

## **SENSORES SERS BASADOS EN FILMS DE ÓXIDOS MESOPOROSOS: AMPLIANDO SUS APLICACIONES**

*M. Mercedes Zalduendo & Paula C. Angelomé\**

Gerencia Química & Instituto de Nanociencia y Nanotecnología, CAC, CNEA, CONICET.  
Av. General Paz 1499, B1650KNA, San Martín, Buenos Aires, Argentina  
(\*e-mail: angelome@cnea.gov.ar)

### **Resumen**

El desarrollo de materiales para utilizar en la detección de analitos mediante Espectroscopía Raman Aumentada por Superficies (SERS, por sus siglas en inglés) es un área de gran desarrollo en los últimos años. Entre ellos, los materiales preparados combinando nanopartículas metálicas y films delgados de óxidos mesoporosos se destacan por su estabilidad y sus métodos de fabricación relativamente simples y accesibles. Sin embargo, la gran mayoría de los estudios que se han presentado se centran en la detección de analitos que se unen covalentemente a la superficie metálica. Así, para ampliar las aplicaciones de estos materiales compuestos es necesario estudiar su capacidad de detección de otros analitos, que no presenten interacción específica con las nanopartículas. En este trabajo se prepararon sensores basados en nanopartículas (NPs) de Au y films delgados de TiO<sub>2</sub> mesoporoso, con dos arquitecturas diferentes: NPs dentro de los poros y NPs cubiertas por el film. Para ambos sistemas, se estudiaron sus capacidades para detectar dos analitos: ácido 3-nitroftálico, que se une covalentemente al óxido, y nitrofenol, que no forma unión específica con ningún componente del sensor. Los resultados obtenidos indican que es posible la detección de estos analitos y que tanto la arquitectura del sensor como el método de incubación utilizado definen su performance.

*Palabras Claves:* Films delgados, óxidos mesoporosos, nanopartículas metálicas, materiales compuestos, espectroscopía Raman

### **Abstract**

**SERS sensors based on mesoporous thin films: expanding their applications.** The development of materials for use as Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) based sensors has been a major area of development in recent years. Among them, the materials prepared combining metallic nanoparticles and mesoporous oxides thin films stand out due to their stability and their relatively simple and accessible preparation methods. However, the vast majority of previous studies focus on the detection of analytes that covalently bind to the metal surface. Thus, to expand the applications of these composite materials, it is necessary to study their detection capacity of analytes that do not present specific interaction with the nanoparticles. In this work, sensors based on Au nanoparticles (NPs) and mesoporous TiO<sub>2</sub> thin films were prepared, with two different architectures: NPs included within the pores and NPs covered by the film. For both systems, their

capabilities to detect two analytes were studied: 3-nitrophthalic acid, which covalently binds to the oxide and nitrophenol, taht does not form specific binding with any of the sensor's components. The obtained results indicate that detection of these analytes is possible and that both the sensor architecture and the chosen incubation method define their performance.

*Key words:* Thin films, mesoporous oxides, metal nanoparticles, composite materials, Raman spectroscopy

## 1. Introducción

En el año 1974, Fleischmann *et al.*[1] reportaron el espectro Raman de piridina con una intensidad llamativamente alta que atribuyeron al hecho de que las moléculas del analito se encontraban adsorbidas sobre un electrodo rugoso de Ag. Unos años después, Jeanmaire y Van Duynes[2] por un lado, y Albrecht y Creighton[3] por otro, demostraron que este fenómeno no podía ser atribuido a un incremento del área superficial disponible en un electrodo rugoso en comparación con uno liso. En el año 1978, Moskovits propuso que estas altas intensidades Raman observadas en una superficie metálica rugosa estaban ligadas a plasmones superficiales localizados en la nanoestructura metálica.[4] Esto dio lugar a lo que se conoce hoy en día como Espectroscopía Raman Amplificada por Superficies (SERS, del inglés *Surface Enhanced Raman Spectroscopy*) [5].

En pocas palabras, SERS puede considerarse una técnica de sensado ultrasensible que posibilita la detección de analitos en concentraciones ultrabajas, pudiendo llegar a nivel de molécula única. Asimismo, la técnica SERS puede diferenciarse de otros métodos de detección analítica debido a la información espectroscópica vibracional que proporciona. Tanto resultó ser su potencial que, casi 50 años después de su descubrimiento, el sensado por SERS ha pasado a ser un área de investigación en sí misma.

El sensado por SERS se utiliza actualmente, y de manera rutinaria, en distintos tipos de aplicaciones que van desde la detección de agentes explosivos y drogas, hasta la prevención de falsificación de documentos, medicamentos y productos alimenticios, la detección de contaminantes en alimentos y el control de calidad en entornos de seguridad ciudadana, laboratorio y producción [6-8]. Otras posibles aplicaciones para el sensado por SERS se encuentran en las áreas de diagnóstico personalizado [9], plataformas de inmunoensayos [10], bioimagen y biodetección [11], detección de aniones de metales pesados y otros contaminantes ambientales [12,13], entre otros [14-17]. El desafío de estas aplicaciones reside en la detección selectiva de analitos con señales Raman muy débiles y/o en medios complejos. Por otro lado, la alta sensibilidad del sensado por SERS es aprovechada para estudios a nivel de molécula única [18, 19]. Estos experimentos permiten la observación de fenómenos espectroscópicos sutiles y el análisis sobre la naturaleza de distintos procesos que no pueden estudiarse en un conjunto de moléculas.

