



**HAL**  
open science

# Développement d'un substrat SPRi/SERS pour des applications en détection moléculaire

Raymond Gillibert

► **To cite this version:**

Raymond Gillibert. Développement d'un substrat SPRi/SERS pour des applications en détection moléculaire. Autre [q-bio.OT]. Université Sorbonne Paris Cité, 2017. Français. NNT : 2017US-PCD003 . tel-01715477

**HAL Id: tel-01715477**

**<https://theses.hal.science/tel-01715477>**

Submitted on 22 Feb 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Paris 13

Institut Galilée

Laboratoire de Chimie, Structure, Propriétés des Biomatériaux et Agents Thérapeutiques

Horiba Jobin Yvon

Thèse Présentée par

Raymond Gillibert

Pour obtenir le grade de

Docteur en Sciences de l'Université Paris 13.

Sujet de thèse :

**Développement d'un substrat SPRI/SERS pour des applications  
en détection moléculaire**

Soutenue le 31 Mai 2017

Dr. JEAN-FRANÇOIS BARDEAU

Prof. ADNEN MLAYAH

Université du Maine

Université Paul Sabatier

Rapporteur

Rapporteur

Prof. BERNARD HUMBERT

Dr. EMMANUEL RINNERT

Dr. MAHMOUD CHAKAROUN

Dr. CATALINA DAVID

Prof. MARC LAMY DE LA CHAPELLE

Université de Nantes

Ifremer, Brest

Université Paris 13

Horiba Jobin Yvon S.A.S.

Université Paris 13

Examineur

Examineur

Examineur

Responsable Industriel

Directeur de thèse



# Abréviations

**A** : Adénine

**BM** : Mode de Bragg

**BPE** : 1,2-di(4-pyridyl)ethylene

**BT** : Benzenethiol ou Thiophenol.

**C** : Cytosine

**DDA** : Approximation des dipôles discrets (*Discrete Dipole Approximation*)

**DFT** : Théorie de la fonctionnelle de la densité (*Density Functional Theory*)

**FEM** : Méthode de décomposition en éléments finis (*Finite Elements Method*)

**G** : Guanine

**IR** : Infrarouge

**LSP** : Plasmon de surface localisé (*Localised Surface Plasmon*)

**LSPR** : Résonance Plasmon de surface localisé (*Localised Surface Plasmon Resonance*)

**MnSOD** : *Manganese superoxide dismutase*

**NP(s)** : Nanoparticule(s)

**OTA** : Ochratoxine A

**RCWA** : *Rigorous coupled-wave analysis*

**SERS** : Diffusion Raman Exaltée de surface (*Surface Enhanced Raman Scattering*)

**SPR** : Résonance plasmon de surface (*Surface Plasmon Resonance*)

**SPRi** : Imagerie par résonance plasmon de surface (*Surface Plasmon Resonance Imaging*)

**T** : Thymine

**UV** : Ultraviolet

**UV-NIL** : Lithographie par nano-implosion ultraviolet (*Ultraviolet nanoimprint lithography*)



# Remerciements

Les remerciements dans une thèse sont quelque chose de personnel. J'ai décidé de mentionner le nom de toutes les personnes qui m'ont aidé ou soutenu durant ma thèse ainsi que les gens avec lesquels j'ai travaillé et qui m'ont apporté d'une manière ou d'une autre. Ayant travaillé dans de nombreux laboratoires tout au long de ma thèse qui s'inscrit dans une longue collaboration, ma liste ne peut être exhaustive, c'est pourquoi je remercie en premier lieu tout les partenaires du projet Piranex, puis l'ensemble du personnel de Horiba Jobin Yvon, entreprise dont j'étais un humble employé.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse le Professeur **Marc Lamy de la Chapelle** qui m'a accompagné tout au long de ma thèse, qui a toujours répondu à mes questions. Je remercie également la directrice du laboratoire, madame le professeur **Véronique Migonney**, qui m'a permis d'intégrer le laboratoire CSPBAT, dont la direction fut reprise par le Professeur **Philippe Savarin**, que je remercie également pour ses discussions scientifiques.

Je voudrais remercier le professeur **Adnen Mlayah** et le directeur de recherche **Jean-François Bardeau** pour avoir accepté d'être rapporteurs de ma thèse. Merci à **Bernard Humbert** d'être le président du jury.

Au sein de Horiba Jobin Yvon, je voudrais remercier madame le docteur **Catalina David**, qui m'a suivi tout au long de ma thèse, me permettant d'effectuer des expériences à Villeneuve d'Ascq, siège de l'entreprise. Merci également pour toute l'aide scientifique apportée. Je voudrais remercier également **Philippe De Bettignies**, responsable R&D dans la division spectroscopie Raman, pour l'attention qu'il m'a portée et la constructivité des discussions que nous avons eues. Merci également à **Emmanuel Maillart**, responsable du Projet Piranex, qui a beaucoup travaillé avec moi à Palaiseau. Merci également à **Karen Mercier**, pour l'ensemble de ses mesures SPRi qui furent d'une grande utilité dans la collaboration. Enfin un grand merci à la doctorante Mademoiselle **Aurore Olivero**, qui a travaillé sur la conception, et le design du prototype Pira-one.

J'ai beaucoup travaillé tout au long de ma thèse avec le laboratoire Charles Fabry, je voudrais remercier l'ensemble des membres du laboratoire mais tout particulièrement le professeur **Michael Canva**, qui a permis la coordination du projet avec la partie simulation. Je voudrais également remercier le docteur **Julien Moreau**, pour ses travaux, ainsi que **Mitradeep Sarkar**, qui a pu grâce à son expertise sur la modélisation et la plasmonique m'apporter beaucoup, j'ai également été très content de lui apporter des approches nouvelles de la caractérisation plasmonique, sur laquelle nous avons beaucoup travaillé ensemble.

La collaboration avec l'institut d'électronique fondamental s'est également avérée très fructueuse et ce principalement grâce au professeur **Bernard Bartenlian**, ainsi qu'au doctorant **Jean-François Bryche**, en charge de la nano-fabrication pour le projet Piranex. Merci également au post-doctorant **Grégory barbillon** qui a travaillé sur la nano-fabrication.

Grâce à l'expertise de l'institut des nanotechnologies de Lyon (INL), le projet s'est trouvé muni de compétences sur la fonctionnalisation de surface. Je voudrais remercier dans ce laboratoire le professeur **Jean-Pierre Cloarec** pour toute l'aide et les éclaircissements qu'il m'a apportés.

De plus, merci à **Douglas Rutledge**, d'AgroParisTech qui m'a beaucoup apporté sur les problématiques du projet et des applications.

J'ai eu l'honneur de travailler avec l'Ifremer, en particulier avec le doctorant **Florent Colas** ainsi que le docteur **Emmanuel Rinnert**. Nous avons ensemble effectué un certain nombre de mesures de la pollution environnementale à bord des Côtes de la Manche dans la Rade de Brest avec l'aide de **Morgan Tradivel**, **Kada Boukerma**, **Florence Mondeguer**, **Bertrand Fores** et **Ika Paul-Pont**.

Merci au professeur **Nordin Felidj** ainsi qu'à **Alexandre Chevillot** pour m'avoir permis d'utiliser leur matériel d'évaporation thermique à l'université de Paris Diderot. Merci également à **Claire Mangeney** pour ses mesures XPS.

Pour le reste, je voudrais remercier l'ensemble des membres permanent du laboratoire CSPBAT, en particulier **Nathalie Lidgi**, **Nathalie Dupond**, **Carole Barbey**, **Nadia Bouchmal**, **Nadia Djaker**, **Jolanda Spadavecchia**. Ainsi que les techniciens **Frédéric Geinguenaud** et **Odile Sainte-Catherine**. Également un grand merci à **Mohamed Triba** pour son aide pour tous les traitements statistiques. Mais aussi des laboratoires voisins **Erwan Guenin**, que j'ai toujours apprécié pour sa rigueur scientifique. Merci à **Laurance Mott**, et **Yohan Lalatone** pour leurs discussions engagées.

Merci aux post-doctorants que le laboratoire a accueillis pendant ma thèse, qui sont **Ryohei Yasukuni**, **Gennaro Picardi**, et **Élise Usureau**, avec lesquels j'ai partagé de nombreuses expériences.

Je voudrais également remercier les doctorants avec lesquels j'ai travaillé, **Maximilien Cottat**, qui a soutenu dès le début de ma thèse et que j'ai beaucoup apprécié pour ses compétences biologiques bien qu'il fût un physicien. Merci également à **Inga Tjunelyte** avec laquelle j'ai beaucoup travaillé sur la détection même si nous n'avons pas encore publié ensemble, je la remercie également pour sa bienveillance envers tout le monde dans le laboratoire et ses capacités à toujours être sympathique. Merci à **Sadequa Sultana** pour ses discussions hors labeur pendant les pauses cigarettes d'Inga. Je tiens tout particulièrement à remercier **Shivalika Tanwar**, pour les

heures que nous avons passées à discuter de tout, pour avoir été toujours très humaine et pour m'avoir accordé de la confiance. Je la remercie également pour l'aide qu'elle a pu m'apporter grâce à ses compétences en modélisation moléculaire et en chimie analytique. Enfin, je la remercie pour son aide dans la langue anglaise qu'elle maîtrise bien mieux que moi. Merci à **Hanane Moustou**, doctorante dans le laboratoire, ainsi qu'à **Agnès Victor-Bala**, qui a intégré l'équipe suite à son stage de M2. Merci également à **Néné Thioune**, **Diego Santo Domingo Porqueras**, et **Romain Aaufaure**, avec lesquels j'ai beaucoup partagé et qui sont maintenant tous les trois docteurs. Merci aussi à **Katarzyna Matyja**, pour ses « *News* » de bon matin, pendant le café. Je lui souhaite de soutenir bientôt sa thèse. Merci aussi à **Dihia Issaad**, doctorante à Sétif avec laquelle j'ai eu de nombreux échanges scientifiques et non scientifiques lors de ses quelques passages à l'université de Paris 13. Merci également aux étudiants avec lesquels j'ai partagé mon bureau, et avec lesquels j'ai eût l'occasion de travailler. Merci donc à **Zohra Meziane**, qui a travaillé avec nous sur la détection avec des Fab, Merci à **Yo Homma**, qui a travaillé sur la caractérisation SERS de la protéine Syk. Merci enfin aux derniers étudiants en Master, que j'ai eût le plaisir d'avoir en cours, et qui constituent un groupe très sympathique. En particulier je voudrais remercier **Nawal Ferdi**, pour m'avoir toujours posé les problèmes informatique les plus complexes, allant du simple bug logiciel au hardware des années 90 qu'il est nécessaire de faire survivre dû au matériel onéreux qui en dépend. Merci à **Fatima Aouidat**, qui a travaillé avec nous sur la nanomédecine. Merci également à **Célia Arib** pour son amabilité et avec laquelle travailler est très agréable et enfin merci à **Yousra Haddadi**, pour son très bon travail dans la continuité des travaux de ma thèse sur la plasmonique.

Je voudrais également remercier les étudiants que j'ai encadré pendant ma thèse, et qui m'ont beaucoup apporté en matière d'approche pédagogique et de contact humain en général, merci ainsi à **Fatma Chtara**, **Tassadit Tafer**, qui a effectué ses deux stages de master avec moi, ainsi qu'à **Sidney Silvia**, qui a effectué son stage de M2 avec moi. Merci aussi à **Alexandru Sabau**. J'espère que je vous ai autant apporté que vous m'avez donné.

Enfin un grand merci à ma famille pour m'avoir toujours soutenu dans mon parcours scolaire, pour m'avoir montré l'exemple des études supérieures et sans les quels je ne serais pas ici. En particulier, merci à **Yannick**, **Catherine** et **André**, pour leurs compétences grammaticales sur la langue française, dépassant bien mes humbles connaissances en la matière.

Merci !





