Hewlett-Packard*, modelo 8453 *Diode-Array*, para caracterizar as nanopartículas.

3.3 Material e acessórios eletroquímicos

Os experimentos de eletroquímica foram realizados utilizando-se potenciostato Autolab PGSTAT 302N (*Echo Chemie*, Utrecht, The Netherlands) controlado pelo software Nova v. 1.11 equipado com o módulo FRA2 para realização das medidas de EIS. As medidas foram conduzidas em uma célula eletroquímica de vidro com tampa de teflon contendo quatro orifícios para acomodação do eletrodo auxiliar de platina, em forma de espiral, eletrodo de trabalho, ouro policristalino $A_{\text{Geométrica}} = 0,070 \text{ cm}^2$ (BAS), e eletrodo de referência $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ em KCl saturado. No quarto orifício, fez-se uso de um tubo para saturação da solução com gás inerte (argônio). O esquema eletroquímico está ilustrado na Figura 10.

Figura 10 - Esquema da célula eletroquímica. (1) Eletrodo de referência; (2) Eletrodo de trabalho; (3) Tubo para gás inerte; (4) Eletrodo auxiliar.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4 Limpeza do Eletrodo de Ouro Policristalino

O eletrodo de ouro policristalino foi submetido a três procedimentos de limpeza na respectiva ordem de execução:

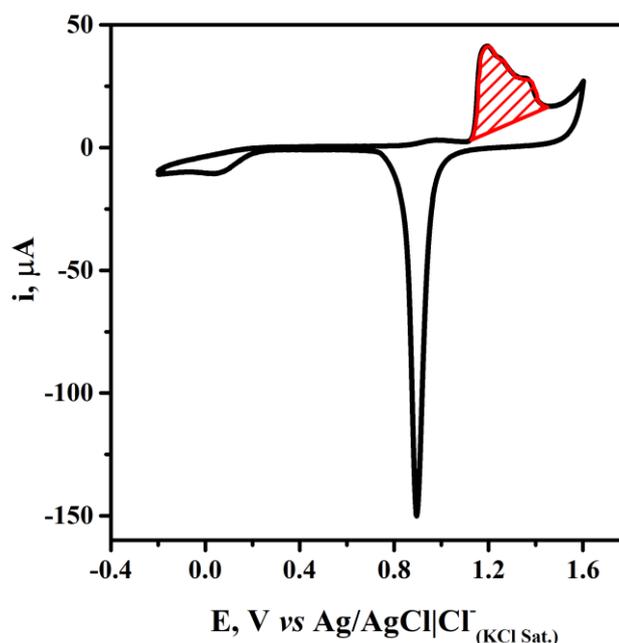
- limpeza química: imersão do eletrodo em solução “piranha” ($3v \text{ H}_2\text{SO}_4 / 1v \text{ H}_2\text{O}_2$) por 30 segundos;

- limpeza mecânica: polimento em alumina com granulação $0,05\mu\text{m}$, e, em seguida, o eletrodo foi inserido em um becker contendo água deionizada e levado a banho ultrassônico por 2 minutos para a remoção de resíduos de alumina;
- limpeza eletroquímica: varreduras cíclicas (20 ciclos a $0,5\text{ V/s}$) de $-0,4\text{ V}$ a $-1,8\text{ V}$ em solução de $\text{KOH } 0,5\text{ mol L}^{-1}$, garantindo uma limpeza efetiva devido a dessorção redutiva. Em seguida, foram realizadas varreduras cíclicas (50 ciclos a $0,5\text{ V/s}$) de $-0,4\text{ V}$ a $1,8\text{ V}$ em meio ácido, $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ } 0,5\text{ mol L}^{-1}$, a fim de proporcionar uma superfície morfologicamente reproduzível.

3.5 Determinação da Área Eletroativa do Ouro

Após realizado os procedimentos de limpeza, o eletrodo foi submetido a uma varredura cíclica (1 ciclo a $0,1\text{ V/s}$) em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ } 0,5\text{ mol L}^{-1}$, de $-0,2\text{ V}$ a $+1,6\text{ V}$. Nessa região, são observados os processos característicos da formação de óxidos de ouro [35] como ilustrado na Figura 11.

Figura 11 - Voltamograma cíclico a 100 mVs^{-1} do eletrodo de ouro policristalino (área geométrica = $0,07\text{ cm}^2$) em solução de $\text{H}_2\text{SO}_4\text{ } 0,5\text{ mol L}^{-1}$ a $T= 25\text{ }^\circ\text{C}$.



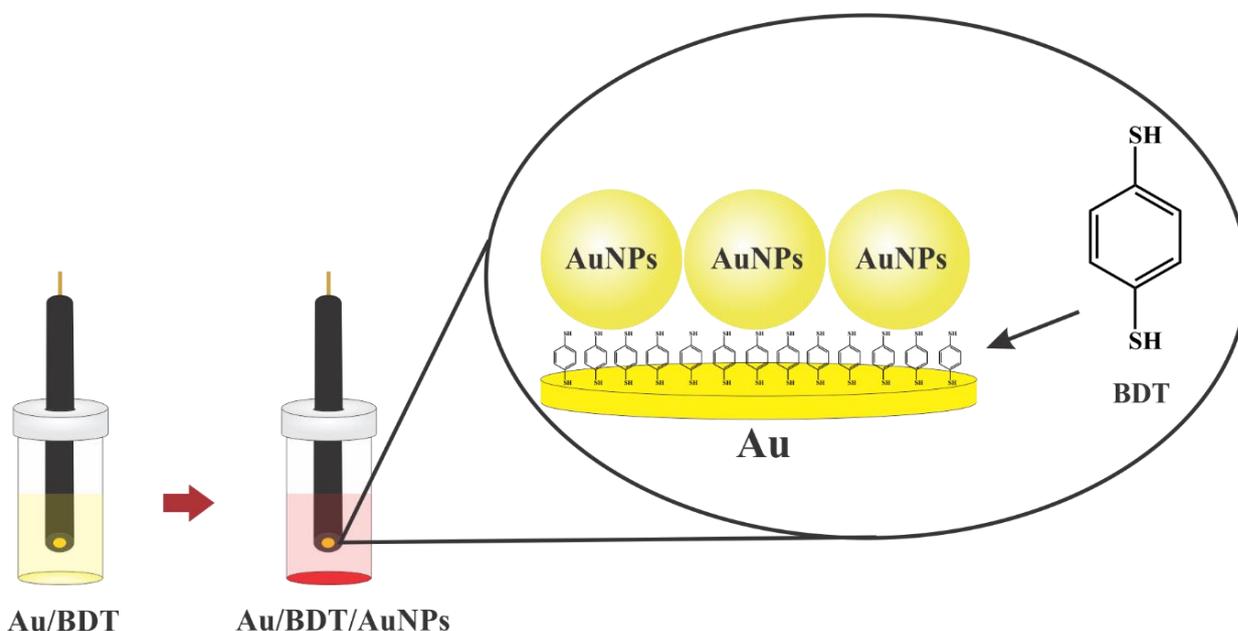
A área eletroativa do eletrodo de ouro policristalino foi determinada a partir da carga do processo anódico (região hachurada) correspondente a formação do óxido de ouro [35]. Este procedimento de determinação da área eletroativa é utilizado para metais que apresentam processos de adsorção/dessorção de óxidos bem definidos [36]. Para o ouro

policristalino, a densidade de carga relacionada ao óxido de ouro é de aproximadamente $390 \mu\text{C cm}^{-2}$ [37].

