

## **Eficiencia y Homogeneidad espacial de la señal SERS en antenas plasmónicas: Un estudio a escala nano y micro**

*Efficiency and Spatial homogeneity of the SERS signal in plasmonic antennas: A study at the nano and micro scales*

**Luis Alfonso Guerra Hernández; Oslen Dilayder Jaimes Suarez; Jorge-Enrique Rueda-Parada**

*Grupo de investigación Óptica Moderna (GOM)-Minciencias, Departamento de Física, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona, Colombia.*

*Autor Corresponsal:* [luisguerra@unipamplona.edu.co](mailto:luisguerra@unipamplona.edu.co)

*Recibido:* Diciembre 01, 2024. *Aceptado:* Diciembre 28, 2024.

### **Resumen**

Este estudio evalúa la eficiencia y homogeneidad de la señal SERS en diversas morfologías de antenas ópticas de oro utilizando 4-MBA como molécula sonda. Los resultados revelan que las antenas AuFON presentan una intensidad SERS notablemente superior frente a superficies rugosas, cavidades esféricas y el sistema comercial Klarite. Asimismo, tanto AuFON como Klarite destacan por su homogeneidad mejorada. Estas observaciones subrayan el rol esencial de la morfología ordenada en la amplificación y uniformidad de la señal SERS, estableciendo a las AuFON como una plataforma prometedora para aplicaciones avanzadas de detección molecular ultrasensible.

**Palabras clave:** Antenas ópticas; Espectroscopia Raman; SERS; Plasmónica.

### **Abstract:**

This study evaluates the efficiency and spatial homogeneity of the SERS signal in various gold optical antenna morphologies using 4-MBA as a probe molecule. The results demonstrate that AuFON antennas exhibit significantly higher SERS intensity compared to rough surfaces, spherical cavities, and the commercial Klarite system. Additionally, both AuFON and Klarite show improved signal homogeneity. These findings highlight the critical role of ordered nanostructure morphology in enhancing SERS signal amplification and uniformity, positioning AuFON as a promising platform for advanced ultrasensitive molecular detection applications.

**Keywords:** Optical antennas; Raman spectroscopy; SERS; Plasmonics.

## **1. Motivación**

Una nanoestructura metálica es un material que posee al menos una dimensión en el rango nanométrico. Las propiedades ópticas de estos sistemas nanoestructurados han sido objeto de una intensa investigación en las últimas décadas, debido a la gran variedad de aplicaciones tecnológicas que se utilizan en campos de la electrónica, detección molecular, tecnologías de visualización, etc. [1, 2] Las nanoestructuras metálicas poseen propiedades ópticas únicas como dispersión y absorción fuertemente mejoradas, así como el confinamiento espacial y la amplificación del campo eléctrico en regiones muy localizadas del espacio. La interacción de la luz visible con estos sistemas, hace que la alta densidad de electrones libres de conducción en la nanoestructura pueda sostener una oscilación colectiva de estos electrones, conocida en la literatura como plasmones de superficie. Este campo de estudio es conocido como plasmónica y actualmente se considera un área del conocimiento en continuo desarrollo con una gran proyección en la última

década, debido a sus importantes y prometedoras aplicaciones en dispositivos ópticos miniaturizados. [3, 4] Por otro lado, la técnica de espectroscopía Raman permite obtener información molecular altamente específica de un componente. [5, 6] Sin embargo, la baja sección eficaz Raman ha limitado el uso de esta técnica para aplicaciones analíticas. [7] Este inconveniente puede ser solucionado cuando las moléculas están absorbidas en la superficie de una nanoestructura metálica capaz de producir un fuerte valor del campo eléctrico en las proximidades de la superficie del metal. Esta técnica es conocida como espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS, del inglés: *Surface-Enhanced Raman Scattering*) [8, 9] y es reconocida en la actualidad como un método de detección extremadamente sensible, con altos niveles de especificidad molecular y fuertes intensidades de la señal SERS. [10–12] Estos fuertes valores de amplificación de la señal SERS han sido atribuidos a dos mecanismos: el electromagnético que surge como consecuencia directa de las propiedades plasmónicas del sistema [9] y el químico debido a una transferencia de carga en el sistema

metal-ligando. [11, 13] Sin embargo, estos fuertes valores de la intensidad en el SERS por lo general van acompañados de baja homogeneidad espacial, [14] lo cual ha dificultado la consolidación de la técnica a estudios analíticos. [15] En la actualidad existen diversas propuestas para desarrollar substratos de utilidad en aplicaciones analíticas. Estas propuestas están típicamente identificadas con distintos grupos internacionales que presentan de manera separada las potencialidades del sistema que han desarrollado. Sin embargo, rara vez se hacen estudios comparativos que permitan identificar las fortalezas y debilidades de una tecnología respecto a otra. En ese sentido, la motivación de este artículo se centra en estudiar los factores de amplificación y homogeneidad de la señal SERS de cuatro sistemas ampliamente conocidos en la literatura. Entre estos sistemas tenemos: i). las superficies clásicas de Au rugoso, [16] ii). las cavidades esféricas ordenadas, [17–21] iii). los film metálicos sobre arreglos de nanoesferas [22] y iv) un substrato comercial conocido como Klarite. [23–28]

## 2. Espectroscopia Raman y SERS

La espectroscopia Raman es una técnica que proporciona información química y estructural de compuestos orgánicos e inorgánicos, permitiendo así su identificación. La técnica se basa en examinar la luz dispersada inelásticamente por el material, cuando un haz de luz monocromático incide sobre él. En el proceso, una pequeña porción de luz es dispersada inelásticamente, con ligeros cambios de frecuencia. Estos cambios son característicos del material analizado y típicamente son independientes de la frecuencia de la luz incidente. En particular, en la espectroscopia Raman para la detección de moléculas la diferencia de energía antes mencionada tiene correspondencia con un modo vibracional de la molécula. [5, 6, 29]

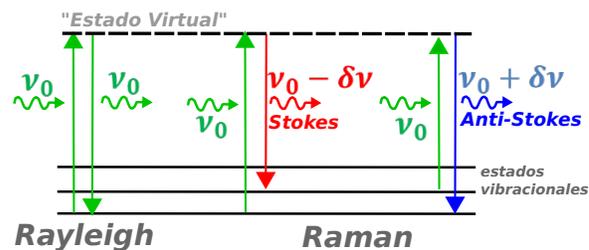
### 2.1 Efecto Raman

La representación esquemática de los niveles de energía implicados en el efecto Raman se muestra en la Fig. 1. En el esquema la luz monocromática (de frecuencia  $\nu_0$ ) interactúa con la molécula y distorsiona la nube electrónica a través de un “estado virtual”. Gran cantidad de luz que incide sobre la molécula tiene dispersión de Rayleigh, donde la luz dispersada luego de la interacción con la molécula sale con la misma energía que la luz incidente. En la dispersión Raman, la luz dispersada puede ceder o ganar energía hacia niveles de vibración internos de las moléculas, conocidos como transiciones Stokes (el fotón dispersado tiene frecuencia menor,  $\nu_0 - \delta\nu$ ) y anti-Stokes (los fotones incidentes son desplazados a frecuencias más elevadas,  $\nu_0 + \delta\nu$ ). Estas dos series de bandas secundarias están situadas simétricamente a ambos lados de la banda Rayleigh y corresponden sólo a una pequeña fracción de la luz.

La dispersión Raman puede entenderse a través del momento de transición inducido, teniendo en cuenta la perturbación de las funciones de onda de la molécula en la dispersión, debido a las vibraciones presentes,

$$P_{nm} = \int \psi_m^* P \psi_n d\tau, \quad (1)$$

donde  $P_{nm}$  es el momento dipolar inducido asociado a una



**Figura 1:** Posibilidades de dispersión de la luz. Dispersión Rayleigh (sin efecto Raman), dispersión Stokes (la molécula absorbe energía) y la dispersión anti-Stokes (la molécula pierde energía). En todos los casos las transiciones pasan por un “estado virtual”.

transición entre el estado inicial  $n$  y el estado final  $m$ ,  $\psi_m$  y  $\psi_n$  son funciones de onda independientes del tiempo para los estados  $m$  y  $n$ . La Ec. (1) puede ser reescrita como: [30]

$$P_{nm} = \frac{1}{h} \sum_r \left( \frac{M_{nr} M_{rm}}{\nu_{rn} - \nu_0} + \frac{M_{nr} M_{rm}}{\nu_{rm} + \nu_0} \right) E, \quad (2)$$

donde  $h$  es la constante de Planck,  $r$  corresponde a cualquier nivel de la molécula no perturbado,  $\nu_{rn}$  y  $\nu_{rm}$  son las frecuencias correspondientes a las diferencias entre los estados indicados por los subíndices.  $M_{nr}$  y  $M_{rm}$  denotan los correspondientes momentos de transición y  $E$  es el campo eléctrico del haz incidente. La Ec. (2), también ayuda a explicar el efecto Raman resonante, donde la dispersión Raman es mucho mayor cuando la frecuencia de la luz incidente es similar a una transición electrónica dentro de la molécula. [31] Luego la intensidad de la luz dispersada por un estado dado se puede escribir como:

$$I_{nm} \propto N_n (\nu_0 + \nu_{nm})^4 P_{nm}^2, \quad (3)$$

donde  $N_n$  es el número de moléculas en el estado inicial y  $\nu_0 + \nu_{nm}$  es la frecuencia de la luz dispersada. La Ec. (3) muestra que la intensidad de la dispersión Raman es proporcional a la frecuencia de luz incidente ( $\nu_0$ ) y aumenta con la cuarta potencia. Como en este proceso se cumple la conservación de la energía, los fotones Raman tienen una frecuencia desplazada respecto de la frecuencia incidente. Esta diferencia de energía es llamada corrimiento Raman (o “Raman shift”) y la unidad utilizada para expresarlo es el  $\text{cm}^{-1}$ , equivalente a 0.124 meV. [9]

