

В.М. ДЖАГАН,<sup>1</sup> Я.В. ПІРКО,<sup>2</sup> А.Ю. БУЗІАШВІЛІ,<sup>2</sup> С.Г. ПЛОХОВСЬКА,<sup>2</sup>  
М.М. БОРОВА,<sup>2</sup> А.І. ЄМЕЦЬ,<sup>2</sup> Н.В. МАЗУР,<sup>1</sup> О.А. КАПУШ,<sup>1</sup> В.О. ЮХИМЧУК<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Інститут фізики напівпровідників імені В.Є. Лашкарьова НАН України  
(Просп. Науки, 41, Київ 03028; e-mail: dzhagan@isp.kiev.ua)

<sup>2</sup> Державна установа “Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України”  
(Вул. Осиповського, 2А, Київ 04123)

## КОНТРОЛЬОВАНА АГРЕГАЦІЯ ПЛАЗМОННИХ НАНОЧАСТИНОК ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ SERS-ПІДКЛАДОК

УДК 539

*У роботі продемонстровано можливість створення універсальних та ефективних SERS-підкладок шляхом контрольованої агрегації колоїдних наночастинок (НЧ) золота та срібла на підкладках зі спеціально розробленою морфологією поверхні. На відміну від більшості попередніх робіт по розробці та дослідженню SERS-підкладок, в яких підсилення реалізується переважно на оремних НЧ чи наноострівцях, перехід до багаторівневого структурування підкладки та керованої агрегації осаджених на неї колоїдних плазмонних НЧ суттєво збільшує ймовірність утворення “гарячих точок”, а також потрапляння в них молекул аналіту. Ефективність запропонованого підходу продемонстрована на кількох органічних аналітах різного типу, зокрема, барвнику R6G, амінокислоті цистеїн та антитілаз *E. coli*.*

*Ключові слова:* SERS-підкладки, раманівська спектроскопія, R6G, біомолекули.

### 1. Вступ

Незважаючи на той факт, що вже продемонстровано можливість отримання раманівського спектра від однієї молекули [1], кількість робіт, присвячених дослідженню коливних спектрів різних речовин методом поверхнево-підсиленого (або гігантського) комбінаційного розсіяння світла (SERS, англ. Surface-Enhanced Raman Scattering) та безпосередньому вивченню механізмів раманівського підсилення з кожним роком неухильно зростає. Це зумовлено декількома чинниками. По-перше, необхідністю отримання раманівського сигналу від надмалої кількості речовини, що реалізується шляхом осадження на SERS-підкладки або шляхом плазмонного підсилення раманівського сигналу від них у розчинах. По-друге, необхідністю зрозуміти особливості проявів механізмів (електромагнітного (ЕМ) та хімічного) підсилення раманівського сигналу. По-третє, необхідністю розробки універсальних (здатних підсилити рама-

нівський сигнал від різних речовин) та відносно недорогих SERS-підкладок. На сьогодні виявлення надмалих кількостей речовини є надзвичайно актуальною задачею в багатьох галузях науки та життєдіяльності людей, зокрема, в хімії та фармакології при синтезі нових речовин, криміналістиці, медицині при ранній діагностиці небезпечних хвороб, особливо онкологічних, біології, екології, матеріалознавстві, безпеці тощо [2–9]. Процес SERS включає складну взаємодію трьох об'єктів: фотонів, досліджуваних молекул і металевих наноструктур, які є основою SERS-підкладок. Останні можна розділити на дві основні категорії: структуровані металеві поверхні та металеві НЧ, осажені з колоїдних розчинів [10–17]. Найбільш важливими проявами ЕМ підсилення SERS сигналу від досліджуваних речовин є значне збільшення напруженості електричного поля, в якому вони знаходяться, як за рахунок збудження плазмонів у наноструктурованих металах, так і за рахунок формування так званих “гарячих точок” в результаті суперпозиції електричних полів, що створюють декілька металевих НЧ, розташованих на нанометровій відстані одна від одної. Хімічне підсилен-

© В.М. ДЖАГАН, Я.В. ПІРКО, А.Ю. БУЗІАШВІЛІ,  
С.Г. ПЛОХОВСЬКА, М.М. БОРОВА, А.І. ЄМЕЦЬ,  
Н.В. МАЗУР, О.А. КАПУШ, В.О. ЮХИМЧУК, 2022

ня раманівського сигналу зумовлене зміною поляризованості досліджуваних молекул, а при утворенні хімічного зв'язку між молекулами досліджуваної речовини та металевими НЧ ще й ефектом перенесення заряду. Останнє призводить до зміни електронної структури молекул, яка може проявлятися як у зміщенні електронних рівнів, так і в появі нових. У результаті реалізації резонансного раманівського розсіяння між “новими” електронними рівнями відбувається селективне підсилення окремих коливних смуг, на відміну від ЕМ механізму, при якому приблизно однаково підсилюються смуги в широкому спектральному діапазоні [19]. Електромагнітний механізм підсилення є набагато більш ефективним, ніж хімічний, а також більш універсальним щодо типу аналіту, оскільки не потребує збігу електронних рівнів металу та молекули-аналіту. Особливо ефективною є реалізація ЕМ підсилення за принципом формування “гарячих точок”. Тому саме цьому напрямку присвячена дана робота. Зокрема, формуванню “гарячих точок” за рахунок контрольованої агрегації колоїдних наночастинок (НЧ) золота або срібла на підкладках спеціально розробленої морфології, шляхом введення в розчин іонів певного знака. Додаткового покращення ефективності детектування можна досягнути завдяки використанню замість плоских поверхонь скляної або кремнієвої підкладки, металізованої поверхні, яка є структурованою у мікронному чи субмікронному діапазонах, що запобігає формуванню так званих “кавових кілець” і тому сприятиме більш рівномірному розподілу металевих НЧ та аналіту по їх поверхні. Крім того, така морфологія може сприяти збудженню і делокалізованих плазмонів (через зменшення кута між збуджуючим лазерним променем та поверхнею металу), а отже додатковому підсиленню раманівського сигналу.