3.6 Modificação do eletrodo com BDT e AuNPs

Após os procedimentos descritos nas seções 3.4 e 3.5, o substrato metálico foi imerso em solução 1 mmol L^{-1} de BDT em DMF (N, N-dimetilformamida) a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ em banho termostático (QUIMIS, Brasil). O tempo de modificação foi determinado experimentalmente. Em seguida, o eletrodo modificado (Au/BDT) foi lavado com DMF e água deionizada, e imerso em solução coloidal de nanopartículas de ouro por 2 horas. A imobilização das AuNPs foi verificada por impedância eletroquímica e voltametria cíclica. O esquema de modificação é mostrado na Figura 12.

Figura 12 - Esquema de modificação do substrato de ouro.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.7 Caracterização da SAM de 1,4-benzenoditiol (BDT)

3.7.1 Espectroscopia vibracional Raman e SERS

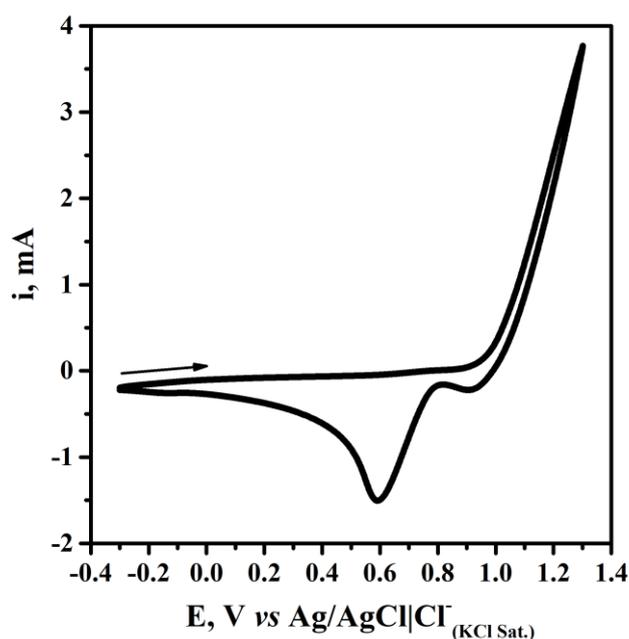
As medidas foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia Vibracional (LEV) do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará usando o espectrômetro Horiba LABRAM-HR com resfriamento de N_2 acoplado a um detector CCD (do inglês, *Charge Coupled Device*). A radiação excitante (λ_0) foi 785 nm (diodo de estado sólido), e a radiação espalhada foi dispersa em uma grade de difração de $1800 \text{ linhas mm}^{-1}$. A resolução do

experimento foi de 1 cm^{-1} , em que cada espectro foi obtido pela média de 10 acumulações de 10 s.

3.7.2 Ativação do Substrato SERS

Neste trabalho, para utilizar a intensificação do espalhamento Raman, o substrato de ouro foi previamente limpo (seção 3.4) e submetido a uma ativação eletroquímica. O procedimento consistiu na realização de ciclos de oxidação e redução (ORCs, do inglês *Oxidation-Reduction Cycles*) [38], utilizando uma solução eletrolítica de KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ em uma faixa de potencial de $-0,3 \text{ V}$ a $1,3 \text{ V}$, na velocidade de varredura de $0,1 \text{ V/s}$, representado na Figura 13.

Figura 13 - Voltamograma cíclico do eletrodo de ouro a 100 mVs^{-1} , em KCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.



Após a ativação, a superfície foi submetida a um procedimento de dessorção redutiva alcalina, utilizando solução de KOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, onde foram feitas varreduras de potencial no sentido negativo, de $-0,4 \text{ V}$ a $1,8 \text{ V}$, na velocidade $0,5 \text{ V/s}$, para garantir a ausência de espécies orgânicas que podem contaminar a superfície do ouro. Após esse protocolo, foi colocada uma gota de 1 mmol L^{-1} de BDT em DMF na superfície do substrato por 30 minutos seguido de lavagem com etanol para realização da medida. Formada a SAM, foi adicionada uma gota da solução coloidal de AuNPs por 2 horas seguido de lavagem com etanol.

3.8 Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

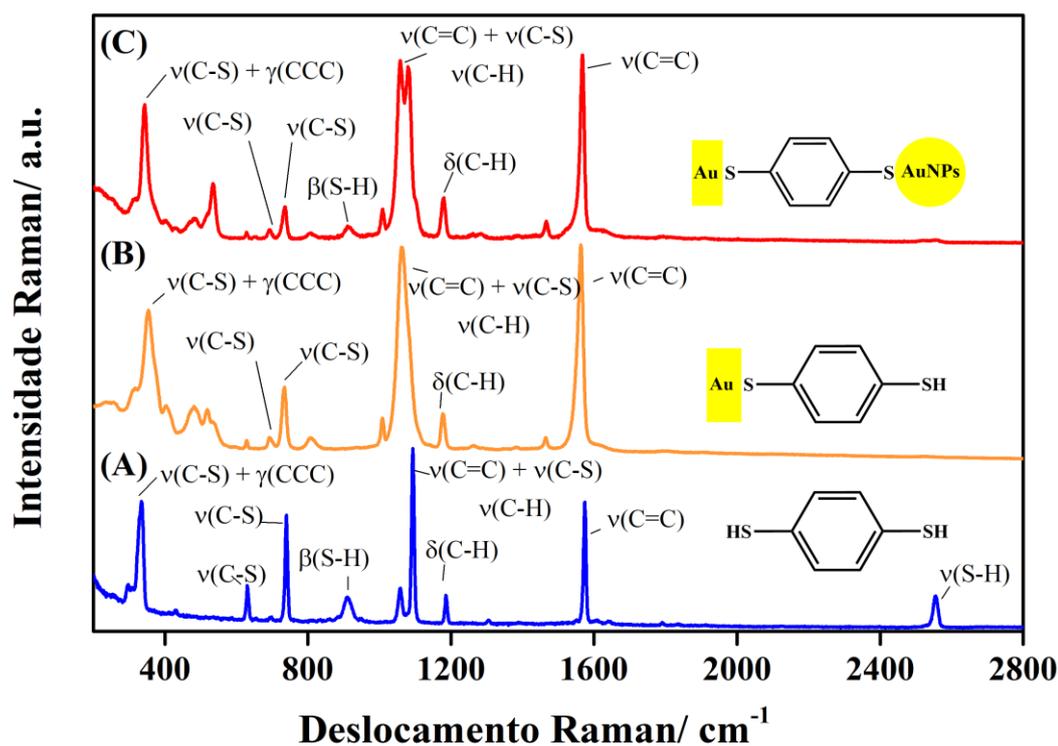
As medidas de EIS foram realizadas na faixa de 0,1 Hz a 30 kHz pela superimposição de um potencial sinusoidal AC de 20 mV ao potencial aplicado ao eletrodo de trabalho. Os experimentos foram executados em meio eletrolítico de KF 0,5 mol L⁻¹ contendo o par redox de íons complexos ferrocianeto(II) e ferricianeto(III) ([Fe(CN)₆]^{4-/3-} 2,5 mmol L⁻¹, em que o potencial aplicado ao eletrodo de trabalho foi definido em relação a valores próximos ao equilíbrio, utilizando o método de potencial de circuito aberto (OCP, do inglês *Open Circuit Potential*).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Espectroscopia Raman e SERS