Los sustratos SERS desarrollados hasta el momento pueden dividirse en tres grandes familias: nanopartículas (NPs) metálicas en solución, arreglos de NPs soportadas en superficies, y nanoestructuras fabricadas directamente sobre superficies sólidas [20, 21]. Las NPs en solución son los sustratos más ampliamente utilizados porque presentan alta sensibilidad y se pueden fabricar de manera sencilla. Sin embargo, existen limitaciones

asociadas a la aplicación de este tipo de sustratos en términos de estabilidad coloidal, reproducibilidad, manipulación y producción masiva. Por otro lado, las nanoestructuras fabricadas directamente sobre superficies sólidas presentan alta reproducibilidad de las intensidades SERS debido al fino control que puede obtenerse sobre los parámetros geométricos del sistema. Sin embargo, los altos costos de fabricación resultan una desventaja.

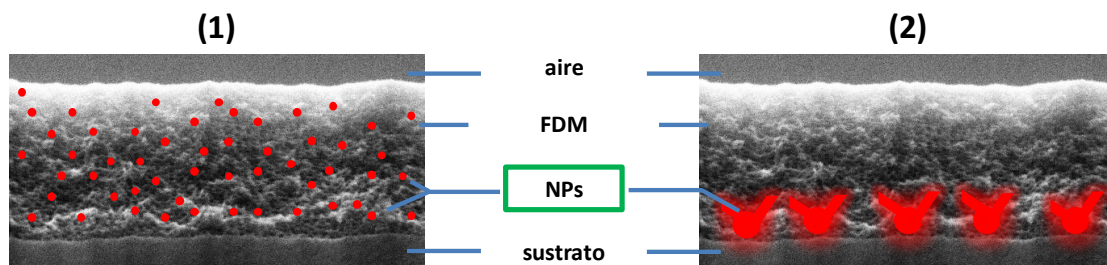
Los sustratos formados por arreglos de NPs metálicas soportados en superficies resultan una alternativa intermedia entre los dos tipos de sustratos mencionados: permiten evitar la agregación no controlada de NPs, aumentando la reproducibilidad del sistema y los métodos de fabricación resultan relativamente simples y accesibles. En esta familia de sustratos se encuentran los sistemas compuestos formados por NPs metálicas y films delgados de óxidos mesoporosos (FDMs), que nuestro grupo ha estado estudiando en los últimos años [22-26]. Los FDMs se sintetizan a partir de la combinación de reacciones químicas sol-gel (que dan lugar al óxido) y el autoensamblado de moléculas anfifílicas (que dan lugar a los poros). Se obtiene así un material con arreglo ordenado de poros de tamaño altamente controlado, en el rango 2-50 nm [27]. Así, la preparación de sistemas compuestos resulta factible debido a la compatibilidad de síntesis de ambos materiales, y a la complementariedad que existe entre los tamaños de poros de los FDMs y de las NPs [28-30]. Asimismo, estos sistemas compuestos ofrecen la posibilidad de obtener una única plataforma con las características de sus partes, sumando las nuevas propiedades que surgen de la combinación de ambos materiales. Una de las principales ventajas es el soporte que ofrece el FDM a las NPs metálicas, evitando así su desestabilización en solución, mientras que las mismas permanecen en contacto con el medio gracias a la porosidad. Al mismo tiempo, el sistema presenta robustez y resulta de fácil manipulación, lo que permite su incorporación en distintos medios de reacción [28-31].

Para todos los sustratos SERS, incluyendo estos materiales compuestos, es necesario establecer un método de incubación que permita poner en contacto el analito a estudiar con la superficie amplificadora. En general, para NPs en solución se agrega una alícuota de la muestra a analizar. En el caso de los arreglos de NPs soportadas en superficies y los electrodos metálicos, los mismos suelen sumergirse por un determinado tiempo en la muestra de interés. Otra alternativa para estos sustratos es el secado de una gota de la muestra de interés sobre los mismos. En la mayoría de los casos reportados hasta el momento, los analitos utilizados son tioles, que se unen covalentemente a la superficie de las NPs metálicas. Así, se asegura la máxima interacción metal-analito, que permite el máximo incremento de la señal Raman. En este sentido, en nuestro grupo hemos analizado en detalle el efecto de las diversas características de los materiales compuestos NPs de Au – FDMs de TiO<sub>2</sub> en la detección de *p*-nitrotiofenol (pNTP). Entre las características que definen la performance de los sistemas compuestos se destacan: la ubicación, el tamaño y la forma de las NPs, el tipo de arreglo de poros del FDM y su espesor [24, 25, 32].

Para ampliar las capacidades de estos sensores compuestos es importante contar con alternativas de incubación que permitan la detección de analitos que no presenten interacción específica por la superficie metálica. En este trabajo, presentamos algunos resultados en este sentido, utilizando analitos que interactúan con el FDM y analitos que no forman unión específica con ningún componente del material compuesto. Los resultados obtenidos se comparan con los obtenidos previamente para pNTP.