### 2.2 Espectroscopia Raman amplificada por superficie (SERS)

El SERS fue descubierto mientras se intentaba registrar el espectro Raman de piridina sobre un electrodo de Ag, sometido a varios ciclos de óxido-reducción. [8] Dos años más tarde también se midieron espectros SERS de esta misma molécula en coloides de nanopartículas de Au y de Ag. [32] El mecanismo SERS se basa en el aumento de la dispersión inelástica (señal Raman) procedente de moléculas cuando se hallan en presencia de una superficie metálica nanoestructurada especialmente preparada. En este caso, el campo electromagnético que existe sobre la superficie metálica, hace que los modos vibracionales más cercanos a la superficie den mayor intensidad SERS, por estar sometidos a un campo más intenso que los modos

situados a una mayor distancia. [33, 34] Otra característica del SERS es la dependencia de su intensificación con el metal, la morfología superficial, la naturaleza de la molécula a estudiar, longitud de onda de excitación, etc. Para explicar este efecto de amplificación se han propuesto dos principales mecanismos: uno es el mecanismo de amplificación electromagnética y el otro es el mecanismo químico o de transferencia de carga. En las Refs. 9, 11, 13, 35 podemos encontrar en detalle la explicación de estas teorías.

### 3. Antenas Ópticas usadas en SERS

Como se mencionó anteriormente, el SERS es un proceso de intensificación de fotones Raman, mediada por una nanoestructura metálica. La clasificación de las nanoestructuras metálicas en SERS es bastante amplia, entre ellas podemos mencionar las superficies metálicas rugosas, [36] los coloides de nanopartículas metálicas, [32, 37–39] las cavidades esféricas, [40–44] el sustrato comercial Klarite, [23, 25–28] sustratos de litografía con nanoesferas, [45–50] las películas de partículas metálicas aisladas, [10] etc. De esta extensa lista de nanoestructuras, a continuación nos centraremos en los cuatro sistemas plasmónicos estudiados en este artículo. Iniciamos mencionando las dos nanoestructuras metálicas fabricadas por litografía con nanoesferas (NSL: del inglés *Nanosphere Lithography*), que se ha convertido en una herramienta prometedora después de largos años de investigación. [48] Su producción inicia con la fabricación de matrices homogéneas de esferas con tamaños en la microescala. Estas matrices se obtienen con el autoensamble de una monocapa de esferas monodispersas de poliestireno (o látex) sobre un sustrato. Con el secado de la solución, se forma una máscara de esferas compactada de forma hexagonal. [49, 50] Esta máscara, puede ser usada para generar distintos tipos de sustratos SERS, con la deposición de un material metálico de interés. La deposición puede ser por evaporación de film metálico sobre nanoesferas. [45–47, 51–53] Otro sustrato que se puede fabricar con este autoensamblaje de esferas de látex es el arreglo de cavidades esféricas, obtenidos después de una electrodeposición del metal, sobre la mencionada máscara hexagonal. [42, 54] El tercer sistema estudiado es conocido como el más clásico y simple de los sustratos SERS. Este se trata de las superficies metálicas rugosas, cuya preparación consiste en someter un electrodo a un proceso de oxidación y reducción química. En el primer barrido anódico el metal se oxida, mientras que con otro barrido catódico, los cationes del metal se reducen, depositándose de nuevo en el estado metálico y produciendo la superficie nanoestructurada. [55–59] Y por último el Klarite, un sustrato SERS comercializado por D3 Technologies Ltd. [25–28] Esta última plataforma es producida, con litografía óptica sobre una oblea de silicio orientada en el plano (100) y grabado preferente en los planos (111), dando como resultado un conjunto de pozos en forma de pirámides invertidas altamente reproducibles. Posteriormente se deposita el film metálico de Au y con ello se generan modos plasmónicos localizados dentro de la cavidad triangular. [28]

### 4. Materiales y Métodos

A continuación, se presentan brevemente las técnicas de fabricación y caracterización estructural de las cuatro nanoestructuras estudiadas en el presente artículo.

#### 4.1 Técnicas de Fabricación y caracterización estructural de sistemas nanoestructurados

Los métodos electroquímicos han demostrado ser herramientas versátiles para la síntesis controlada de nanoestructuras metálicas, las cuales encuentran una amplia aplicación en el campo del (SERS). [42, 60] En la técnica el interés se centra en una de las hemirreacciones ocurrida en el electrodo de trabajo (ET). Para enfocarse en este ET, es necesario estandarizar la otra hemirreacción empleando un electrodo de referencia (ER) cuya composición de fases es esencialmente constante y su potencial de equilibrio no se modifica con el pasaje de corriente (es decir, es idealmente no polarizable). Para este propósito uno de los arreglos más empleados en los experimentos es la celda de tres electrodos, mostrada en el esquema de la Fig. 2. En esta configuración, la corriente pasa del ET al contraelectrodo (CE) que se confecciona con un material que no produce sustancias interferentes por electrólisis (usualmente platino). El dispositivo que mide la diferencia de potencial entre ET y ER tiene una alta impedancia, por lo tanto, la cantidad de corriente que circula entre ellos es insignificante.

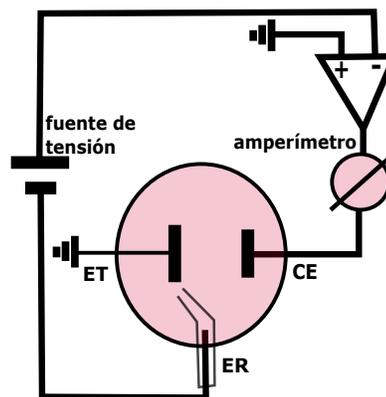
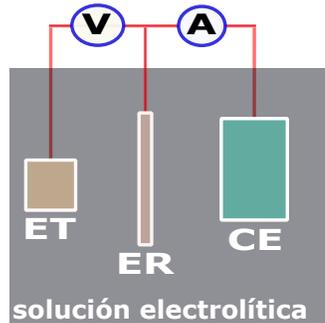


Figura 2: Esquema para una celda de tres electrodos. ET: electrodo de trabajo, ER: electrodo de referencia y CE: contraelectrodo.

Las dos técnicas electroquímicas usadas para la fabricación de las muestras fueron la voltamperometría cíclica y la cromoamperometría. La primera se usó para procesos de nanoestructuración de superficies policristalinas de Au (superficies rugosas). [36, 42, 61–64] En el proceso se busca incrementar el área de la superficie metálica, para el posteriormente ser usado para SERS. La segunda técnica se usó, para nanoestructurar superficies metálicas a través de la electrodeposición de Au. Esta se realizó sobre sustratos que cuentan con el ensamblaje hexagonal de esferas de látex antes mencionado. En este caso, el sustrato SERS obtenido es un negativo del molde ensamblado, que corresponde a las cavidades esféricas de Au. Los experimentos de voltamperometría cíclica y cromoamperometría fueron realizados con una celda electroquímica de tres electrodos, manipulados por un potencióstato (TeQ-Argentina) que tiene la capacidad de registro digital de los datos. En todos los casos el CE empleado fue una chapa de Pt de  $2 \times 2 \text{ cm}^2$  de

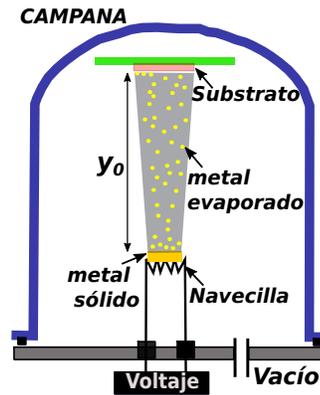
área, como ER se usó un electrodo de plata cloruro de plata (Ag/AgCl) saturado en KCl y el electrodo de trabajo corresponde a la muestra. Un esquema del arreglo experimental se muestra en la Fig. 3. En este, el ET está conectado a masa, el ER está conectado a través de una fuente de tensión a la entrada negativa de un operacional. Este último tiene la entrada positiva conectada a masa y la salida está unida al CE. La tensión que aplica la fuente sobre el ER hace que aparezca una corriente eléctrica entre ET y ER. De esta manera, se puede fijar el valor del potencial entre ET y ER.