A modificação dos eletrodos para obtenção dos espectros SERS foi realizada a partir de uma gota de solução de BDT sobre a superfície, mantida por 30 min formando o eletrodo Au/BDT. A adição das nanopartículas de ouro, por sua vez, foi feita colocando uma gota da solução coloidal sobre o eletrodo Au/BDT por 2 horas, produzindo o eletrodo Au/BDT/AuNP. Os espectros SERS dos eletrodos Au/BDT e Au/BDT/AuNP estão apresentados na Figura 14, (B) e (C), respectivamente. Adicionalmente, o espectro Raman normal do composto no estado sólido, Figura 14 (A), é mostrado para fins de correlação.

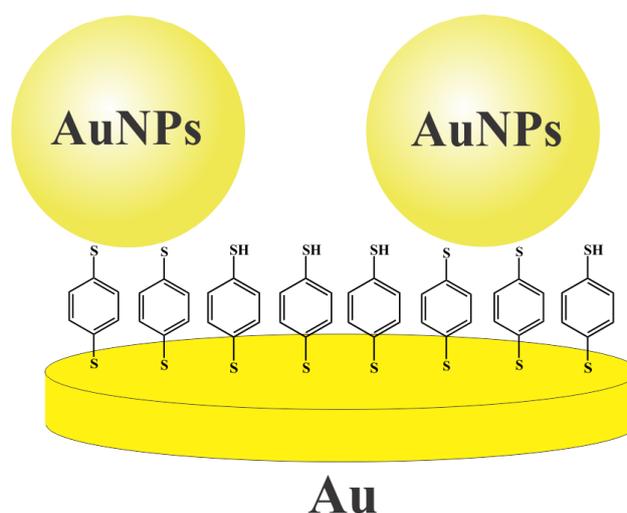
Figura 14 - Espectros Raman normal (A) do composto BDT no estado sólido e SERS dos eletrodos Au/BDT (B) e Au/BDT/AuNPs (C). $\lambda_0 = 785$ nm.



Os valores das bandas mais significativas encontram-se na Tabela 1. A atribuição dessas bandas foi feita de forma comparativa, considerando sistemas similares descritos na literatura [7, 39-41]. O espectro Raman normal da molécula BDT no estado sólido apresenta várias bandas relacionadas aos modos vibracionais do anel benzênico. Porém, as bandas observadas em 909 e 2553 cm^{-1} , ambas de baixa intensidade, são atribuídas a deformação angular S-H e ao estiramento S-H, respectivamente [39, 40], podendo servir como bandas marcadoras para o processo de adsorção. Devido a formação da ligação Au-S e a quebra da

ligação S–H, é esperada a ausência dessas bandas (909 e 2553 cm^{-1}) após adsorção. Tal resultado é, de fato, observado no espectro SERS do eletrodo Au/BDT, Figura 14 (B). Entretanto, quando as nanopartículas de ouro são incorporadas, há o reaparecimento da banda em 909 cm^{-1} , sendo um indício de que nem todas as espécies BDT estão ligadas à AuNPs, causando um aumento de intensidade da deformação angular S–H.

Figura 15- Representação da incorporação das AuNPs sobre o eletrodo Au/BDT.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Tabela 1 - Espectros Raman normal (A) do composto BDT no estado sólido e SERS dos eletrodos Au/BDT (B) e Au/BDT/AuNPs (C). $\lambda_0 = 785 \text{ nm}$.

Raman normal/ cm^{-1}	SERS/ cm^{-1}		Atribuições	Referência
	Au/BDT	Au/BDT/AuNPs		
334	353	334	$\nu(\text{C-S}) + \gamma(\text{CCC})$	7
631	627	627	$\nu(\text{C-S})$	41
	696	694	$\nu(\text{C-S})$	41
739	732	734	$\nu(\text{C-S})$	7
909		909	$\beta(\text{S-H})$	39, 40
1058	1064	1058	$\nu(\text{C=C}) + \nu(\text{C-S})$	7
1092		1080	+ $\nu(\text{C-H})$	
1185	1177	1177	$\delta(\text{C-H})$	7
1574	1564	1567	$\nu(\text{C=C})$	7
2553			$\nu(\text{S-H})$	39, 40

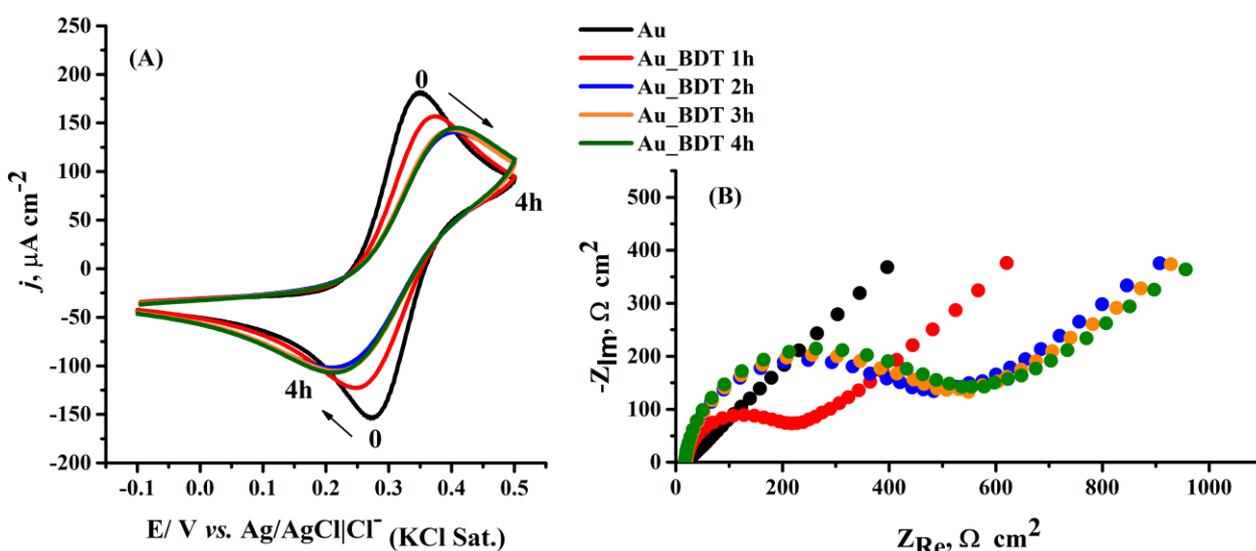
ν – estiramento; β – deformação angular; γ – deformação simétrica no plano; δ – deformação assimétrica no plano.