## 2. Materiales y Métodos

Se trabajó con materiales compuestos Au NPs – FDMs TiO<sub>2</sub> con dos arquitecturas diferentes, que se presentan esquemáticamente en la Figura 1.



**Fig.1.** Esquema ilustrativo de las arquitecturas utilizadas: (1) NPs dentro de un FDM. (2) NPs en la interfaz FDM-sustrato, crecidas a través de los poros.

Para la arquitectura (1), se prepararon en primer lugar FDMs de TiO<sub>2</sub> por *dip coating* a 1 mm/s, utilizando como molde el copolímero tribloque Pluronic F127, siguiendo un procedimiento reportado previamente [33]. La solución inicial consistió en una mezcla TiCl<sub>4</sub> / EtOH / F127 / H<sub>2</sub>O, con una relación molar de 1: 40: 0,005: 10. Luego del depósito, los FDMs se estabilizaron durante 1 día a 50% de humedad relativa, 1 día a 60°C y 1 día a 130°C. Posteriormente, fueron tratados durante 2 h en horno a 200°C y se extrajo el molde por inmersión durante 72 h en etanol comercial. Finalmente, se formaron las NPs de Au utilizando el método de infiltración-reducción por pasos [34]. El FDM se sumergió durante 1 minuto en una solución 1 mM de HAuCl<sub>4</sub> · 3H<sub>2</sub>O a pH = 4. Después de este tiempo, el FDM se lavó, se secó al aire y se sumergió durante 1 minuto en una solución recién preparada de NaBH<sub>4</sub> 5 mM, para la reducción del Au (III) adsorbido. Finalmente, la muestra se enjuagó con agua. Este procedimiento, llamado paso de reducción (RS), se repitió 20 veces para lograr una carga alta de NPs de Au dentro de los poros. La muestra así obtenida se denominó Au20RS@TF.

Para la arquitectura (2), se sintetizaron NPs de Au de 66 nm estabilizadas con citrato utilizando un método de bibliografía [35]. Las mismas fueron inmovilizadas sobre sustratos de vidrio, previamente activados con solución piraña (3 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) durante 30' y funcionalizados con aminopropiltriethoxisilano (3hs de inmersión en solución etanólica 0.01 M). La inmovilización se realizó por inmersión en la solución de NPs durante 40 minutos. Sobre estos sustratos se depositó el FDM de TiO<sub>2</sub> por *spin-coating* a 8000 rpm, utilizando la misma solución y el mismo método de estabilización presentado para la arquitectura (1). Finalmente, las NPs de Au fueron crecidas a través de los poros, para dar lugar a esferas ramificadas, utilizando una mezcla de Au (III), CTAB y ácido ascórbico, de acuerdo a lo reportado previamente [24, 36]. La muestra así obtenida se denominó AuNS66d2/TF.

Todas las muestras se caracterizaron ópticamente por espectroscopía UV-vis utilizando un espectrofotómetro Agilent 8453. Para la caracterización morfológica de los materiales se utilizaron microscopías electrónicas de barrido (SEM, Carl-Zeiss SUPRA 40) y de transmisión (TEM, Philips CM 200 operado a 180 kV). El espesor y la porosidad de los FDMs se evaluó utilizando reflectometría de rayos X, utilizando un equipo Empyrean PanAlytical. Los detalles de estas determinaciones pueden encontrarse en trabajos previos del

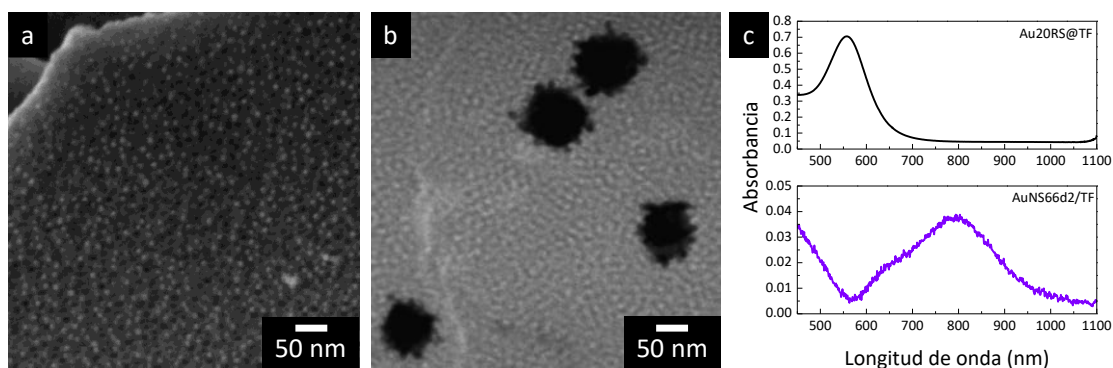
grupo [24]. Los experimentos SERS se realizaron con un espectrómetro Horiba LabRAM HR equipado con un microscopio confocal (objetivo 100x, NA 0,9) y un láser de 633 nm (potencia  $< 5 \mu\text{W} \mu\text{m}^{-2}$ ).

