

# Nachweis kleiner anorganischer Moleküle durch oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS)

Ramón A. Alvarez-Puebla\* und Luis M. Liz-Marzán\*

Anorganische Chemie · Nanopartikel ·  
Raman-Querschnitt · SERS · Ultradetektion

Die oberflächenverstärkte Raman-Streuung (SERS) ist ein leistungsfähiges und relativ direktes molekülspektroskopisches Verfahren aus dem Bereich der Nanoplasmonik. Das Prinzip von SERS ist die Verstärkung der unelastischen Streuung von Molekülen, die sich nahe einer nanostrukturierten Metalloberfläche mit durch Bestrahlung angeregten Oberflächenplasmonen befinden. Die SERS-Analytik ist dann weniger geeignet, wenn die Moleküle (wie oft bei anorganischen Molekülen der Fall) zu kleine Raman-Querschnitte haben. Noch schwieriger ist die Identifizierung von atomaren Spezies, da diese noch nicht einmal ein Schwingungssignal aufweisen. Hier erörtern wir die jüngsten Fortschritte beim SERS-Nachweis kleiner anorganischer Spezies, darunter Moleküle und Atome.

## 1. Einleitung

Die oberflächenverstärkte Raman-Streuung (surface-enhanced Raman scattering, SERS) ist eine leistungsfähige molekülspektroskopische Technik für ultraempfindliche Nachweise.<sup>[1]</sup> Sie ist einfach handzuhaben, und selbst kleinste Mengen organischer Zielmoleküle lassen sich auch in komplexen Medien detektieren. Die Technik findet daher ein immer größeres Interesse, und seit einigen Jahren wird SERS in unzähligen, teilweise sehr erstaunlichen Bereichen eingesetzt, vor allem im Umwelt-Monitoring,<sup>[2]</sup> der Diagnostik, der Biodetektion und für biologische bildgebende Verfahren.<sup>[3]</sup> Allerdings erstrecken sich die Anwendungen in der Regel auf

den Nachweis von organischen Molekülsystemen mit großen Raman-Querschnitten. Anorganische Spezies mit ihren kleinen Raman-Querschnitten oder – im Fall von Atomen – gar dem völligen Fehlen von Schwingungsmoden werden mit dieser Technik nicht erfasst. Ein weiterer Grund für die eingeschränkte Nutzung von SERS ist, dass bereits etablierte analytische Methoden vorhanden sind, die für ihre jeweiligen Einsatzgebiete ausreichen. So werden Metallkationen üblicherweise durch Atomabsorptions- oder Emissionsspektroskopie nachgewiesen und quantifiziert,<sup>[4]</sup> Anionen vorwiegend durch Ionenauflösungsspektrometrie,<sup>[5]</sup> elektrochemische Methoden,<sup>[6]</sup> elektronische Absorption oder Emission (Kolorimetrie)<sup>[7]</sup> und Resonanz-Raman-Streuung.<sup>[8]</sup> Die Nachweissgrenzen dieser Techniken liegen zwar im mikro- bis pikomolaren Bereich, aber die notwendige Probenmenge ist oft hoch, und die Methoden sind zerstörerisch oder können nicht ohne direkte Wechselwirkung mit der Probe durchgeführt werden. Zur Lösung dieses Problems wurde eine Reihe von optischen Methoden entwickelt.<sup>[9]</sup> So lässt sich die Fluoreszenz messen, die durch Wechselwirkung der anorganischen Spezies mit einem Fluorophor auftritt,<sup>[10]</sup> oder es wird die plasmonische Verschiebung oder Dämpfung gemessen, die infolge von Wechselwirkungen der anorganischen Spezies direkt mit der plasmonischen Oberfläche (bei Hg)<sup>[11]</sup> oder mit einem dort adsorbierten Liganden auftritt.<sup>[12]</sup> Auch SERS wurde eingesetzt, wobei entweder die spezifischen Schwingungsmuster des Moleküls direkt identifiziert wurden oder die spektralen Änderungen infolge der Wechselwirkung eines vorher adsorbierten Moleküls mit der anorganischen Sonde verfolgt wurden.

In diesem Kurzaufsatzt konzentrieren wir uns auf die jüngsten Fortschritte in der SERS-Analytik von anorganischen Spezies. Die SERS-Technik ermöglicht z. B. einen

[\*] Prof. R. A. Alvarez-Puebla, Prof. Dr. L. M. Liz-Marzán

Departamento de Química-Física, Universidade de Vigo  
36310 Vigo (Spanien)

Prof. R. A. Alvarez-Puebla  
ICREA, Passeig Lluís Companys 23, 08010 Barcelona (Spanien).

Prof. R. A. Alvarez-Puebla  
Department of Electronic Engineering & Center for Chemical Technology of Catalonia, Universitat Rovira i Virgili, Avda. Països Catalans, 2643007 Tarragona (Spanien)  
E-Mail: ramon.alvarez@urv.cat

Prof. Dr. L. M. Liz-Marzán  
Ikerbasque, Basque Foundation for Science, 48011 Bilbao (Spanien)

Prof. Dr. L. M. Liz-Marzán  
Centre for Cooperative Research in Biomaterials (CIC biomaGUNE),  
Paseo de Miramón 182, 20009 San Sebastián (Spanien)  
E-Mail: llizmarzan@cicbiomagune.es

schnellen und eingeschlossenen Zugang zu Informationen über hoch giftige Systeme und die Untersuchung auch sehr empfindlicher Systeme wie lebender Organismen unter verschiedenen Bedingungen.

## 2. Die SERS-Aktivität

Eine der häufigsten Fragen zu SERS ist die nach der Aktivität des untersuchten Molekülsystems. Dazu gibt es eine klare Antwort: Obwohl alle Molekülsysteme im Prinzip SERS-Signale produzieren können (d.h. alle Moleküle SERS-aktiv sind), sind nicht alle Moleküle auch gute SERS-Sonden. Im Wesentlichen hängt die SERS-Aktivität von drei Faktoren ab: 1) vom elektromagnetischen Feld, das von der plasmonischen Nanostruktur als optischem Verstärker erzeugt wird, 2) von den intrinsischen Raman-Eigenschaften des zu untersuchenden Moleküls (dem Streuquerschnitt) und 3) von der Affinität des Moleküls für die plasmonische Oberfläche (der Wechselwirkung zwischen Adsorbens und Adsorbat).

Grundlage von SERS ist der erste Faktor: das elektromagnetische Feld oder die lokalisierte Oberflächenplasmonenresonanz (LSPR). Deren Effekt auf die SERS-Intensitäten wurde bereits umfassend untersucht.<sup>[13]</sup> Weil dieser Effekt aber unabhängig von der chemischen Natur des Moleküls und immer gleich groß ist, wollen wir hier auf eine nähere Erörterung verzichten.

### 2.1. Raman/SERS-Querschnitt

Generell gilt, dass ein guter Raman-Streuer (ein Molekül mit großem Raman-Querschnitt) auch ein guter SERS-Streuer ist. Der Querschnitt eines Moleküls für einen gegebenen linearen optischen Prozess kann als Intensität des Antwortsignals verglichen mit der Eingangsleistung definiert werden.<sup>[15]</sup> Streng genommen sollte für jede Anregungswellenlänge ein Querschnitt für jede Schwingungsmodus des Analyten für jede Molekülorientierung gegeben sein. Gleichwohl sind bei der Raman-Streuung die Geometrie, Polarisation und Wellenlänge des Lasers oft unveränderliche Größen und vom Instrument vorgegeben. Für eine Abschätzung der Signalintensität reicht es daher aus, einen empiri-

schen Querschnitt für eine gegebene Raman-Bande in dieser Geometrie zu nehmen. In Tabelle 1 sind die jeweiligen Raman-Querschnitte für verschiedene Molekülsysteme bei einer Anregung mit der 514.5-nm-Laserlinie aufgeführt.

**Tabelle 1:** Experimentelle Raman-Querschnitte einiger repräsentativer Sonden. Die Werte stammen aus Lit. [14].

Moleküle	Raman-Querschnitt ( $\beta$ ) <sup>[a]</sup> [cm <sup>2</sup> Molekül <sup>-1</sup> sr <sup>-1</sup> ]
N <sub>2</sub>	$4.3 \times 10^{-31}$
O <sub>2</sub>	$5.8 \times 10^{-31}$
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	$9.9 \times 10^{-30}$
ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	$1.3 \times 10^{-29}$
Cyclohexan	$5.2 \times 10^{-30}$
Benzol	$2.9 \times 10^{-29}$
Naphthalin	$8.2 \times 10^{-29}$
Anthracen	$5.4 \times 10^{-28}$

[a] Bestrahlung mit der 514.5-nm-Laserlinie.