**Figura 3:** Esquema del arreglo experimental. El ET está conectado a masa, mientras que el ER (de alta impedancia) está conectado a través de una fuente de tensión a la entrada negativa de un operacional. Este último tiene la entrada positiva conectada a masa (generando una tierra virtual en la entrada negativa) y la salida está unida al CE. Esta configuración permite fijar la tensión entre ET y ER haciendo circular corriente por el CE.

Por otro lado, la deposición física de vapor (del inglés: Physical Vapour Deposition, PVD) consiste de un proceso para depositar capas delgadas de material, normalmente en el rango de pocos nanómetros a varios micrómetros. Uno de los procesos más comunes y que usamos en este trabajo fue el de evaporación térmica de alto vacío. En este proceso la deposición depende del material a vaporizar, que se logra calentándolo y garantizando condiciones óptimas de alto vacío. Así la fase de vapor resultante se deposita sobre el sustrato deseado a través del mecanismo de condensación. La Fig. 4, muestra un esquema del sistema experimental usado en el laboratorio, que consta de una bomba mecánica que logra una presión inicial de  $1 \times 10^{-3}$  Torr. Luego la presión residual por debajo de  $1 \times 10^{-7}$  Torr es lograda usando una difusora y una serpentina al interior de la campana de vacío. En esta serpentina se introduce  $N_2$  líquido con el propósito de generar una trampa criogénica para minimizar la deposición de impurezas sobre el sustrato. Con esta presión residual se garantizan las condiciones en las cuales las partículas evaporadas recorren trayectorias rectilíneas suficientemente grandes como para alcanzar la altura del sustrato. La distancia entre la muestra y la navicilla se puede ajustar entre 16-26 cm. El control de la temperatura de fusión del metal se hace de forma manual con una corriente suministrada a través del alambre de la navicilla de tungsteno, que soporta una temperatura de fusión elevada ( $\sim 3422$  °C) y permite evaporar cualquier tipo de material de menor punto de fusión, como es el caso del Au (con punto de fusión  $\sim 1064$  °C). Inicialmente se suministra un valor de corriente de 10 A, el metal se derrite y el tungsteno cambia de color gris a rojo. Posteriormente la corriente se incrementa hasta 15 A para garantizar la completa evaporación del metal.

El sistema para la evaporación no cuenta con balanza de cuarzo



**Figura 4:** Esquema para la evaporación térmica de alto vacío.  $y_0$  es la distancia entre la navicilla (o metal sólido) y el sustrato.

para medir el ritmo de deposición in situ. Por esta razón, el espesor depositado fue estimado con un modelo simple en el cual se asume una distribución homogénea e isotrópica del material dentro de la campana de alto vacío. De esta consideración, el espesor  $d$  del film depositado es: [65]

$$d = \frac{\Delta m}{(2\rho)(2\pi y_0^2)}, \quad (4)$$

donde  $\rho$  es la densidad volumétrica del material,  $y_0$  es la distancia de la fuente (metal sólido) al sustrato,  $\Delta m$  es la masa total evaporada.

#### 4.2 Técnicas de caracterización estructural

Las propiedades ópticas y electrónicas de nanoestructuras metálicas para aplicaciones en la optoelectrónica, plasmónica y biosensores, pueden ser ajustadas finamente controlando el tamaño y forma del material. [66, 67] Para ese propósito, una de las tareas necesarias es la caracterización morfológica, que en el presente estudio se realizó mediante las técnicas de SEM y AFM. Las imágenes SEM reportadas en el documento fueron obtenidas usando un microscopio con resolución en la escala nanométrica: SEM-FEG FEI Nova Nano Sem 230. El equipo cuenta con un cañón de electrones de emisión de campo (FEG) que permite trabajar en modo de alta resolución espacial para el estudio y caracterización de materiales en la nanoescala. Posee clásicos detectores de electrones secundarios (SE) y retrodispersados (BE). Cuenta también, con un detector “SE in-lens” o “through-the-lens” (TLD-SE) que permite alcanzar una resolución de hasta 1 nm a 15 kV y 1.6 nm a 1 kV. Las imágenes de AFM fueron obtenidas con un equipo Veeco Dimension 3100, electrónica Nanoscope IV, puntas de coercitividad media (MESP) de Bruker (radio de 35 nm, frecuencia de resonancia de 75 kHz y constante de amortiguamiento de 2.8 N/m) y modo de operación Tapping (contacto intermitente). El procesamiento y análisis de las imágenes se llevó a cabo en los programas WSxM 5.0 [68] y Gwyddion 2.49. [69] En estos programas, se analizó principalmente el ordenamiento de las nanoestructuras y rugosidad superficial.

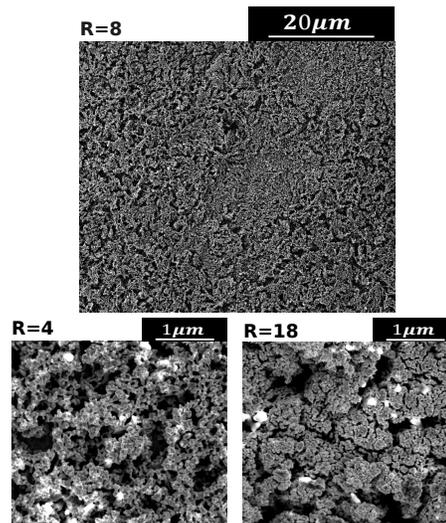
## 5. Resultados y Discusión

Los sistemas metálicos nanoestructurados han sido extensamente estudiados en el campo de la nanociencia y la nanotecnología, en particular para aplicaciones de detección ultrasensible de moléculas por SERS. [70, 71] Entre los requerimientos de estas nanoestructuras están la homogeneidad y la estabilidad en el tiempo de las muestras. [72] Es así, como el creciente interés en la nanoestructuración de superficies metálicas con propiedades plasmónicas para aplicaciones en SERS ha dado rápidamente lugar a gran variedad de sistemas para dichas aplicaciones. Para ese propósito, la elección de un sistema SERS adecuado es a veces difícil, porque depende de los factores de amplificación, el analito a detectar, costo, entre otros. En la actualidad, pocos reportes en la literatura están direccionados a comparar sistemas de esta naturaleza, que permitan poner de manifiesto las ventajas y desventajas de los sistemas comparados. Algunos de los estudios encontrados han sido enfocados a nanopartículas metálicas de Ag preparadas por distintos métodos de reducción química de compuestos y por ablación láser. [73] Encontramos estudios comparativos de coloides de nanocubos metálicos de Au, [74] superficie plana comparada con nanopartículas triangulares fabricadas por litografía con nanoesferas, [75] y nanoestructuras altamente ordenadas y reproducibles. [76] La importancia de abordar estudios comparativos radica en que la intensidad, la homogeneidad y la repetibilidad de la señal SERS, juegan un papel importante en los procesos de sensado por SERS. La homogeneidad de la señal SERS se refiere a la capacidad que tiene el sistema de producir señales SERS en varias zonas de la muestra, con una dispersión mínima en los valores de intensidad. Con respecto a esto se ha encontrado en la práctica que la rugosidad superficial de tamaño nanométrico contribuye a la intensidad de la señal SERS, pero disminuye la homogeneidad de la señal. [72] Por otro lado, la repetibilidad es referida a mecanismos que garantizan variaciones mínimas en intensidades SERS, con muestras fabricadas en distintos lotes. Estos factores (homogeneidad y repetibilidad) son de gran importancia para evaluar cuantitativamente el rendimiento de dichos sistemas. [14] En particular, para los intereses de este artículo a continuación, mostramos los estudios comparativos de los distintos sistemas fabricados por la tecnología de litografía con nanoesferas de látex, con el substrato comercial Klarite y superficies rugosas. Comparamos la homogeneidad de la señal SERS y evaluamos la contribución de la rugosidad en esta misma señal para los sistemas previamente mencionados.

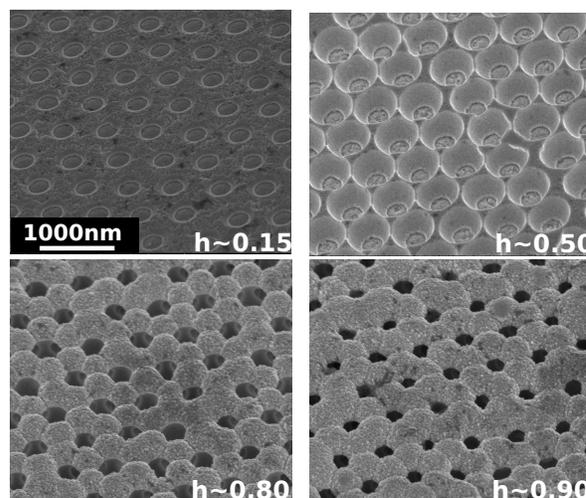
### 5.1 Caracterización morfológica de sistemas plasmónicos

La Fig. 5 muestra imágenes SEM de nanoestructuras crecidas en un alambre de Au policristalino, para valores de rugosidad  $R = 8$ ,  $R = 4$  y  $R = 18$ . Todas las imágenes SEM fueron obtenidas a incidencia normal. De las imágenes se observan nanoestructuras formadas por granos distribuidos aleatoriamente, con tamaños que oscilan entre 20 y 200 nm dependiendo del grado de rugosidad de la muestra. En las imágenes se observa la formación de huecos y túneles, cuyo tamaño y profundidad aumenta con el incremento del grado de rugosidad superficial ( $R$ ).