## 2. Експеримент

*Виготовлення мікронних структурованих поверхонь* здійснювалося на поверхні очищеного скла або кремнію шляхом термічного напилення шарів міді або алюмінію товщиною декілька мікрометрів через спеціальну маску. Наступним кроком виготовлення структурованих підкладок було напилення шару діоксиду кремнію, роль якого полягала в діелектричній ізоляції від металевіт основи наступного шару благородного металу, в якому

будуть генеруватися плазмонні збудження. Термічно напилений тонкий (~10 нм) шар золота опційно піддавався термічному відпалу при температурі 450 °С протягом 10 хв. для формування плазмонних НЧ. Для зразків, які такому відпалу не піддавалися, суцільний шар золота слугував для збудження делокалізованих плазмонів та їх взаємодії з локальними плазмонними збудженнями в колоїдних металевих НЧ, осаджених на наступному етапі.

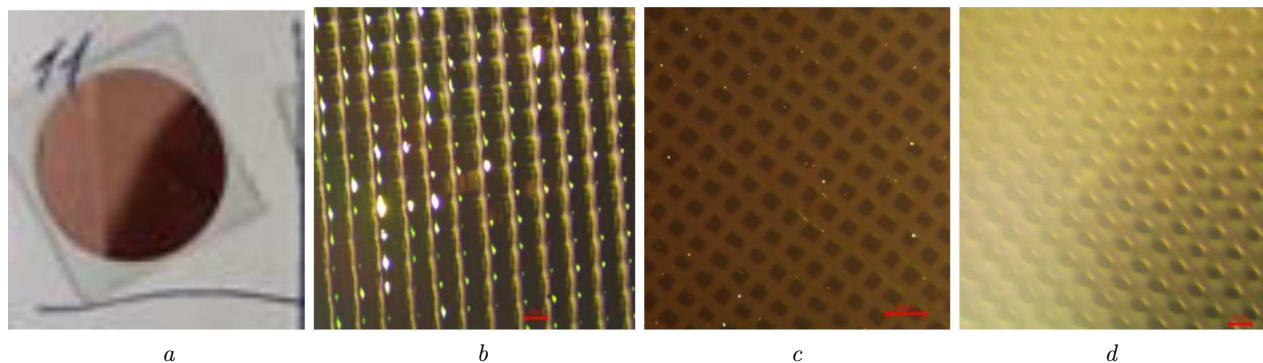
*Синтез колоїдних НЧ срібла та золота* здійснювався на основі відомого методу відновлення іонів металу в присутності цитрату натрію [19–21]. Контрольована агрегація НЧ забезпечувалася додаванням солей, здатних до дисоціації у воді при кімнатній температурі, зокрема NaCl, CsCl, AgNO<sub>3</sub>, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

*Морфологія SERS-підкладок* досліджувалася за допомогою оптичного мікроскопа Leica CME BINOCULAR 100x Oil та скануючого електронного мікроскопа (СЕМ) Tescan Mira 3 LMU.