# Sommaire

Chapitre I. Introduction .....	3
I.1. Plasmon / SERS .....	3
I.1.1 Plasmon de surface délocalisé .....	4
I.1.1.1. Principe physique .....	4
I.1.1.2. Excitation des plasmons de surface .....	8
I.1.1.3. Détection par résonance des plasmons de surface .....	9
I.1.1.4. Fonctionnalisation de surface .....	12
I.1.2. Résonance plasmon de surface localisée .....	12
I.1.3. Spectroscopie Raman .....	13
I.1.4. Diffusion Raman exaltée de surface .....	15
I.1.4.1 Effet électromagnétique .....	15
I.1.4.2 Effet chimique .....	16
I.2. Instrumentation bimodale SPRi/SERS .....	17
I.3. Détection par SERS .....	19
I.4. Conclusion .....	39
Bibliographie .....	40
Chapitre II. Propriétés plasmoniques des nanoparticules d'or .....	43
Introduction .....	43
II.1. SERS de nanostructures d'or sur un substrat diélectrique .....	44
II.2. Amélioration des propriétés d'exaltation en SERS par l'ajout d'un film d'or .....	55
II.3. Spécificité des échantillons sur un film d'or .....	64
II.3.1. Directivité du SERS .....	64

II.3.2. Localisation de l'exaltation .....	74
II.4. Optimisation du signal SERS dans le cas de nanostructures déposées sur un film d'or ....	86
Conclusion.....	91
Bibliographie .....	92
Chapitre III. Propriétés plasmoniques des nanoparticules d'aluminium.....	95
Introduction .....	95
III.1. Plasmonique et SERS sur des nanostructures d'aluminium déposés sur un substrat diélectrique.....	97
III.2. Plasmonique sur des nanostructures d'aluminium déposées sur un film d'aluminium ..	121
Conclusion.....	126
Bibliographie .....	127
Chapitre IV. Détection par SERS de l'ochratoxine.....	129
Introduction .....	129
IV.1. Présentation de l'ochratoxine.....	130
IV.2. Études des aptamers par spectroscopie Raman et par SERS .....	132
IV.2.1. Présentation des aptamers .....	132
IV.2.2. Étude Raman et SERS.....	134
IV.3. Détection de l'ochratoxine .....	138
Conclusion.....	143
Bibliographie .....	144
Conclusion et perspectives .....	147

## Introduction

La détection et le développement de capteurs sont une des problématiques majeures du XXI<sup>ème</sup> siècle ayant de nombreuses applications dans les domaines du biomédical, de l'agro-alimentaire ou de l'environnement. Pour les organismes de contrôle de plus en plus nombreux dans ces domaines d'application, il est nécessaire de détecter des traces infimes de biomarqueurs, de contaminants ou de polluants, dans une matrice complexe tels que des échantillons de fluides biologiques, de nourriture, de terre, d'eaux de mer ou de rivière. Ainsi une de ces applications est la détection de contaminants en agro-alimentaire. En effet, de nombreuses sources de contamination (pesticides, toxines...) peuvent intervenir lors du stockage, du transport ou de la préparation de produits alimentaires. Il est donc nécessaire de détecter de telles contaminations sous la forme de traces pour éviter tout problème de santé chez le consommateur.

Dans ce cadre, le projet Piranex avait pour but de combiner deux techniques de détection qui sont l'imagerie par résonance plasmon de surface (SPRi) et la diffusion Raman exaltée de surface (DRES ou SERS pour son acronyme anglais). Ce sont toutes deux des techniques optiques, qui sont complémentaires et l'instrument développé au cours de ce projet devrait permettre de fournir un outil qui allie la spécificité de la spectroscopie Raman et la détection d'analytes en temps réel et multiplexée par l'imagerie par résonance de plasmon de surface. Nous verrons ainsi la liste des avantages et des inconvénients de chacune de ces techniques et ce qui nous a mené à les combiner. Nous verrons que la conception d'un tel instrument a impliqué le développement d'un substrat nanostructuré dédié au couplage SPRi/SERS.

Ainsi mon sujet de thèse s'est focalisé sur l'optimisation de ces substrats nanostructurés ainsi que sur leur caractérisation en plasmonique et en SERS. Je me suis donc intéressé à la compréhension des phénomènes physiques liés à ces substrats afin de comprendre l'ensemble des règles qui régissent leurs comportements optiques ainsi qu'au développement de protocoles de détection en SERS pour les molécules cibles fixées dans le projet. Cette thèse a été effectuée dans le cadre d'une bourse Cifre et en collaboration entre le laboratoire CSPBAT de l'université Paris 13 et la division Raman de l'entreprise Horiba Scientific.

Je consacrerai le premier chapitre à la description détaillée des plasmons de surface et comment ceux-ci peuvent être utilisés pour la détection en SPRi et en SERS. Je ferai également une revue de la littérature sur la détection de contaminants en agro-alimentaire par SERS dans différents milieux.

Dans un second chapitre, je présenterai comment nous pouvons concevoir et caractériser des substrats lithographiés pour la détection en SERS. Puis je présenterai les caractéristiques plasmoniques complètes de nanostructures d'or.

Dans le troisième chapitre, j'exposerai deux études effectuées avec de l'aluminium comme matériau plasmonique. Nous verrons que les propriétés optiques différentes de l'aluminium comparativement à l'or ouvrent la porte à de nouvelles possibilités en termes d'applications.

Enfin dans le quatrième chapitre, j'analyserai les spectres Raman et SERS d'un aptamère, sonde moléculaire spécifique de la mycotoxine Ochratoxine A, qui est un contaminant alimentaire cible du projet Piranex. Nous verrons ensuite qu'il est possible grâce au SERS de détecter cette molécule à des concentrations de l'ordre de 10 pM.

## Chapitre I. Introduction

I.1. Plasmon / SERS .....	3
I.1.1 Plasmon de surface délocalisé .....	4
I.1.1.1. Principe physique.....	4
I.1.1.2. Excitation des plasmons de surface .....	8
I.1.1.3. Détection par résonance des plasmons de surface .....	9
I.1.1.4. Fonctionnalisation de surface .....	12
I.1.2. Résonance plasmon de surface localisée .....	12
I.1.3. Spectroscopie Raman.....	13
I.1.4. Diffusion Raman exaltée de surface .....	15
I.1.4.1 Effet électromagnétique .....	15
I.1.4.2 Effet chimique.....	16
I.2. Instrumentation bimodale SPRi/SERS .....	17
I.3. Détection par SERS .....	19
I.4. Conclusion .....	39
Bibliographie .....	40

### I.1. Plasmon / SERS

Les plasmons sont des oscillations collectives du nuage électronique d'un métal, c'est-à-dire des oscillations de plasma ; ces dernières sont quantifiées au même titre que les photons ou les phonons, ce qui mène à les définir comme des quasi-particules. Lorsque ces plasmons sont excités à l'interface plane entre un métal et un diélectrique, on parle alors de plasmon de surface. Un autre cas intéressant est celui des nanoparticules métalliques pour lesquelles l'oscillation du plasma se fait dans tout le volume de la nanoparticule et non plus strictement à l'interface métal/diélectrique. Nous étudierons ces deux cas de figure dans ce chapitre. Par la suite, nous pré-

senterons les mécanismes de la spectroscopie Raman exaltée de surface (DRES ou SERS pour son acronyme anglais), avant d'effectuer un état de l'art sur les différentes méthodes de détection par SERS des contaminants en agro-alimentaire.

## I.1.1 Plasmon de surface délocalisé

### I.1.1.1. Principe physique

À une interface plane entre un métal et un diélectrique, le cas d'un miroir par exemple, il est possible d'exciter à l'aide de photons\* un plasmon qui se propage comme une onde électromagnétique à la surface du métal (Figure 1) et qui est alors appelée plasmon de surface délocalisé ou plasmon de surface propagatif (PSP).

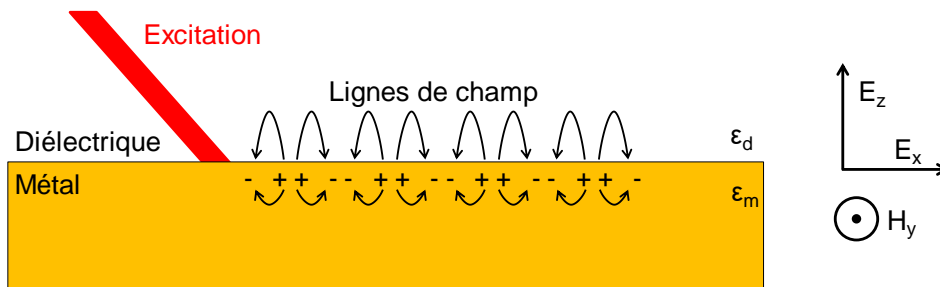


Figure 1 : Représentation de la propagation d'un plasmon de surface à l'interface entre un métal et un diélectrique de permittivité respectives  $\epsilon_m$  et  $\epsilon_d$ , les lignes de champ induites par l'onde propagative de l'oscillation des charges locales sont présentées sous formes de flèches courbes. La projection des différentes composantes du champ du plasmon est présenté à droite, le champ électrique  $E$  est dans le plan  $(x,z)$  et le champ magnétique  $H$  est le long de l'axe  $y$ .

D'un point de vue physique, on peut aisément calculer la relation de dispersion de ce plasmon, à partir des équations de Maxwell et des relations de continuités à l'interface métal/diélectrique<sup>1</sup>. En considérant une onde plane à l'interface métal/diélectrique se propageant dans le plan  $(x,y)$ , on peut exprimer les champs électriques dans le diélectrique ( $E_d$ ) et dans le métal ( $E_m$ ) comme suit :

$$\begin{aligned} E_d &= (E_{xd}, 0, E_{zd})e^{k_{xd}x+k_{zd}z-\omega t} \\ E_m &= (E_{xm}, 0, E_{zm})e^{k_{xm}x+k_{zm}z-\omega t} \end{aligned} \quad (\text{éq. 1.1})$$

Le champ magnétique est alors selon l'axe  $y$ . Les conditions de continuité à l'interface donnent les relations suivantes :

\* Cette excitation se fait sous certaines conditions expérimentales détaillées dans la section I.1.1.2.

$$\begin{aligned}
E_{xm} &= E_{xd} \\
H_{ym} &= H_{yd} \\
\varepsilon_m E_{zm} &= \varepsilon_d E_{zd}
\end{aligned}
\tag{éq. 1.2}$$

formulant la continuité du champ électrique  $E$  selon l'axe  $x$ , la continuité du champ magnétique  $H$  selon l'axe  $y$  et la continuité de l'induction électrique ( $D = \varepsilon E$ ) le long de l'axe  $z$ . Nous pouvons alors déterminer les relations entre les vecteurs d'onde dans le diélectrique,  $k_{xd}$  et  $k_{zd}$  et le métal,  $k_{xm}$  et  $k_{zm}$ , et la pulsation du plasmon :

$$k_{xd} = k_{xm} = k_x \tag{éq. 1.3}$$

$$\frac{k_{zd}}{\varepsilon_d} + \frac{k_{zm}}{\varepsilon_m} = 0 \tag{éq. 1.4}$$

$$k_x^2 + k_{zd}^2 = \varepsilon_d \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 \tag{éq. 1.5}$$

$$k_x^2 + k_{zm}^2 = \varepsilon_m \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 \tag{éq. 1.6}$$

Si on combine maintenant l'équation 1.4 avec l'équation 1.5, nous parvenons à :

$$k_x^2 + \frac{\varepsilon_d^2}{\varepsilon_m^2} k_{zm}^2 = \varepsilon_d \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 \tag{éq. 1.7}$$

Et si l'on remplace  $k_{zm}$  par sa valeur donnée dans l'équation 1.6, nous obtenons l'équation :

$$k_x^2 + \frac{\varepsilon_d^2}{\varepsilon_m^2} \left( \varepsilon_m \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 - k_x^2 \right) = \varepsilon_d \left(\frac{\omega}{c}\right)^2 \tag{éq. 1.8}$$

À partir de cette équation, l'on obtient la relation de dispersion, c'est-à-dire  $\omega(kx)$  :

$$\omega = c \sqrt{\frac{\varepsilon_m + \varepsilon_d}{\varepsilon_m \varepsilon_d}} k_x \tag{éq. 1.9}$$

Nous aboutissons ainsi à une équation bien connue. Il est important de noter que  $\varepsilon$  dépend de la pulsation  $\omega$ . Cependant, en première approximation, on peut considérer que  $\varepsilon_d$  est une constante, car la plupart des diélectriques considérés tels que l'eau, l'air, les plastiques ou le verre présentent une faible dispersion de la lumière du moment qu'on les considère dans une gamme spectrale limitée, le visible par exemple. Pour  $\varepsilon_m(\omega)$ , il est possible soit d'utiliser les mesures expérimentales



tales d'indice<sup>†</sup>, soit un modèle théorique tel que le modèle de Drude, qui permet de déterminer les variations de  $\varepsilon_m$  en fonction de  $\omega$  à partir du comportement des électrons dans le métal sous l'effet d'une excitation électromagnétique. Le modèle de Drude simplifie au maximum la description d'un métal et considère les électrons comme complètement libres et qui, à la manière d'un gaz parfait, n'interagissent que par collisions avec les ions du métal. On définit ainsi un temps moyen entre deux collisions ( $\tau$ ) et il en résulte une force de friction  $F_D$  qui s'oppose au déplacement d'un électron à une vitesse  $v$  et qui s'écrit :

$$\vec{F}_D = -\frac{m}{\tau} \vec{v} \quad (\text{éq. 1.10})$$

Lorentz a ensuite amélioré le modèle en ajoutant une force de rappel élastique  $F_L = -kx$  qui dépend de la distance  $x$  de l'électron par rapport à sa position d'équilibre ainsi que d'une constante de rappel notée ici  $k$ . Pour finir, si nous considérons une excitation électrique des électrons par une onde lumineuse  $E=E_0 e^{-i\omega t}$  cela conduit à une force de coulomb  $F_C = -e E_0 e^{-i\omega t}$  avec  $e$  la charge de l'électron. Ainsi la seconde loi de Newton se résume à :

$$\begin{aligned} m\ddot{x} &= F_D + F_L + F_C \\ m\ddot{x} &= -\frac{m}{\tau}\dot{x} - kx - eE_0 e^{-i\omega t} \end{aligned} \quad (\text{éq. 1.11})$$

Une solution de type exponentielle  $x(t) = x_0 e^{-i\omega t}$  est aisée à trouver, et  $x_0$  s'écrit simplement :

$$x_0(\omega) = \frac{eE_0}{m(\omega^2 - \omega_0^2 + i\frac{\omega}{\tau})} \quad \text{Avec} \quad \omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (\text{éq. 1.12})$$

Nous constatons tout de suite que nous avons un effet de résonance pour  $\omega = \omega_0$ .