### 3. Discusión de los Resultados

#### 3.1 Descripción de los sensores

El sensor con arquitectura tipo 1 se preparó a partir de un FDM de  $\text{TiO}_2$  con un espesor de  $160 \pm 10$  nm. Este FDM presenta poros de  $8 \pm 1$  nm de diámetro, organizados en una estructura cúbica centrada en el cuerpo, de acuerdo a lo que es usual para óxidos preparados usando F127 como molde de poros [33]. La porosidad accesible de estos FDMs es de  $45 \pm 5$  %. Al crecer las NPs dentro de los poros, se observa la aparición de coloración en el FDM, debido a las resonancias plasmónicas del Au nanométrico (ver espectro en Figura 2c). A partir de la observación por microscopía electrónica (Figura 2 a) se determinó que las NPs se encuentran distribuidas de manera uniforme en todo el espesor y la superficie del FDM y que presentan un diámetro de  $9 \pm 1$  nm. Es importante destacar que el tamaño de las NPs puede controlarse con el número de RS al que es sometida la muestra pero el mismo está limitado por el diámetro del poro.

En el caso de las arquitecturas tipo 2, el FDM depositado sobre las NPs de Au presenta un espesor de  $160 \pm 10$  nm. El diámetro y el arreglo de poros, así como la porosidad son equivalentes a las de los FDMs utilizados para la arquitectura tipo 1, indicando que la presencia de las NPs metálicas no modifica sustancialmente la estructura del film. Luego del crecimiento de las NPs de Au a través del film, las mismas se ramifican a través de los poros, tal como puede observarse en la micrografía mostrada en la Figura 2b. Asimismo, estos sensores presentan coloración en el visible, relacionada con su espectro de absorción, típico de partículas esféricas con puntas o protuberancias (Figura 2c) [36, 37].



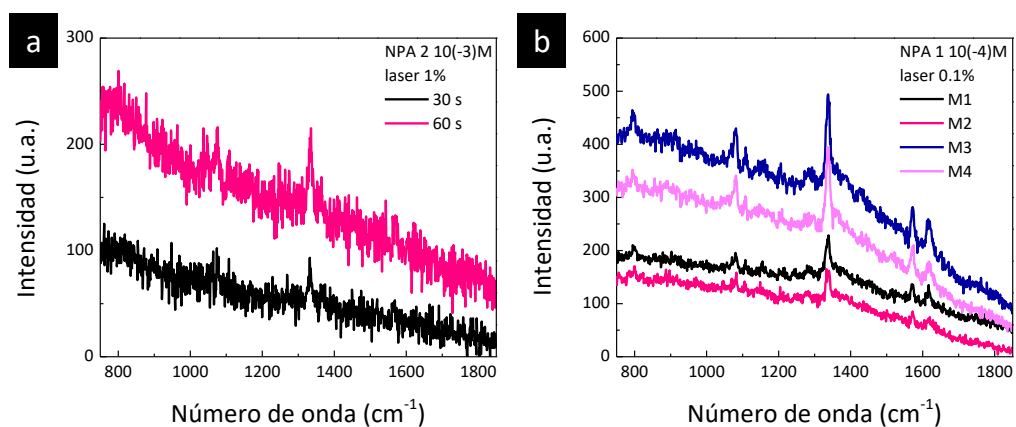
**Fig.2.** (a) Imagen SEM del sensor con arquitectura 1 (Au20RS@TF) (b) Imagen TEM del sensor con arquitectura 2 (AuNS66d2/TF), (c) Espectros UV-visible de los mismos sensores.

#### 3.2 Evaluación de una sonda afín al FDM

Como primer caso, se analizó la capacidad de detección de una sonda capaz de interactuar, por complejación superficial, con el  $\text{TiO}_2$  y no con la superficie metálica. Para ello se utilizó ácido 3-nitroftálico (NPA). Esta molécula posee un grupo dicarboxílico capaz de

formar un complejo superficial con el  $\text{TiO}_2$  [38]. Además, posee un grupo nitro anclado al anillo aromático, por lo que se puede suponer que la sección eficaz Raman de la banda correspondiente a este grupo es similar a la de pNTP, el analito que se había utilizado en trabajos previos [24, 25]. De esta manera, pueden realizarse comparaciones en forma directa con los resultados obtenidos para pNTP. El método de incubación utilizado fue equivalente al usado para pNTP: inmersión por 18 hs en la solución de interés y luego lavado. En la Figura 3 se presentan los espectros SERS de NPA obtenidos con las distintas plataformas y bajo diferentes condiciones de medida.

Para la arquitectura tipo 2 (Figura 3 b) se observó señal SERS de NPA. Esto indica que las moléculas de NPA se encuentran cerca de la superficie metálica, y su señal Raman pudo ser amplificada. Efectivamente la interacción fuerte con el  $\text{TiO}_2$  permite que la molécula se acerque a menos de 10 nm de la superficie metálica, distancia suficiente para observar el fenómeno SERS.