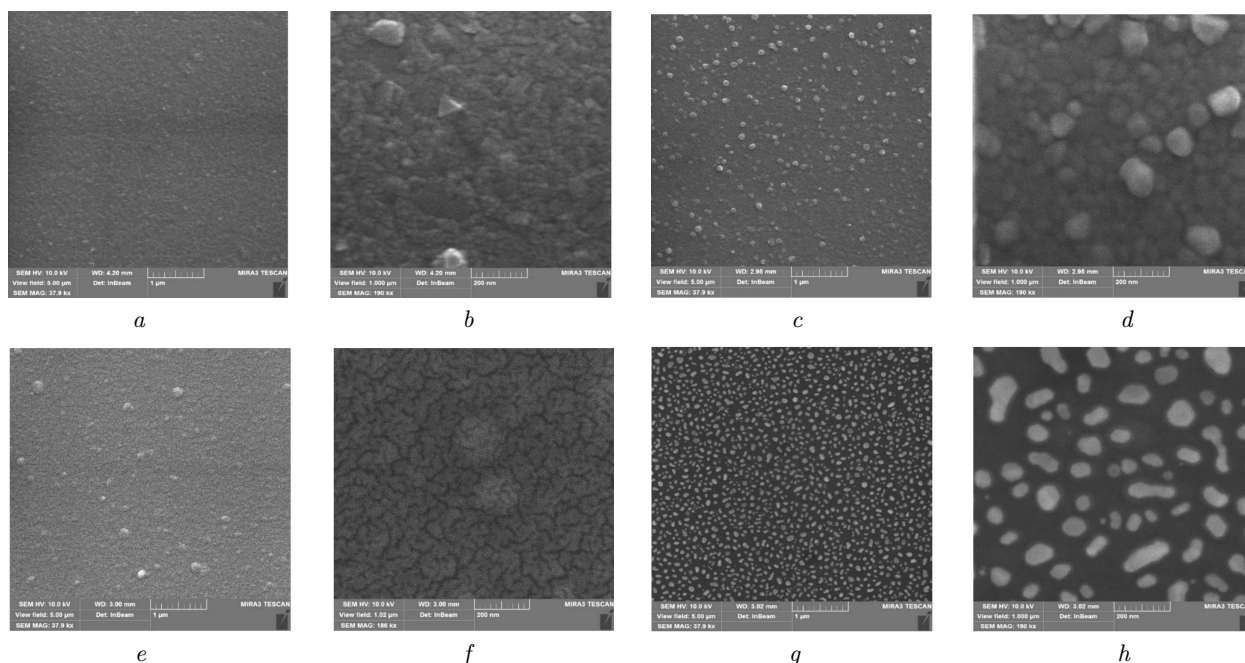
*Раманівські дослідження* проводили при кімнатній температурі на спектрометрі, який являє собою монохроматор, оснащений CCD камерою фірми Andor. Для збудження раманівського розсіювання використовувалося випромінювання твердотільних лазерів з довжинами хвиль 457, 532 і 671 нм. В ролі аналітів використовувалися розчини R6G різної концентрації, цистеїну та антитіла до патогена *Escherichia coli* (*E. coli*), які осаджували на поверхню SERS-підкладок та референсних підкладок (скла та кремнію) за допомогою дозатора в однаковій кількості речовини (5 мкл), після чого висушували в атмосфері повітря. SERS-спектри та раманівські спектри збуджувалися лазерним випромінюванням, потужність якого була мінімально достатньою для їх надійної реєстрації. Останнє зумовлене тим, що при інтенсивному лазерному випромінюванні може відбуватися деградація досліджуваних речовин як за рахунок їх нагрівання, так і за рахунок фотохімічних реакцій. Для перевірки однорідності SERS-підкладок спектри реєструвалися в декількох точках на кожному типі підкладок.

## 3. Результати та їх обговорення

Формування SERS-підкладок у даній роботі полягало в контрольованій агрегації колоїдних НЧ золота та срібла на підкладках зі спеціально розро-



**Рис. 1.** Загальний вигляд отриманих мідних підкладок на склі, зображення отримане цифровою камерою через оптичний мікроскоп (а). Більш детальні зображення, отримані зі зразків з різною номінальною товщиною міді (b–d)

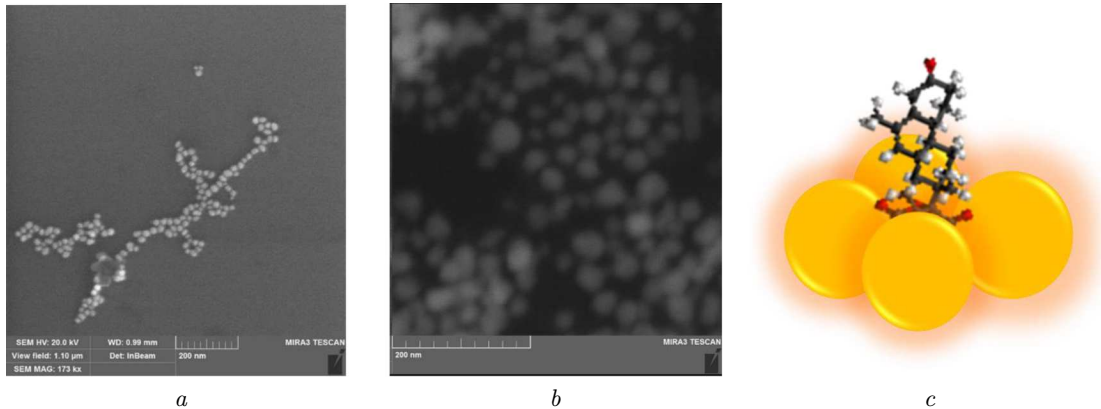


**Рис. 2.** СЕМ-зображення SERS-підкладок на основі алюмінію на різних етапах виготовлення при двох різних збільшеннях: вихідний шар алюмінію (а, b), нанесений шар  $\text{SiO}_x$ , додано 10 нм золота (с, d), Al/ $\text{SiO}_x$ /Au після термічного відпалу при температурі 450 °С протягом 10 хв. (е, f)