Maintenant, afin de se ramener à des observables macroscopiques du matériau, nous pouvons calculer le moment dipolaire  $P$  induit par l'excitation du matériau par le champ électrique  $E$ .  $P$  est proportionnel au déplacement des électrons et donc à  $x(t)$  ainsi qu'à la densité électronique, notée  $n_e$ . Enfin la direction de  $P$  est donnée par la direction du champ électrique  $E$ . On peut ainsi écrire :

$$\vec{P} = -n_e x(t) \vec{u} = -n_e e \frac{x_0(\omega)}{E_0} \vec{E} \quad (\text{éq. 1.13})$$

Avec  $\vec{u}$  le vecteur unitaire du champ électrique. Nous pouvons également écrire par définition de la susceptibilité électrique  $\chi$  ainsi que de la perméabilité électrique relative  $\varepsilon_r$ .

---

<sup>†</sup> Plusieurs mesures expérimentales ont été proposées dans la littérature comme celles de Palik<sup>2</sup>, Johnson et Christie<sup>3</sup>. Celles-ci ne sont pas toutes identiques et il est possible de constater une certaine dispersion dans les valeurs expérimentales.

$$\vec{P} = \varepsilon_0 \chi_e \vec{E} \quad \text{et} \quad \varepsilon_r = 1 + \chi_e \quad (\text{éq. 1.14})$$

Il est donc finalement possible d'exprimer la permittivité relative électrique  $\varepsilon_r(\omega)$ , uniquement avec les constantes du matériau :

$$\varepsilon_r(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 - \omega_0^2 + i\frac{\omega}{\tau}} \quad \text{Avec} \quad \omega_p^2 = \frac{n_e e^2}{m \varepsilon_0} \quad (\text{éq. 1.15})$$

Avec ce modèle, il est maintenant possible de représenter la relation de dispersion d'un plasmon propagatif (figure 2), définie précédemment (éq. 1.9).

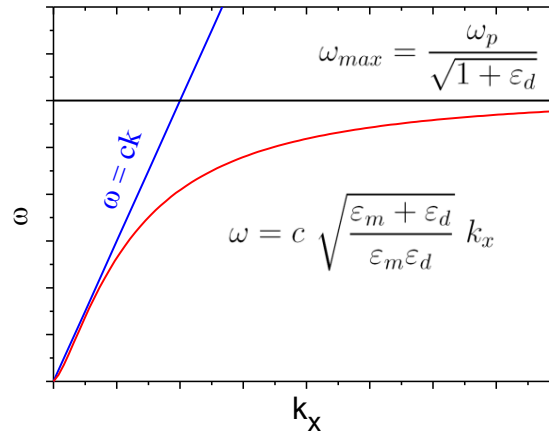


Figure 2: Représentation de la relation de dispersion du plasmon de surface (courbe en rouge). Les droites en bleu et en noir représentent respectivement la relation de dispersion de la lumière et pulsation maximale atteinte par le plasmon.

Le plasmon présente d'abord un régime linéaire proche de la courbe de lumière ( $\omega = ck$ ) pour les faibles valeurs de  $k_x$  et de  $\omega$  puis, dans une zone intermédiaire, passe par un régime asymptotique pour atteindre une valeur maximale dépendante de  $\omega_p$ . Le plasmon entre dans un régime constant où  $\omega$  ne dépend plus de  $k$  et se rapproche de  $\omega_{max}$ , qui est défini par :

$$\omega_{max} = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + \varepsilon_d}} \quad (\text{éq. 1.16})$$

L'énergie du plasmon varie donc de zéro à  $\omega_{max}$  de manière continue selon le vecteur d'onde  $k_x$ . D'un point de vue concret, si l'on regarde les équations 1.5 et 1.6, que nous pouvons réécrire :

$$k_{zd}^2 = \varepsilon_d \left( \frac{\omega}{c} \right)^2 - k_x^2 < 0 \quad (\text{éq. 1.17})$$

$$k_{zm}^2 = \varepsilon_m \left( \frac{\omega}{c} \right)^2 - k_x^2 < 0 \quad (\text{éq. 1.18})$$

On constate, que ce soit dans le métal ou le diélectrique que  $k_z^2$  est négatif à cause de l'expression de  $\omega$  (éq. 1.9), impliquant que  $k_{zm}$  et  $k_{zd}$  sont tous deux imaginaires. L'équation de l'onde du plasmon ainsi exprimée en équation 1.1, se décompose en un terme propagatif dans la direction  $x$  et en un terme d'onde évanescente selon la direction  $z$ .

On peut constater également que la droite de lumière  $\omega = ck$  est toujours supérieure à la courbe de dispersion du plasmon de surface, ce qui signifie que la lumière ne peut pas l'exciter directement. Il est donc nécessaire de trouver un moyen d'exciter les plasmons, pour cela il faudrait une onde dont le vecteur d'onde  $k$  soit égal au vecteur d'onde du plasmon. Il existe plusieurs manières d'effectuer cela. La manière la plus simple est de jouer sur l'indice de réfraction du milieu de propagation de l'onde. Auquel cas l'on peut augmenter le vecteur  $k$  pour la même fréquence excitatrice en augmentant l'indice. Cependant, si l'on augmente l'indice du diélectrique à l'interface, la courbe de dispersion du plasmon sera également altérée, ce qui signifie qu'il faut que l'indice de ce dernier soit inférieur à l'indice du milieu de propagation de l'onde excitatrice. Ceci n'est pas possible à première vue étant donné qu'il faut également que l'onde excitatrice vienne au contact de l'interface métal diélectrique. Cependant, dans les conditions de réflexion totale sur un prisme de verre par exemple, il y a formation d'une onde évanescente dont l'intensité décroît exponentiellement avec la distance au prisme. Le vecteur d'onde quant à lui correspond au vecteur d'onde à l'intérieur du prisme, donc pour un indice élevé. Il est donc possible d'exciter un plasmon propagatif avec une onde lumineuse en approchant suffisamment notre interface métal/diélectrique de cette onde évanescente. Pour cela, plusieurs configurations existent, elles sont décrites dans la section I.1.1.2.

### **I.1.1.2. Excitation des plasmons de surface**

Il est possible d'exciter les plasmons avec des photons par l'intermédiaire de prismes. Dans ce cas, deux configurations existent : la configuration Otto et la configuration Kretschmann.

La configuration Otto, qui est la plus ancienne, consiste à éclairer la surface métallique placée à une très faible distance du prisme. L'angle d'incidence du faisceau lumineux est supérieur à l'angle limite de réflexion totale, créant alors une onde évanescente dans le milieu diélectrique entre le métal et le prisme. Cette onde possède alors un vecteur d'onde supérieur à celui de l'onde excitatrice et peut donc exciter le plasmon propagatif à la surface du métal.

Pour la configuration Kretschmann, le film mince métallique est directement déposé à la surface du prisme. De la même manière, un faisceau lumineux est envoyé dans une configuration de réflexion totale et, cette fois ci, l'onde évanescente passe à travers le film métallique afin d'exciter le plasmon propagatif à l'interface métal/diélectrique opposée au prisme (Figure 3).

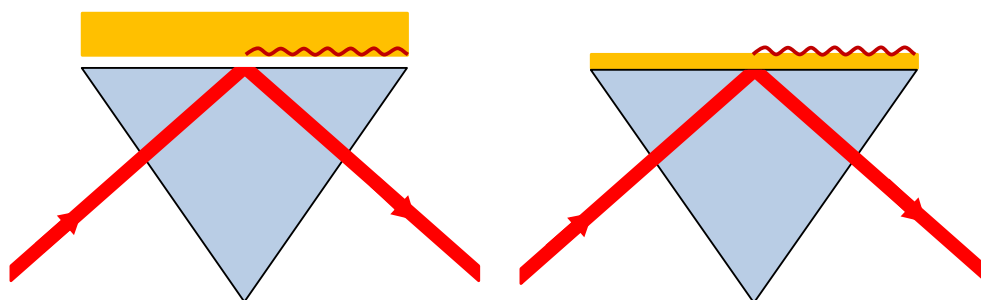


Figure 3 : représentation des configurations Otto (à gauche) et Kretschmann (à droite)

La configuration Otto, bien qu'elle fût la première proposée historiquement, est assez difficile à mettre en œuvre car il faut être capable de conserver une très faible distance, de l'ordre de quelques centaines de nanomètres entre le prisme et le métal, tout en conservant cette distance bien homogène sur une surface centimétrique. La configuration Kretschmann, quant à elle, est facile à mettre en œuvre et est largement utilisée. Dans les deux cas, le plasmon est caractérisé par la mesure de la réflectivité de la lumière en fonction de l'angle d'incidence ou en fonction de la longueur d'onde d'excitation. Un minimum de réflectivité est observé pour un angle donné à une longueur d'onde fixée ou pour une longueur d'onde donnée à un angle fixé. Ce minimum correspond au maximum d'excitation du plasmon quand l'énergie de la lumière est absorbée et se dissipe dans le mode propagatif au lieu d'être réfléchi. On parle alors de résonance plasmon de surface. La position de cette résonance est fortement dépendante bien sûr de la nature du métal, mais aussi de l'indice de réfraction de l'environnement. De manière générale, les métaux nobles (or, argent, cuivre, platine, palladium) sont préférés, car ils présentent une résonance plasmon dans le visible. De plus ils se caractérisent par une faible absorption de la lumière, ce qui induit l'excitation d'un plasmon pouvant se propager sur des grandes distances pouvant aller jusqu'à quelques dizaines de micron et présentant un bon facteur de qualité. Dans ce cas, on observe un fort contraste, c'est-à-dire que le minimum de réflectivité est proche de 0 % et le maximum proche de 100 %. L'or est particulièrement utilisé pour les applications biologiques car il possède de bonnes propriétés plasmoniques et qu'il est inerte chimiquement, ce qui le rend biocompatible.

### I.1.1.3. Détection par résonance des plasmons de surface

La relation de dispersion du plasmon propagatif (éq. 1.9) dépend de  $\epsilon_d$ , qui est assimilable au carré de l'indice de réfraction  $n^2$ . Il y a donc une forte dépendance de la pulsation plasmon  $\omega$ , en fonction de l'indice du diélectrique. Ceci fait du plasmon de surface une technique de détection très sensible. En effet dans une configuration Kretschmann typique avec une cellule fluide posée sur la surface d'or, il est possible d'adsorber des molécules en solution sur la surface métallique. L'indice de réfraction à la surface va alors augmenter, ce qui entraînera un décalage de la résonance plasmon vers le rouge. On peut ainsi observer l'adsorption de molécules suffisamment lourdes, de l'ordre du kilo Dalton ou plus en utilisant ce principe. Il existe deux approches principales : l'interrogation spectrale (SPR, *Surface plasmon resonance*) et l'imagerie SPR, appelé en-

core SPRi (*Surface plasmon resonance imaging*). La première, utilisée notamment par les systèmes commerciaux Biacore, consiste à envoyer une lumière blanche, à un angle fixé, sur le film d'or. L'intensité de la lumière réfléchie est mesurée et la position de la résonance plasmon (minimum de réflectivité) est enregistrée en fonction du temps. Le décalage de la résonance plasmon donne alors accès directement à la quantité de matière adsorbée à la surface du film d'or. Cette approche a l'avantage d'avoir une bonne gamme d'acquisition tout en ayant une bonne sensibilité.