Vergleicht man die unterschiedlichen Moleküle, werden die Faktoren deutlich, die den Querschnitt und somit die zu erwartende Intensität beeinflussen. So haben kleine Moleküle ohne elektronenreiche Atome in der Regel auch einen kleinen Raman-Querschnitt  $\beta$ . Dieser wächst jedoch mit der Größe des Moleküls an und nimmt folglich auch zu, wenn erweiterte  $\pi$ - $\pi$ -Systeme und elektronenreiche Atome vorliegen, die das Molekül leichter polarisierbar machen. Auch wenn also manche Oxyanionen einen ähnlichen Raman-Querschnitt wie kleine organische Moleküle haben können, sind doch die meisten anorganischen Moleküle klein und enthalten keine elektronenreichen Atome. Ihre Raman- (und SERS-)Streuintensität ist infolgedessen ebenfalls klein.

### 2.2. Adsorbens-Adsorbat-Wechselwirkung

Ein intensives SERS-Signal wird zwar von einem großen Raman-Querschnitt begünstigt, aber diese Bedingung reicht nicht aus. Das SERS-Signal ist ein Effekt der obersten Schicht, was bedeutet, dass sich das Zielmolekül sehr nahe an der plasmonischen Oberfläche (die durch chemische Bindung optimiert ist) befinden muss, um die höchste SERS-Intensität zu erzielen; diese verringert sich mit zunehmendem Abstand



Ramón A. Alvarez-Puebla ist ICREA Research Professor am Department of Electronic Engineering & Center for Chemical Technology of Catalonia, Universitat Rovira i Virgili. Zuvor arbeitete er als Postdoktorand am Department of Chemistry and Biochemistry der University of Windsor (Kanada) bei Prof. Ricardo Aroca und war Research Officer am National Institute for Nanotechnology des kanadischen National Research Council. Er war ein Ramón-y-Cajal-Stipendiat an der Universität Vigo. Seine derzeitigen Interessen sind das Design und die Fabrikation von plasmonischen Sensoren und deren Verwendung für die oberflächenverstärkte Spektroskopie.



Luis M. Liz-Marzáñ promovierte 1992 an der Universität Santiago de Compostela. Er war Postdoktorand an der Universität Utrecht (Niederlande) sowie (vor kürzerer Zeit) Gastwissenschaftler an den Universitäten von Tohoku, Michigan, Melbourne und Hamburg sowie am Max-Planck-Institut in Golm. Er hatte den Lehrstuhl für Physikalische Chemie an der Universität Vigo inne und ist derzeit Ikerbasque Research Professor am CIC biomaGUNE. Für mehrere Zeitschriften wirkt er als Herausgeber oder Kuratoriumsmitglied. Er befasst sich mit der Synthese und Anordnung von Nanopartikeln, der Nanoplasmonik sowie mit sensorischen und diagnostischen Systemen auf Nanopartikelbasis.

exponentiell.<sup>[16]</sup> Ein Hauptgrund hierfür ist das elektrische Feld, das durch die Anregung der LSPR erzeugt wird, die für die elektromagnetische Verstärkung sorgt,<sup>[17]</sup> denn mit zunehmendem Abstand nimmt dieses Feld exponentiell ab.<sup>[18]</sup> Zusätzlich erfordert der Mechanismus der chemischen Verstärkung,<sup>[19]</sup> dass der Analyt für die Ladungsübertragung direkt an die plasmonische Oberfläche gebunden sein muss. Kleine anorganische Spezies, auch Oxyanionen und die meisten anderen molekularen und atomaren Spezies, haben nur eine begrenzte Affinität zu Gold und Silber. Auch wenn daher manche Spezies wie Sulfat oder Perchlorat sogar einen mittelgroßen Raman-Querschnitt haben (siehe Tabelle 1), ist das SERS-Signal von kleinen anorganischen Molekülen nur sehr schwach – fast vernachlässigbar –, selbst bei relativ hohen Konzentrationen. Mitunter werden sogar Silbersalze dieser beiden Oxyanionen verwendet, um plasmonische Nanopartikel als SERS-Verstärker herzustellen, ohne dass es zu relevanten Interferenzen kommt.<sup>[20]</sup> Eine Ausnahme sind Halogene und Pseudohalogene, die in den entsprechenden Abschnitten dieses Kurzaufsatzen ausführlich behandelt werden.

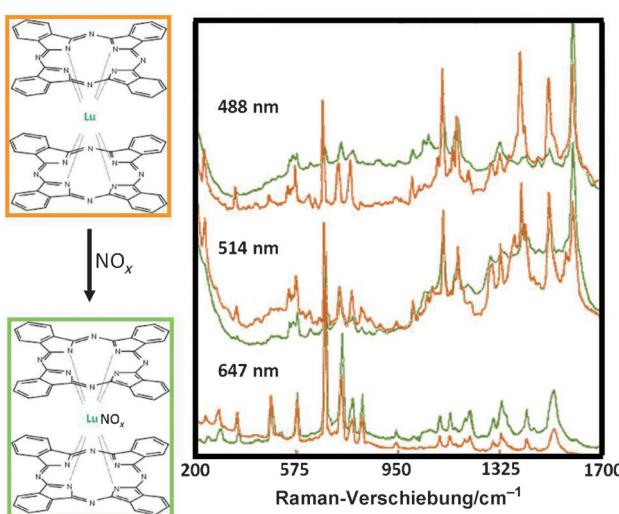
### 3. Molekulare anorganische Spezies

Die Verwendung anorganischer Sonden lässt sich bis zu den Anfängen von SERS zurückverfolgen. So wurden in den frühen 1980er Jahren immer wieder Pseudohalogene (Cyanoide und Thiocyanate) eingesetzt.<sup>[21]</sup> Diese einfachen Verbindungen haben zwei interessante Merkmale: Wegen ihrer  $\text{C}\equiv\text{N}$ -Bindung haben sie ein sehr einfaches Schwingungsspektrum mit charakteristischen Banden, und sie zeigen eine große Affinität zu Edelmetalloberflächen. Die frühen Arbeiten dienten allerdings nur entweder der Bestätigung des Konzepts oder der Grundlagenforschung zum SERS-Konzept selbst – allerdings ist seit Kurzem ein steiler Anstieg des Einsatzes von SERS zu analytischen Zwecken zu verzeichnen.

#### 3.1. SERS-Nachweis von anorganischen Gasen

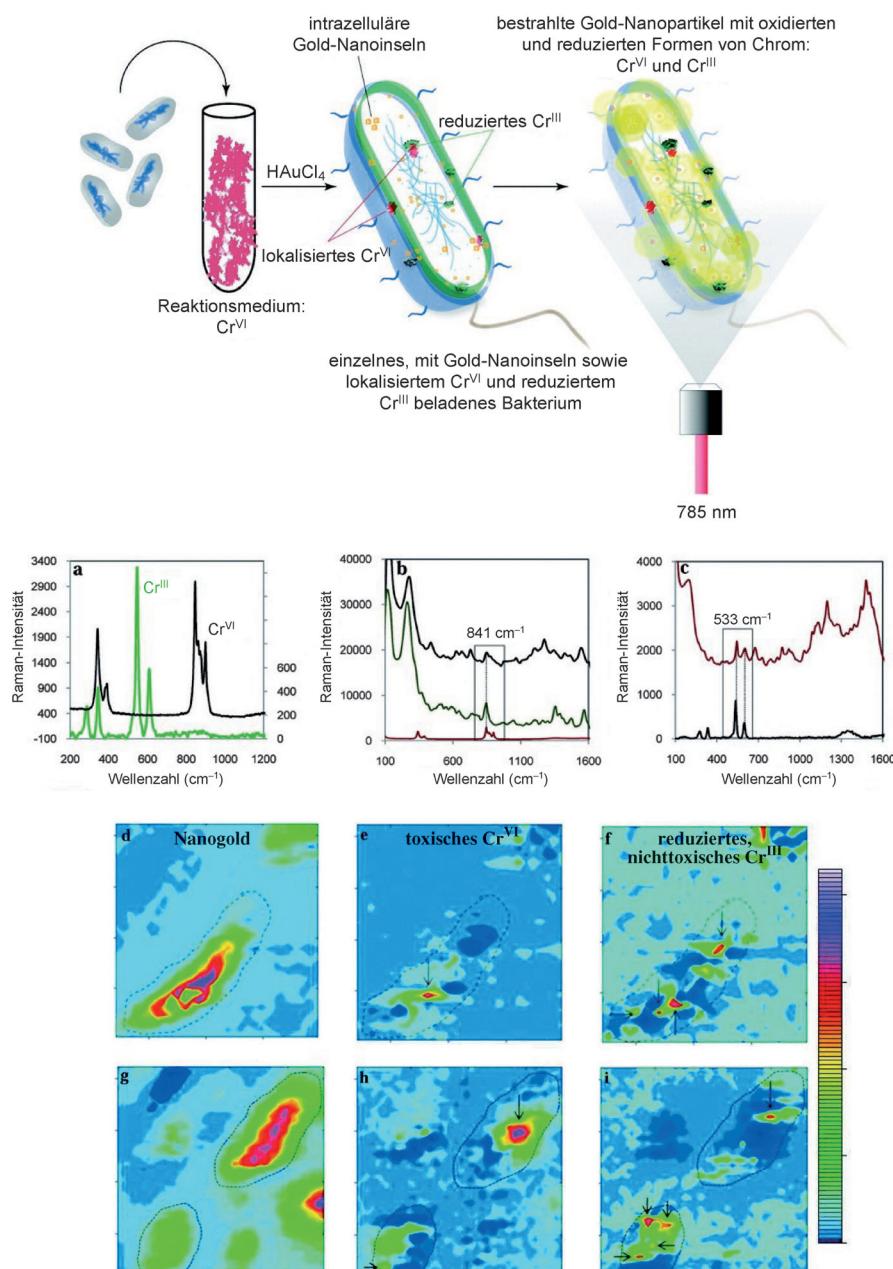
Spurenanalysen von anorganischen Gasen werden in der Atmosphärenbeobachtung (in Klima- und Umweltverschmutzungsstudien), beim Monitoring von industriellen Prozessen und in der medizinischen Diagnostik durchgeführt. Wegen der einfachen Spektren lässt sich mit SERS nicht nur ein einziges Zielmolekül erfassen, sondern in Form von Multiplex-Verfahren sogar gleich ein ganzer Satz von Spezies. Einer der ersten Berichte zu solchen Anwendungen war die Untersuchung der Zusammensetzung einer Atmosphäre aus CO, NO und  $\text{O}_2$ .<sup>[22]</sup> Als plasmonischer Verstärker wurde Gold verwendet, das teilweise mit Pt, Rh oder Ru beschichtet war. Dieses Material wurde deshalb als optische Plattform gewählt, weil alle drei untersuchten Gase früheren SERS-Studien zufolge nur eine sehr schwache Affinität gegenüber Gold aufweisen. Folglich kann die Adsorption an das andere (katalytische) Metall für die SERS-Analyse genutzt werden.<sup>[23]</sup> Die Idee, verschiedene Metalle (wie Cu) entweder als plas-