Ademais, os espectros SERS obtidos para os eletrodos Au/BDT e Au/BDT/AuNPs apresentaram uma intensificação da banda em $\sim 1560\text{ cm}^{-1}$ referente ao estiramento C=C [7]. De modo geral, os deslocamentos dos estiramentos após adsorção podem ser relacionados as variações de energias dos níveis energéticos das transições vibrônicas devido a formação da ligação química entre uma molécula e a superfície metálica (Au-S) [42]. Além disso, as intensificações das bandas são relacionadas as variações no tensor de polarizabilidade devido a inserção de um material com campo magnético.

4.2 Modificação do eletrodo de ouro com moléculas de BDT

Nesse trabalho, as técnicas de voltametria cíclica e impedância eletroquímica foram utilizadas a fim de avaliar a formação da SAM de BDT sobre ouro (Au/BDT) usando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ como espécies redox em solução. A Figura 15 ilustra os resultados obtidos em diferentes tempos de modificação (0 até 4h), sendo em (A) os voltamogramas cíclicos e em (B) os diagramas de *Nyquist*.

Figura 16 - (A) Voltamogramas cíclicos a 100 mVs^{-1} e (B) diagramas de Nyquist do eletrodo modificado (Au/BDT) em diferentes tempos de modificação (0 até 4h). Medidas realizadas em solução de $0,5\text{ mol L}^{-1}$ KF contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ $2,5\text{ mmol L}^{-1}$ a 25°C .



Os voltamogramas cíclicos apresentados na Figura 15 (A) mostram o aumento da diferença entre os valores de potenciais de pico (ΔE_p), resumidos na Tabela 2, e a diminuição da corrente faradáica referente ao processo $\text{Fe}^{\text{III/II}}$ do complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Esse comportamento é atribuído a uma reação gradativamente mais lenta de transferência de elétrons entre o substrato modificado e a solução de íons $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$, sendo dependente do tempo de imersão do eletrodo de ouro em solução de BDT. Estes resultados são atribuídos ao aumento da resistência dos mediadores redox em alcançarem a superfície do eletrodo de ouro.

Tal comportamento está associado a um aumento do empacotamento da monocamada, como se pode concluir a partir dos diagramas de Nyquist mostrados na Figura 15 (B). Os valores das resistências de transferência de carga para o eletrodo modificado (R_{CT}) e o eletrodo limpo (R_{CT}^*) foram obtidos pela extrapolação do arco formado. A Tabela 2 apresenta os parâmetros impedimétricos obtidos na presença de íons $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ em função do tempo de modificação. A taxa de recobrimento superficial (θ) foi determinada utilizando a Equação (2) [28]:

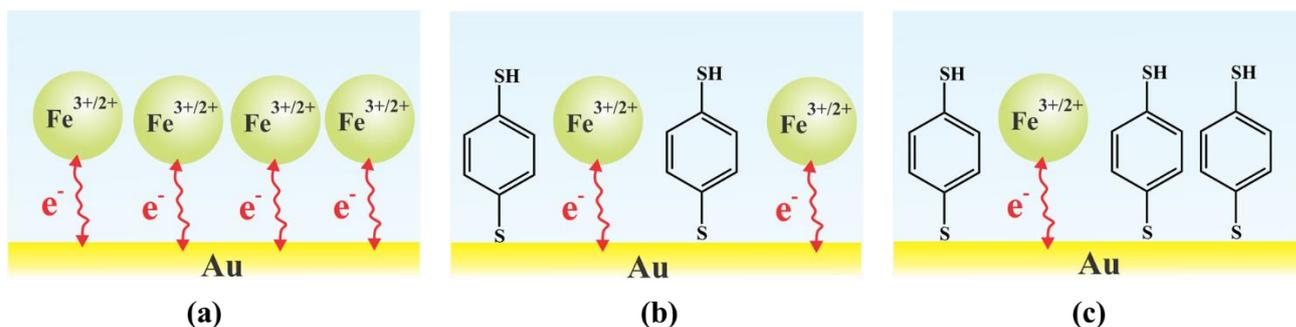
$$\theta = 1 - \left(\frac{R_{CT}}{R_{CT}^*} \right) \quad (2)$$

Tabela 2 - Parâmetros eletroquímicos e impedimétricos do par redox $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$ em função do tempo de imersão do eletrodo de ouro em uma solução 1,0 mmol L⁻¹ BDT. Dados obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 15.

Tempo/ h	$R_{CT}/ 10^2 \Omega \text{ cm}^2$	θ	$\Delta E_p/ \text{ mV vs Ag/AgCl}$
0	0,238	0	74
1	1,985	0,880	124
2	4,395	0,946	183
3	4,654	0,949	183
4	4,901	0,951	183

Os valores resumidos na Tabela 2 apresentam um aumento da taxa de recobrimento superficial e da resistência de transferência de carga em função do aumento do tempo de modificação, mostrando que a partir de 2h de imersão já se obtém recobrimento próximo de 100%, havendo pouca diferença entre os parâmetros em relação ao tempo de 4h. A Figura 17 ilustra um esquema representativo de como ocorre o processo de transferência de carga na interface eletrodo/solução de $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$. Em (a), o eletrodo está limpo, tendo contato direto com as espécies redox, ocorrendo a reação heterogênea de transferência de elétrons (hTE) e o processo redox dos íons $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$. Em (b), com o aumento do tempo de imersão do eletrodo de ouro na solução de BDT, algumas moléculas sulfuradas estarão adsorvidas, dificultando o processo de hTE, e em (c), quando o tempo de modificação atinge 2 horas em diante, a superfície metálica estará mais empacotada, bloqueando mais ainda a reação heterogênea de transferência de elétrons na interface do eletrodo Au/BDT com a solução $[Fe(CN)_6]^{4-/3-}$.