**Fig. 3.** Espectros SERS de NPA obtenidos con diferentes plataformas y en distintas condiciones: (a) Au20RS@TF, los espectros son puntuales y (b) AuNS66d2/TF, los espectros se obtuvieron con 10 s de adquisición y cada espectro corresponde al promedio de 4 puntos en un mapeo.

Para el caso de la arquitectura tipo 1 (Figura 3a), no pudo observarse señal de la sonda utilizando una concentración de  $1.10^{-4}$  M. Sólo aumentando la concentración y la intensidad del láser un orden de magnitud respecto de las mediciones usuales pudo distinguirse una banda alrededor de  $1340\text{ cm}^{-1}$  que puede atribuirse a NPA. El hecho de observar poca señal puede corresponderse con una baja área superficial de  $\text{TiO}_2$  disponible para interactuar con NPA debido a que las NPs se encuentran unidas a las paredes del FDM. Por otro lado, parte de estos sitios de interacción con  $\text{TiO}_2$  pueden haber quedado ocluidos por haber especies de Au (III) adsorbidas.

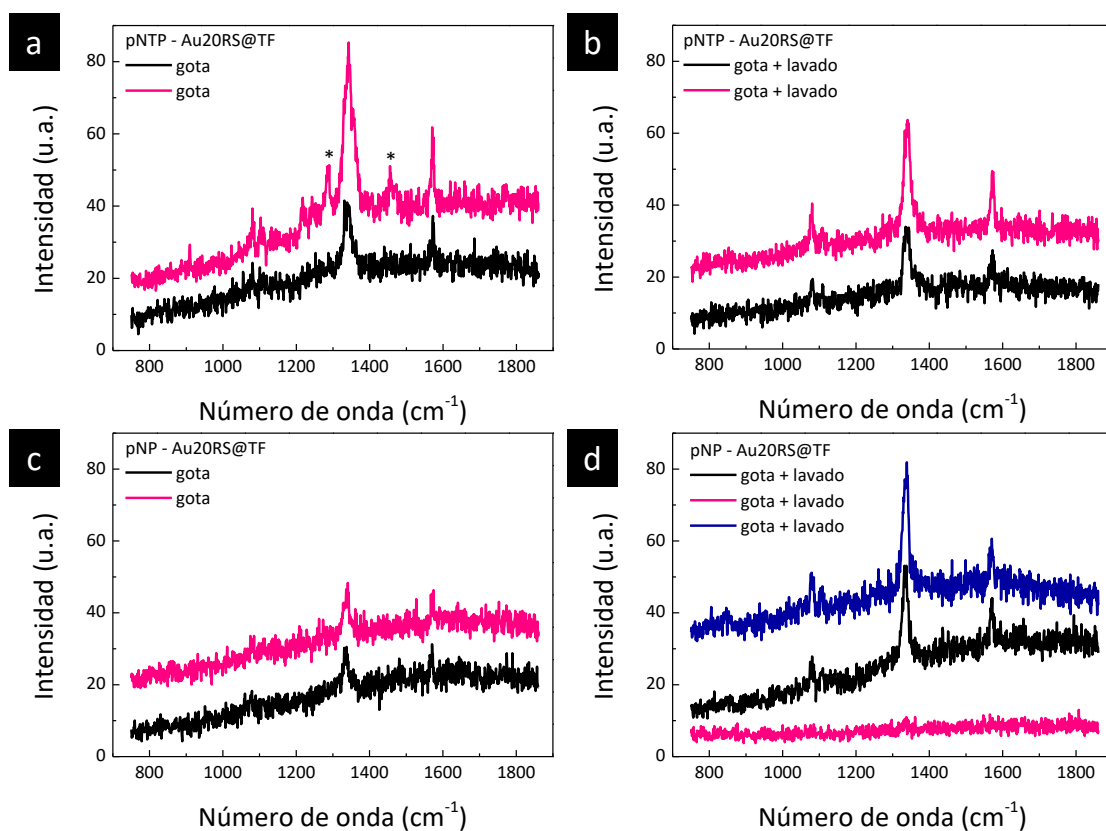
Por ende, estos sistemas no permiten detectar sondas que interactúan por complejación superficial con  $\text{TiO}_2$ . Por otro lado, el hecho de no observar señal de NPA puede indicar que no existe una interacción específica del mismo con las NPs de Au. Si esto ocurriese, se esperaría observar señal del analito bajo las mismas condiciones en las que puede detectarse el pNTP.

### 3.3 Evaluación de sondas no interactuantes.

El siguiente desafío que se presenta es estudiar un analito que no posee interacciones específicas ni con la superficie metálica ni con el FDM, lo que permitiría ampliar sustancialmente las aplicaciones de los sensores SERS basados en FDMs y NPs. Para estos casos, pueden emplearse distintos métodos de incubación, es decir, diversas formas de poner en contacto analito con superficie metálica.