monische Plattform oder affinitätssteigernde Beschichtung zu verwenden, findet auch heute noch häufige Anwendung.<sup>[24]</sup> Dies ändert aber nichts an der Tatsache, dass anorganische Gasmoleküle klein sind und üblicherweise elektronenreiche Atome enthalten. Folglich sind auch ihre Raman-Querschnitte klein (siehe Tabelle 1), ebenso wie die Intensitäten, die durch diese direkte Methode erhalten werden. Eine Lösung für das Problem wurde indirekt im Jahr 1992 vorgeschlagen.<sup>[25]</sup> Hierbei wurde eine Langmuir-Blodgett-Monoschicht aus Lutetiumbisphthalocyanin auf einen plasmonischen Inselfilm aufgetragen, und vor sowie nach der Exposition gegen  $\text{NO}_x$ -Gas wurde das SERS-Spektrum gemessen. In Abbildung 1 ist zu erkennen, wie sich durch die  $\text{NO}_x$ -Koordination an den Metallkern des Phthalocyaninkomplexes die



**Abbildung 1.** SERS-Spektren einer Langmuir-Blodgett-Monoschicht aus Lutetiumbisphthalocyanin auf einem plasmonischen Inselfilm vor (gelb) und nach (grün) der Exposition gegen  $\text{NO}_x$ -Gas. Nachdruck mit Genehmigung aus Lit. [25]. Copyright 1992 American Chemical Society.

Elektronenverteilung vollkommen ändert, was auch im SERS-Spektrum sichtbar wird. Durch dieses bahnbrechende Experiment wurde gezeigt, dass es mit einer hochaktiven SERS-Sonde möglich ist, einen Zielanalyten auch indirekt nachzuweisen. Allerdings erkannten die Autoren nicht, welche analytischen Möglichkeiten sich aus ihren Ergebnissen ergaben, sodass weder diese Gruppe noch andere ihr System für Analysen weiterverwendet haben. Dennoch betrachten wir diesen Ansatz als Meilenstein für die Entwicklung neuer optischer SERS-Sensoren zum Nachweis von Spuren anorganischer Moleküle in der Gasphase. Einem ähnlichen Ansatz folgend wurden Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs) als Speicher für Gase wie  $\text{H}_2$  eingesetzt und die eingeschlossenen Moleküle anschließend durch IR-Spektroskopie nachgewiesen.<sup>[26]</sup> In Verknüpfung mit SERS bietet diese Methode große Möglichkeiten<sup>[27]</sup> für den ultraempfindlichen Nachweis anderer anorganischer Gase.<sup>[28]</sup>



**Abbildung 2.** *S. oneidensis* MR-1, ein vielseitig zur Reduktion von Metallen eingesetzter Stamm, wird mit Cr<sup>VI</sup> und dann mit Au<sup>III</sup> versetzt. Innerhalb der Zelle bilden sich so zahlreiche Metall-Nanoinseln. Durch Raman-spektroskopische Verfahren können auf intrazellulär gewachsenen Gold-Nanoinseln chemische Vorgänge in Einzelzellen abgebildet werden. Somit sind die genaue Lokalisation und die Bestimmung der Oxidationsstufe von Cr<sup>VI</sup> und Cr<sup>III</sup> möglich. a) Die Raman-Signaturen der chemischen Kontrollen für Cr<sup>VI</sup> und Cr<sup>III</sup> unterscheiden sich charakteristisch. b) SERS-Spektren von *S. oneidensis* MR-1. Die Zellen enthalten intrazellulär reduzierte Gold-Nanoinseln, die Cr<sup>VI</sup> in den Zellen anzeigen (schwarze und grüne Spektren, aus zwei verschiedenen Zellen). Die Signale für die chemische Kontrolle (rot) bei 841 cm<sup>-1</sup> stimmen perfekt mit den Cr<sup>VI</sup>-Signalen aus der Zelle überein. c) Das bakterielle SERS-Spektrum (rot) zeigt Cr<sup>III</sup> an, dessen Signal mit dem der chemischen Kontrolle, Cr<sup>III</sup> (schwarzes Spektrum), übereinstimmt. Die beiden Signale von Cr<sup>III</sup> bei etwa 533 cm<sup>-1</sup> stimmen perfekt mit denen des intrazellulär reduzierten Cr<sup>III</sup> überein. Raman-Intensitätskarten: d)–f) aerobe Reduktion, g)–i) anaerobe Reduktion, gemittelt über das Phonon-Plasmon-Signal (ca. 230 cm<sup>-1</sup>). Die Aufnahmen zeigen Taschen von Gold-Nanoinseln in der Zelle (d und g) sowie die Lokalisierung des toxischen Cr<sup>VI</sup> (e und h) und des reduzierten, nichttoxischen Cr<sup>III</sup> (f und i) innerhalb der Einzelzelle. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [41]. Copyright 2011 American Chemical Society.

### 3.2. Oxyanionen und Oxykationen

Generell gilt, dass dasjenige Oxyanion, das man nachweisen möchte, nicht bei der Synthese des Verstärkermaterials mitverwendet werden sollte. Um eine Konkurrenzsi-

tuation mit dem gesuchten Oxyanion zu vermeiden,<sup>[29]</sup> kann zur Synthese z. B. salzfreie physikalische Dampfabscheidung eingesetzt werden.<sup>[30]</sup> Oxyanionen lassen sich prinzipiell durch SERS auch direkt nachweisen, besonders wenn sie einen mittelgroßen Raman-Querschnitt haben (wie Phosphat

oder Perchlorat),<sup>[31]</sup> was aber an ihrer geringen Affinität für Gold oder Silber scheitert. Daher wurden in den letzten Jahren mehrere andere Ansätze entwickelt. Bei den meisten SERS-Nachweisverfahren wird die Oberfläche des plasmonischen Materials mit positiv geladenen Reagentien funktionalisiert, um die Retention des Oxyanions nahe der Partikeloberfläche zu verbessern und die Identifizierung der charakteristischen Schwingungsbanden des Oxyanions zu ermöglichen. So wurde z.B. Perchlorat mithilfe von kationischen Abfangreagentien wie Cystamin,<sup>[32]</sup> 2-Dimethylaminoethanol<sup>[33]</sup> oder Poly(ethylenimin) nachgewiesen.<sup>[34]</sup> Mit Nachweisgrenzen im millimolaren bis hin zum nanomolaren Bereich sind diese Methoden durchaus konkurrenzfähig zur Ionenausschlusschromatographie<sup>[5]</sup> oder zu den ionenselektiven Elektroden.<sup>[6b]</sup>