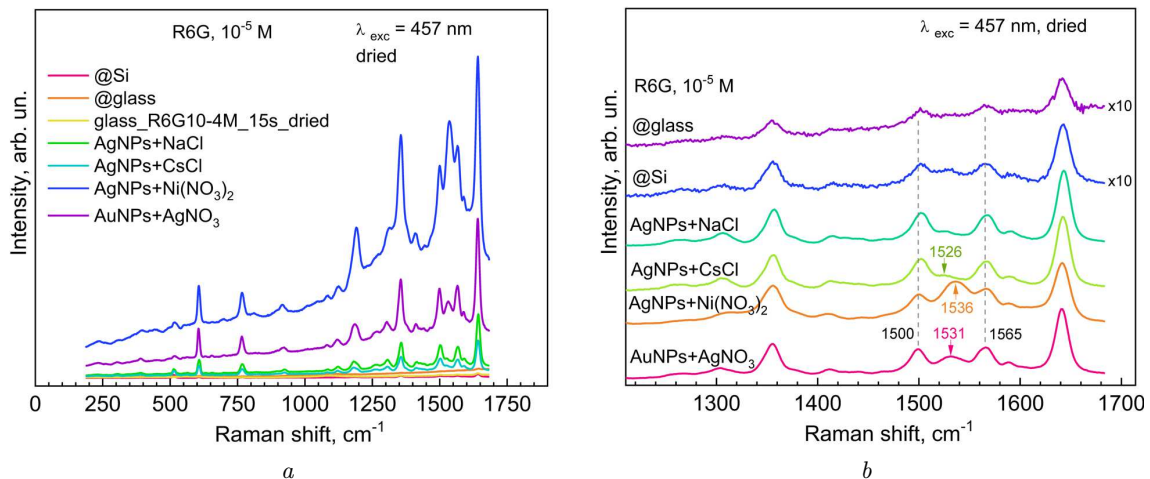
бленою морфологією поверхні. Результати дослідження підкладок зі спеціальною мікроструктурованою поверхнею оптичною мікроскопією наведено на рис. 1. З даних зображень видно, що варіювання номінальної товщини осадженої міді від кількох мікрометрів (рис. 1, b) до кількох десятків мікрометрів (d) суттєво впливає на морфологію підкладки. Метою використання такої мікроструктурованої підкладки замість скляної або кремнієвої підкладок з плоскою поверхнею є більш

рівномірний розподіл аналіту по їх поверхні та додаткове формування “гарячих точок”, що можна осаджувати в суміші з аналітом на такі підкладки. Крім того, така морфологія може сприяти збудженню делокалізованих плазмонів, а отже додатковому підсиленню раманівського сигналу.

На рис. 2 наведено зображення, отримані за допомогою скануючої електронної мікроскопії (СЕМ) на різних етапах виготовлення підкладок на основі алюмінію при різному збільшенні.



**Рис. 3.** Поверхня підкладки, наноструктурована колоїдними НЧ золота (а) та срібла (b). На (c) показано схематичне зображення формування “гарячої точки” на поверхні SERS-підкладки, структурованої наносферами, для яких притаманний плазмонний резонанс

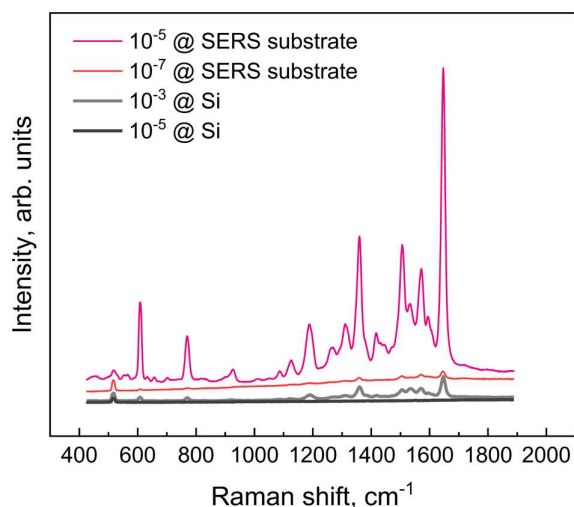


**Рис. 4.** SERS-спектри молекул аналіту (R6G), осаджені з водного розчину з концентрацією  $10^{-5}$  M, отримані за допомогою SERS-підкладок, розроблених у даній роботі: спектри з абсолютною інтенсивністю безпосередньо після виміру (a), нормовані спектри на інтенсивність смуги  $1350 \text{ cm}^{-1}$  (b)

Зокрема, на рис. 2, a, b показано поверхню вихідного шару алюмінію, на (c, d) морфологію поверхні після нанесення тонкого (10–20 нм) шару  $\text{SiO}_x$ . Після наплення шару золота товщиною приблизно 10 нм формується типова лабіринтоподібна структура нанометрового масштабу (e, f). Відпал такої багаточислової структури, Al/SiO<sub>x</sub>/Au при температурі 450 °C протягом 10 хв. призводить до формування острівцевоподібної морфології, для якої вже притаманні властивості плазмонного резонансу у видимій області спектра [14, 15].

Для підвищення ефективності SERS-підкладок, в даній роботі проводилося осадження колоїдних

НЧ золота або срібла (рис. 3, a, b), попередньо додавши до колоїдного розчину агрегаційні агенти у вигляді розчинів солей, які легко дисоціюють у воді. Позитивно та негативно заряджені іони, що утворюються в результаті дисоціації, не лише спричиняють контрольовану агрегацію металевих НЧ для утворення “гарячих точок” (рис. 3, c), а й можуть покращити адсорбцію певного аналіту на поверхню агрегату [22, 23]. У випадку додавання  $\text{AgNO}_3$ , можна також очікувати додаткового підсилення від фотоіндукованого формування нових срібних НЧ в процесі раманівських вимірів.