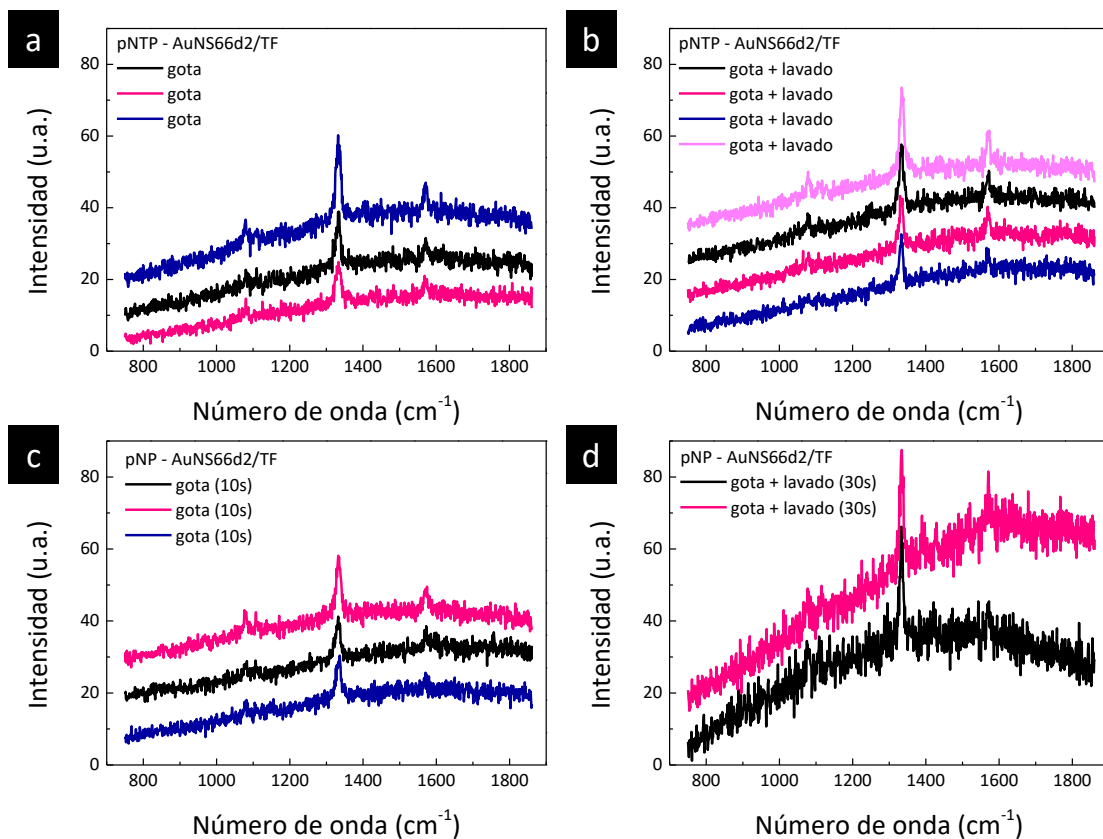
La sonda seleccionada en este caso fue *p*-nitrofenol (pNP), molécula que, al igual que NPA, posee un grupo nitro de similar sección eficaz Raman que el pNTP pero no posee afinidad específica ni por el Au ni por la matriz de óxido. La solución de pNP fue preparada en etanol y la de pNTP, usada como comparación, en mezcla 1 buffer fosfato: 10 etanol.

En primer lugar, y a modo de comparación, se realizaron experimentos utilizando el método de incubación empleado previamente (inmersión por 18 hs). En estas condiciones, no se observó señal SERS. Teniendo en cuenta que la sonda no interactúa ni con Au ni con el FDM, es posible asumir que en el momento del lavado, la sonda es eliminada del sensor.



**Fig. 4.** Espectros SERS utilizando la muestra Au20RS@TF (30 s de adquisición) para distintos métodos de incubación: (a) gota 40  $\mu$ L pNTP, (b) (a) + lavado, (c) gota 60  $\mu$ L pNP, y (d) (c) + lavado. Cada espectro corresponde al promedio de 4 puntos.

\*bandas que no corresponden al pNTP, producto contaminación.



**Fig. 5.** Espectros SERS utilizando la muestra AuNS66d2/TF (10 s de tiempo de adquisición, excepto en (d) donde se utilizaron 30 s) para distintos métodos de incubación: (a) gota 40  $\mu$ L pNTP, (b) (a) + lavado, (c) gota 60  $\mu$ L pNP, y (d) + lavado. Cada espectro corresponde al promedio de 4 puntos.

En segundo lugar, se evaluó el método de incubación utilizado frecuentemente en la bibliografía y en plataformas comerciales: secado de una gota que contiene al analito de interés sobre el sustrato SERS [39]. Para este caso, se evaluó el efecto del volumen de la gota y la factibilidad de lavar la muestra luego del secado, comparando pNP y pNTP. Los espectros SERS obtenidos se muestran en la Figura 4 (arquitectura 1) y en la Figura 5 (arquitectura 2). Mientras que los resultados del porcentaje de puntos en los que se observa señal se presentan en la Tabla I.

Es importante mencionar que para este tipo de incubación se midió también un blanco correspondiente a un FDM vacío (sin NPs de Au) con la gota del analito. En ningún caso se observó señal, lo que permite asegurar que el fenómeno que se está observando es SERS y no Raman por acumulación de material.