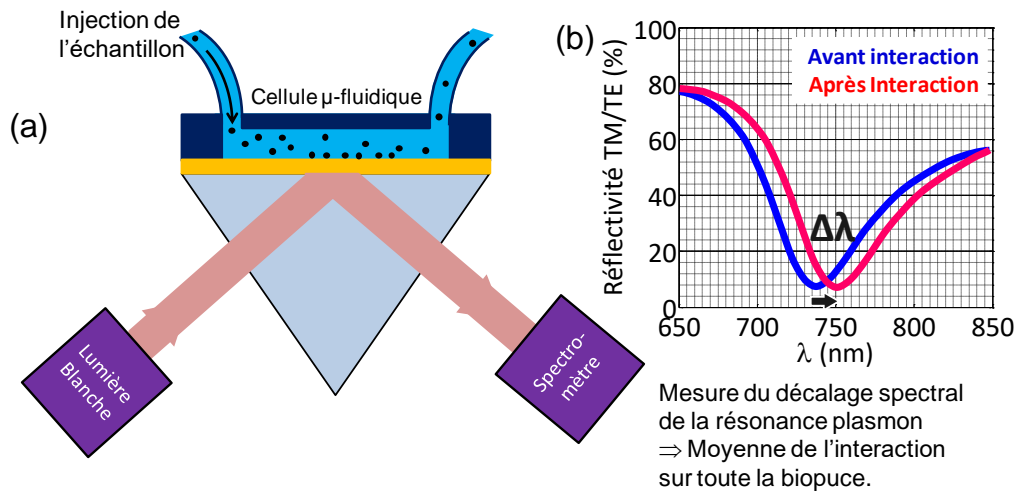


Figure 4 : Principe d'un capteur SPR en interrogation spectrale. (a) Schéma expérimental. (b) Spectre de réflectivité en fonction de la longueur d'onde avant adsorption de la cible (bleu) et après (rouge).

L'autre technique, proposée par la société Horiba, consiste à utiliser une lumière monochromatique pour exciter le plasmon propagatif, et à faire l'image entière du film à l'aide d'une caméra CCD. L'intensité de chaque point de l'image correspondant ainsi à la réflectivité en un point donné à la surface du film. Dans un premiers temps, une mesure simple de réflectivité en fonction de l'angle d'incidence est effectuée, afin de définir l'angle du maximum de variation de la réflectivité (maximum de la dérivée). Une fois placé à cet angle, toute variation d'indice à la surface de l'or sera détectée par une variation de réflectivité et donc un changement d'intensité sur l'image SPRi. Cette méthode permet d'avoir une véritable carte 2D de l'adsorption des molécules à la surface du film. La sensibilité est comparable à celle de l'interrogation angulaire. Cependant la gamme d'acquisition est limitée, c'est-à-dire que si l'on a un saut d'indice (changement du tampon de circulation par exemple), la résonance plasmon peut être décalée au point d'être trop loin de l'angle de travail et, auquel cas, une variation d'indice n'entraînera presque plus de variation de réflectivité.

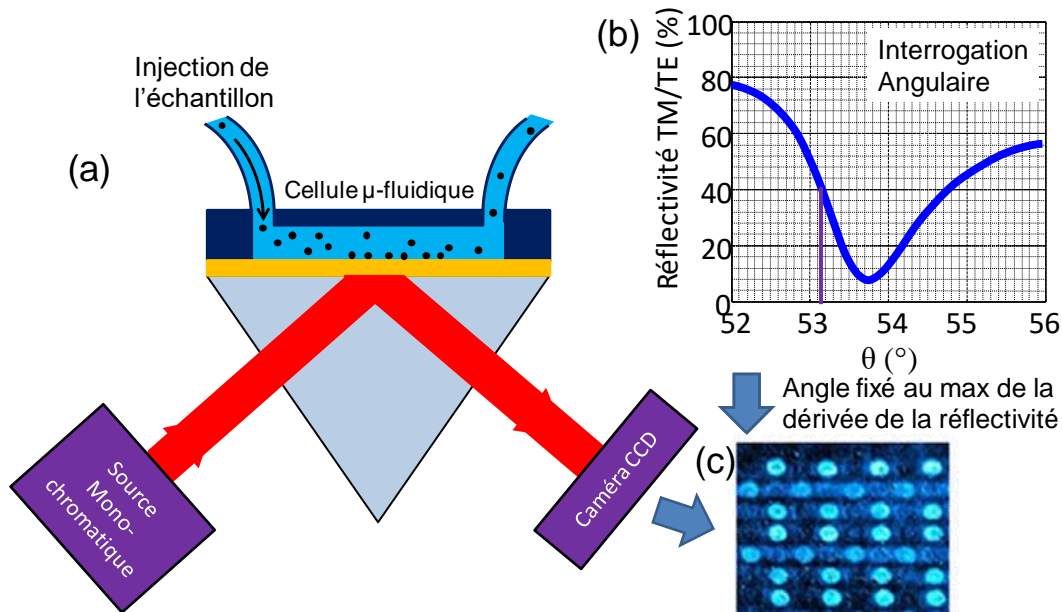


Figure 5 : Principe de l'imagerie SPR (SPRi). (a) Schéma expérimental. (b) Réflectivité en fonction de l'angle. (c) Image en réflectivité de la biopuce, les zones claires correspondent aux régions où plus de matière est adsorbée.

L'intérêt principal de l'imagerie est lié à ce que l'on appelle le multiplexage, c'est-à-dire faire plusieurs mesures simultanément sur un même échantillon. En effet, le plus souvent dans un dispositif SPR, la surface est fonctionnalisée avec des sondes spécifiques de ce que l'on veut détecter ou spécifiques de l'interaction que l'on veut étudier. Si on possède un système d'imagerie, il suffit de déposer, sur des zones limitées et définies (spotter), les différentes sondes pour les différentes mesures que l'on veut effectuer. Par la suite, on pourra mesurer sur chacun de ces plots la variation de réflectivité et donc effectuer aisément des dizaines de mesures SPR en même temps.

Enfin il existe des systèmes, moins répandus, qui combinent les deux avantages. Pour cela, il suffit d'utiliser un système d'imagerie, et d'envoyer séquentiellement plusieurs longueurs d'onde. Ensuite, à partir des images pour chaque longueur d'onde, on peut reconstruire le spectre SPR en chaque point de l'image. Il est également possible de faire varier l'angle d'excitation et d'acquérir une image pour chaque angle, ce qui donnera accès à une information spectrale point par point. L'inconvénient de ces méthodes est l'augmentation du coût ainsi que l'augmentation du temps d'acquisition. Comme un des intérêts principaux des systèmes SPR est d'avoir une mesure en temps réel qui permet de remonter à des dynamiques moléculaires, il est important d'avoir un pas de temps d'acquisition court afin de suivre toutes les interactions. Cependant, dans le cadre d'interactions biologiques par exemple, les dynamiques à suivre sont de l'ordre de la minute et une acquisition toutes les quelques secondes suffit amplement pour suivre ces systèmes.

#### I.1.1.4. Fonctionnalisation de surface

Comme évoqué précédemment, afin d'avoir une interaction spécifique entre la cible et la surface d'or, il est nécessaire de fonctionnaliser cette dernière, de telle sorte que seule la molécule cible puisse s'y adsorber. Sans fonctionnalisation, il est utile de savoir que beaucoup de groupements chimiques s'accrochent à l'or, de manière plus ou moins forte. C'est pourquoi la fonctionnalisation est généralement constituée de molécules ayant une très forte affinité avec l'or telle que celles contenant des groupements thiol ou des sels de diazonium.

#### I.1.2. Résonance plasmon de surface localisée

Nous avons vu que des oscillations du nuage électronique dans un métal donnaient naissance à des ondes se propageant à l'interface entre un métal et un diélectrique. De la même manière que pour toute autre onde, si l'on limite la taille du milieu de propagation (métal), c'est-à-dire que l'on confine l'onde, il apparaît des ondes stationnaires qui, telle une corde de guitare pincée ou une cavité Fabry-Perrot, ne donne plus lieu à une propagation mais à une oscillation localisée. Dans le cas du plasmon, on parle alors de plasmon de surface localisé (LSP). Un tel cas de figure peut se produire lorsque la taille du milieu métallique est de l'ordre de ou inférieure à la longueur d'onde du plasmon. Le cas le plus simple d'un tel système correspond à une nanoparticule métallique sphérique excitée par de la lumière dans le domaine du visible. Le champ électrique de l'onde incidente permet d'exciter un déplacement collectif du nuage électronique par rapport aux ions du métal pour créer un LSP. C'est un cas de figure similaire à une antenne radio, mais dans le domaine du visible.

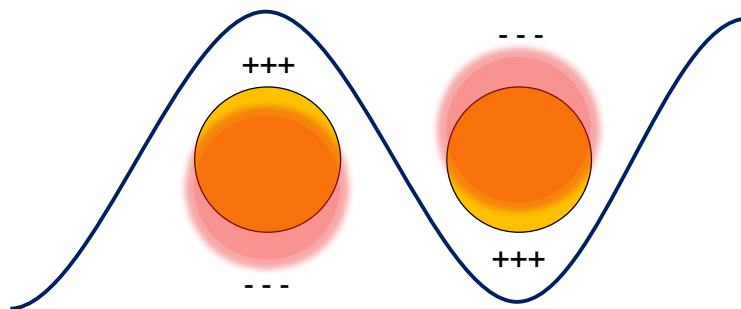


Figure 6 : Représentation schématisée de l'excitation d'un plasmon de surface localisé dans une nanoparticule métallique.

Il est ainsi aisé de comprendre que, comme tout système oscillant, il existe une fréquence de résonance (fréquence propre du système). À cette fréquence, le déplacement du nuage électronique sera maximal, ce qui entraînera une interaction maximale avec la lumière. Cette fréquence est appelée résonance plasmon de surface localisé (LSPR). La position de cette résonance dépend

bien sûr de tous les paramètres constituant le système. En utilisant l'approximation de Rayleigh, c'est-à-dire en considérant que la longueur d'onde est très grande devant la taille des particules et que le champ est donc constant à l'intérieur d'une nanoparticule à tout instant, on peut calculer la polarisabilité effective  $\alpha_{eff}$  d'une nanoparticule<sup>4,5</sup>.

$$\alpha_{eff} = V \frac{\varepsilon_m - \varepsilon_d}{\varepsilon_d + A_{eff}(\varepsilon_m - \varepsilon_d)} \quad (\text{eq. 1.19})$$

Avec  $V$  le volume de la nanoparticule,  $\varepsilon_d$  et  $\varepsilon_m$  les perméabilités électriques respectives du diélectrique entourant la nanoparticule et du métal constituant la nanoparticule. Enfin  $A_{eff}$  est le facteur de dépolarisation effectif, qui dépend de la forme de la nanoparticule. La position de la résonance plasmon se décale donc :

- vers le rouge quand la taille de la particule augmente ;
- quand le rapport d'aspect de la nanoparticule change ;
- pour un métal différent ;
- vers le rouge quand l'indice de réfraction extérieure augmente.

Tous ces paramètres seront à prendre en compte lorsque nous utiliserons les nanoparticules pour les applications en spectroscopie exaltée, ou lorsque nous aurons besoin de caractériser des nanostructures plasmoniques par spectroscopie d'extinction.

### I.1.3. Spectroscopie Raman

La spectroscopie Raman est un processus physique, qui fut théoriquement prédit en 1923 par Adolf Smekal<sup>6</sup> puis fut observé expérimentalement en 1928 par C. V. Raman et son étudiant K. S. Krishnan<sup>7</sup> sur une solution liquide ainsi que par G. Landsberg et L. Mandelstam sur un cristal<sup>8</sup>. Dans tous les cas il s'agit d'un même processus physique de diffusion inélastique de la lumière par la matière après interaction avec ses modes de vibration. Il s'agit donc d'une spectroscopie vibrationnelle s'apparentant à la spectroscopie infrarouge.