**Рис. 5.** SERS-спектри молекул R6G різної концентрації, отримані за допомогою SERS-підкладок, розроблених у даній роботі ( $\lambda_{\text{збудж}} = 457 \text{ нм}$ ), а також спектри на підкладці з кремнію, наведені для порівняння

Як тестовий об'єкт розроблених SERS-підкладок нами було використано аналіт – родамін 6Ж (R6G), який є не лише стандартним аналітом для демонстрації ефективності SERS-підкладок [24], а й раманівським маркером для SERS-детектування біомолекул, що не проявляють достатньої власної раманівської активності навіть за умови ефективного плазмонного підсилення [25].

Максимальне підсилення нами спостерігалось для SERS-підкладок, що були отримані агрегацією металевих НЧ за допомогою нітратів (рис. 4, а). При цьому співмірне підсилення для нітрату нікелю та нітрату срібла вказує на те, що підсилення досягається саме за рахунок дії іонів як агрегуючих агентів, а не формування додаткових плазмонних НЧ в результаті фотовідновлення іонів металу. Дещо сильніше підсилення у випадку використання нітрату нікелю може бути пов'язане з удвічі більшою кількістю нітрат-іонів порівняно з нітратом срібла при однаковій концентрації молекул.

З отриманих нами даних можна також зробити висновок про те, що тип катіона впливає не лише на інтенсивність раманівського сигналу, а й на його спектральні характеристики, тобто відносну інтенсивність смуг. Зокрема, смуга з максимумом 1531–1536  $\text{cm}^{-1}$  має помітно більшу інтенсивність у випадку застосування нітратів, ніж у випадку NaCl та CsCl (рис. 4, б). Такі відмінності у спе-

ктрах можуть вказувати як на різну геометрію адсорбції молекул аналіту в присутності іонів різного знака та величини заряду [26], так і на внесок хімічного механізму SERS-підсилення, який безпосередньо пов'язаний з розподілом електричних зарядів у системі НЧ-аналіт [18]. Це питання потребує подальшого більш глибокого дослідження з застосуванням більш широкого комплексу спектроскопічних методів.

Варто звернути увагу на таку особливість на SERS-спектрах, як прояв нерівномірної зміни загальної інтенсивності смуг залежно від концентрації розчину досліджуваних молекул (рис. 5).

Зокрема, при зміні концентрації родаміну на 2 порядки, з 10<sup>-7</sup> до 10<sup>-5</sup>, можна було б очікувати, що інтенсивність смуг на SERS-спектрах повинна також змінитися у 100 разів. Проте, вимірювання інтенсивності найбільш інтенсивної смуги ( $\sim 1646 \text{ cm}^{-1}$ ) показує збільшення інтенсивності лише у 40 разів. Складається враження, що ефективність SERS-підкладок при осадженні на них молекул з розчину з різними концентраціями є різною. Цей факт можна пояснити таким чином. При малих концентраціях розчину підкладка покривається молекулами не повністю, і лише при певній концентрації молекул R6G в розчині їх осадження на SERS-підкладку забезпечує повне покриття її поверхні моношаром. Подальше збільшення концентрації буде призводити до формування додаткових шарів молекул поверх моношару. Зрозуміло, що найбільший внесок у SERS-підсилення буде давати перший шар молекул, а внесок інших шарів буде зменшуватися згідно з  $r^{-10}$ , де  $r$  – відстань від золотих НЧ до аналіту [18]. Оскільки інтенсивність смуг у SERS-спектрі є суперпозицією розсіяння від кожного шару, то стає зрозуміло, що загальна інтенсивність смуг від 10 шарів не буде зростати навіть у 2 рази порівняно з інтенсивністю від моношару. Розрахунки показують, що молекули R6G, ефективна площа яких становить  $\sim 1,51 \text{ nm}^2$ , повністю покривають поверхню підкладки одним шаром при концентрації розчину 10<sup>-6</sup> М. Звідси стає зрозумілим, чому при збільшенні концентрації розчину з 10<sup>-7</sup> до 10<sup>-5</sup> М інтенсивність смуг зросла лише у 40 разів.

У нашій попередній роботі [8] досліджувалася дана проблема для більш широкого діапазону концентрації стандартного аналіту на основі молекул CV, осадженого на плазмонні підкладки, що явля-