Los resultados presentados indican que es posible observar señal de pNP aunque no presente interacciones específicas ni con la superficie metálica ni con el FDM. Para lograrlo, se necesita un método de incubación por gota, y en comparación con otras sondas afines a la superficie metálica (pNTP), se necesita un mayor volumen de gota. Como era de esperar, se observa señal de pNP de mayor intensidad y en un porcentaje superior de puntos para el sensor que presentó la mayor sensibilidad frente a pNTP: AuNS66d2/TF [24].



En cuanto al porcentaje de puntos en los que se observa señal antes y después del lavado de la gota, no se observa ninguna tendencia para pNP. En algunos casos el número de puntos en los que se observa señal luego del lavado disminuye mientras que en otros se mantiene igual a antes del lavado. En cambio, para el analito pNTP no se observan diferencias antes y después del lavado de la gota. Esto puede indicar que todas las moléculas se unen a la superficie de Au o que únicamente las moléculas unidas covalentemente al Au son las que aportan a la señal.

**Tabla I.** Porcentaje de puntos en los que se observa señal para diferentes analitos bajo las distintas condiciones de medición ensayadas.

muestra	Analito (conc.)	t adq (s)	gota 40 $\mu\text{L}$	+ lavado	gota 60 $\mu\text{L}$	+ lavado
Au20RS@TF	pNTP ( $1 \cdot 10^{-5}$ M)	30	88%	88%	-	-
	pNP ( $1.8 \cdot 10^{-5}$ M)	30	0%	-	63%	67%
AuNS66d2/TF	pNTP ( $1 \cdot 10^{-5}$ M)	10	79%	81%	-	-
		10	28%	-	67%	28%
	pNP ( $1.8 \cdot 10^{-5}$ M)	30	38%	-	-	100%

#### 4. Conclusiones

A partir de diferentes estrategias fue posible detectar analitos que no presentan una interacción específica con las NPs de Au en sistemas compuestos NPs de Au – FDMs de  $\text{TiO}_2$ . El primer método aprovecha la química superficial del FDM para acercar la sonda a la superficie metálica. En particular, fue factible detectar NPA, molécula que presenta un grupo dicarboxílico capaz de complejarse con el  $\text{TiO}_2$ .

Por otro lado, variando el método de incubación fue posible detectar moléculas Raman activas que no presentan interacción específica ni con la superficie metálica ni con el FDM.

Los resultados mostrados representan un primer paso para el desarrollo de sensores SERS útiles en la detección de analitos que no se unen específicamente a la superficie metálica. Continuar en el desarrollo de este tipo de materiales compuestos resultará fundamental para poder ampliar sus posibles aplicaciones.

#### 5. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por ANPCyT (PICT 2012-0111, 2015-0351 y 2017-1133) y CONICET (PIP 00044CO). M. M. Zalduendo agradece a CONICET por su beca doctoral. Las autoras agradecen a la Dra. Halac por el acceso al microscopio Raman.