L'énergie des modes de vibration est de l'ordre d'une centaine à quelques milliers de  $\text{cm}^{-1}$ , ce qui correspond à des longueurs d'onde de quelques micromètres à quelques dizaines de micromètres. Ainsi, en observant un spectre en transmission dans cette gamme spectrale, les minima d'intensité correspondront aux énergies de transitions vibrationnelles et l'ensemble de ces raies constituera la signature vibrationnelle de l'échantillon analysé. Cette technique est appelée spectroscopie infrarouge et permet d'observer tous les modes de vibration, entraînant une variation du moment dipolaire de la molécule.



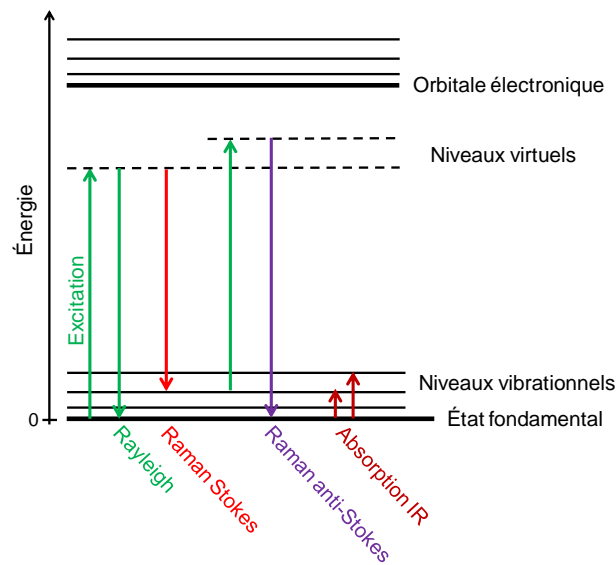


Figure 7 : Principe des spectroscopies vibrationnelles.

Qualitativement et quantitativement, le phénomène Raman est très différent car l'énergie de l'excitation dans la gamme spectrale du visible est très supérieure à celles des modes de vibration. Le matériau est d'abord excité dans un état virtuel, puis se désexcite soit vers le niveau fondamental (diffusion Rayleigh), soit vers un niveau vibrationnel excité (diffusion Stokes), induisant une réémission de la lumière. Dans le dernier cas, la lumière diffusée a une énergie plus faible que la radiation excitatrice et la différence d'énergie correspond précisément à l'énergie du mode de vibration excité. Seulement, les modes de vibration entraînant un changement de polarisabilité du matériau sont actifs. Il existe donc trois cas de figure :

- **La diffusion Rayleigh**, pour laquelle le matériau est au départ à l'état fondamental et se désexcite directement sur l'état fondamental. C'est une diffusion élastique induisant l'émission d'un photon de même énergie. Il s'agit du processus le plus probable.
- **La diffusion Raman Stokes**, pour laquelle le matériau est au départ à l'état fondamental et se désexcite sur un état vibrationnel excité. Ainsi, l'énergie réémise est plus faible que l'énergie de l'onde excitatrice.
- **La diffusion Raman anti-Stokes**, pour laquelle le matériau est au départ dans un état excité pour se désexciter sur l'état vibrationnel fondamental. Dans ce cas, l'énergie réémise est supérieure à l'énergie d'excitation. Ce dernier processus est le moins probable car, dans des conditions normales de température, les états excités sont très peu peuplés par rapport à l'état fondamental.

Pour mesurer un spectre vibrationnel avec ce principe, il suffit d'exciter l'échantillon avec une lumière monochromatique, typiquement dans le visible, afin d'observer le spectre des raies d'émission (mesure de l'énergie des photons diffusés par le matériau). L'énergie des modes de

vibration est alors déterminée en ayant soustrait l'énergie de l'excitation à toutes les valeurs des énergies diffusées.

De manière générale, une molécule comportant  $N$  atomes possède  $3N - 6$  degrés de liberté de vibration ( $3N - 5$  si elle est linéaire). Cela signifie que même pour des molécules assez simples, on a accès à une signature vibrationnelle complexe qui permet de caractériser et d'identifier les matériaux avec peu d'ambiguïté. Cette technique a donc un très bon pouvoir discriminant et est idéale pour la détection. Cependant, la section efficace de diffusion Raman est très faible, de l'ordre de grandeur d'un photon sur cent millions, ce qui la rend inutilisable pour de faibles concentrations. Cette technique est donc utilisée sur des matériaux denses ou sur des solutions concentrées. Pour observer de faibles concentrations de molécules, il est alors nécessaire d'utiliser des techniques permettant d'augmenter le signal Raman comme la diffusion Raman exaltée de surface.

#### I.1.4. Diffusion Raman exaltée de surface

La diffusion Raman exaltée de surface (SERS) est un phénomène qui fut découvert en 1974 par M. Fleischmann et al.<sup>9</sup>, qui observèrent un signal Raman très intense de la pyridine adsorbée à la surface d'une électrode rugueuse d'argent. En premier lieu, l'exaltation du signal fut attribuée à la simple augmentation de surface spécifique de l'argent sous le faisceau laser, due à la rugosité de surface de l'électrode. Cependant une telle hypothèse ne suffisait pas à expliquer une si grande augmentation du signal, et ce n'est que plus tard que le phénomène fut expliqué électromagnétiquement<sup>10,11</sup> et chimiquement<sup>12,13</sup>. Ainsi on constate que toute molécule adsorbée sur une surface métallique nanostructurée voit son signal Raman exalté d'un facteur très important, typiquement de l'ordre de  $10^6$  et pouvant aller jusqu'à  $10^{12}$ . De tels facteurs d'exaltation ont permis la détection et l'observation de molécules uniques.<sup>14,15,16</sup>

##### I.1.4.1 Effet électromagnétique

Le principal facteur d'exaltation du signal Raman en SERS est le facteur électromagnétique. Il est très étudié et est facile à caractériser et à expliquer car c'est un phénomène physique simple. L'excitation d'une nanoparticule métallique par une onde lumineuse induit la formation d'un champ local ( $E_{loc}$ ) à la surface de la nanoparticule exalté d'un facteur dix à mille environ par rapport au champ électrique exciteur  $E_0$  (Figure 8). La section efficace de diffusion Raman étant proportionnelle au carré du champ électrique de l'onde excitatrice, cela implique l'apparition d'un premier facteur d'exaltation, proportionnel au carré de l'exaltation du champ local à la longueur d'onde d'excitation ( $\lambda_0$ ) et défini par  $M_{loc}^2(\lambda) = (E_{loc}(\lambda)/E_0)^2$ . De plus, le champ Raman diffusé par la molécule interagit également avec la nanoparticule induisant une deuxième exalta-

tion à la longueur d'onde de diffusion Raman ( $\lambda_R$ ), exaltation définie par  $M_{loc}^2(\lambda_R)$ . Le facteur d'exaltation électromagnétique total ( $EF_{EM}$ ) s'exprime alors sous la forme :

$$EF_{EM} = M_{loc}^2(\lambda_0) \times M_{loc}^2(\lambda_R) \quad (\text{eq. 1.16})$$

D'une manière générale, la longueur d'onde de réémission Raman est proche de la longueur d'onde d'excitation, ce qui implique que  $M_{loc}(\lambda_0) \approx M_{loc}(\lambda_R)$  et ainsi,  $EF_{EM} \approx M_{loc}^4(\lambda_0)$ . Or, comme  $M_{loc}$  est proportionnelle au champ électrique local, on parle alors de l'approximation en  $E^4$  (champ électrique local à la puissance quatre).

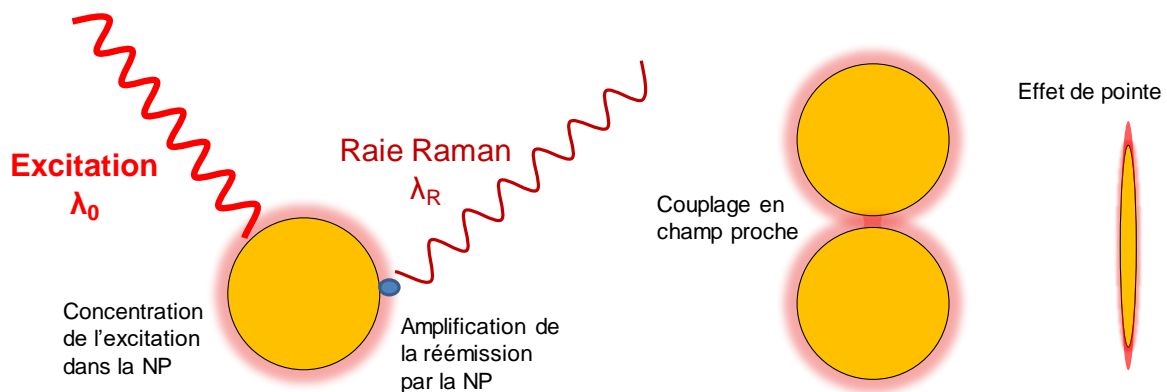


Figure 8 : Image de l'exaltation du signal Raman par une nanoparticule (NP).

Afin d'optimiser ces deux facteurs d'exaltation, il est important de prendre en compte et de contrôler les propriétés optiques de la structure plasmonique. Afin d'obtenir de fortes exaltations locales, il est possible de recourir à des structures en forme d'antenne ou à des nanostructures couplées, c'est-à-dire constituées de deux particules très rapprochées (distance interparticule de quelques nanomètres seulement). Dans le premier cas, l'exaltation en bout de pointe sera maximale par effet paratonnerre alors que dans le deuxième cas, il y a un couplage en champ proche et le champ électrique situé dans l'intervalle entre les deux particules est plus exalté que dans le cas d'une particule isolée.

#### I.1.4.2 Effet chimique

L'exaltation SERS n'est pas un processus purement électromagnétique. Les molécules étant adsorbées sur une surface métallique, il peut y avoir formation d'un complexe métal/molécule ou interaction électronique (transfert de charge, élargissement des bandes électroniques) entre le métal et la molécule.<sup>17</sup> Dans tous les cas, le nuage électronique de la molécule sera modifié, induisant éventuellement une augmentation de sa polarisabilité et donc une augmentation de l'intensité du signal Raman. Un consensus scientifique fixe la valeur de l'exaltation liée à cet effet entre dix et cent. Cette exaltation est donc faible par rapport à l'effet électromagnétique et est souvent négligée.

## I.2. Instrumentation bimodale SPRi/SERS

Nous venons de voir deux techniques basées sur la plasmonique qui donnent accès à des informations très différentes : d'une part la SPRi, qui permet de mesurer une affinité et détecter une ou plusieurs molécules en temps réel, et d'autre part le SERS, qui permet une caractérisation des molécules adsorbées à la surface d'un substrat nanostructuré et une détection spécifique des molécules accrochées.

C'est pourquoi, dans le cadre de la détection de molécules (toxines, biomarqueurs...), il a été proposé de coupler les deux techniques afin de suivre dans un premier temps l'interaction en temps réel avec la SPRi qui permettra une première détection, puis dans un deuxième temps d'acquérir des spectres SERS sur les points d'interaction, afin d'identifier les molécules adsorbées.

Le but premier du projet ANR Piranex était de concevoir cet instrument couplant les deux techniques SPRi et SERS et de valider les protocoles de détection avec ce dispositif. Le principe était donc d'utiliser une biopuce nanostructurée déposée sur un film d'or. Sur ce dernier, nous pouvons exciter un plasmon propagatif, utilisé pour faire l'imagerie SPR, alors que les nanostructures servent au SERS. Dans un souci de simplicité nous avons, dans un premier temps, utilisé des réseaux carrés de nanodisques d'or déposés sur un film d'or.