La Fig. 6 muestra imágenes SEM de cavidades de 600 nm de diámetro y valores de  $h$  indicados en cada imagen SEM. Este



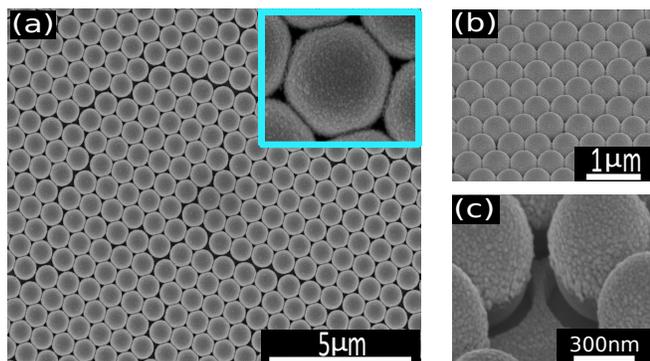
**Figura 5:** Imágenes SEM de alta resolución de superficies rugosas nanoestructurada para valores de rugosidad  $R=8$ ,  $R=4$  y  $R=18$ . Todas las imágenes SEM se obtuvieron a incidencia normal.



**Figura 6:** Imágenes SEM de alta resolución para cavidades esféricas crecidas en una plantilla de esferas de látex de 600 nm de diámetro, con tilt de  $45^\circ$  y valores de  $h$  indicados en cada imagen.

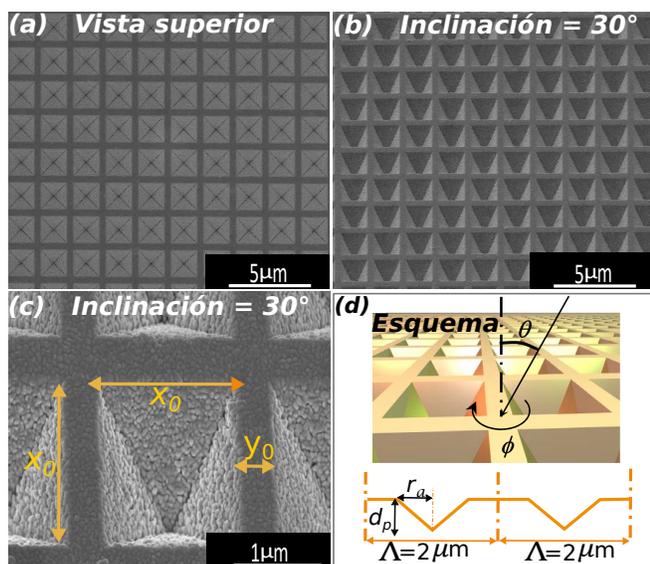
valor de  $h$  representa la altura normalizada y varía de 0 a 1. En las imágenes SEM se observa la buena homogeneidad espacial, ordenamiento hexagonal y buen acabado para los distintos valores de  $h$ . En la Fig. 7 se muestran imágenes SEM de substratos AuFON, con un film metálico de Au de  $\sim 140$  nm. En (a), una vista general de una muestra de 800 nm de diámetro de esferas de látex. En (b), una vista a  $45^\circ$  de inclinación para una muestra AuFON con esferas de 500 nm del mismo espesor del film metálico. Y en (c), imagen de alta magnificación de un defecto del mismo substrato de 500 nm. Con estas imágenes se pudo poner en evidencia el alto grado de empaquetamiento de las muestras y su uniformidad superficial. Fue posible visualizar la rugosidad superficial de tamaño nanométrico presente en la superficie y la profundidad del mojado metálico, que cubre la parte superior hasta la mitad de la esfera de látex (ver Fig. 7(c)).

En la figura 8 se muestran imágenes SEM de las nanoestructuras del substrato comercial Klarite. En (a) y (b) una vista general de la superficie a incidencia normal y a  $30^\circ$  de inclina-



**Figura 7:** Caracterización morfológica de una muestra AuFON a través de imágenes SEM de alta resolución. En (a), vista superior para un AuFON con esferas de látex de 800 nm de diámetro. En (b), vista a 45° de una muestra de 500 nm de diámetro. Y en (c) imagen SEM de un defecto tipo vacancia a 45° para la misma muestra (b), para visualizar la profundidad del mojado metálico y la rugosidad superficial. El espesor del film de Au depositado fue  $\sim 140$  nm.

ción. En (c), una vista en alta magnificación de una pirámide con inclinación de  $30^\circ$ . Las dimensiones de la boca cuadrada de la pirámide son:  $x_0 = 1.6 \pm 0.04 \mu\text{m}$ ,  $y_0 = 0.4 \pm 0.02 \mu\text{m}$  y una periodicidad  $\Lambda = 2 \pm 0.06 \mu\text{m}$ . En (d) una representación esquemática de la muestra, con  $\phi$  representando la orientación de la muestra y  $\theta$  el ángulo de incidencia de la luz láser. Este esquema fue tomado de la Ref. 24.



**Figura 8:** Caracterización morfológica a través de imágenes SEM de alta resolución. En (a) y (b), una vista general de la superficie nanoestructurada para incidencia normal e inclinación de  $30^\circ$ . En (c), una vista en alta magnificación de una pirámide con inclinación de  $30^\circ$ . Y en (d), representación esquemática de la muestra de Klarite con  $\phi$  representando la orientación de la muestra y  $\theta$  ángulo de incidencia, tomado de la Ref. 24. Abajo de la imagen (d), un perfil de la sección transversal 2D a través de los pozos de periodo  $\Lambda$ .

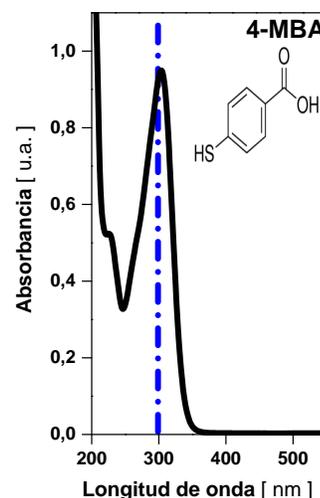
### 5.2 Respuesta óptica de sistemas plasmónicos nanoestructurados

Las superficies nanoestructuradas ordenadas presentan diversas ventajas. Una de ellas es la reproducibilidad de las muestras, debido a la repetibilidad de las condiciones de crecimiento, lo que a su vez asegura la reproducibilidad en la respuesta plasmónica, siendo esta última la responsable en gran medida

de las mejoras en estudios de detección molecular por la técnica SERS. Las resonancias plasmónicas de estas muestras son fácilmente sintonizables en energía y ángulo, y caracterizables con mediciones de reflectividad óptica. Este tipo de muestras han sido estudiadas por varios grupos de investigación y aún son de gran interés porque poseen una gran variedad de resonancias plasmónicas, debido a las variaciones de parámetros geométricos involucrados. [40, 54, 77, 78] La medición de la reflectividad en sistemas rugosos presenta desafíos significativos debido a la dispersión difusa de la luz incidente. Para los otros sistemas estudiados en este artículo, las resonancias plasmónicas han sido ampliamente estudiadas en las Refs. 23, 24, 28, 40, 45, 51.

### 5.3 Bandas Raman de moléculas 4-MBA

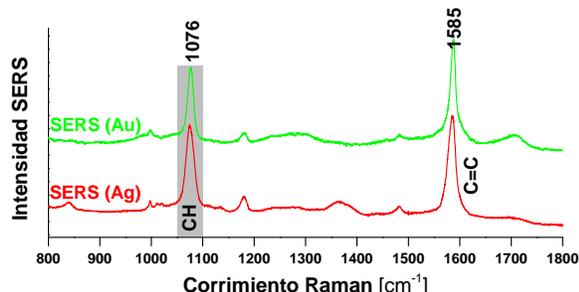
La respuesta SERS de nanoestructuras metálicas ha sido evaluada utilizando una molécula sonda de 4-MBA. Entre las ventajas que presenta este tipo de resonador Raman se tiene que: i) forma densas monocapas autolimitadas a través del autoensamblado molecular y que tienen estabilidad con el tiempo, ii) posee razonablemente buena sección eficaz Raman cuando se une al metal y iii) en su estado libre no presenta absorciones en la región espectral de trabajo (500-800 nm) donde residen los plasmones. [42, 79] Este último punto implica que la respuesta SERS debe ser atribuida a las modificaciones en la nanoestructura y no a la resonancia propia de la molécula, centrada en 300 nm (ver Fig. 9 con las medidas de absorbancia de 4-MBA para una solución  $10 \mu\text{M}$  en agua Milli-Q).