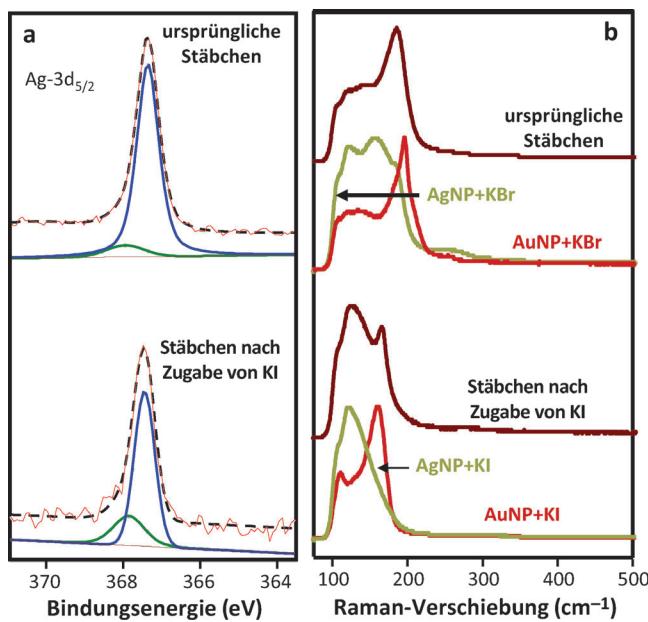
Durch SERS, mit Polymeren als Abfangreagentien, wurde auch Arsenat in Trinkwasser direkt nachgewiesen. Die hierfür verwendeten plasmonischen Filme wurden durch Langmuir-Blodgett-<sup>[35]</sup> oder Layer-by-layer-Technik hergestellt.<sup>[36]</sup> In beiden Verfahren war das Antwortsignal linear, und die Nachweisgrenzen lagen – erstmalig beim Direktnachweis von anorganischen Molekülen – im nano- bis pikomolaren Bereich. Analog wurden Metalloxyanionen und -kationen ebenfalls direkt durch SERS nachgewiesen, darunter  $\text{CrO}_4^{2-}$ ,  $\text{MoO}_4^{2-}$  und  $\text{WO}_4^{2-}$ ,<sup>[37]</sup>  $\text{UO}_4^{2-}$  und  $\text{NpO}_4^{2-}$ <sup>[38]</sup> oder auch  $\text{TaO}_4^{4-}$ .<sup>[39]</sup> Hierbei liefert SERS nicht nur die Information, dass das chemische Element vorhanden ist, sondern auch in welcher chemischen Form es vorliegt, welche Oxidationsstufe es hat oder ob und wie es komplexiert ist.<sup>[40]</sup> Dies alles sind wesentliche Aspekte bei der toxikologischen Bewertung von Schwermetallen. Mit der gleichen Technik war es auch möglich, den Chromgehalt in einer lebenden Zelle lokal zuzuordnen und zu charakterisieren (Abbildung 2).<sup>[41]</sup>

#### 4. Atomare anorganische Spezies

##### 4.1. Atomare Spezies, die Oberflächenkomplexe mit dem optischen Verstärker bilden

Als eine molekülspektroskopische Technik kann SERS nicht für den direkten Nachweis oder die Erkennung von atomaren Spezies genutzt werden. Allerdings gibt es eine wohlbekannte starke Wechselwirkung von Edelmetallen mit den schwereren Halogenen (Cl, Br und I) sowie den Chalkogenen (S, Se, Te).<sup>[42]</sup> Diese Spezies bilden, wenn sie im Medium vorkommen, eine starke kovalente Bindung zu Gold oder Silber. Infolge der Bindung verlieren sie ihren Status als einatomige Ionen und können dann als Moleküle durch SERS analysiert werden. Ihre mittelstarke SERS-Aktivität verdanken die Halogene und Chalkogene sowohl ihrem Elektronenreichtum als auch ihrer unmittelbaren Nachbarschaft zum optischen Verstärker. Die Schwingungssignatur und die Aktivität der Halogene bei SERS-Experimenten mit Gold und Silber wurden bereits ausführlich beschrieben.<sup>[43]</sup> Für die Chalkogene gibt es unseres Wissens noch keine solche Studie, aber mehrere Untersuchungen an kleinen Molekülen mit S-, Se- oder Te-Atomen haben zu einer guten Kenntnis des jeweiligen SERS-Musters geführt.<sup>[44]</sup> Sowohl für Halogen- als

auch für Chalkogenverbindungen sind Banden unterhalb  $250 \text{ cm}^{-1}$  charakteristisch, die auf die kovalente M-X-Wechselwirkung (X = Halogen oder Chalkogen) zurückgeführt werden. Anhand dieser charakteristischen M-X-Schwingungsbanden wurde z.B. die Rolle von verschiedenen Halogenen beim Wachstum von Nanopartikeln untersucht (Abbildung 3).<sup>[45]</sup> Allerdings ist ihr Spektrum sehr einfach (ge-



**Abbildung 3.** a) Hochauflösende Röntgen-Photoelektronenspektroskopie (XPS), charakteristische Banden von Ag-3d<sub>5/2</sub> (gestrichelte Linie) und entfaltete Banden (grün und blau); b) SERS-Spektren von Gold-Nanostäbchen (Br<sup>-</sup>-haltig) vor und nach Zugabe von KI. Die charakteristischen XPS-Signale von Silber (Ag-3d<sub>5/2</sub>) sind zu niedrigeren Energien hin verschoben, von 368 eV zu 367.34 und 367.49 eV für Ag-Br bzw. Ag-I. Diese Ag-3d<sub>5/2</sub>-Banden vereinigen zwei Banden: eine von metallischem Silber bei 368 eV mit niedrigerer Intensität und der gleichen Bindungsenergie in beiden Proben; und eine zweite mit höherer Intensität bei 367.34 eV für die Ag-Br- bzw. 367.49 eV für die Ag-I-Komponente. Die SERS-Messungen wurden an verschiedenen Stäbchenproben sowie an mit Citrat reduziertem Gold- und Silberkolloid vorgenommen, das zuvor mit einer 10<sup>-3</sup> M Lösung von KBr oder KI versetzt worden war. Die SERS-Spektren der Gold-Nanopartikel weisen breite und intensive Signale bei 196 und 160 cm<sup>-1</sup> auf, die der Au-Br- bzw. der Au-I-Streckschwingung zugeordnet werden. Die Spektren für Silber zeigen beide komplexe Signale bei 152 und 121 cm<sup>-1</sup>, die Ag-Br bzw. Ag-I zugeordnet werden. In beiden Fällen zeigen die SERS-Ergebnisse eine Koordination des Halogens an die Metalloberfläche an. Beide Nanostäbchenproben (vor und nach der Zugabe von KI) ergeben ein Spektrenmuster, das mit der jeweiligen Halogenkombination übereinstimmt. Auch sind nach der KI-Zugabe die Br-Signale vollständig verschwunden. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [45].

wöhnlich nur ein einziges Signal), und die charakteristischen Banden liegen sehr dicht beieinander. Diese Tatsache erschwert es, mehrere in der Lösung vorhandene Spezies (einschließlich Amine, Pseudohalogene und Carbonsäuren) eindeutig zuzuordnen.

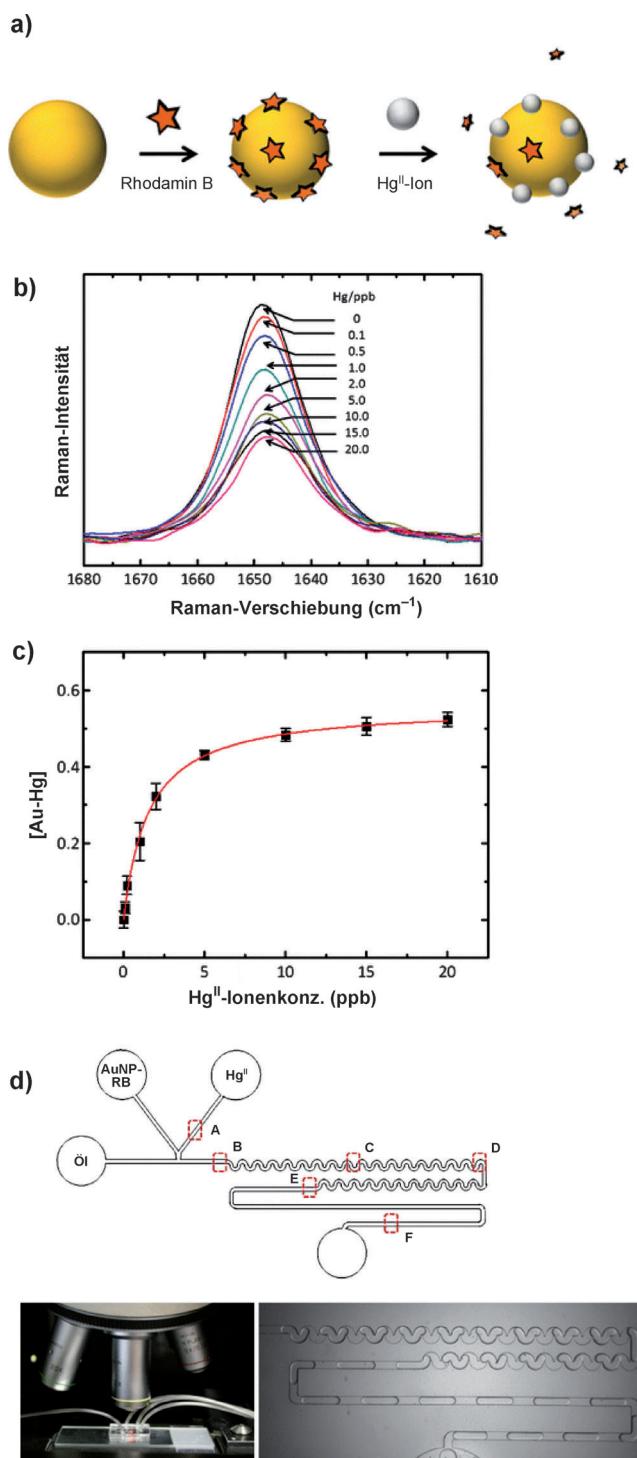
#### 4.2. Indirekter Nachweis atomarer Spezies