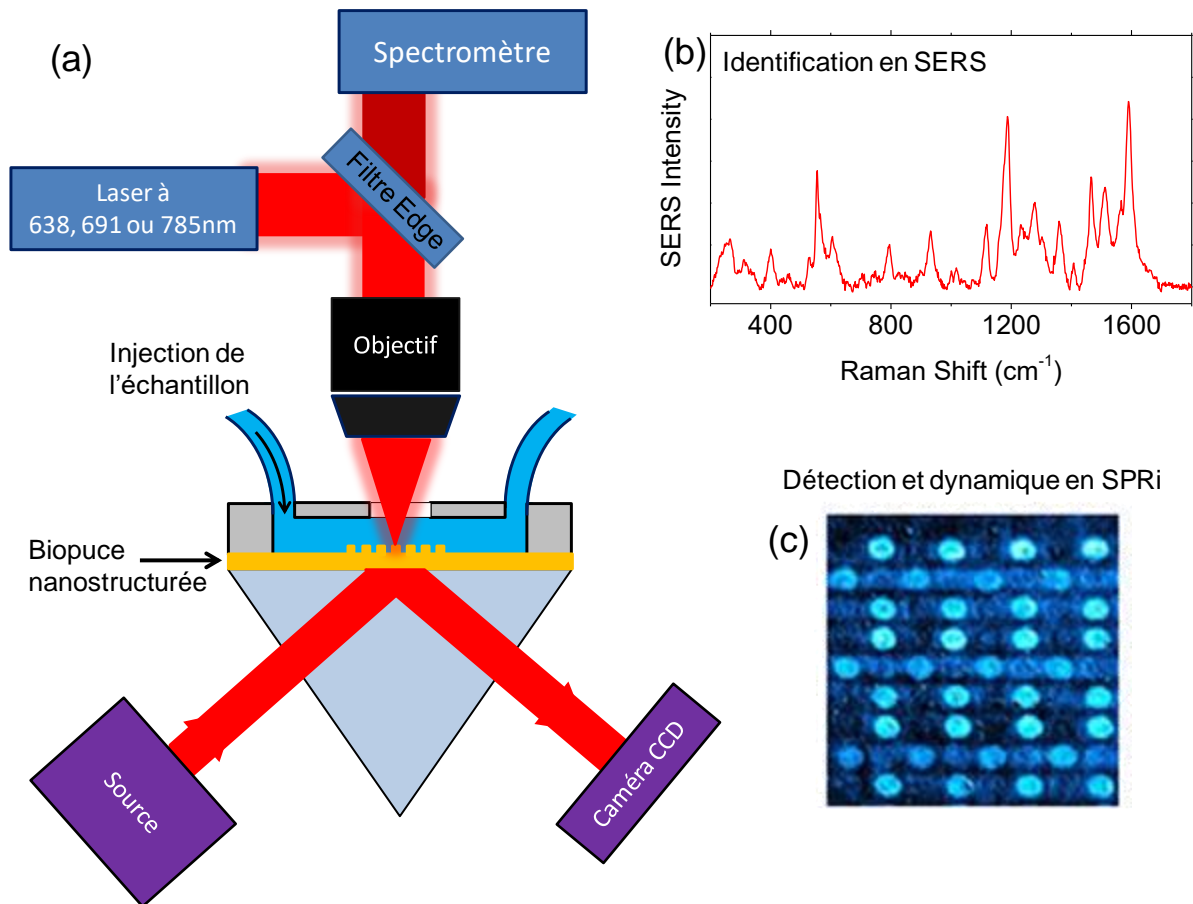


Figure 9: Principe de l'appareil Pira-one couplant SPRi et SERS. (a) Dispositif instrumental. (b) Exemple de Spectre SERS du fluorophore Cy5 acquis à l'aide du spectromètre Raman. (c) Exemple d'image en réflectivité présentant des plots fonctionnalisés avec des aptamers.

L'appareil se résume en :

- un système SPRi multi spectral à cinq diodes, constitué d'un prisme en verre sur lequel l'échantillon est posé, en configuration Kretschmann ;
- une cellule fluïdique déposée à la surface de l'échantillon et possédant une fenêtre en verre ;
- un microspectromètre Raman au-dessus de la cellule fluïdique et permettant de mesurer le spectre Raman à la surface de la biopuce.

### **I.3. Détection par SERS**

Dans le cadre du projet Piranex, une des tâches principales était le développement de protocoles de détection de contaminants alimentaires par méthode SERS. Afin de connaître l'état de l'art sur ces techniques de détection, j'ai effectué une revue de la littérature sur la détection en SERS. Cette étude se focalise sur la détection de différents types de contamination en agro-alimentaire (toxines naturelles, pesticides...) dont la concentration est régulée dans les produits comestibles.

Cette revue permet de s'initier aux diverses problématiques de la détection et du SERS. Au final, un très grand nombre de stratégies de détection utilisant le SERS existent, offrant chacun leurs avantages et leurs défauts. Cependant, à l'heure actuelle, aucune de ces méthodes n'a encore été développée au stade industriel pour des contrôles routiniers.

# Food control via Surface Enhanced Raman Scattering Detection

*Raymond Gillibert<sup>1,2</sup> and Marc Lamy de la Chapelle<sup>1,\*</sup>*

1 Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS UMR 7244, Bobigny, France

2 HORIBA Jobin Yvon S.A.S. 231 rue de Lille 59650 Villeneuve d'Ascq, France

## Introduction

Food contamination is a major concern for public health and safety. It can be drugs, pesticides, micro-organisms, or voluntarily added molecules as toxic dyes, or pathogens as Arsenic and Ricin. The detection of such chemical or biological species is of first importance to reach high quality and safe food products. Several detection techniques exist to control those molecules and to control the quality of food, such as chromatography, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)... Some of those techniques can be expensive and time consuming due to sample preparation or due to several steps of processing to get a result. Moreover, such devices are not portable that limits the use of such techniques to laboratory experiments. As a consequence, such techniques could not allow a fast and on site detection which is highly relevant in the case of the food quality control during its transportation or its transformation. One of the drawbacks of such techniques can also be the sensitivity since several contaminant have to be detected at the trace level. It is then necessary to provide highly sensitive techniques (parts per billion). In this context, Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) can answer to such technological challenge. First the Raman signal is directly related to the analyte structure and is considered as a spectral signature. The Raman spectroscopy is then highly specific and is a label free method of detection. Second it provides a high enhancement of the Raman signal of the analytes to be detected that have pave the way to the single molecule observation and allow a analyte detection at very low level. Third, the SERS is based on the exploitation of the optical properties of metallic nanostructures that allows a miniaturisation of the detection chip. Combined with portable Raman spectrometer, such technique can provide low cost and compact (possibly hand held) detection device.

For all these reasons, a great interest was given in the last decade to the SERS technique for its detections abilities providing a wide literature on this issue and we assume that SERS will have an important role in the future for sensing development. In this review, we propose a selection of SERS sensing focused on the detection of contamination in the framework of the food quality control.

# I. Surface Enhanced Raman Scattering

Raman spectroscopy is a vibrational spectroscopy that probes the vibrations of molecules or crystals. As a consequence, the Raman spectrum is directly related to the molecular structure and each specific molecule has specific Raman band position and intensity which are actual fingerprints of the molecule. The Raman spectrum can be seen as a spectral signature of the molecule since two molecules having two different structures will exhibit two different Raman spectra. Thus, Raman spectroscopy is known to be a powerful tool for label-free characterisation of chemical and biological species and can be used to discriminate them<sup>1</sup>. It is then a very specific characterization method and the Raman signal can be used for the detection and identification of some targeted analytes.

However the Raman scattering cross section is very low, reducing its use to pure or concentrated samples<sup>2</sup>. To be able to detect some analytes at very low concentration it is necessary to increase the Raman scattering and to amplify its signal. Several methods exist such as resonant Raman, stimulated Raman or coherent anti-stokes Raman scattering. But the former effect is strongly dependent on the excited molecule and the latter ones need some sophisticated experimental set-ups that could not be easily transported or applied for common detection. For these reasons, the most popular method to increase the Raman signal is the Surface Enhanced Raman Scattering (SERS)<sup>3,4</sup>. This method has been widely applied for sensing development since it has paved the way to the single molecule sensitivity<sup>5,6</sup>.

## *I. 1 Principle of SERS*

SERS is based on the enhancement of the Raman signal of molecules adsorbed on nanostructured metallic surfaces.

In Raman scattering, the molecules are illuminated by a laser that excites the molecular vibrations. One vibration induces the charge motions that create a dipole,  $\mathbf{P}$ , inside the molecule. The amplitude of this dipole is known to be proportional to the polarizability of the molecule,  $\alpha$ , and to the amplitude of the incident electric field,  $\mathbf{E}$ , such as:

$$\mathbf{P} = \alpha \cdot \mathbf{E} \quad (1)$$

Thus to increase the Raman signal it is possible to increase either the polarizability or the electric field amplitude. Two mechanisms can then occur in SERS: the chemical effect related to the polarizability enhancement and the electromagnetic effect related to the electric field amplitude enhancement.

### *Chemical effect*

The contact of the molecules with the metallic surface can modify the electronic states of the molecule and induces a change in the polarizability of the molecule. Such electronic states



modification can be due to electrostatic interaction, to charge transfer between the metal and the molecule or to the formation of a metallic complex. The exact modification is not completely known and understood since it is strongly dependent on the molecule and on the surface states of the metal (gold, silver, platinum, copper...). However, it has been demonstrated that this effect can increase the Raman scattering cross section by one or two orders of magnitude, inducing what is called the chemical enhancement<sup>7</sup>. Many studies have been performed on this effect but modelling is difficult and requires quantum physicochemical approaches. Since this enhancement is low compared to the one reached with the electromagnetic effect, it is often considered as negligible.

### ***Electromagnetic effect***

The most significant contribution to the SERS is the electromagnetic effect<sup>8,9</sup>. It is created by the electromagnetic excitation of metallic nanostructures and is directly related to the optical properties of the nanostructures. Several processes can then be involved: i) the excitation of localized surface plasmon (LSP), which corresponds to collective oscillation of the electron cloud within the nanostructures<sup>10</sup>, ii) the lightning rod effect through the accumulation of charges at the nanostructure tips<sup>11,12</sup> or iii) the electromagnetic coupling between nanostructures when the gap is lower than 10 nm<sup>13</sup>. In all these cases, a strong local electromagnetic field is produced at the vicinity of the nanostructure surface. Such local field can be highly enhanced compared to the incident one (up to 100)<sup>14</sup> and as a consequence can induce a very large enhancement of the Raman signal. Since the Raman intensity is enhanced at both excitation and Raman wavelengths, it is commonly accepted that the SERS signal is proportional to the power four of the local field enhancement (see E.C. Le Ru and P. G. Etchegoin<sup>15</sup> for more details). In such approximation, it is assumed that the electromagnetic effect can induce an enhancement of 10<sup>8</sup> of the Raman signal<sup>16</sup>. By controlling the nanostructure geometry (size, shape and local environment) it is possible to control the local field enhancement and thus the SERS signal. This latter one can be optimised in a sensing point of view. The highest SERS signal can then be reached in order to get the best sensitivity and lowest limit of detection.

## **I.2 SERS samples**

The SERS Substrates can be of two different natures: colloidal nanoparticles in solution or nanostructures deposited on a substrate.

### ***Colloidal nanoparticles***

Colloids are chemically synthesized metallic nanoparticles in solution. Colloids are often used for SERS application because of the variety of geometries (size, shape) that can be produced thanks to specific chemical synthesis methods<sup>17,18,19</sup>. With such various sizes and shapes, the optical properties can be tuned on a very wide spectral range in order to match with the

desired excitation wavelength<sup>20</sup>. Moreover, the roughness or tips at the nanoparticle surface (nanostars<sup>21</sup>, nanoflowers<sup>22</sup>, nanorods<sup>23</sup>...) can induce some lightning rod effect and increase the SERS signal<sup>24</sup>. Another advantage of these techniques is the ease and low cost of synthesis of such colloids.

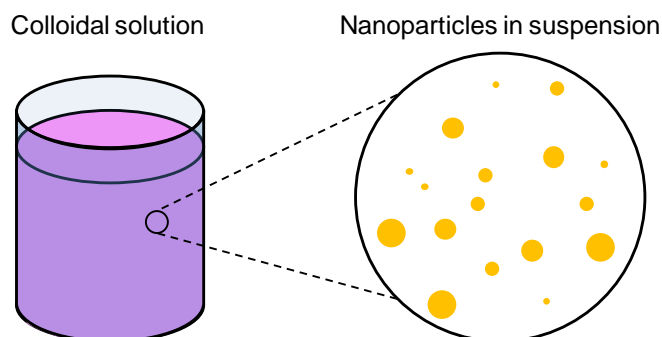


Figure 1: Colloidal nanoparticle

Colloids can be used isolated or aggregated. In the second case, the aggregation induces the electromagnetic coupling in the gap between the nanoparticles. Thanks to the proximity effect, enhancement is much higher than for individual nanoparticles due to the creation of an electromagnetic “hot spot” in the nanoparticle gap, which induce high SERS signal from any molecules in between<sup>25</sup>.