**Figura 9:** Espectro UV-visible de una solución  $10 \mu\text{M}$  de 4-MBA en agua Milli-Q. La absorción electrónica de la molécula 4-MBA en solución se ubica en 300 nm

Para los experimentos SERS reportados en este artículo las muestras fueron inmersas en soluciones etanólicas de 1 mM de la molécula 4-MBA por 30 minutos, luego enjuagados con etanol y secados con  $\text{N}_2$  gaseoso. Con este procedimiento se logra una monocapa densa del tiol de 4-MBA. [36] Los espectros SERS medidos después de la incubación 4-MBA sobre las distintas nanoestructuras metálicas muestran suficiente intensidad para los estudios realizados. La Fig. 10 muestra espectros SERS del 4-MBA adsorbido en Ag (curva roja) y Au (curva verde). Los picos mostrados en esos espectros corresponden

a los fotones que dispersaron inelásticamente con la muestra, siendo ésta la manifestación del efecto Raman. Del resultado se observan dos bandas fuertes localizadas en  $1585$  y  $1076\text{ cm}^{-1}$ , asignadas a las vibraciones del anillo aromático  $\nu_{8a}$  y  $\nu_{12}$ , respectivamente. [80, 81] Otras bandas de menor intensificación y sus respectivas asignaciones están detalladas en la tabla 1. Los valores “literatura” han sido tomados de la Ref. 82 de simulaciones en el software comercial Gaussian. [83]



**Figura 10:** Asignación de bandas del SERS de 4-MBA, adsorbido en Ag (curva roja) y en Au (curva verde). Los espectros fueron obtenidos en un espectrómetro LabRam, operado en una longitud de onda de  $633\text{ nm}$ , con una red de  $1800\text{ lin/mm}$  y objetivo de  $10x$ .

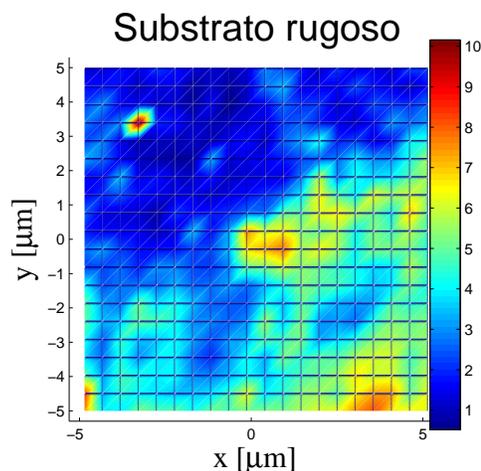
**Tabla 1:** SERS de 4-MBA en superficies nanoestructuradas de Au y Ag

Literatura	Au	Ag	Banda
1747	1705	1701	C=O estiramiento simétrico
1587	1585	1585	C=C estiramiento
1452	1482	1482	anillo flexión
1407		1367	COO <sup>-</sup> estiramiento simétrico
1185	1180	1180	CH flexión
1137		1134	CH flexión
1094	1076	1076	CH flexión en el plano
1073	1000	1000	anillo de respiración

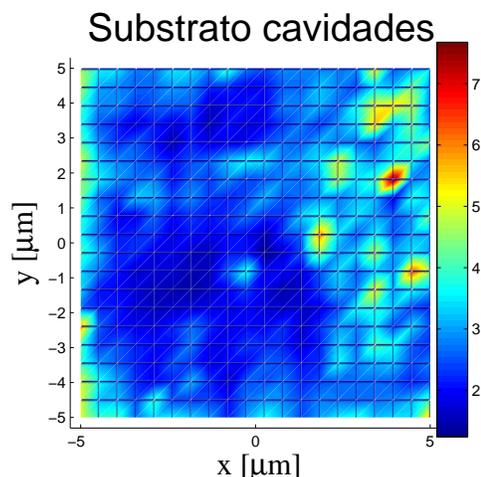
#### 5..4 Amplificación y Homogeneidad de la señal SERS en sistemas plasmónicos nanoestructurados

Los resultados de las Figs. 11, 12, 13 y 14 corresponden a mapas de la homogeneidad de la señal SERS de los distintos sustratos estudiados (superficie rugosa, cavidades esféricas, sustrato comercial Klarite y un sustrato de AuFON). La escala de colores en los mapas corresponde a valores de la intensidad SERS, en rojo valores máximos y en azul valores mínimos. Esta intensidad fue obtenida con la altura de la banda Raman centrada en  $1076\text{ cm}^{-1}$  de la molécula 4-MBA. El valor de la altura del pico fue normalizada por la potencia del láser y el tiempo de adquisición. Los barridos fueron realizados con un espectrómetro Raman *LabRAM HR Evolution*, equipado con un detector CCD y un láser He-Ne de  $633\text{ nm}$ . En todos los casos se usó un objetivo de  $100x$  de apertura numérica de  $0.9$ , estimando por lo tanto un tamaño de spot del haz de incidencia de  $1\text{ }\mu\text{m}$ . El área barrida en cada muestra fue de  $5 \times 5\text{ }\mu\text{m}^2$  y en total se colectaron  $400$  espectros por cada mapa. El espectrómetro para las medias Raman fue calibrado con la resonancia del silicio centrada en una energía de  $520\text{ cm}^{-1}$ . La Fig. 15, muestra la intensidad SERS promedio y su desviación estándar para los diferentes sustratos evaluados. Las intensidades más fuertes son obtenidas en el sistema de AuFON, con un valor de  $\sim 240$ , seguido del sustrato rugoso con  $3.4$ , Klarite

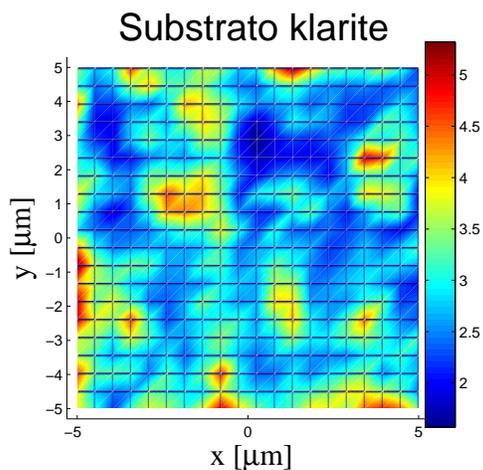
$3.0$  y cavidad  $2.8$ . Los tres últimos sustratos mencionados presentan intensidades SERS similares, entre  $70$ - $80$  veces menos que el sistema de AuFON. En cuanto a la dispersión porcentual calculada con los  $400$  espectros de cada mapa, se observa que el sistema de AuFON y Klarite muestran menor dispersión de la señal SERS ( $17\%$  para los de AuFON y  $21\%$  para el Klarite), seguido de las cavidades esféricas ( $31\%$ ) y las superficie rugosa ( $51\%$ ). La homogeneidad de la señal SERS en sustratos de cavidades esféricas y los AuFON, es atribuida al buen ordenamiento de la nanoestructura, que está determinada por el empaquetamiento de las esferas de látex. Este empaquetamiento se hace difícil, especialmente cuando el diámetro de las esferas de látex es menor a  $200\text{ nm}$ , causando ciertas limitaciones tanto en la homogeneidad como en la estabilidad del sustrato. [84, 85] En particular las muestras de AuFON y cavidades estudiadas tienen un diámetro de  $500$  y  $600\text{ nm}$  respectivamente, por lo cual se espera que sistemas de mayor diámetro presenten menor dispersión en las intensidades SERS (mayor homogeneidad).



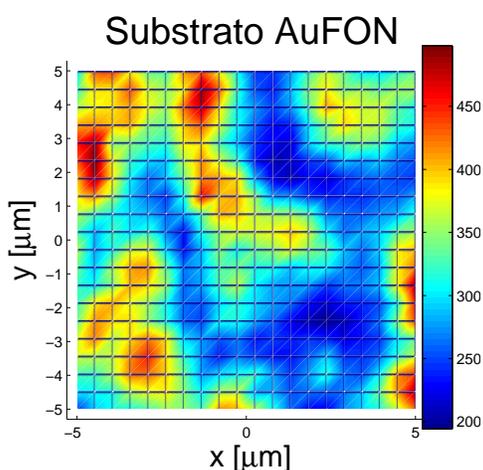
**Figura 11:** Superficie rugosa, en un alambre de Au policristalino. El valor de la rugosidad fue  $R=30$ . La intensidad promedio fue  $I=3.4$  y la dispersión porcentual del  $51\%$ .