Wie schon angeführt, ist SERS eine molekulare Technik und kann nicht für die Analyse atomarer Spezies verwendet werden. Es gibt allerdings inzwischen verschiedene Berichte über indirekte, auf anderen Ansätzen beruhende Methoden. Gemeinsam ist diesen Methoden die Verwendung von Sekundärsonden, aber die Ausführung ist sehr unterschiedlich. So hat  $\text{Hg}^{\text{II}}$  eine große Affinität zu Goldoberflächen, was nicht nur für den plasmonischen Nachweis<sup>[11]</sup> dieses Metalls, sondern auch für SERS-Analysen genutzt wurde.<sup>[46]</sup> Beim letztgenanntem Ansatz wird durch die Bildung von Quecksilberamalgam ein vorher aufgebrachtes Molekül mit großer SERS-Aktivität (Rhodamin B, RB) von der Goldoberfläche des Nanopartikels wieder verdrängt, und anschließend wird die Abnahme des SERS-Signals gemessen (Abbildung 4). Die Methode ist sehr leistungsfähig und liefert Nachweisgrenzen im subnanomolaren Bereich. Für den On-line-Nachweis von  $\text{Hg}^{\text{II}}$ , etwa in Leitungs- oder Abwasser, kann sie in Mikrofluidikapparaturen integriert werden. Allerdings ermöglicht auch diese Methode nur die Identifizierung von Kationen (oder Anionen), die eine starke Affinität zur plasmonischen Oberfläche haben.

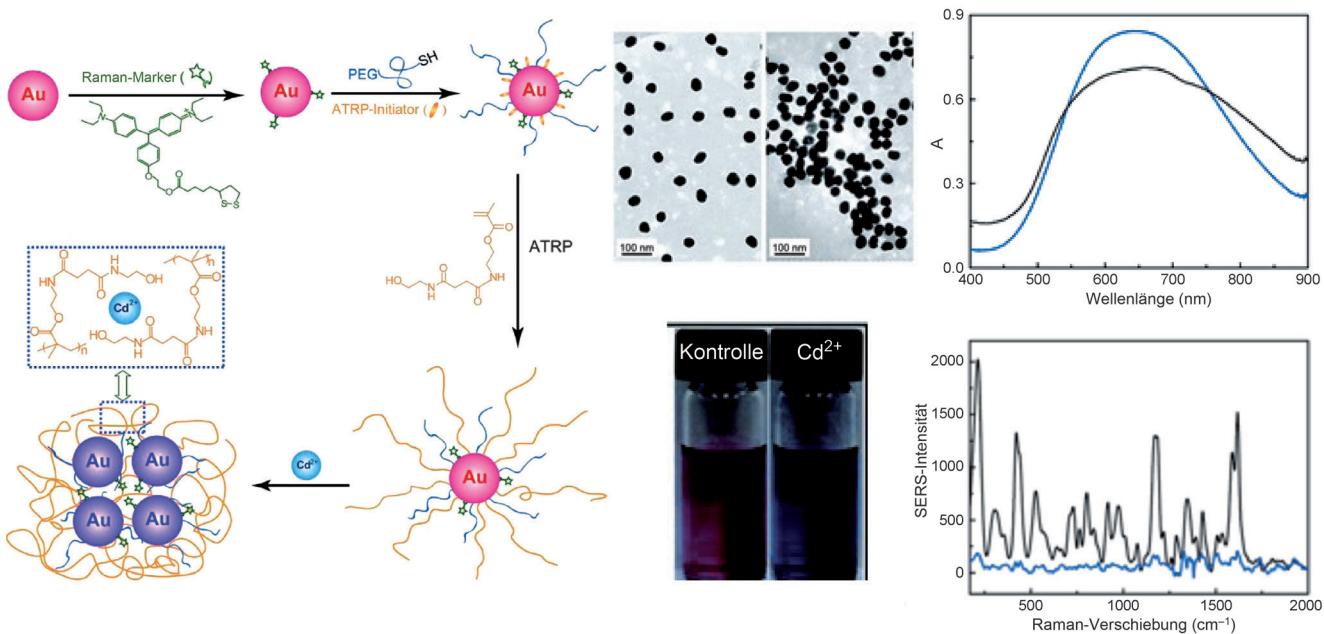
Alternativ kann ein DNA-Fragment auf einer Oberfläche immobilisiert werden. Anschließend werden auf diese Oberfläche plasmonische Partikel aufgebracht, die mit der komplementären DNA-Sequenz und einem Raman-Reporter funktionalisiert sind. Ist ein nachzuweisendes Ion vorhanden, zwingt es die DNA zur Aufspaltung und bewirkt eine Abnahme der SERS-Intensität. Mit diesem Ansatz wurde  $\text{Pb}^{\text{II}}$  mit Nachweisgrenzen um den nanomolaren Bereich in der Gegenwart von anderen Metallionen detektiert.<sup>[47]</sup>

Eine weitere Methode zur Detektion ionischer Atome beruht auf der Aggregation von Partikeln in Gegenwart eines bestimmten Kations. Hierfür müssen zunächst die plasmonischen Partikel mit einem spezifischen Ionenrezeptor und einem hoch aktiven Raman-Reporter funktionalisiert werden. Ist das gesuchte Ion in der Lösung vorhanden, reagiert es mit dem Rezeptor und verringert somit die Stabilität des Kolloids. Infolgedessen aggregieren die Partikel und bilden so genannte elektromagnetische Hotspots, die das SERS-Signal des Systems verstärken (Abbildung 5). Beispiele für diesen Ansatz sind der Nachweis von  $\text{Cd}^{\text{II}}$  mit einem  $\text{Cd}^{\text{II}}$  chelatisierenden Polymer,<sup>[48]</sup> von  $\text{As}^{\text{III}}$  mit Glutathion,<sup>[49]</sup> von  $\text{Hg}^{\text{II}}$  mit einem DNA-Aptamer<sup>[50]</sup> oder von  $\text{Hg}^{\text{II}}$  mit Bismuthiol II.<sup>[51]</sup>

Durch die Methode werden selektiv atomare Ionen durch induzierte Aggregation von kolloidalen Nanopartikeln nachgewiesen, was die Analyse jedoch auf ein einzelnes Zielion beschränkt. Zudem läuft die Aggregation unkontrolliert ab, wodurch verschiedene große Aggregate mit variablen Partikelabständen entstehen, die eine unterschiedliche Zahl von Hotspots unterschiedlicher Aktivität in jedem Aggregat enthalten.<sup>[13a]</sup> Weil außerdem das SERS-Signal von einem externen Reporter produziert wird, der mit der Erkennung selbst nichts zu tun hat, kann die beobachtete SERS-Intensität recht stark schwanken, auch wenn die Assays eigentlich unter ähnlichen Bedingungen durchgeführt werden. In solchen Fällen haben diese Methoden höchstens eine



**Abbildung 4.** a)  $\text{Hg}^{2+}$ -Sensormechanismus. Durch Reduktion der  $\text{Hg}^{2+}$ -Ionen auf der Oberfläche von Gold-Nanopartikeln (AuNPs) werden die Rhodamin-B-Farbstoffmoleküle verdrängt. b) Variation der Raman-Intensität von Rhodamin 6B (zwischen 1680 und 1610  $\text{cm}^{-1}$ ) abhängig von der  $\text{Hg}^{2+}$ -Konzentration. Alle Spektren wurden an der Position F der Mikrofluidikapparatur in (d) gemessen. c) Variation der Signalfläche abhängig der  $\text{Hg}^{2+}$ -Konzentration. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung von drei Messungen an. d) Mikrofluidisches Kanalmuster für den On-line-Nachweis; optischer Aufbau zur Fokussierung des Anregungsstrahls in das Mikrokanalnetzwerk; Photo der vollständigen Apparatur in Funktion. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [46]. Copyright 2009 Springer-Verlag.