## Referencias

- [1] M. Fleischmann, P.J. Hendra & A.J. McQuillan, *Chem. Phys. Lett.* **26**, 2 (1974).
- [2] D.L. Jeanmaire & R.P. Van Duyne, *J. Electroanal. Chem. Interfac. Electrochem.* **84**, 1 (1977).
- [3] M.G. Albrecht & J.A. Creighton, *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 15 (1977).
- [4] M. Moskovits, *J. Chem. Phys.* **69**, 9 (1978).
- [5] E.C. Le Ru & P.G. Etchegoin, *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*, Elsevier, Amsterdam, 2009.
- [6] R.A. Halvorson & P.J. Vikesland, *Environm. Sci. Technol.* **44**, 20 (2010).
- [7] J. Zheng & L. He, *Comprehens. Rev. Food Sci. Food Safety* **13**, 3 (2014).
- [8] C. Chen, W. Liu, S. Tian & T. Hong, *Sensors* **19**, 7 (2019).
- [9] L. Fabris, *ChemNanoMat* **2**, 4 (2016).
- [10] Z. Wang, S. Zong, L. Wu, D. Zhu & Y. Cui, *Chem. Rev.* **117**, 12 (2017).
- [11] R.A. Álvarez-Puebla & L.M. Liz-Marzán, *Small* **6**, 5 (2010).
- [12] R.A. Alvarez-Puebla & L.M. Liz-Marzan, *Energy Environm. Sci.* **3**, 8 (2010).
- [13] R.A. Alvarez-Puebla & L.M. Liz-Marzán, *Angew. Chem. Int. Ed.* **51**, 45 (2012).
- [14] G. McNay, D. Eustace, W.E. Smith, K. Faulds & D. Graham, *Appl. Spectrosc.* **65**, 8 (2011).
- [15] S. Schlücker, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**, 19 (2014).
- [16] W.R. Premasiri, Y. Chen, J. Fore, A. Brodeur & L.D. Ziegler, Chapter 10 - SERS Biomedical Applications: Diagnostics, Forensics, and Metabolomics, en: *Frontiers and Advances in Molecular Spectroscopy*, (J. Laane, Ed.), pp. 327-367, Elsevier, Amsterdam, 2018.
- [17] J. Langer, D. Jimenez de Aberasturi, J. Aizpurua, R.A. Alvarez-Puebla, B. Auguie, J.J. Baumberg, G.C. Bazan, S.E.J. Bell, A. Boisen, A.G. Brolo, J. Choo, D. Cialla-May, V. Deckert, L. Fabris, K. Faulds, F.J. García de Abajo, R. Goodacre, D. Graham, A.J. Haes, C.L. Haynes, C. Huck, T. Itoh, M. Käll, J. Kneipp, N.A. Kotov, H. Kuang, E.C. Le Ru, H.K. Lee, J.-F. Li, X.Y. Ling, S.A. Maier, T. Mayerhöfer, M. Moskovits, K. Murakoshi, J.-M. Nam, S. Nie, Y. Ozaki, I. Pastoriza-Santos, J. Perez-Juste, J. Popp, A. Pucci, S. Reich, B. Ren, G.C. Schatz, T. Shegai, S. Schlücker, L.-L. Tay, K.G. Thomas, Z.-Q. Tian, R.P. Van Duyne, T. Vo-Dinh, Y. Wang, K.A. Willets, C. Xu, H. Xu, Y. Xu, Y.S. Yamamoto, B. Zhao & L.M. Liz-Marzán, *ACS Nano* **14**, 1 (2020).
- [18] J. Kneipp, H. Kneipp & K. Kneipp, *Chem. Soc. Rev.* **37**, 5 (2008).
- [19] E.C. Le Ru & P.G. Etchegoin, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **63**, 1 (2012).
- [20] M. Fan, G.F.S. Andrade & A.G. Brolo, *Anal. Chim. Acta* **693**, 1 (2011).
- [21] L. Ouyang, W. Ren, L. Zhu & J. Irudayaraj, *Rev. Anal. Chem* **36**, 1 (2017).
- [22] V. López-Puente, S. Abalde-Cela, P.C. Angelomé, R.A. Alvarez-Puebla & L.M. Liz-Marzán, *J. Phys. Chem. Lett.* **4**, 16 (2013).
- [23] V. López-Puente, P.C. Angelomé, G.J.A.A. Soler-Illia & L.M. Liz-Marzán, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **7**, 46 (2015).
- [24] M.M. Zalduendo, J. Langer, J.J. Giner-Casares, E.B. Halac, G.J.A.A. Soler-Illia, L.M. Liz-Marzán & P.C. Angelomé, *J. Phys. Chem. C* **122**, 24 (2018).
- [25] P.Y. Steinberg, M.M. Zalduendo, G. Giménez, G.J.A.A. Soler-Illia & P.C. Angelomé, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **21**, 10347 (2019).

- [26] A. Wolosiuk, N.G. Tognalli, E.D. Martínez, M. Granada, M.C. Fuertes, H. Troiani, S.A. Bilmes, A. Fainstein & G.J.A.A. Soler-Illia, *ACS Appl. Mater. Interfaces* **6**, 7 (2014).
- [27] P. Innocenzi & L. Malfatti, *Chem. Soc. Rev.* **42**, 9 (2013).
- [28] P.C. Angelomé & M.C. Fuertes, Metal Nanoparticles-Mesoporous Oxide Nanocomposite Thin Films, en: *Handbook of Sol-Gel Science and Technology* (L. Klein, M. Aparicio, A. Jitianu (Eds.)), pp. 2507-2533, Springer International Publishing, Cham, 2018.
- [29] P.C. Angelomé & L.M. Liz-Marzán, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **70**, 2 (2014).
- [30] P. Innocenzi & L. Malfatti, *J. Nanopart. Res.* **20**, 6 (2018).
- [31] P. Innocenzi & L. Malfatti, *TrAC, Trends Anal. Chem.* **114**, 233 (2019).
- [32] M.M. Zalduendo, Materiales compuestos basados en films delgados mesoporosos y nanopartículas metálicas: síntesis, caracterización y diseño de sensores ópticos., Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, 2020.
- [33] E.L. Crepaldi, G.J.A.A. Soler-Illia, D. Grosso, F. Cagnol, F. Ribot & C. Sánchez, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 32 (2003).
- [34] V.M. Sánchez, E.D. Martínez, M.L. Martínez Ricci, H. Troiani & G.J.A.A. Soler-Illia, *J. Phys. Chem. C* **117**, 14 (2013).
- [35] N.G. Bastús, J. Comenge & V. Puentes, *Langmuir* **27**, 17 (2011).
- [36] P.C. Angelomé, I. Pastoriza-Santos, J. Pérez Juste, B. Rodríguez-González, A. Zelcer, G.J.A.A. Soler-Illia & L.M. Liz-Marzán, *Nanoscale* **4**, 931 (2012).
- [37] S. Barbosa, A. Agrawal, L. Rodríguez-Lorenzo, I. Pastoriza-Santos, R.A. Alvarez-Puebla, A. Kornowski, H. Weller & L.M. Liz-Marzán, *Langmuir* **26**, 18 (2010).
- [38] P.C. Angelomé & G.J.A.A. Soler-Illia, *Chem. Mater.* **17**, 2 (2005).
- [39] O. Optics, Ocean Optics User Manual - SERS, 2019.

*Manuscrito recibido el 3 de abril de 2020.*

*Aceptado el 20 de abril de 2020.*