The main drawback of such methods is the fine control of the geometrical parameters of these nanoparticles especially for complex ones as nanostars. There is always a distribution in size and shape. The enhancement factor provided from one nanoparticle to another can be different and not reproducible. In the case of the aggregation, the enhancement provided by the “hot-spots” is highly dependent on the gap distance and is also difficult to actually reproduce.

### ***Nanostructured surfaces***

Various kinds of surface structures exist, ranging from simple rough metallic surface<sup>26,27</sup> to complex controlled nano-objects<sup>28</sup>, deposited usually on dielectric (glass, silica) or metallic surface. Those substrates can be used under a Raman Microscope enabling the mapping of the SERS signal as a function of the position at the micrometer scale. This can be useful for statistical analysis or to study microorganisms<sup>29,30</sup>. Many different synthesis techniques, leading to different SERS substrates can be used with their advantages and drawbacks.

One of the simplest methods is the direct deposition of previously described colloidal nanoparticles on a substrate<sup>31</sup>. The nanoparticles are then randomly distributed on the surface as individual or aggregated nanoparticles. The density of nanoparticles on the surface can be controlled by the initial concentration of the colloidal solution. For a large density of nanoparticles, the particles can assemble together in an ordered and periodic array. This is commonly referred as nanoparticle self assembled monolayer (NP SAM)<sup>32</sup>. However, to have a regular array on a large area, the nanoparticles need to be of very regular sizes otherwise

defects can appear.

The best methods to produce regular and reproducible arrays of nanostructure are the lithography ones. The principle of such methods is the use of a mask on the substrate to control the size and the shape of the nanostructures.

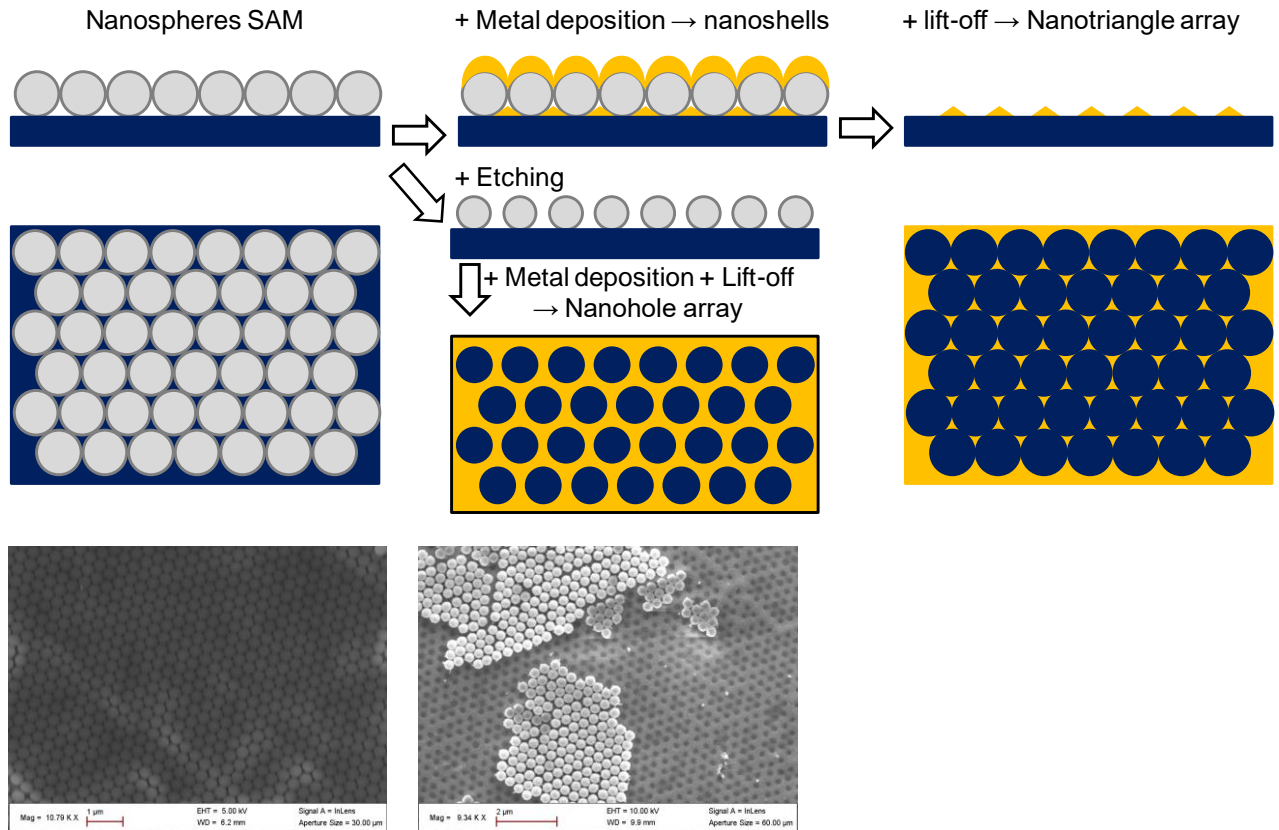


Figure 2: (a) Principle of nanosphere lithography. (b) Self assembled monolayer of polystyrene nanospheres, (c) after gold deposition and with a partial lift-off (for illustration), a nanoholes array on the gold film is revealed.

The nanosphere lithography is commonly used as a fast and cheap technique for the production of nanostructures<sup>33,34</sup>. At first a self assembled monolayer of beads composed of polystyrene or other soluble compound is formed on a flat surface by spin-coating or evaporation of a droplet of the bead solution. Such bead monolayer forms the mask at the substrate surface. A metallic layer, usually gold or silver, is then deposited on the top of the beads as well as in the voids between the beads. A lift-off is finally done to remove the beads and the metal deposited at their surface. Only the metal in contact with the substrate remains which creates hexagonal array of tip to tip coupled nanotriangles<sup>35</sup>. The size and the shape of the nanotriangles as well as the array parameters can be controlled by the diameter of the beads. Furthermore, if an etching process is performed before the metal deposition, the bead diameter decreases leaving gaps between them, creating after lift-off a gold layer with a periodic array of holes<sup>36</sup>. If no lift-off is performed, the sample is still functional and is composed of some kind of compact nanoshell array called metallic film over nanospheres (MFON)<sup>37</sup>. Such method is easy to perform at low cost. However, the shape of the

nanostructures is limited to nanotriangles, nanoholes or nanoshells and some large defects can be produced during the formation of the self assembled monolayer of beads.

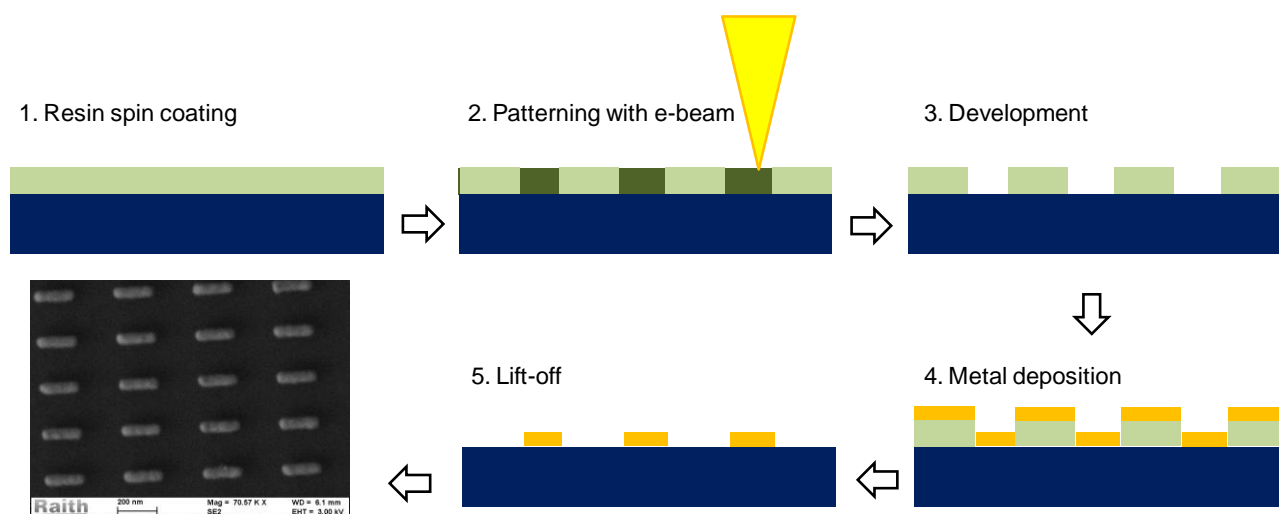


Figure 3: E-beam lithography technique description and example of gold nanorods deposited on a glass substrate.

The most flexible method to produce reproducible arrays of nanostructures is the electron beam lithography (EBL)<sup>38</sup>. This latter one consists in engraving a thin layer of resin (usually poly(methyl methacrylate)) deposited on a flat substrate with an electron beam. The exposed resin is then selectively removed by a solvent (positive or negative development for insolated or non insolated resin, respectively). This development creates a mask on the substrate with holes in the resin. A thin layer of metal is evaporated on the top of the resin. Finally a lift-off is done, which removes the resin and all the metal deposited on top of it, leaving only the metal deposited on the substrate through the holes. This technique can create highly controllable and reproducible nanostructures with a resolution below twenty nanometres<sup>39</sup>. Practically any 2D shape can be produce making EBL a very convenient technique to study plasmonics and SERS. However, fabrication is expensive and time-consuming, making the technique impossible to apply for mass production of SERS samples.

### ***Surface functionalization***

In SERS, the Raman signal of all molecules deposited at the nanostructure surface and located inside the enhanced near-field will be enhanced. The detection of one specific analyte in a complex solution (as body fluids, fresh or sea waters, food samples...) is not possible since all the solution compounds could interact with the metallic surface and then could be detected. This is all the most important for the detection of traces of analytes at low concentration. To selectively detect one specific analyte, it is necessary to modify the metal surface reactivity to increase the affinity to the analytes. The metal surface can then be functionalised with a molecular receptor specific to the analyte. Such receptor is grafted to the metal and has a strong affinity with the targeted analyte. This latter one is then selectively capture and over-

concentrated at the nanostructure surface. This allows focusing the detection on one specific analyte and avoids detecting non targeted molecules. Each analyte will have its own surface receptor and has to be designed specifically. Various strategies are proposed in the literature depending on the chemical properties of the analytes. For example, some SAM with hydrophobic groups can be used for pollutants<sup>40</sup> or some anti-body or aptamers are used to detect proteins<sup>41,42</sup>.

## III. Quality control in Food

### III.1 Food contaminants

The food is a highly complex system that can be contaminated by various kinds of chemical compounds or biological organisms. Thus it can be pesticides, toxins, bacteria... Such intentional or accidental contaminations can occur at different steps from the production to its consumption.

Many pesticides are in use in all agriculture over the world. Some regulation organisations as the *United States Environmental Protection Agency* have been created to verify the toxicity towards human and environment of all pesticides, fungicides and insecticides. Any unreasonable risk for a given substance will prohibit its use. New pesticides are evaluated before marketing, and old pesticides are periodically re-evaluated with reinforced safety criteria. Because of the fast evolution of forbidden or allowed pesticides, the need in fast, reliable and sensitive detection techniques is increasing to check contaminated agricultural products (vegetables, fruits and cereals) against any forbidden molecules or against an excessive amount of allowed molecules. Such techniques have known a great development in the last decade and are used by industries to check the products they are buying, and by regulation organisations to control and limit the distribution of contaminated food and to verify the environmental pollution from such products.

More and more drugs and antibiotics are used to treat, heal, or improve performances of animals. Systematic administration of antibiotics is commonly used by producers on healthy animals to prevent diseases in poor sanitary conditions and to improve growing rate<sup>58</sup>. However it has been demonstrated that it becomes an important factor to the antibiotic resistance in human diseases. Thus non therapeutic use of antibiotics is forbidden by the *U.S. Food and Drug Administration* (FDA) (FDA-2010-D-0094) and by Europe (IP/05/1687) since 2005. Those antibiotics can be found in trace amount in the final product, and thus their presence has to be verified with appropriate detection techniques.