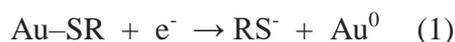
Figura 17- Representação esquemática da reação de transferência de carga do par redox com o eletrodo de ouro com dependência do tempo de modificação (a) 0, (b) 1 hora e (c) 2 horas de modificação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

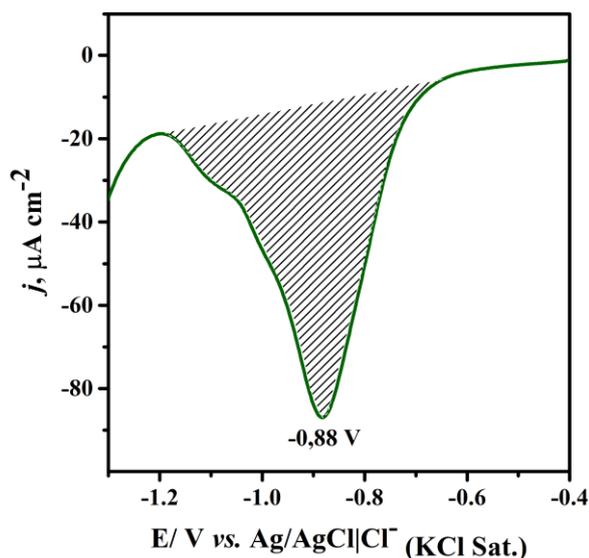
4.3 Dessorção redutiva em meio alcalino

A estabilidade de SAMs formadas por moléculas sulfuradas sobre ouro tem sido estimada, indiretamente, através da medida da força da ligação Au-S por meio de ensaios de dessorção alcalina redutiva [43, 44]. Após modificação da superfície da SAM, foi realizada uma voltametria de varredura linear em KOH 0,5 mol L⁻¹ para a dessorção da monocada. O processo que se espera observar é a clivagem da ligação Au-S, de acordo com a reação de eletrodo (1) [2]:



Baseando-se nos espectros SERS da Figura 14 (B), tem-se que a molécula BDT é adsorvida sobre ouro através de pelo menos um dos átomos de enxofre. Sendo assim, a onda observada no voltamograma ilustrado na Figura 16 é atribuída à reação de eletrodo (1) com potencial de dessorção (E_{dr}) de -0,88 V vs Ag/AgCl. O processo de dessorção de SAMs formadas por moléculas sulfuradas sobre ouro dependem de alguns fatores, podendo-se citar: (i) tamanho da cadeia constituinte da porção intermediária; (ii) interações intermoleculares e (iii) natureza da ligação entre o grupo cabeça (átomo de S) e os átomos da superfície [44]. A dessorção de moléculas sulfuradas ocorre, geralmente, em valores negativos devido à forte interação Au-S. Portanto, comparativamente com sistemas semelhantes reportados na literatura, que tiveram potencial de dessorção em aproximadamente -1,0 V vs Ag/AgCl [44] com moléculas de diferentes tamanhos da cadeia constituinte, o potencial de dessorção do composto BDT em -0,88 V indica a formação de uma ligação covalente Au-S bastante forte.

Figura 18 - Voltamograma linear a 50 mVs^{-1} em solução de KOH $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ da SAM formada após 4h de imersão do substrato de ouro em BDT $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$ a 20°C .



A carga (Q) calculada sob a onda de dessorção (área hachurada) permite determinar o recobrimento superficial (Γ) sobre o eletrodo através da Equação (3) [43]:

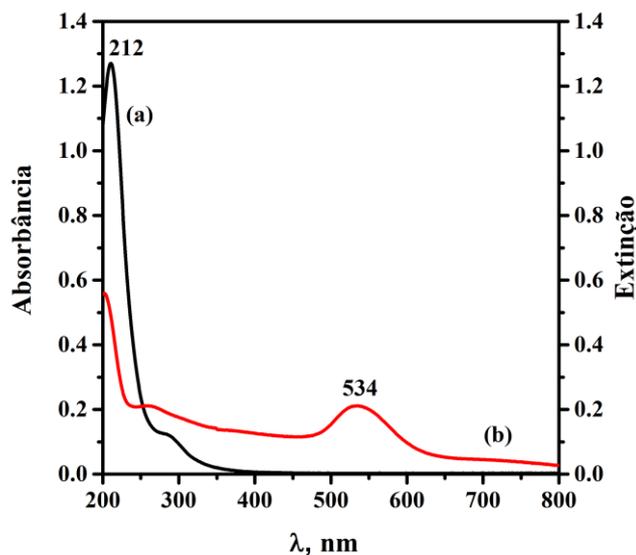
$$\Gamma = \frac{Q}{nFA} \quad (3)$$

em que n representa o número de elétrons envolvidos no processo de dessorção; F é a constante de Faraday (96485 C mol^{-1}) e A é a área eletroativa do eletrodo. O valor do recobrimento superficial é $1,62 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$. Assumindo que o processo de adsorção ocorre em condições de equilíbrio, esse valor fornece a concentração da espécie na fase sólida, ou seja, a concentração da espécie adsorvida sobre o eletrodo.

4.4 Caracterização das AuNPs

Os espectros eletrônicos UV-Vis obtidos para a solução coloidal de AuNPs em água encontra-se ilustrado na Figura 17, juntamente com o espectro da solução de HAuCl_4 para fins de comparação.

Figura 19 - Espectro eletrônico nas regiões do UV-Vis de soluções 0,25 mmol L⁻¹ de HAuCl₄ (a) e coloidal de AuNPs.



O espectro em (a) retrata a solução aquosa do sal de ouro (0,25 mmol L⁻¹), absorvendo radiação na região de 212 nm. A observação da banda referente aos plasmons de superfície [45], $\lambda_{SPR} = 534$ nm, no espectro (b), indica a formação das nanopartículas. O comprimento de onda máximo dessa banda, por sua vez, é dependente do tamanho da AuNPs e permite, assim, determinar o diâmetro médio (d) das nanopartículas de acordo com a Equação (4) [46], quando ($d \geq 25$ nm):

$$d = \frac{\ln\left(\frac{\lambda_{SPR} - \lambda_0}{L_1}\right)}{L_2} \quad (4)$$

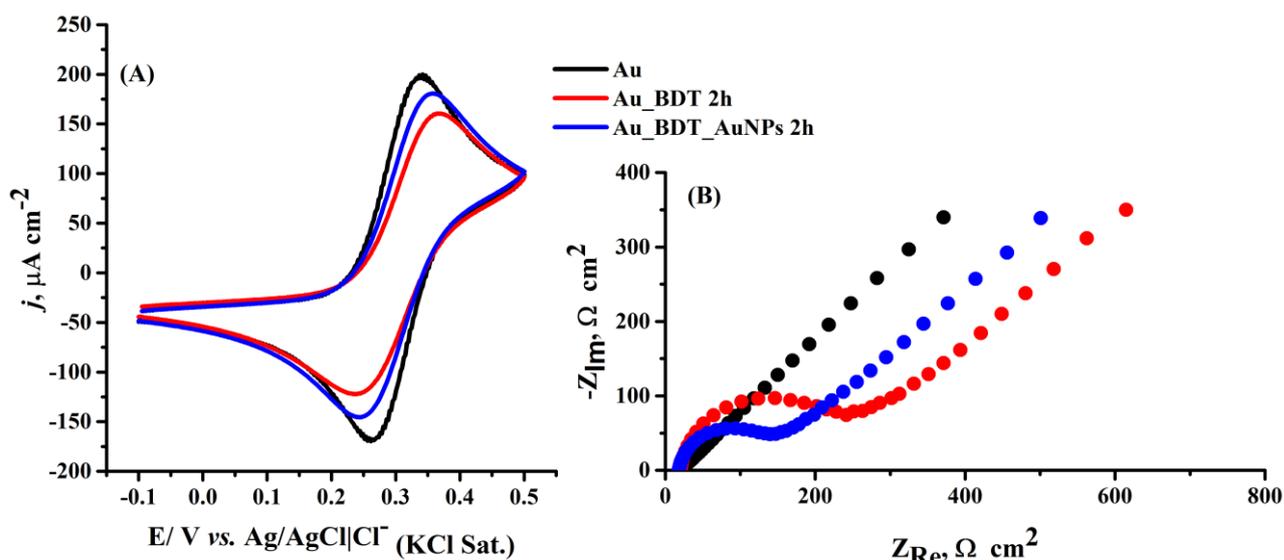
onde, $L_1 = 6,53$; $L_2 = 0,0216$; $\lambda_0 = 512$ nm, sendo λ_0 o comprimento de onda, e todos esses parâmetros são teoricamente. O diâmetro das nanopartículas sintetizadas foi calculado em $56 \pm 3\%$ nm.