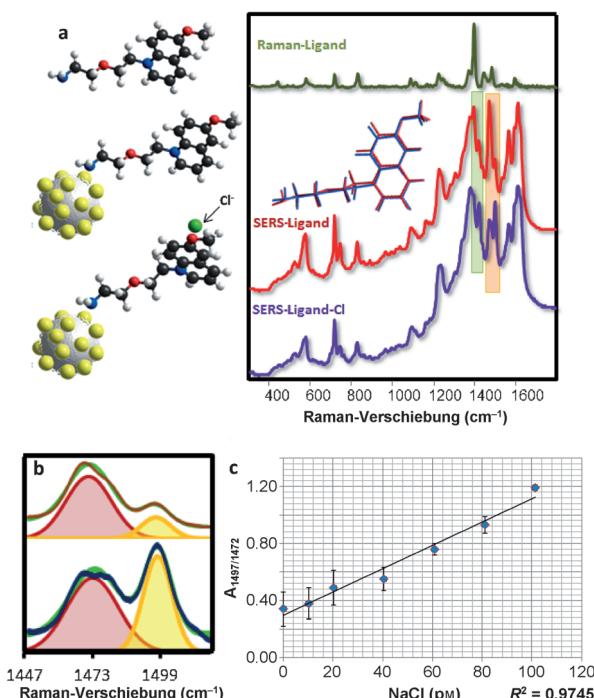
**Abbildung 5.** Selektive Erkennung von  $\text{Cd}^{\text{II}}$  durch induzierte Aggregation einer Dispersion von Nanopartikeln. Transmissionselektronenmikroskopische und optische Aufnahmen, UV/Vis- und SERS-Spektren der Nanopartikel ohne  $\text{Cd}^{\text{II}}$  (blaue Linien) und mit  $8 \mu\text{M}$   $\text{Cd}^{\text{II}}$ -Ionen (schwarze Linien). ATRP = Atomtransferradikalpolymerisation. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [48]. Copyright 2011 American Chemical Society.

qualitative oder vielleicht semiquantitative Aussagekraft. Und noch eine weitere Einschränkung ist mit dem Aggregationereignis verknüpft: Innerhalb biologischer Systeme lässt sich eine Aggregation nicht auf sichere Weise induzieren, sodass mit dieser Methode nur Umwelt- oder Industrieproben analysiert werden können.

Alternativ kann man eine molekulare Sonde verwenden, die einen großen SERS-Querschnitt hat und direkt an die plasmonische Oberfläche adsorbiert ist. Eine solche Sonde muss bei Kontakt mit dem gewünschten Analyten erkennbare Veränderungen eingehen, die meist geometrischer oder elektronischer Natur sind. Tatsächlich wurde diese Strategie bereits für Biosensoren verwendet, die als aktive Zwischenschicht Antikörper<sup>[52]</sup> oder Nukleinsäure-Aptamere enthalten,<sup>[53]</sup> um Proteine und andere Analyten indirekt nachzuweisen. Im ersten Literaturbeispiel für den Nachweis von atomaren Ionen wurden Gold-Nanoschalen verwendet, die den Protonengehalt (den pH-Wert) anzeigen können. Durch Zugabe von Lösungen mit unterschiedlichen pH-Werten wurde die Carbonsäurefunktion von 4-Mercaptobenzoesäure (MBA) ionisiert oder deionisiert.<sup>[54]</sup> Mittlerweile werden ähnliche Sensoren mit MBA-modifizierten Nanopartikeln weithin für die Messung des pH-Werts in lebenden Zellen eingesetzt.<sup>[55]</sup> Auf dieses erste Beispiel folgten weitere Berichte über die Verwendung von verschiedenen organischen Liganden für den indirekten SERS-Nachweis atomarer Kationen, darunter  $\text{Zn}^{\text{II}}$  mit 4-(N-Piperazinyl)terpyridindithiocarbamat;<sup>[56]</sup>  $\text{Cu}^{\text{II}}$ ,  $\text{Zn}^{\text{II}}$ ,  $\text{Hg}^{\text{II}}$  und  $\text{Pb}^{\text{II}}$  mit MBA;<sup>[57]</sup>  $\text{Hg}^{\text{II}}$  und  $\text{Cd}^{\text{II}}$  mit Trimercaptotriazin;<sup>[58]</sup>  $\text{Cu}^{\text{II}}$  mit 2-Mercaptobenzimidazol<sup>[59]</sup> oder  $\text{Cl}^-$  mit dem Hydrochlorid von 2-(2-(6-Methoxychinoliniumchlorid)ethoxy)ethanamin (Amino-MQAE).<sup>[60]</sup> Die Nachweisgrenzen hängen hierbei im Wesentlichen von denen für die molekulare Sonde ab, die mit

dem ionischen Atom wechselwirkt. Daher sind Nachweisgrenzen unterhalb des pikomolaren Bereichs nicht ungewöhnlich.

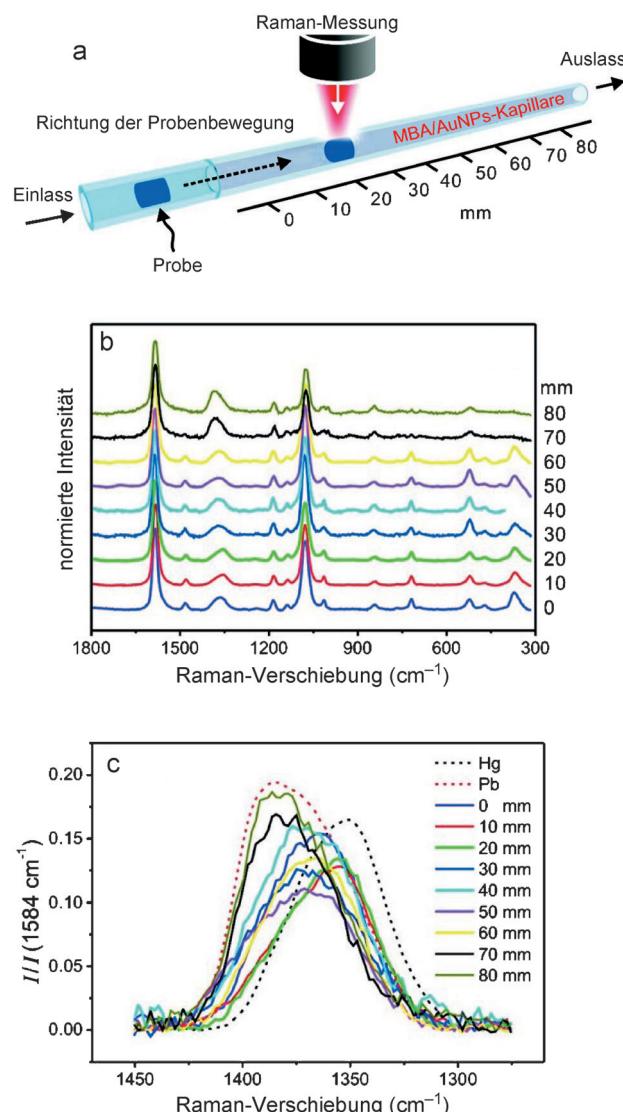
Im Unterschied zu anderen Methoden zeigt das Ausgangssignal bei dieser Methode direkt die Wechselwirkung von anorganischem Ion mit Raman-Reporter an, was viele Vorteile mit sich bringt: So schützt der Ligand die plasmonische Oberfläche und geht spezifische Wechselwirkungen mit einem oder mehreren atomaren Ionen ein. Dadurch hält er ein mögliches Hintergrundsignal klein, das von anderen Molekülen in der Probe produziert werden kann; Hintergrundsignale sind ein regelmäßiges Problem bei der direkten SERS. Darüber hinaus ist sogar ein quantitativer Nachweis des Zielanalyten möglich, denn der Ligandenrezeptor kann auch als interner Standard verwendet werden. Für Chlorid z.B. wird eine lineare Beziehung erhalten, wenn das Verhältnis der Flächen unter den Banden bei  $1497$  und  $1472 \text{ cm}^{-1}$  gegen die Chloridkonzentration aufgetragen wird (Abbildung 6). Interessant ist, dass der Konzentrationsbereich, innerhalb dessen die Ionen nachgewiesen werden können, von der Menge der Rezeptormoleküle abhängt, die auf der Oberfläche des plasmonischen Materials aufgetragen sind. Somit können die Nachweisbereiche über zwei Größenordnungen hinweg, von mikro- bis pikomolar, eingestellt werden. Auch ein simultaner Nachweis von verschiedenen Zielionen ist möglich, wenn der Rezeptorkomplex mit mehr als einem Kation eingeht. So wurden kürzlich SERS-Spektren von verschiedenen Metallen aufgenommen, die mit Mercaptobenzooat Komplexe bilden (M:  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Pd}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  oder  $\text{Ag}^+$ ). Unter anderem kam es in diesen Spektren zu jeweils charakteristischen Verschiebungen der Banden, die der  $\text{COO}^-$ -Gruppe zugeordnet wurden. Dieses Konzept von Multiplex-Nachweisen wurde durch ein Expe-



**Abbildung 6.** a) Links:  $\text{Cl}^-$ -Nachweis mit Amino-MQAE. Rechts: Raman- und SERS-Spektren von Amino-MQAE und das SERS-Spektrum von Amino-MQAE bei einer äquimolaren Chloridkonzentration ( $10^{-6} \text{ M}$ ). Die Proben wurden mit der 532-nm-Linie eines Lasers angeregt. Einschub: optimierte Molekülgeometrie von Amino-MQAE (M052X; 6-31pG\*<sup>a</sup>-Theorieebene) mit (blau) und ohne  $\text{Cl}^-$  (rot). b) Entfaltung der Banden des SERS-Spektrums von Amino-MQAE ( $10^{-10} \text{ M}$ ) ohne (oben) und mit (unten) Chlorid ( $10^{-10} \text{ M}$ ); das braune und das blaue Spektrum sind experimentell ermittelt; das grüne Spektrum ist die Summe der Signale 1 (rot) und 2 (gelb). c) Lineare Auftragung des Verhältnisses der Flächen der Signale bei 1472 und  $1497 \text{ cm}^{-1}$  als Funktion der Chloridkonzentration. Die Fehlerbalken geben die Standardabweichung von fünf Experimenten an. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [60]. Copyright 2011 American Chemical Society.