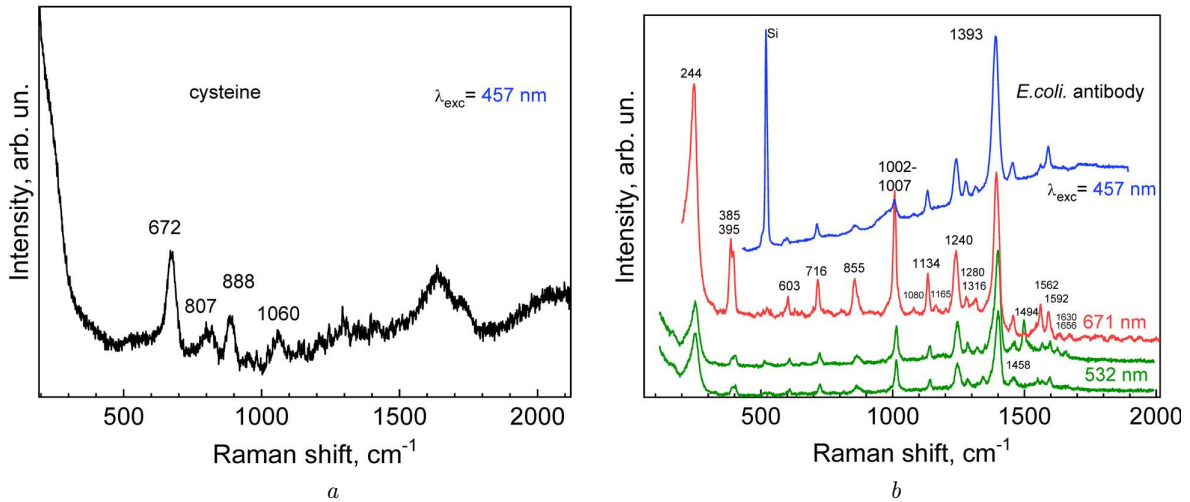


Рис. 6. SERS-спектри біомолекул, отримані за допомогою SERS-підкладок, розроблених у даній роботі: спектр цистеїну при збудженні  $\lambda_{\text{збудж}} = 457$  нм (а) та антитіла *E. coli* при різних  $\lambda_{\text{збудж}}$  (б)

ли собою шар золотих “нанозірок”. Було виявлено суттєво більше “відставання” росту інтенсивності SERS-смуг від концентрації молекул, осаджених на SERS-підкладки з “нанозірок”, порівняно з даною роботою. Зокрема, при збільшенні концентрації молекул CV від  $10^{-8}$  до  $10^{-7}$  М інтенсивність смуг зростає в 6 раз, а при зміні від  $10^{-5}$  до  $10^{-4}$  М всього в 1,5 раз. Закономірно виникало питання: чому інтенсивність смуг у SERS-спектрі не росте лінійно зі зміною концентрації навіть в області малих концентрацій, коли ще не сформувався моношар (наприклад, в області від  $10^{-8}$  до  $10^{-7}$  М). При збільшенні концентрації розчину на порядок кількість молекул, що адсорбуються на золотих НЧ, зростає також на порядок. Водночас збільшення інтенсивності смуг на SERS-спектрах всього в 6 раз може свідчити про те, що не всі молекули CV підсилювалися однаково. Тобто існує нелінійна залежність між кількістю молекул та інтенсивністю SERS-сигналу, яка може бути зумовлена формуванням “гарячих точок”. Таким чином, з більш лінійного зростання інтенсивності раманівських смуг аналіту в даній роботі можна зробити висновок про існування більшої кількості “гарячих точок”, порівняно з попередніми роботами, та/або більш рівномірного та ефективного розподілу цих точок та аналіту по поверхні SERS-підкладки. У попередніх роботах неодноразово зазначалося, що для певних типів SERS-підкладок основний внесок у підсилення сигналу дають саме “гарячі точки” [27].

Сканування SERS-сигналів по поверхні підкладки в центрі плям обох типів SERS-підкладок показали, що інтенсивності спектрів відрізняються не більше 5–10 відсотків, що свідчить про їх поверхневу однорідність. Ми розраховували поверхневу щільність досліджуваних молекул на підкладках, не враховуючи ефектів змочуваності поверхні досліджуваними розчинами. Відомо, що коефіцієнт підсилення SERS-сигналу визначається згідно з формулою [18]:  $k = (I_{\text{SERS}}/N_{\text{SERS}})/(I_{\text{RS}}/N_{\text{RS}})$ , де  $I_{\text{SERS}}$  та  $I_{\text{RS}}$  – інтенсивності SERS і звичайного раманівського сигналів,  $N_{\text{SERS}}$  та  $N_{\text{RS}}$  – кількість молекул, що дають внесок в SERS та в раманівське розсіювання, відповідно.

Запропонований у даній роботі підхід до формування SERS-підкладок дозволяє отримувати підсилення від різних типів аналітів, зокрема біомолекул, як продемонстровано на рис. 6 на прикладі молекул амінокислоти цистеїну (а) та антитіла *E. coli* (б).

#### 4. Висновки

Таким чином, у роботі продемонстровано можливість створення універсальних, недорогих та ефективних SERS-підкладок шляхом контрольованої агрегації наночастинок (НЧ) золота або срібла на підкладках зі спеціально розробленою морфологією поверхні. На відміну від більшості попередніх робіт по розробці та дослідженню SERS-

підкладок, в яких підсилення реалізується переважно на окремих НЧ чи нанострівцях, перехід до багаторівневого структурування підкладки та керованої агрегації осаджених на неї колоїдних плазмонних НЧ суттєво збільшує ймовірність утворення “гарячих точок”, а також потрапляння в них молекул аналіту. З більш лінійного зростання інтенсивності раманівських смуг аналіту в даній роботі дійсно можна зробити висновок про існування більшої кількості “гарячих точок” порівняно з попередніми роботами та/або більш рівномірного та ефективного розподілу цих точок та аналіту по поверхні підкладки. Ефективність запропонованого підходу продемонстровано як на стандартному аналіті (R6G), так і на органічних аналітах різного типу – амінокислоті цистеїн та антибіотиках *E. coli*.