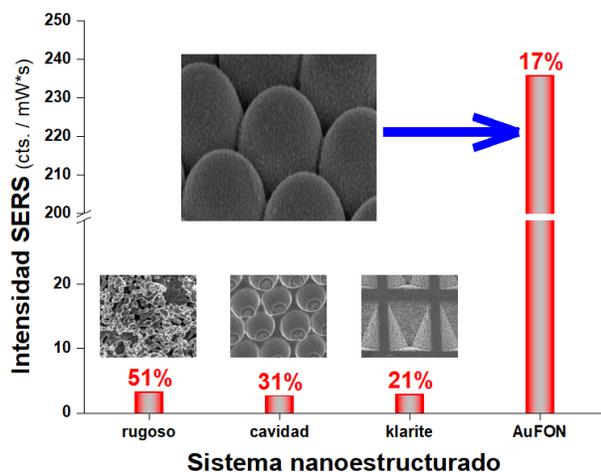
**Figura 12:** Sustrato de cavidades esféricas de Au, de  $800\text{ nm}$  de diámetro y altura  $h=0.3$ . La intensidad promedio fue  $I=2.83$  y la dispersión porcentual del  $31\%$ .



**Figura 13:** Substrato Klarite, descrito en la Fig. 8. La intensidad promedio fue  $I=3.0$  y la dispersión porcentual del 21 %.

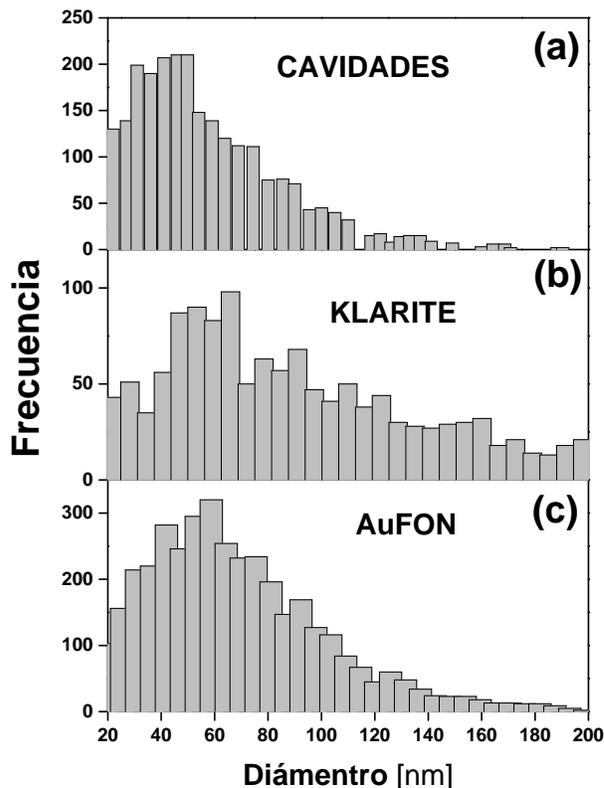


**Figura 14:** Sistema de AuFON de 500 nm de diámetro de esfera de látex. La intensidad promedio fue  $I=236$  y la dispersión porcentual del 17 %.



**Figura 15:** Intensidad SERS y la dispersión porcentual para los distintos sistemas estudiados.

Para ayudar a comprender los altos valores de intensificación de la señal SERS en los sistemas de AuFON se analizó la rugosidad superficial en tres sistemas que mostraron mayor intensificación SERS (cavidades, Klarite y AuFON). Estos re-



**Figura 16:** Histogramas derivados de imágenes AFM filtradas, que describen la distribución de granos de distintos tamaños en la superficie de los sistemas. (a) Cavidades esféricas, (b) substrato comercial Klarite y (c) sistema de AuFON.

sultados se muestran en la Fig. 16, con histogramas derivados de imágenes AFM filtradas, que describen la distribución de granos de distintos tamaños en la superficie del substrato: (a) cavidades esféricas de 600 nm de diámetro y  $h=0.35$ , (b) substrato Klarite y (c) substrato de AuFON de 500 nm de diámetro. Del resultado de estos histogramas se pudo observar que en los tres casos, el máximo de la distribución está centrada en los granos de menor tamaño de la nanoestructura con pico alrededor de  $\sim 30-60$  nm, extendiéndose hasta  $\sim 200$  nm. El número máximo de eventos en el sistema de AuFON es 3 veces mayor que en el Klarite y 1.5 veces mayor que en las cavidades. Esto indica que si bien la rugosidad superficial de tamaño nanométrico quizás contribuye a la señal SERS diferencial entre substratos. En estos experimentos la mayor contribución proviene probablemente del valor y la distribución de campo eléctrico de los plasmones localizados en los distintos sistemas. Recordemos que los valores máximos de la intensidad SERS en el sistema AuFON es 20 y 37 veces mayor que en el Klarite y las cavidades respectivamente. Este valor en la señal SERS para el sistema AuFON no puede ser justificado solamente con su valor de rugosidad, que según la estimación resultó ser de 2 y 3 veces mayor en comparación con el Klarite y cavidades respectivamente.

## 6. Conclusiones

En este estudio, hemos demostrado que los sistemas de nanoestructuras de oro (AuFON) superan a otros sustratos plasmónicos evaluados, como superficies rugosas, cavidades esféricas

y el sistema comercial Klarite, en terminos de intensidad y homogeneidad de la señal SERS. Esta superioridad posiciona a los AuFON como una plataforma altamente prometedora para el desarrollo de sensores moleculares ultrasensibles en SERS. Los resultados obtenidos abren nuevas perspectivas en campos como la detección temprana de enfermedades, el monitoreo ambiental de contaminantes y la seguridad alimentaria, al permitir la identificación rápida y precisa de moléculas de interés en muestras complejas.

## Reconocimientos

Los experimentos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fotónica y Optoelectrónica del Centro Atómico Bariloche, donde se obtuvieron los datos presentados en este trabajo.

## Referencias

- [1] S. A. Maier, *Plasmonics, Fundamentals and Applications*. Berlin: Springer, 2007.
- [2] H. A. Atwater, “The promise of plasmonics,” *Scientific American*, vol. 296, no. 4, pp. 56–62, 2007.
- [3] M. E. Stewart, C. R. Anderton, L. B. Thompson, J. Maria, S. K. Gray, J. A. Rogers, and R. G. Nuzzo, “Nanostructured plasmonic sensors,” *Chemical Reviews*, vol. 108, no. 2, pp. 494–521, 2008.
- [4] W. A. Murray and W. L. Barnes, “Plasmonic materials,” *Advanced Materials*, vol. 19, no. 22, pp. 3771–3782, 2007.
- [5] A. Campion and P. Kambhampati, “Surface-enhanced Raman scattering,” *Chemical Society Reviews*, vol. 27, no. 4, pp. 241–250, 1998.
- [6] H. Xu, E. J. Bjerneld, M. Käll, and L. Börjesson, “Spectroscopy of single hemoglobin molecules by surface enhanced Raman scattering,” *Physical Review Letters*, vol. 83, no. 21, p. 4357, 1999.
- [7] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, “Surface-enhanced Raman scattering and biophysics,” *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 14, no. 18, p. R597, 2002.
- [8] M. Fleischmann, P. J. Hendra, and A. J. McQuillan, “Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode,” *Chemical Physics Letters*, vol. 26, no. 2, pp. 163–166, 1974.
- [9] E. C. Le Ru and P. G. Etchegoin, *Principles of Surface Enhanced Raman Spectroscopy and Related Plasmonic Effects*. Amsterdam: Elsevier, 2009.
- [10] R. Aroca, *Surface-enhanced vibrational spectroscopy*. John Wiley & Sons, 2006.
- [11] M. Moskovits, “Surface-enhanced spectroscopy,” *Rev. Mod. Phys.*, vol. 57, no. 3, p. 783, 1985.
- [12] M. Moskovits, “Surface-enhanced Raman spectroscopy: a brief retrospective,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 36, no. 6-7, pp. 485–496, 2005.
- [13] A. Otto, “Surface-enhanced Raman scattering: “Classical” and “Chemical” origins,” in *Light scattering in solids IV*, vol. 54, pp. 289–418, Springer, 1984.
- [14] E. C. Le Ru, E. Blackie, M. Meyer, and P. G. Etchegoin, “SERS enhancement factors: a comprehensive study,” *Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, no. 37, pp. 13794–13803, 2007.
- [15] S. A. Meyer, B. Auguié, E. C. Le Ru, and P. G. Etchegoin, “Combined SPR and SERS microscopy in the Kretschmann configuration,” *J. Phys. Chem. A*, vol. 116, no. 3, pp. 1000–1007, 2012.
- [16] R. Salvarezza and A. Arvia, “A modern approach to surface roughness applied to electrochemical systems,” in *Modern Aspects of Electrochemistry*, pp. 289–373, Springer, 1996.
- [17] P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, P. R. Birkin, M. A. Ghannem, and M. C. Nett, “Highly ordered macroporous gold and platinum films formed by electrochemical deposition through templates assembled from submicron diameter monodisperse polystyrene spheres,” *Chem. Mater.*, vol. 14, pp. 2199–2208, 2002.
- [18] S. Cintra, M. E. Abdelsalam, P. N. Bartlett, J. J. Baumberg, T. A. Kelf, Y. Sugawara, and A. E. Russell, “Sculpted substrates for SERS,” *Faraday Discussions*, vol. 132, pp. 191–199, 2006.
- [19] S. Mahajan, M. Abdelsalam, Y. Suguwara, S. Cintra, A. Russell, J. Baumberg, and P. Bartlett, “Tuning plasmons on nano-structured substrates for NIR-SERS,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 9, no. 1, pp. 104–109, 2007.
- [20] T. Kelf, Y. Sugawara, R. Cole, J. Baumberg, M. Abdelsalam, S. Cintra, S. Mahajan, A. Russell, and P. Bartlett, “Localized and delocalized plasmons in metallic nanovoids,” *Physical Review B*, vol. 74, no. 24, p. 245415, 2006.
- [21] J. J. Baumberg, T. A. Kelf, Y. Sugawara, S. Cintra, M. E. Abdelsalam, P. N. Bartlett, and A. E. Russell, “Angle-resolved surface-enhanced Raman scattering on metallic nanostructured plasmonic crystals,” *Nano Letters*, vol. 5, no. 11, pp. 2262–2267, 2005.
- [22] L. A. Dick, A. D. McFarland, C. L. Haynes, and R. P. Van Duyne, “Metal film over nanosphere (MFON) electrodes for surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Improvements in surface nanostructure stability and suppression of irreversible loss,” *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 106, no. 4, pp. 853–860, 2002.
- [23] N. Perney, F. G. De Abajo, J. Baumberg, A. Tang, M. Netti, M. Charlton, and M. Zoorob, “Tuning localized plasmon cavities for optimized surface-enhanced Raman scattering,” *Physical Review B*, vol. 76, no. 3, p. 035426, 2007.