riment bestätigt, bei dem Quecksilber und Blei simultan in einer Chromatographiekapillare nachgewiesen und quantifiziert wurden (Abbildung 7).<sup>[57a]</sup>

Der Hauptnachteil des Sondenverfahrens ist jedoch die chemische Natur der spezifischen Rezeptoren selbst. Diese sind zumeist schwach polare organische Liganden, die bei Aufbringung und Anordnung auf der Oberfläche die Kolloidstabilität der Nanopartikeldispersion beeinträchtigen können. Daraus folgt häufig eine Aggregation, die wiederum die ionischen Atome am Kontakt und folglich ihrer Wechselwirkung/Komplexierung mit der sensorischen Nanopartikel-Zwischenschicht hindert. Die meisten der oben angeführten Arbeiten wurden außerdem an dünnen, nanostrukturierten Filmen durchgeführt, die sich gut für das Umwelt-Monitoring eignen, aber nicht für die Fabrikation von miniaturisierten Sensoren. Alternativ können jedoch die plasmonischen Oberflächen auf Trägern aus Submikro- oder Mikromaterialien hergestellt werden, die dann eine stabile Plattform für eine dichte Ansammlung von Hotspots bieten.<sup>[60,61]</sup>



**Abbildung 7.** a) Kapillarsystem, mit dem  $\text{Hg}^{2+}$ - und  $\text{Pb}^{2+}$ -Ionen aus einer äquimolaren Lösung der beiden Ionen voneinander getrennt wurden. An den markierten Positionen mit Abständen von ungefähr 10 mm wurden entlang der Kapillarlänge die relativen Konzentrationen bestimmt. b) SERS-Spektren an den markierten Orten. c) Region der Carboxylat-Streckschwingung. In den beiden Spektrensätzen (b) und (c) wurden die Intensitäten auf die Intensität der  $1584 \text{ cm}^{-1}$ -Bande normiert und als interner Standard verwendet. Adaptiert mit Genehmigung aus Lit. [57]. Copyright 2011 American Chemical Society.

## 5. Schlussfolgerungen und Ausblick

In diesem Kurzaufsatz haben wir die Probleme zusammengefasst, die bei der Anwendung der SERS-Technik für die Analyse von molekularen und atomaren anorganischen Spezies (Ionen) auftreten. Trotz intensiver Arbeit während der letzten Jahre gilt es immer noch viele Hürden zu überwinden, bevor SERS effektiv in der Praxis eingesetzt werden kann. So müssen der Detektionsbereich und die Empfindlichkeit, die Möglichkeiten zum Multiplex-Nachweis sowie die generelle Durchführbarkeit verbessert werden. Inzwischen wird SERS erfolgreich zum Nachweis von molekularen

Gasen oder Oxykationen/-anionen eingesetzt, die direkt auf nanostrukturierte, mit Abfangfunktionalitäten versehenen Oberflächen aufgebracht werden. Wird diese Sensortechnik jedoch noch so weit entwickelt, dass auch Liganden mit großem Raman-Querschnitt eingesetzt werden können, so steht eine drastische Verbesserung der Nachweisgrenzen in Aussicht. Darüber hinaus wurde zwar das Konzept von Multiplex-Verfahren zum Nachweis von atomaren Ionen bereits bestätigt, aber als leistungsfähige Methode befindet es sich noch im Anfangsstadium.

Viele Sensoren wurden bereits fürs Labor entwickelt, aber ihre Überführung in robuste, praxistaugliche Hilfsmittel bleibt ein anspruchsvolles Ziel. Auch müssen die Nanostrukturen für die Sensorfabrikation so gefertigt werden, dass die Reproduzierbarkeit der Signale gegeben ist. Die Nanopartikel müssen gegenüber einer Aggregation stabil bleiben und – im Fall von In-vivo-Anwendungen – biokompatibel sein. Werden zudem komplexe Proben wie natürliches Wasser und Abwasser analysiert, so erfordert dies eine gewisse Probenvorbereitung, selbst bei indirekten Methoden. So müssten die Proben vor der Analyse einer Sedimentierung und/oder Filterung unterzogen werden, um größere Bestandteile abzutrennen, die nicht nur die Schwingungs- und Fluoreszenzsignale beeinflussen können, sondern auch das ganze Kolloidsystem destabilisieren können.

Zusammenfassend bietet die SERS-Sensorik viele interessante Merkmale und viele Anwendungsmöglichkeiten für anorganische molekulare und atomare Spezies. Dennoch bleibt die Notwendigkeit eines fachübergreifenden Forschungsansatzes bestehen, um hoch empfindliche und zuverlässige Systeme zu entwickeln, die mit den derzeit kommerziell verfügbaren Sensoren und Anwendungen konkurrieren können.

*R.A.A.-P. dankt dem spanischen Ministerio de Economía y Competitividad (CTQ2011-23167) für finanzielle Unterstützung. L.M.L.-M. dankt dem spanischen Ministerio de Ciencia e Innovación (MAT2010-15374), der Xunta de Galicia (09TMT011314PR) und dem ERC (Advanced Grant 267867, PLASMAQUO) für finanzielle Unterstützung.*

Eingegangen am 7. Juni 2012

Online veröffentlicht am 16. Oktober 2012

Übersetzt von Dr. Roswitha Harrer, Otterberg

- [1] a) K. Kneipp, *Phys. Today* **2007**, *60*, 40–46; b) P. L. Stiles, J. A. Dieringer, N. C. Shah, R. R. Van Duyne, *Annu. Rev. Anal. Chem.* **2008**, *1*, 601–626; c) M. Moskovits, *Nature* **2010**, *464*, 357.
- [2] a) R. A. Álvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, *Energy Environ. Sci.* **2010**, *3*, 1011–1017; b) R. A. Halvorson, P. J. Vikesland, *Environ. Sci. Technol.* **2010**, *44*, 7749–7755; c) R. S. Golightly, W. E. Doering, M. J. Natan, *ACS Nano* **2009**, *3*, 2859–2869.
- [3] a) N. L. Rosi, C. A. Mirkin, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 1547–1562; b) R. A. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, *Small* **2010**, *6*, 604–610; c) K. Saha, S. S. Agasti, C. Kim, X. Li, V. M. Rotello, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 2739–2779.
- [4] K. W. Jackson, T. M. Mahmood, *Anal. Chem.* **1994**, *66*, 252R–279R.
- [5] R. P. Singh, N. M. Abbas, S. A. Smesko, *J. Chromatogr. A* **1996**, *733*, 73–91.
- [6] a) A. Bobrowski, J. Zarebski, *Curr. Anal. Chem.* **2008**, *4*, 191–201; b) R. De Marco, G. Clarke, B. Pejcic, *Electroanalysis* **2007**, *19*, 1987–2001.
- [7] C. Lodeiro, F. Pina, *Coord. Chem. Rev.* **2009**, *293*, 1353–1383.
- [8] a) G. Fleissner, P. M. Kozlowski, M. Vargek, J. W. Bryson, T. V. O'Halloran, T. G. Spiro, *Inorg. Chem.* **1999**, *38*, 3523–3528; b) D. J. H. Clark, T. J. Dines, *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 131–160; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 131–158.
- [9] a) R. A. Sperling, P. Rivera-Gil, F. Zhang, M. Zanella, W. J. Parak, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1896–1908; b) D. Jimenez de Aberasturi, J.-M. Montenegro, I. Ruiz de Larramendi, T. Rojo, T. A. Klar, R. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, W. J. Parak, *Chem. Mater.* **2012**, *24*, 738–745.
- [10] a) A. Riedinger, F. Zhang, F. Dommershausen, C. Röcker, S. Brandholt, G. U. Nienhaus, U. Koert, W. J. Parak, *Small* **2010**, *6*, 2590–2597; b) N. Yanai, K. Kitayama, Y. Hijikata, H. Sato, R. Matsuda, Y. Kubota, M. Takata, M. Mizuno, T. Uemura, S. Kitagawa, *Nat. Mater.* **2011**, *10*, 787–793.
- [11] M. Rex, F. E. Hernandez, A. D. Campiglia, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 445–451.
- [12] a) Z. Krpetić, L. Guerrini, I. A. Larmour, J. Reglinski, K. Faulds, D. Graham, *Small* **2012**, *8*, 707–714; b) D. X. Li, J. F. Zhang, Y. H. Jiang, Y. J. Tang, D. H. Kim, J. S. Kim, *Small* **2012**, *8*, 1442–1448; c) J. R. Kalluri, T. Arbneshi, S. Afrin Khan, A. Neely, P. Candice, B. Varisli, M. Washington, S. McAfee, B. Robinson, S. Banerjee, A. K. Singh, D. Senapati, P. C. Ray, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9848–9851; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9668–9671.
- [13] a) R. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, F. J. G. de Abajo, *J. Phys. Chem. Lett.* **2010**, *1*, 2428–2434; b) N. J. Halas, S. Lal, W.-S. Chang, S. Link, P. Nordlander, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3913–3961; c) M. Moskovits, *Rev. Mod. Phys.* **1985**, *57*, 783–826.
- [14] R. L. McCreery, *Raman Spectroscopy for Chemical Analysis*, Wiley, Hoboken, **2005**, S. 15–33.
- [15] Die klassische Beziehung zwischen der Intensität  $I_R$  der Raman-Streuung und dem Querschnitt lautet:  $I_R = I_0 \sigma N L$ ; wobei  $\sigma$  der Querschnitt,  $N$  die Zahlendichte der Streuer und  $L$  die Weglänge des Lasers ist. Bei einem festen Sammelwinkel  $\Omega$  lautet der differentielle Querschnitt  $\beta = d\sigma/d\Omega$ .
- [16] G. J. Kovacs, R. O. Loutfy, P. S. Vincett, C. Jennings, R. Aroca, *Langmuir* **1986**, *2*, 689–694.
- [17] M. Moskovits, *J. Raman Spectrosc.* **2005**, *36*, 485–496.
- [18] J. Zhao, A. O. Pinchuk, J. M. McMahon, S. Li, L. K. Ausman, A. L. Atkinson, G. C. Schatz, *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1710–1720.
- [19] A. Otto, *J. Raman Spectrosc.* **2005**, *36*, 497–509.
- [20] a) I. Lombardi, P. L. Cavallotti, C. Carraro, R. Maboudian, *Sens. Actuators B* **2007**, *125*, 353–356; b) T. A. Baker, O. L. A. Monti, D. J. Nesbitt, *J. Phys. Chem. C* **2011**, *115*, 9861–9870.
- [21] a) J. Billman, A. Otto, *Surf. Sci.* **1984**, *138*, 1–25; b) H. Wetzel, H. Gerischer, B. Pettinger, *Chem. Phys. Lett.* **1981**, *80*, 159–162.
- [22] T. Wilke, X. Gao, C. G. Takoudis, M. J. Weaver, *Langmuir* **1991**, *7*, 714–721.
- [23] L. W. H. Leung, M. J. Weaver, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 5113–5119.
- [24] a) S. I. Rae, I. Khan, *Analyst* **2010**, *135*, 1365–1369; b) M. Lust, A. Pucci, W. Akemann, A. Otto, *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 11075–11077.
- [25] R. E. Clavijo, D. Battisti, R. Aroca, G. J. Kovacs, C. A. Jennings, *Langmuir* **1992**, *8*, 113–117.
- [26] J. G. Vitillo, L. Regli, S. Chavan, G. Ricchiardi, G. Spoto, P. D. C. Dietzel, S. Bordiga, A. Zecchina, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 8386–8396.
- [27] K. Sugikawa, Y. Furukawa, K. Sada, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 3132–3134.
- [28] L. E. Kreno, K. Leong, O. K. Farha, M. Allendorf, R. P. Van Duyne, J. T. Hupp, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 1105–1125.