*Робота виконана за фінансової підтримки Національного фонду досліджень України, в рамках спільного виконання завдань грантоотримувача (В.М.Д., М.М.Б., О.А.К., В.О.Ю., Н.В.М.) та субвиконавця (Я.В.П., А.Ю.Б., С.Г.П.) проекту за грантом № 2020.02/0204 (2020–2022). Автори вдячні М.А. Скоричу (Інститут проблем матеріалознавства ім. І.М. Францевича НАН України) за СЕМ-вимірювання.*

1. J.A. Huang, M.Z. Mousavi, G. Giovannini, Y. Zhao, A. Hubarevich, M.A. Soler, W. Rocchia, D. Garoli, F. De Angelis. Multiplexed discrimination of single amino acid residues in polypeptides in a single SERS hot spot. *Angew. Chemie – Int. Ed.* **59**, 11423 (2020).
2. A. Szaniawska, A. Kudelski. Applications of surface-enhanced raman scattering in biochemical and medical analysis. *Front. Chem.* **9**, 664134 (2021).
3. C. Zong, M. Xu, L. Xu, T. Wei, X. Ma, X. Zheng, R. Hu, B. Ren. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis?: Reliability and challenges. *Chem. Rev.* **118**, 4946 (2018).
4. A. Muravitskaya, A. Romyantseva, S. Kostcheev, V. Dzhanagan, O. Stroyuk, P.-M. Adam. Enhanced Raman scattering of ZnO nanocrystals in the vicinity of gold and silver nanostructured surfaces. *Opt. Express* **24**, A168 (2016).
5. I. Mukha, O. Chepurina, N. Vityuk, A. Khodko, L. Storozhuk, V. Dzhanagan, D.R.T. Zahn, V. Ntziachristos, A. Chmyrov, T.Y. Ohulchansky. Multifunctional magneto-plasmonic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/Au nanocomposites?: Approaching magnetophoretically-enhanced photothermal therapy. *Nanomaterials* **11**, 1113 (2021).
6. M. Borovaya, I. Horiunova, S. Plokhovska, N. Pushkarova, Y. Blume, A. Yemets. Synthesis, properties and bioimaging applications of silver-based quantum dots. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 12202 (2021).
7. K. Vus, U. Tarabara, I. Danylenko, Y. Pirko, T. Krupodorova, A. Yemets, Y. Blume, V. Turchenko, D. Klymchuk, P. Smertenko, O. Zhytniakivska, V. Trusova, S. Petrushenko, S. Bogatyrenko, G. Gorbenko. Silver nanoparticles as inhibitors of insulin amyloid formation: A fluorescence study. *J. Mol. Liq.* **342**, 117508 (2021).
8. E.V. Klyachkovskaya, N.D. Strekal, I.G. Motevich, S.V. Vashchenko, M.Y. Valakh, A.N. Gorbacheva, M.V. Belkov, S.V. Gaponenko. Enhancement of Raman scattering by ultramarine using silver films on surface of germanium quantum dots on silicon. *Opt. Spectrosc.* **110**, 48 (2011).
9. O.L. Stroyuk, V.M. Dzhagan, A.V. Kozytskiy, A.Y. Breslavskiy, S.Y. Kuchmiy, A. Villabona, D.R.T. Zahn. Nanocrystalline TiO<sub>2</sub>/Au films: Photocatalytic deposition of gold nanocrystals and plasmonic enhancement of Raman scattering from titania. *Mater. Sci. Semicond. Process.* **37**, 1 (2015).
10. V.O. Yukhymchuk, S.A. Kostyukevych, V.M. Dzhagan, A.G. Milekhin. SERS of Rhodamine 6G on substrates with laterally ordered and random gold nanoislands. *Semicond. Physics, Quantum Electron. Optoelectron.* **15**, 232 (2012).
11. O.A. Yeshchenko, V.Y. Kudrya, A.V. Tomchuk, I.M. Dimitruk, N.I. Berezovska, P.O. Teselko, S. Golovynskyi, B. Xue, J. Qu. Plasmonic nanocavity metasurface based on laser-structured silver surface and silver nanoprisms for the enhancement of adenosine nucleotide photoluminescence. *ACS Appl. Nano Mater.* **2**, 7152 (2019).
12. B.-H. Jun, G. Kim, M.S. Noh, H. Kang, Y.-K. Kim, M.-H. Cho, D.H. Jeong, Y.-S. Lee. Surface-enhanced Raman scattering-active nanostructures and strategies for bioassays. *Nanomedicine* **6**, 1463 (2011).
13. M. Rahaman, A.G. Milekhin, A. Mukherjee, E.E. Rodyakina, A.V. Latyshev, V.M. Dzhagan, D.R.T. Zahn. The role of a plasmonic substrate on the enhancement and spatial resolution of tip-enhanced Raman scattering. *Faraday Discuss.* **214**, 309 (2019).
14. V.O. Yukhymchuk, O.M. Hreshchuk, V.M. Dzhagan, N.A. Matveevskaya, T.G. Beynik, M.Y. Valakh, M.V. Sakhno, M.A. Skoryk, S.R. Lavoryk, G.Y. Rudko, N.A. Matveevskaya, T.G. Beynik, M.Y. Valakh. Experimental studies and modeling of “Starlike” plasmonic nanostructures for SERS application. *Phys. Status Solidi Basic Res.* **256**, 1800280 (2019).
15. O.M. Hreshchuk, V.O. Yukhymchuk, V.M. Dzhagan, V.A. Danko, V.I. Min, I.Z. Indutnyi. Optics Efficient SERS substrates based on laterally ordered gold nanostructures made using interference lithography. *SPQEO* **22**, 215 (2019).
16. O.S. Kulakovich, D.V. Korbutyak, S.M. Kalytchuk, S.I. Budzulyak, O.A. Kapush, L.I. Trishchuk, S.V. Vashchenko, V.V. Stankevich, A.A. Ramanenka. Influence of conditions for synthesis of CdTe nanocrystals on their