- [24] N. Perney, J. J. Baumberg, M. E. Zoorob, M. D. Charlton, S. Mahnkopf, and C. M. Netti, "Tuning localized plasmons in nanostructured substrates for surface-enhanced Raman scattering," *Opt. Express*, vol. 14, no. 2, pp. 847–857, 2006.
- [25] T. A. Alexander, "Applications of surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) for biosensing: an analysis of reproducible commercially available substrates," in *Smart Medical and Biomedical Sensor Technology III*, vol. 6007, p. 600703, International Society for Optics and Photonics, 2005.
- [26] T. A. Alexander, "Development of methodology based on commercialized SERS-active substrates for rapid discrimination of Poxviridae virions," *Analytical Chemistry*, vol. 80, no. 8, pp. 2817–2825, 2008.
- [27] T. A. Alexander and D. M. Le, "Characterization of a commercialized SERS-active substrate and its application to the identification of intact *Bacillus* endospores," *Applied Optics*, vol. 46, no. 18, pp. 3878–3890, 2007.
- [28] M. C. Netti, M. Zoorob, M. D. Charlton, P. Ayliffe, S. Mahnkopf, P. Stopford, K. Todd, J. R. Lincoln, N. M. Perney, and J. J. Baumberg, "Probing molecules by surface-enhanced Raman spectroscopy," in *Biomedical Vibrational Spectroscopy III: Advances in Research and Industry*, vol. 6093, p. 60930F, International Society for Optics and Photonics, 2006.
- [29] Y. C. Cao, R. Jin, and C. A. Mirkin, "Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection," *Science*, vol. 297, no. 5586, pp. 1536–1540, 2002.
- [30] H. A. Szymanski, *Raman spectroscopy: theory and practice*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [31] W.-H. Li, X.-Y. Li, and N.-T. Yu, "Surface-enhanced resonance hyper-Raman scattering and surface-enhanced resonance Raman scattering of dyes adsorbed on silver electrode and silver colloid: a comparison study," *Chemical Physics Letters*, vol. 312, no. 1, pp. 28–36, 1999.
- [32] J. A. Creighton, C. G. Blatchford, and M. G. Albrecht, "Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength," *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2: Molecular and Chemical Physics*, vol. 75, pp. 790–798, 1979.
- [33] M. Moskovits and J. Suh, "Surface selection rules for surface-enhanced Raman spectroscopy: calculations and application to the surface-enhanced Raman spectrum of phthalazine on silver," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 88, no. 23, pp. 5526–5530, 1984.
- [34] S.-W. Joo and Y.-S. Kim, "Surface-enhanced Raman scattering study of benzyl mercaptide and benzyl isocyanide on gold and silver nanocolloid surfaces," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 234, no. 1, pp. 117–122, 2004.
- [35] A. Otto, I. Mrozek, H. Grabhorn, and W. Akemann, "Surface-enhanced Raman scattering," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 4, no. 5, p. 1143, 1992.
- [36] C. Vericat, G. Benitez, M. Vela, R. Salvarezza, N. Tognalli, and A. Fainstein, "Restricted surface mobility of thiolate-covered metal surfaces: A simple strategy to produce high-area functionalized surfaces," *Langmuir*, vol. 23, no. 3, pp. 1152–1159, 2007.
- [37] D.-S. Wang and M. Kerker, "Enhanced Raman scattering by molecules adsorbed at the surface of colloidal spheroids," *Physical Review B*, vol. 24, no. 4, p. 1777, 1981.
- [38] S. Nie and S. R. Emory, "Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering," *Science*, vol. 275, no. 5303, pp. 1102–1106, 1997.
- [39] K. Kneipp, H. Kneipp, I. Itzkan, R. R. Dasari, and M. S. Feld, "Ultrasensitive chemical analysis by Raman spectroscopy," *Chemical Reviews*, vol. 99, no. 10, pp. 2957–2976, 1999.
- [40] N. G. Tognalli, A. Fainstein, E. J. Calvo, M. Abdelsalam, and P. N. Bartlett, "Incident Wavelength Resolved Resonant SERS on Au Sphere Segment Void (SSV) Arrays," *J. Phys. Chem. C*, vol. 116, no. 5, pp. 3414–3420, 2012.
- [41] E. Cortés, N. G. Tognalli, A. Fainstein, M. E. Vela, and R. C. Salvarezza, "Ag-modified Au nanocavity SERS substrates," *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 11, no. 34, pp. 7469–7475, 2009.
- [42] N. G. Tognalli, *Nanoestructuras metálicas para espectroscopía SERS de sistemas biomiméticos y de sentido*. PhD thesis, Instituto Balseiro, 2008.
- [43] N. G. Tognalli, E. Cortés, A. D. Hernández-Nieves, P. Carro, G. Usaj, C. A. Balseiro, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, and A. Fainstein, "From single to multiple Ag-layer modification of Au nanocavity substrates: a tunable probe of the chemical surface-enhanced Raman scattering mechanism," *ACS Nano*, vol. 5, no. 7, pp. 5433–5443, 2011.
- [44] P. Lacharmoise, N. Tognalli, A. Goñi, M. Alonso, A. Fainstein, R. Cole, J. Baumberg, J. García de Abajo, and P. Bartlett, "Imaging optical near fields at metallic nanoscale voids," *Phys. Rev. B*, vol. 78, no. 12, 2008.
- [45] X. Yang, S. Zhou, D. Wang, J. He, J. Zhou, X. Li, P. Gao, and J. Ye, "Light trapping enhancement in a thin film with 2D conformal periodic hexagonal arrays," *Nanoscale Research Letters*, vol. 10, no. 1, p. 284, 2015.
- [46] J. Wang, F. Zhou, G. Duan, Y. Li, G. Liu, F. Su, and W. Cai, "A controlled Ag–Au bimetallic nanoshelled microsphere array and its improved surface-enhanced Raman scattering effect," *RSC Advances*, vol. 4, no. 17, pp. 8758–8763, 2014.
- [47] X. Zhang and R. P. Van Duyne, "Optimized silver film over nanosphere surfaces for the biowarfare agent detection based on surface-enhanced Raman spectroscopy," *MRS Online Proceedings Library Archive*, vol. 876, 2005.