- [29] S. E. J. Bell, N. M. S. Sirimuthu, *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 7405–7410.
- [30] a) T. Vo-Dinh, H.-N. Wang, J. Scaffidi, *J. Biophotonics* **2010**, *3*, 89–102; b) M. Fan, G. F. S. Andrade, A. G. Brolo, *Anal. Chim. Acta* **2011**, *693*, 7–25.
- [31] P. A. Mosier-Boss, S. H. Lieberman, *Appl. Spectrosc.* **2003**, *57*, 1129–1137.
- [32] C. M. Ruan, W. Wang, A. H. Gu, *Anal. Chim. Acta* **2006**, *567*, 114–120.
- [33] B. Gu, C. Ruan, W. Wang, *Appl. Spectrosc.* **2009**, *63*, 98–102.
- [34] S. Tan, M. Erol, S. Sukhishvili, H. Du, *Langmuir* **2008**, *24*, 4765–4771.
- [35] M. Mulvihill, A. Tao, K. Benjauthrit, J. Arnold, P. Yang, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 6556–6560; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 6456–6460.
- [36] M. J. Han, J. M. Hao, Z. H. Xu, X. G. Meng, *Anal. Chim. Acta* **2011**, *692*, 96–102.
- [37] H. Feilchenfeld, O. Siiman, *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 2163–2168.
- [38] a) L. Bao, S. M. Mahurin, R. G. Haire, S. Dai, *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 6614–6620; b) D. Bhandari, S. M. Wells, S. T. Retterer, M. J. Sepaniak, *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 8061–8067.
- [39] B. Gu, C. Ruan, *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 2341–2345.
- [40] L. Bao, H. Yan, M. Mahurin Shannon, B. Gu, S. Dai, *Nuclear Waste Management*, American Chemical Society, Washington, DC, **2006**, S. 53–63.
- [41] S. P. Ravindranath, K. L. Henne, D. K. Thompson, J. Irudayaraj, *ACS Nano* **2011**, *5*, 4729–4736.
- [42] F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bochmann, *Advanced inorganic chemistry*, Wiley, New York, **1999**.
- [43] P. Gao, M. J. Weaver, *J. Phys. Chem.* **1986**, *90*, 4057–4063.
- [44] a) S.-W. Joo, *J. Raman Spectrosc.* **2006**, *37*, 1244–1247; b) N. P. W. Pieczonka, R. F. Aroca, *ChemPhysChem* **2005**, *6*, 2473–2484.
- [45] M. Grzelczak, A. Sánchez-Iglesias, B. Rodríguez-González, R. Alvarez-Puebla, J. Pérez-Juste, L. M. Liz-Marzán, *Adv. Funct. Mater.* **2008**, *18*, 3780–3786.
- [46] G. Wang, C. Lim, L. Chen, H. Chon, H. Choo, J. Hong, A. J. deMello, *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394*, 1827–1832.
- [47] Y. Wang, J. Irudayaraj, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 4394–4396.
- [48] J. Yin, T. Wu, J. Song, Q. Zhang, S. Liu, R. Xu, H. Duan, *Chem. Mater.* **2011**, *23*, 4756–4764.
- [49] J. Li, L. Chen, T. Lou, Y. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2011**, *3*, 3936–3941.
- [50] C. Lee, J. Jaebum Choo, *Bull. Korean Chem. Soc.* **2011**, *32*, 2003–2007.
- [51] J. L. Duan, M. Yang, Y. C. Lai, J. P. Yuan, J. H. Zhan, *Anal. Chim. Acta* **2012**, *723*, 88–93.
- [52] a) M. Sanles-Sobrido, L. Rodríguez-Lorenzo, S. Lorenzo-Abalde, A. González-Fernández, M. A. Correa-Duarte, R. A. Álvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzán, *Nanoscale* **2009**, *1*, 153–158; b) L. L. He, T. Rodda, C. L. Haynes, T. Deschaines, T. Strother, F. Diez-Gonzalez, T. P. Labuza, *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 1510–1513.
- [53] N. H. Kim, S. J. Lee, M. Moskovits, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 4181–4185.
- [54] S. W. Bishnoi, C. J. Rozell, C. S. Levin, M. K. Gheith, B. R. Johnson, D. H. Johnson, N. J. Halas, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 1687–1692.
- [55] a) J. Kneipp, H. Kneipp, B. Wittig, K. Kneipp, *Nano Lett.* **2007**, *7*, 2819–2823; b) A. Pallaoro, G. B. Braun, N. O. Reich, M. Moskovits, *Small* **2010**, *6*, 618–622.
- [56] Y. Zhao, J. N. Newton, J. Liu, A. Wei, *Langmuir* **2009**, *25*, 13833–13839.
- [57] a) S. J. Lee, M. Moskovits, *Nano Lett.* **2011**, *11*, 145–150; b) Y.-X. Yuan, L. Ling, X.-Y. Wang, M. Wang, R.-A. Gu, J.-L. Yao, *J. Raman Spectrosc.* **2007**, *38*, 1280–1287.
- [58] V. M. Zamarion, R. A. Timm, K. Araki, H. E. Toma, *Inorg. Chem.* **2008**, *47*, 2934–2936.
- [59] S. Sarkar, M. Pradhan, A. K. Sinha, M. Basu, T. Pal, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 6335–6342.
- [60] D. Tsoutsis, J. M. Montenegro, F. Dommershausen, U. Koert, L. M. Liz-Marzán, W. J. Parak, R. A. Alvarez-Puebla, *ACS Nano* **2011**, *5*, 7539–7546.
- [61] a) M. Spuch-Calvar, L. Rodriguez-Lorenzo, M. P. Morales, R. A. Alvarez-Puebla, L. M. Liz-Marzan, *J. Phys. Chem. C* **2009**, *113*, 3373–3377; b) J.-H. Lee, M. A. Mahmoud, V. Sitterle, J. Sitterle, J. C. Meredith, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 5048–5049.