4.5 Modificação da SAM de BDT com AuNPs

Após a caracterização eletroquímica e a determinação do tempo de modificação, o eletrodo Au/BDT foi imerso em uma solução aquosa coloidal de nanopartículas de ouro por 2 horas. Esse processo de modificação foi monitorado por voltametria cíclica e impedância eletroquímica usando o par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. De acordo com os resultados voltamétricos, Figura 18 (A), o eletrodo de ouro modificado com BDT por 2h apresentou um aumento na diferença de potencial de pico (ΔE_p) e diminuição na corrente faradáica (*vide* Figura 15 curva

vermelha). Quando o eletrodo Au/BDT foi imerso na solução de nanopartículas, esperava-se que houvesse a formação da ligação covalente do átomo de S (grupo terminal) com as AuNPs. Essa suposição foi observada, indiretamente, no voltamograma em azul ilustrado na Figura 18 (A), onde se observou uma separação de potenciais de pico menor comparativamente ao eletrodo Au/BDT, e aumento da corrente referentes aos picos catódicos e anódicos. Tal comportamento é explicado admitindo que a adição das nanopartículas forma uma nova camada condutora facilitando, assim, a reação redox na interface. Os valores de ΔE_p estão representados na Tabela 3.

Figura 20 - (A) Voltamogramas cíclicos a 100 mVs^{-1} e (B) diagramas de Nyquist do eletrodo de ouro (—) e dos eletrodos Au/BDT (—) e Au/BDT/AuNPs (—). Medidas realizadas em solução eletrolítica de KF $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ contendo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$ a 25°C .



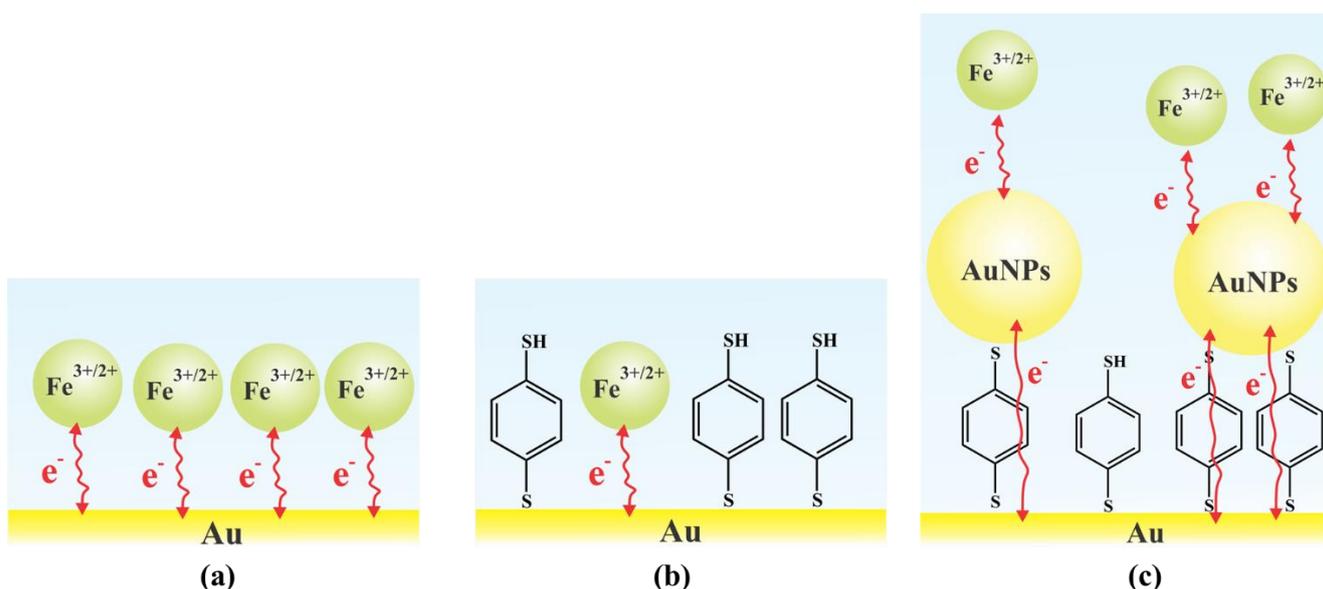
Além do indicativo da imobilização das AuNPs por voltametria cíclica com a formação de uma camada condutora, os resultados impedimétricos, Figura 18 (B), corroboram essa conclusão. Os valores de resistência de transferência de carga (R_{CT}) listados na Tabela 3 mostram uma diminuição de R_{CT} reforçando a hipótese de que as nanopartículas de ouro associadas a superfície modificada atua facilitando a transferência de carga entre o eletrodo de ouro e a solução de par redox ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$).

Tabela 3 - Parâmetros eletroquímicos e impedimétricos do par redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em função da superfície modificada. Dados obtidos a partir dos resultados apresentados na Figura 18.

Eletrodo	$R_{\text{CT}}/ 10^2 \Omega \text{ cm}^2$	$\Delta E_p/ \text{mV vs Ag/AgCl}$
Au	0,222	79
Au/BDT	2,242	129
Au/BDT/AuNPs	1,130	112

A Figura 19 ilustra um esquema representativo de como ocorre o processo de transferência de carga entre o eletrodo de ouro e as espécies $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$ em solução de KF. Em (a), o eletrodo de ouro está em contato direto com as moléculas de prova, havendo a reação heterogênea de transferência de carga (hTE) e o processo redox do íon $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-/3-}$. Em (b), com a formação da SAM de BDT, o processo de hTE ocorre com mais dificuldade, sendo bloqueado (em parte) pela monocamada adsorvida. Já em (c), com a inserção das nanopartículas de ouro, o processo de hTE é restabelecido [47, 48].