- [48] C. L. Haynes and R. P. Van Duyne, "Nanosphere lithography: a versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics," 2001.
- [49] P. Pieranski, "Two-dimensional interfacial colloidal crystals," *Physical Review Letters*, vol. 45, no. 7, p. 569, 1980.
- [50] J. C. Hulteen and R. P. Van Duyne, "Nanosphere lithography: A materials general fabrication process for periodic particle array surfaces," *Journal of Vacuum Science & Technology A: Vacuum, Surfaces, and Films*, vol. 13, no. 3, pp. 1553–1558, 1995.
- [51] N. G. Greeneltch, M. G. Blaber, A.-I. Henry, G. C. Schatz, and R. P. Van Duyne, "Immobilized nanorod assemblies: fabrication and understanding of large area surface-enhanced Raman spectroscopy substrates," *Analytical Chemistry*, vol. 85, no. 4, pp. 2297–2303, 2013.
- [52] S. S. Masango, R. A. Hackler, N. Large, A.-I. Henry, M. O. McAnally, G. C. Schatz, P. C. Stair, and R. P. Van Duyne, "High-resolution distance dependence study of surface-enhanced Raman scattering enabled by atomic layer deposition," *Nano Letters*, vol. 16, no. 7, pp. 4251–4259, 2016.
- [53] Y. Fang, N.-H. Seong, and D. D. Dlott, "Measurement of the distribution of site enhancements in surface-enhanced Raman scattering," *Science*, vol. 321, no. 5887, pp. 388–392, 2008.
- [54] P. N. Bartlett, P. R. Birkin, and M. A. Ghanem, "Electrochemical deposition of macroporous platinum, palladium and cobalt films using polystyrene latex sphere templates," *Chem. Commun.*, no. 17, pp. 1671–1672, 2000.
- [55] V. Oklejas and J. M. Harris, "Potential-dependent surface-enhanced Raman scattering from adsorbed thiocyanate for characterizing silver surfaces with improved reproducibility," *Applied Spectroscopy*, vol. 58, no. 8, pp. 945–951, 2004.
- [56] A. G. Brolo, P. Germain, and G. Hager, "Investigation of the adsorption of l-cysteine on a polycrystalline silver electrode by surface-enhanced Raman scattering (SERS) and surface-enhanced second harmonic generation (SESHG)," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 106, no. 23, pp. 5982–5987, 2002.
- [57] P. Corio, M. L. Temperini, P. S. Santos, and J. C. Rubim, "Contribution of the charge transfer mechanism to the surface-enhanced Raman scattering of the binuclear Ion complex [Fe<sub>2</sub> ((Bpe)(CN)<sub>10</sub>] 6-Adsorbed on a silver electrode in different solvents," *Langmuir*, vol. 15, no. 7, pp. 2500–2507, 1999.
- [58] A. C. Sant'Ana, P. S. Santos, and M. L. Temperini, "The adsorption of squaric acid and its derived species on silver and gold surfaces studied by SERS," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 571, no. 2, pp. 247–254, 2004.
- [59] J. R. de Sousa, M. M. V. Parente, I. C. N. Diógenes, L. G. F. Lopes, P. de Lima Neto, M. L. A. Temperini, A. A. Batista, and Í. de Sousa Moreira, "A correlation study between the conformation of the 1, 4-dithiane SAM on gold and its performance to assess the heterogeneous electron-transfer reactions," *Journal of Electroanalytical Chemistry*, vol. 566, no. 2, pp. 443–449, 2004.
- [60] E. Cortés, *Construcción y propiedades de sistemas moleculares ensamblados sobre superficies lisas, nanoestructuradas y nanoparticulas*. PhD thesis, Facultad de Ciencias Exactas, 2013.
- [61] J. M. V. A. J. A. L. V. A. B. C. Alonso, R. C. Salvarezza and A. M. Baró., "The evaluation of surface diffusion coefficients of gold and palladium atoms at electrochemical interfaces from combined STM-SEM imaging and electrochemical techniques.," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 137, p. 2161, 1990.
- [62] A. Aramata, "Underpotential deposition on single-crystal metals," *Modern Aspects of Electrochemistry*, Plenum Press, New York, vol. 31, pp. 181–250, 1997.
- [63] M. Vela, J. Zerbino, and A. Arvia, "Ellipsometric study of hydrous gold oxide layers and gold surfaces resulting from their electroreduction," *Thin Solid Films*, vol. 233, no. 1-2, pp. 82–85, 1993.
- [64] C. Macchi, A. Somoza, S. Mariazzi, R. Brusa, C. Vericat, M. Vela, and R. Salvarezza, "Characterization of high area nanostructured gold surfaces by slow positron depth profiling," *physica status solidi (c)*, vol. 6, no. 11, pp. 2585–2588, 2009.
- [65] G. Roozing, *informe de practica: Design of Planetary System to resolve film thickness variation in Film Deposition*. PhD thesis, University of Twente, 2014.
- [66] K.-S. Lee and M. A. El-Sayed, "Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 110, no. 39, pp. 19220–19225, 2006.
- [67] C. J. Murphy, T. K. Sau, A. Gole, and C. J. Orendorff, "Surfactant-directed synthesis and optical properties of one-dimensional plasmonic metallic nanostructures," *Mrs Bulletin*, vol. 30, no. 5, pp. 349–355, 2005.
- [68] I. Horacos, R. Fernandez, J. Gomez-Rodriguez, J. Colchero, J. Gómez-Herrero, and A. Baro, "Wsxm: A software for scanning probe microscopy and a tool for nanotechnology," *Rev. Sci. Instrum*, vol. 78, no. 1, pp. 013705–10, 2007.
- [69] "Gwyddion: an open-source software for SPM data analysis."
- [70] Y. Wang, W. Song, W. Ruan, J. Yang, B. Zhao, and J. R. Lombardi, "SERS spectroscopy used to study an adsorbate on a nanoscale thin film of CuO coated with Ag," *The Journal of Physical Chemistry C*, vol. 113, no. 19, pp. 8065–8069, 2009.

- [71] N. Ji, W. Ruan, C. Wang, Z. Lu, and B. Zhao, "Fabrication of silver decorated anodic aluminum oxide substrate and its optical properties on surface-enhanced Raman scattering and thin film interference," *Langmuir*, vol. 25, no. 19, pp. 11869–11873, 2009.
- [72] K. Hering, D. Cialla, K. Ackermann, T. Dörfer, R. Möller, H. Schneidewind, R. Mattheis, W. Fritzsche, P. Rösch, and J. Popp, "SERS: a versatile tool in chemical and biochemical diagnostics," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 390, no. 1, pp. 113–124, 2008.
- [73] M. Canamares, J. Garcia-Ramos, S. Sanchez-Cortes, M. Castillejo, and M. Oujja, "Comparative SERS effectiveness of silver nanoparticles prepared by different methods: A study of the enhancement factor and the interfacial properties," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 326, no. 1, pp. 103–109, 2008.
- [74] H.-L. Wu, H.-R. Tsai, Y.-T. Hung, K.-U. Lao, C.-W. Liao, P.-J. Chung, J.-S. Huang, I.-C. Chen, and M. H. Huang, "A comparative study of gold nanocubes, octahedra, and rhombic dodecahedra as highly sensitive SERS substrates," *Inorganic chemistry*, vol. 50, no. 17, pp. 8106–8111, 2011.
- [75] C. R. Yonzon, E. Jeoung, S. Zou, G. C. Schatz, M. Mrksich, and R. P. Van Duyne, "A comparative analysis of localized and propagating surface plasmon resonance sensors: the binding of concanavalin a to a monosaccharide functionalized self-assembled monolayer," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 126, no. 39, pp. 12669–12676, 2004.
- [76] U. Dinish, F. C. Yaw, A. Agarwal, and M. Olivo, "Development of highly reproducible nanogap SERS substrates: Comparative performance analysis and its application for glucose sensing," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 26, no. 5, pp. 1987–1992, 2011.
- [77] B. J. C. S. . A. M. Bartlett, P., "Optical properties of nanostructured metal films," *Faraday Discuss.*, vol. 125, p. 117–132, 2003.
- [78] T. A. Kelf, Y. Sugawara, J. J. Baumberg, M. Abdelsalam, and P. N. Bartlett, "Plasmonic band gaps and trapped plasmons on nanostructured metal surfaces," *Physical Review Letters*, vol. 95, p. 116802, 2005.
- [79] L. A. Guerra Hernández, M. A. Daza Millone, E. Cortés, M. F. Castez, B. Auguié, M. E. Vela, R. C. Salvarezza, and A. Fainstein, "Synergetic light-harvesting and near-field enhancement in multiscale patterned gold substrates," *ACS Photonics*, vol. 2, no. 9, pp. 1355–1365, 2015.
- [80] J. Yan, X. Han, J. He, L. Kang, B. Zhang, Y. Du, H. Zhao, C. Dong, H.-L. Wang, and P. Xu, "Highly sensitive surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) platforms based on silver nanostructures fabricated on polyaniline membrane surfaces," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 4, no. 5, pp. 2752–2756, 2012.
- [81] A. Michota and J. Bukowska, "Surface-enhanced Raman scattering (SERS) of 4-mercaptobenzoic acid on silver and gold substrates," *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 34, no. 1, pp. 21–25, 2003.
- [82] W.-q. Ma, Y. Fang, G.-l. Hao, and W.-g. Wang, "Adsorption behaviors of 4-mercaptobenzoic acid on silver and gold films," *Chinese Journal of Chemical Physics*, vol. 23, no. 6, pp. 659–663, 2010.
- [83] J. Pople *et al.*, "Gaussian 03, Revision B. 05," *Gaussian, Inc., Pittsburgh, PA*, 2003.
- [84] X.-M. Lin, Y. Cui, Y.-H. Xu, B. Ren, and Z.-Q. Tian, "Surface-enhanced Raman spectroscopy: substrate-related issues," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 394, no. 7, pp. 1729–1745, 2009.
- [85] M. J. Natan, "Concluding remarks surface enhanced Raman scattering," *Faraday Discussions*, vol. 132, pp. 321–328, 2006.