- photoluminescence properties and plasmon effects. *J. Appl. Spectrosc.* **79**, 774 (2012).
17. I. Dmitruk, I. Blonskiy, I. Pavlov, O. Yeshchenko, A. Alexeenko, A. Dmytruk, P. Korenyuk, V. Kadan. Surface plasmon as a probe of local field enhancement. *Plasmonics* **4**, 115 (2009).
  18. X. Wang, S. Huang, S. Hu, S. Yan, B. Ren. Fundamental understanding and applications of plasmon-enhanced Raman spectroscopy. *Nat. Rev. Phys.* **2**, 253 (2020).
  19. V. Chegel, O. Rachkov, A. Lopatynskiy, S. Ishihara, I. Yanchuk, Y. Nemoto, J.P. Hill, K. Ariga. Gold nanoparticles aggregation: Drastic effect of cooperative functionalities in a single molecular conjugate. *J. Phys. Chem. C* **116**, 2683 (2012).
  20. N.G. Bast's, J. Comenge, V. Puentes. Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: Size focusing versus ostwald ripening. *Langmuir* **27**, 11098 (2011).
  21. Y.L. Mikhlin, S.A. Vorobyev, S.V. Saikova, E.A. Vishnyakova, A.S. Romanchenko, S.M. Zharkov, Y.V. Larichev. On the nature of citrate-derived surface species on Ag nanoparticles: Insights from X-ray photoelectron spectroscopy. *Appl. Surf. Sci.* **427**, 687 (2018).
  22. S.D. Iancu, A. Stefancu, V. Moisiu, L.F. Leopold, N. Leopold. The role of Ag<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> and Al<sup>3+</sup> adions in the SERS turn-on effect of anionic analytes. *Beilstein J. Nanotechnol.* **10**, 2338 (2019).
  23. N. Leopold, A. Stefancu, K. Herman, I.S. Tódor, S.D. Iancu, V. Moisiu, L.F. Leopold. The role of adatoms in chloride-activated colloidal silver nanoparticles for surface-enhanced Raman scattering enhancement. *Beilstein J. Nanotechnol.* **9**, 2236 (2018).
  24. Y. Maruyama, M. Futamata. Anion induced SERS activation and quenching for R6G adsorbed on Ag nanoparticles. *Chem. Phys. Lett.* **448**, 93 (2007).
  25. A. Jaworska, T. Wojcik, K. Malek, U. Kwolek, M. Kepczynski, A.A. Ansary, S. Chlopicki, M. Baranska. Rhodamine 6G conjugated to gold nanoparticles as labels for both SERS and fluorescence studies on live endothelial cells. *Microchim. Acta* **182**, 119 (2015).
  26. N.R. Yaffe, E.W. Blanch. Effects and anomalies that can occur in SERS spectra of biological molecules when using a wide range of aggregating agents for hydroxylamine-reduced and citrate-reduced silver colloids. *Vib. Spectrosc.* **48**, 196 (2008).
  27. S.L. Kleinman, R.R. Frontiera, A.-I. Henry, J.A. Dieringer, R.P. Van Duyne. Creating, characterizing, and controlling chemistry with SERS hot spots. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **15**, 21 (2013).

Одержано 15.12.21

V.M. Dzhagan, Ya.V. Pirko, A.Yu. Buziashvili,  
S.G. Plokhovska M.M. Borova, A.I. Yemets, N.V. Mazur,  
O.A. Kapush, V.O. Yukhymchuk

#### CONTROLLED AGGREGATION OF PLASMONIC NANOPARTICLES TO ENHANCE THE EFFICIENCY OF SERS SUBSTRATES

A possibility of creating universal and effective SERS substrates via controlled aggregation of gold and silver colloidal nanoparticles (NPs) on substrates with a specially developed surface morphology has been demonstrated. Unlike the previous work on the development and research of SERS substrates, in which the enhancement was mainly realized on separate protruding nanoparticles or nanoislands, the change to the multilevel substrate structuring and the controlled aggregation of the deposited colloidal plasmonic NPs substantially increases the formation probability of hot spots and getting analyte molecules onto them. The efficiency of the proposed approach has been demonstrated for several organic analytes of various types, in particular, the R6G dye, the cysteine amino acid, and *E. coli* antibodies.

*Keywords:* SERS substrates, Raman spectroscopy, R6G, biomolecules.