Figura 21 - Representação esquemática da reação de transferência de carga das moléculas de prova com os eletrodos (a) ouro, (b) Au/BDT e (c) Au/BDT/AuNPs.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pela VC, EIE e SERS mostraram que as espécies de 1,4-benzenoditiol (BDT) adsorvidas sobre um eletrodo de ouro formaram uma monocamada automontada (SAM, Au/BDT). Por meio da correlação entre os espectros SERS e Raman normal, em relação aos modos de deformação e estiramento S–H (909 e 2553 cm^{-1}), foi possível afirmar que o processo de adsorção ocorreu através de pelo menos um dos átomos de enxofre. A partir do parâmetro R_{CT} , foram calculadas as taxas de recobrimento (θ) que mostraram que, nas condições experimentais empregadas, o tempo de 2h de modificação era suficiente para a saturação da superfície do ouro. Com 4h de modificação, a espécie BDT apresentou um processo atribuído à quebra de ligação Au–S com potencial de dessorção em -0,88 V vs Ag/AgCl, que permitiu determinar a quantidade de espécies adsorvidas sobre o ouro, sendo $1,62 \times 10^{-10} \text{ mol cm}^{-2}$. As nanopartículas de ouro sintetizadas apresentaram uma banda em 534 nm atribuída ao SPR, correspondendo a um diâmetro médio de 56 nm. Adicionalmente, a incorporação das AuNPs foi confirmada por meio do espectro de SERS e dos resultados eletroquímicos e impedimétricos que mostraram haver uma diminuição da separação dos potenciais de pico (ΔE_p) e da resistência de transferência de carga das espécies de prova indicando um aumento de condutividade quando comparado ao eletrodo Au/BDT.

6 REFERÊNCIAS

- 1 ULMAN, A. Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers. **Chemical Reviews**, v. 96, n. 4, p. 1533-1554, 1996.
- 2 LOVE, J. C.; ESTROFF, L. A.; KRIEBEL, J. K.; NUZZO, R. G.; WHITESIDES, G. M. Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. **Chemical Reviews**. v. 105, p. 1103-1169, 2005.
- 3 NUZZO, R. G.; ALLARA, D. L. Adsorption of Bifunctional Organic Disulfides on Gold Surfaces. **Journal of American Chemical Society**. v. 105, n. 13, p. 4481-4483, 1983.
- 4 ALEXANDRE, D. L.; MELO, A. M. A.; FURTADO, R. F.; BORGES, M. F.; FIGUEIREDO, E. A. T.; BISWAS, A.; CHENG, H. N. A Rapid and Specific Biosensor for *Salmonella* Typhimurium Detection in Milk. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 4, p. 748-756, 2018.
- 5 ABREU, D. S.; SOUSA, T. P.; CASTRO, C. B. ; SOUSA, M. N.V.; SILVA, T. T.; ALMEIDA-NETO, F. W.Q.; QUEIROS, M. V.A.; RODRIGUES, B. S.F.; OLIVEIRA, M. C.F.; PAULO, T. F.; CAVADA, B. S.; NASCIMENTO, K. S.; TEMPERINI, M. L.A.; Diógenes, I. C. N. SAM of Gliotoxin on Gold: A Natural Product Platform for Sugar Recognition based on the Immobilization of Concanavalin Br Lectin. **Electrochimica Acta**, v. 241, p. 116-123, 2017.
- 6 PAULO, T. F.; DIÓGENES, I. C. N.; ABRUNÃ H. D. Direct Electrochemistry and Electrocatalysis of Myoglobin Immobilized on L-Cysteine Self-Assembled Gold Electrode. **Langmuir**. v. 27, n. 5, p. 2052-2057, 2010.
- 7 SHO, S.; KANEKO, S.; FUJII, S.; GONZÁLES, S. M.; NISHINO, T.; KIGUCHI, M.; Effect of the Molecule-Metal Interface on the Surface Enhanced Raman Scattering of 1,4-Benzenedithiol. **Journal of Physical Chemistry C**. v. 120, n. 2, p. 1038-1042, 2016.
- 8 HUANG, X.; EL-SAYED, M. A. Gold Nanoparticles: Optical Properties and Implementations in Cancer Diagnosis and Photothermal Therapy. **Journal of Advanced Research**. v. 1, n. 1, p. 13-28, 2010.
- 9 AMIRI M.; BEZAATPOUR, A.; JAFARI H.; BOUKHERROUB, R.; SZUNERITS, S.; Electrochemical Methodologies for the Detection of Pathogens. **ACS Sensors**. v. 3, p. 1069-1086, 2018.
- 10 SZTANDERA, K.; GORZKIEWICZ, M.; KLAJNERT-MACULEWICZ, B. Gold Nanoparticles in Cancer Treatment. **Molecular Pharmaceutics**. v. 16, n. 1, p. 1-23, 2019.

- 11 ABAD, J. M.; GASS, M.; BLELOCH, A.; SCHIFFRIN, D. Direct Electron Transfer to a Metalloenzyme Redox Center Coordinated to a Monolayer-Protected Cluster. **Journal of American Chemical Society**. v. 131, n. 29, p. 10229-10236, 2009.
- 12 WONGKAEW, N.; SIMSEK, M.; GRIESCHE, C.; BAEUMNER, A. J. Functional Nanomaterials and Nanostructures Enhancing Electrochemical Biosensors and Lab-on-a-Chip Performances: Recent Progress, Applications, and Future Perspective. **Chemical Reviews**. v. 119, n. 1, p. 120-194, 2019.
- 13 FURST, A. L.; FRANCIS, M. B.; Impedance-Based Detection of Bacteria. **Chemical Reviews**, v. 119, n. 1, p. 700-726, 2019.
- 14 HOSSEIN-NEJAD-ARIANI, H.; KIM, T.; KAUR, K.; Peptide-Based Biosensor Utilizing Fluorescent Gold Nanoclusters for Detection of *Listeria monocystogenes*. **ACS Applied Nano Materials**. v. 1, p. 3389-3397, 2018.
- 15 EJEIAN, F.; ETEDALI, P.; TEHRANI, H. A. M.; SOOZANIPOUR, A.; LOW, Z. X.; ASADNIA, M.; KAFRANI, A. T.; RAZMJOU, A. Biosensors for Wastewater Monitoring: A Review. **Biosensors and Bioelectronics**. v. 118, p. 66-79, 2018.
- 16 THÉVENOT, D. R.; TOTH, K.; DURST, R. A.; WILSON, G. S. Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification. **Pure and Applied Chemistry**. v. 71, n. 12, p. 2333-2348, 1999.
- 17 FREW, J. E.; HILL, H. A. O. Electrochemical Biosensors. **Analytical Chemistry**. v. 59, n. 15, p. 933-944, 1987.
- 18 MARTINS, M. C. L.; FONSECA, C.; BARBOSA, M. A.; RATNER, B. D. Albumin Adsorption on Alkanethiols Self-Assembled Monolayers on Gold Electrodes Studied by Chronopotentiometry. **Biomaterials**. v. 24, n. 21, p. 3697-3706, 2003.
- 19 PINHEIRO, S. O.; SILVA, F. O. N. ; CARVALHO, I. M. M. ; LOPES, L. G. F.; TEMPERINI, M. L. A.; ANDRADE, G. F. S.; MOREIRA, Í. S.; DIÓGENES, I. C. N. . Tetraammine Ruthenate Complexes: Cationic SAMs for Cyt c Recognition. **Journal of the Brazilian Chemical Society, Brasil**, v. 17, p. 1594-1599, 2006.
- 20 YAO, J.; WANG, Y.; DAI, Y.; LIU, C. C.; Bioconjugated, Single-Use Biosensor for the Detection of Biomarkers of Prostate Cancer. **ACS Omega**. v. 3, p. 6411-6418, 2018.
- 21 PINGARRÓN, J. M.; SEDEÑO, P. Y.; CORTÉS, A. G. Gold Nanoparticle-Based Electrochemical biosensors. **Electrochimica Acta**. v. 53, n. 19, p. 5848-5866, 2008.
- 22 WANG, J. Electrochemical Biosensing Based on Nobel Metal Nanoparticles. **Microchimica Acta**. v. 177, p. 245-270, 2012.

- 23 KISSINGER, P. T.; HEINEMAN, W. R. Cyclic Voltammetry. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 9, p. 702, 1983.
- 24 BARD, Allen Joseph; FAULKNER, Larry Ray. **Electrochemical Methods**. 2. ed. Nova York: John Wiley & Sons, Inc, 2001. p. 833.
- 25 HEINZE, J.; Cyclic Voltammetry—Electrochemical Spectroscopy. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 23, n. 11, p. 831-847, 1984.
- 26 MALOY, J. T. Factors Affecting the Shape of Current-Potential Curves. **Journal of Chemical Education**, v. 60, n. 4, p. 285-289, 1983.
- 27 LASIA, Andrzej. **Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications**. Nova York, Springer, 2014. p. 367.
- 28 BANDYOPADHYAY, K.; VIJAYAMOHANAN, K.; SHEKHAWAT, G. S.; GUPTA, R. P., Impedance Analysis of Self-Assembled Naphthalene Disulfide Monolayer on Gold Using External Redox Probes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 447, p. 11-16, 1998.
- 29 SALA, Oswaldo. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. 2.ed. São Paulo. Editora UNESP, 2008. p. 276.
- 30 DE FARIA, D. L. A.; SANTOS, L. G. C.; GOLÇALVES, N. S., Uma Demonstração do Espalhamento Inelástico de Luz: Repetindo o Experimento de Raman. **Química Nova**, v. 20, n. 3, p. 319-323, 1997.
- 31 DE FARIA, D. L. A.; TEMPERINI, M. L. A.; SALA, O., Vinte Anos de Efeito SERS. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 541-552, 1999.
- 32 TURKEVICH, J.; STEVENSON, P. C.; HILLIER, J. A Study of the Nucleation and Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. **Discussions of the Faraday Society**. v. 11, p. 55-75, 1951.
- 33 FRENS, G. Controlled Nucleation for the Regulation of the Particle Size in Monodisperse Gold Suspensions. **Nature Physical Science**, v. 241, n. 1, p. 20-22, 1973.
- 34 ARVIZZO, R. R.; BHATTACHARYYA, S.; KUDGUS, R. A.; GIRI, K.; BHATTACHARYYA, R.; MUKHERJEE, P. Intrinsic Therapeutic Applications of Nobel Metal Nanoparticles: Past, Present and Future. **Chemical Society Review**. v. 41, n. 7, p. 2943-2970, 2012.
- 35 BRUCKENSTEIN, S.; SHAY, M. An in Situ Weighing Study of The Mechanism for The Formation of the Adsorbed Oxygen Monolayer at a Gold Electrode. **Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry**, v. 188, n. 1, p. 131-136, 1985.

- 36 TRASATTI, S.; PETRII, O. Real Surface Area Measurements in Electrochemistry. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 327, n. 1, p. 353-376, 1992.
- 37 BURKE, L. D.; NUGENT, P. F. The Electrochemistry of Gold: The Redox Behaviour of The Metal in Aqueous Media. **Gold Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 43-53, 1997.
- 38 TIAN, Z.-Q.; REN, B.; WU, D.-Y. Surface-Enhanced Raman Scattering: From Noble to Transition Metals and from Rough Surfaces to Ordered Nanostructures. **The Journal of Physical Chemistry B**, v. 106, n. 37, p. 9463-9483, 2002.
- 39 CHO, S. H.; LEE, Y. J.; KIM, M. S.; KIM, K. Infrared and Raman Spectroscopic Study of 1,2-benzenedithiol Adsorbed on Silver. **Vibrational spectroscopy**, v. 10, n. 2, p. 261-270, 1996.
- 40 JOO, S. W.; HAN, S. W.; KIM, K. Adsorption of 1, 4-benzenedithiol on Gold and Silver Surfaces: Surface-Enhanced Raman Scattering Study. **Journal of colloid and interface science**, v. 240, n. 2, p. 391-399, 2001.
- 41 LIM, J. K.; KWON, O.; JOO, S.W; Interfacial Structure of 1,3-Benzenedithiol and 1,3-benzenedimethanethiol on Silver Surfaces: Surface-Enhanced Raman Scattering Study and Theoretical Calculations. **Journal of Physical Chemistry**. v. 112, p. 6816-6821, 2008.
- 42 SAIKIN, S. K.; OLIVARES-AMAYA, R.; RAPPOPORT, D.; STOPA, M.; ASPURU-GUZI, A. On the chemical bonding effects in the Raman response: Benzenethiol adsorbed on silver clusters. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 11, n. 41, p. 9401-9411, 2009.
- 43 WALCZAK, M. M.; POPENOE, D. D.; DEINHAMMER, R. S.; LAMP, B. D.; CHUNG, C.; PORTER, M. D. Reductive desorption of alkanethiolate monolayers at gold: a measure of surface coverage. **Langmuir**, v. 7, n. 11, p. 2687-2693, 1991.
- 44 SUN, K.; JIANG, B.; JIANG, X. Electrochemical Desorption of Self-Assembled Monolayers and Its Applications in Surface Chemistry and Cell Biology. **Journal of Electroanalytical Chemistry**. v. 656, p. 223-230, 2011
- 45 LINK, S.; EL-SAYED, M. A. Size and Temperature Dependence of the Plasmon Absorption of Colloidal Gold Nanoparticles. **Journal Physical Chemistry B**. v. 103, p. 4212-4217, 1999.
- 46 HAISS, W.; THANH, N. T. K.; AVEYARD, J.; FERNIG, D. G. Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-vis spectra. **Analytical Chemistry**. v. 79, n. 11, p. 4215-4221, 2007
- 47 CHAZALVIEL, J. N.; ALLONGUE, P. On the Origin of the Efficient Nanoparticle Mediated Electron Transfer Across a Self-Assembled Monolayer. **Journal of the American Chemical Society**. v. 133, p. 762-764, 2011.

48 CEA, P.; SANTIAGO, M.; ORIVE, A. G.; OSORIO, H. M.; QUINTÍN, P.; HERRER, L. Nanofabrication and Electrochemical Characterization of Self-Assembled Monolayers Sandwiched Between Metal Nanoparticles and Electrode Surfaces. **Journal of Chemical Education**. v. 93, p. 1441-1445, 2016.