Finally, some toxic compounds can be voluntarily added in the food. Such examples are some toxic food colorants, preservative, or toxic taste enhancer. For instance, melamine (cheap nitrogen rich molecule) was found recently in milk and eggs<sup>59</sup> as the protein quantity is ruling the price for those products and as the protein concentration is measured via nitrogen concentration (Dumas method<sup>60</sup> invented in 1826). Melamine is toxic and causes severe health damages<sup>61</sup>. Such consequences imply enforced security and development of detection techniques.

### III.2 Food contaminants SERS detection

In order to detect any molecule with SERS, the analyte to be detected needs to be extracted from its medium. This extraction can be carried out before the detection or directly on the

SERS substrate using surface functionalization. The spectrum is then acquired without or with a limited number of parasite components. If the extraction is selective enough, functionalization is not always necessary. Several extraction protocols have been established by FDA and are commonly used, some time modified, for SERS detection.

For instance the use of antibiotics and other drugs in animal husbandry or aquaculture are very restricted, and no traces should be found in the final products (meat or fish). Y. Zhang *et al.*<sup>62</sup>, in 2012, were able to detect furazolidone and malachite green which are prohibited fish drugs, in tilapia fillets. An extraction was first performed from the fish. For furazolidone the extraction was done in dichloromethane and then purified using an anhydrous sodium sulfate column. For malachite green, the extraction was done in ammonium acetate buffer and acetonitrile and the analyte was isolated by partitioning into dichloromethane. In both cases, a drop of the extracted solution was deposited on a commercial SERS substrate (Klarite and Q-SERS without functionalization). On the Q-SERS substrate, the LoD reached for furazolidone was 1 ppm whereas the LoD reached for malachite green was 200 ppb. Moreover, L. He *et al.*<sup>63</sup>, in 2007 proved the feasibility of the detection of enrofloxacin, ciprofloxacin and chloramphenicol at the ppb level, with a silver dendrite SERS substrate. However no actual tests on meat samples were performed. The same year, K.R. Ackermann *et al.*<sup>64</sup> (2007) developed a SERS sensor for detection of promethazine hydrochloride and mitoxantrone dihydrochloride using a microfluidic flow cell and silver colloidal solution of nanospheres as SERS substrate. The sensor was able to measure in real time the analyte concentration and to reach a LoD of about 0.2 mM for promethazine and  $5.10^{-7}$  M for mitoxantrone. Accumulation of nanoparticles on the channel wall was avoided by injecting the samples and the colloidal solutions in an oil flow avoiding any wetting of the aqueous solution to the borders of the flow cell.

Similarly many pesticides are used in agriculture. Even if their amount is limited in the final products or completely forbidden depending on the pesticide, they can finally be found in cereals, fruits or vegetables. B. Saute *et al.*<sup>65</sup> in 2010 could detect concentrations as low as 12 nM of Thiram solutions and were able to provide a calibration curve up to 250 nM by using a colloidal solution of dog bone shaped silver nanoparticles as a SERS substrate. No functionalization was used. The solutions of pure analytes were added to the colloidal solution. After one night of incubation, Raman spectrum was recorded on the solution. However no detection in complex media was performed whereas Thiram is a fungicide expected to be present in treated crop and fruits. Later on, carbaryl, azinphos-methyl and phosmet pesticides were detected in apple and tomatoe by B. Liu *et al.*<sup>66</sup> in 2013. The pesticides were extracted by sonication of the peel of the fruit in acetonitrile/water mixture and the supernatant was then filtered to remove any microscopic organic wastes. A drop of the filtrate was then deposited and dried on a clean Q-SERS sample. The LoD obtained was of a few ppm. The acetamiprid, an insecticide, was detected in apple juice and at the apple surface by using silver dendrites colloidal solution (W. Wijaya *et al.*<sup>67</sup>, 2014) directly added to the contaminated juice. After centrifugation, the dendrites were dried on a microscopic slide and SERS spectra were acquired. A LoD of 3 ppm was reached. Carbaryl pesticide was also

detected by Y. Fan *et al.*<sup>68</sup>, at 0.5 ppm in Fuji apples, with acetonitrile extraction of the pesticide deposited on a Klarite commercial sample. In Europe carbaryl is forbidden (91/414/CEE), but in Japan and China, the amount is limited to 1 ppm and in the USA, to 15 ppm. The method is thus adapted for the quality control in food chain.

Other kind of contaminants can be found in food. For instance illegal addition of melamine in pet food has caused severe health problems in 2007<sup>69</sup>. This molecule was also added to milk and as a consequence, found on infant food, causing several death and renal failures<sup>70,59</sup>. Melamine is usually added in big quantities, and that is why there are toxicity issues. Lethal doze (LD50) is around 3g of melamine per kg of body weight. This molecule is rich in nitrogen and since the nitrogen concentration is used for proteins detection in the food quality control, the melamine is used to artificially increase the measured protein concentration. Melamine is also added as a colorant. Traces amount can also be found in the food because of packaging or vessel, but fewer problems are suspected from small doses. For all these reasons the detection of melamine is a major concern in food industry. Thus several detection methods based on SERS have been proposed in order to detect small amount in food samples. In 2008, M. Lin *et al.*<sup>71</sup> could detect less than 0.1% w/w of melamine in chicken feed, wheat gluten, cake and noodles, using a Klarite sample. A slightly modified FDA extraction method<sup>72</sup> with water-acetonitrile mixture was used. A drop of the filtrate was deposited on the SERS substrate and dried before spectrum acquisition. Later, Y. Cheng *et al.*<sup>73</sup>, in 2011 developed a similar method for detection of melamine in eggs. The extraction was performed in 1% aqueous trichloroacetic acid solution and acetonitrile. A LoD around 1 ppm was reached using a Klarite substrate. This LoD corresponds to the legal limit in USA and in China. Silver nanorods substrate synthesized by oblique angle deposition, was used for melamine detection by X. Du *et al.*<sup>74</sup>, in 2011. However only pure melamine solutions were tested. P. Rajapandiyar *et al.*<sup>75</sup>, in 2015 developed a melamine detector for milk with a LoD of 2.5 ppb, by using a substrate made of silver nanoparticles deposited on the top of a PMMA rod. The contaminated milk samples were diluted 75 times and a 5 $\mu$ l drop of dilution was deposited on the substrate. SERS spectrum was acquired directly on the solution without letting the drop dried. The fact that the sample is commercially available (Labguide Co., Ltd, New Taipei City, Taiwan) and the simplicity of the detection process make it very attractive.

Several plasticizers were detected in the femtomolar range in orange juice with a vertical self assembled single layer array of gold nanorods by B. Peng *et al.*<sup>76</sup> in 2013. There is no particular sample preparation, a drop of the juice is directly deposited on the substrate, and the spectral bands of benzylbutylphthalate (BBP) and bis(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) can be separated from the C vitamin and the carotene which are the mains components of orange juice.

W. Yao *et al.*<sup>77</sup> detected butylated hydroxyanisole (BHA), which was proved to be carcinogenic and is a common antioxidant or food preservative. The maximum allowed concentration varies from 2 to 1 000 ppm according to the FDA (21CFR172.110), depending on food type. LoD reached a 10 ppm level which makes this detection method useful in many food control procedures.



S. He *et al.*<sup>78</sup> in 2015 detected forbidden dyes: Sudan I dye and Rhodamine B, which might be added fraudulently for aesthetic reasons and also Malachite green, which is used in aquaculture as an antimicrobial agent. However its high toxicity (LD50 = 80mg/kg for mouse<sup>79</sup>) led this latter molecule to be forbidden for aquaculture in Europe and in America, and there should be no traces in food. Several countries still allow its use and contaminated fish could be sold several times inducing increased risk for the consumption. The detection was performed on a gold-plated silicon SERS substrate (MaRS tech. Co. Ltd), but only pure solutions of the analytes were used. The work was focused on a new algorithm of baseline subtraction and on the separation of the three dyes by multivariate qualitative analysis.

Arsenic, could be detected in ground water at ppb level by M. Mulvihill *et al.*<sup>80</sup> using poly(vinyl pyrrolidone) functionalized compact SAMS of polyhedral silver nanoparticles. A calibration curve was established and tested in comparison with the atomic fluorescence spectroscopy (AFS). For each concentration, a drop of the sample was deposited on the substrate and covered with a cover slip before measuring with a micro-Raman spectrometer. This kind of very simple detection is good to capture the most simple molecules but when it comes to more complex media, a high specificity is required to detect the molecules using a bioreceptor as antibody or aptamer.

Ricin (*Ricinus communis*), is a highly toxic lecithin naturally present in castor beans (LD50 = 22 µg/kg of body weight by inhalation or injection)<sup>81</sup>. Ricin could be detected down to 4 ppm in milk using immunomagnetic separation (IMS) combined with SERS (L. He *et al.*<sup>82</sup> 2011). Ricin was first extracted from the sample with an immuno-precipitation kit made of paramagnetic micro-beads covalently bound to a specific Ricin antibody. After centrifugation, the micro-beads were eluded and mixed with a silver dendrite based substrate. Then the substrate was rinsed and a SERS spectrum was performed with a portable micro-Raman spectrometer. This kind of technique being very specific could be easily extended to others molecules.

B.C. Galarreta *et al.*<sup>28</sup> developed an aptamer based detection of Ochratoxin A (OTA) on e-beam nanotriangles SERS substrate functionalised with a thiolated single strand DNA specific to the molecule<sup>83</sup>. The experiment was done in a micro-fluidic cell and the intensity of some of the specific Raman bands was used to detect, quantify and monitor the OTA concentration. Limit of detection reached 50 nM which is still far from the maximum allowed concentration in food (2 nM).

Thus a large number of food contaminants can be detected by SERS method with low concentrations and simple procedures. A summary is given in the table 2.

**Table 2: SERS applications for food contaminant detection**

Molecule	LoD	Substrate	Functionalization	Ref
Furazolidone & malachite green (fish drugs)	1 ppm & 200ppb	Klarite and Q-SERS	None	62
enrofloxacin, ciprofloxacin and chloramphenicol	~1ppb	silver dendrites deposited on gold surface	None	63
promethazine hydrochloride /mitoxantrone dihydrochloride (Drugs)	$2 \times 10^{-4}$ M / $5 \times 10^{-7}$ M	Ag Coloids	Not indicated	64
Thiram (dithiocarbamate fungicide)	12 nM	Dog bone shaped gold nanoparticles	None	65
carbaryl, azinphos-methyl and phosmet (pesticides)	4.5 ; 6.6 ; 6.5 ppm	Q-SERS	None	66
Acetamidrid (insecticide)	3 ppm / 0.125 ppm	Silver dendrites	None	67
carbaryl pesticide	0.5 ppm	Klarite	None	68
Melamine	0.1%	Klarite	None	71
	1.1 ppm,	Klarite	None	73
	0.1 ppm	Silver nanorods (AgNR) array made by Oblique Angle Deposition	None	74
	2.5 ppb	Ag NP on the top of a PMMA rod	None	75
Phthalates and Melamine (DEP, DBP, BBP, DEPH)	<b>1 fM</b>	vertical Au nanorod self-assembled arrays	None	76
Butylated hydroxyanisole	10 ppm	Gold Colloids	None	77
Sudan I dye, Rhodamine B and Malachite green	N/A	gold-plated silicon SERS substrate (MaRS technology Co., Ltd)	None	78
Arsenic	1 ppb	polyhedral silver nanoparticles (close packed films)	poly(vinyl pyrrolidone)	80
Ricin	4 ppm	Silver dendrites dried on a glass slide	immunomagnetic separation (IMS)	82
Ochratoxin A	50nM	nanotriangles gold arrays	Aptamer	28

## Conclusion

After more than 40 years, SERS is largely used to detect molecules and to probe their structure. A broad range of substrates has been designed by various techniques from chemical synthesis to physical lithographic techniques and using mostly silver and gold as substrate material. Finally among this range of possibilities, there is always a trade-off between enhancement factor, reproducibility and sample cost. This issue still needs to be addressed since cheap and reproducible SERS substrates with high enhancement factors are of primary importance to be able to provide a commercial one.

Surface functionalization is not always necessary when it comes to detect molecules that have a strong affinity towards metallic surface. However few molecules of interest actually respect this criterion and often a functionalization layer is necessary to target one specific analyte. For simple molecules, simple probe molecules or polymers designed to capture the compounds are well adapted since the analyte gives rise to intensive Raman bands and thus can be easily discriminated from other compounds. In the case of bigger molecules, such as biomolecules in complex media, a highly specific functionalization is necessary, because many competitors are present in the medium. These latter ones can then graft at the substrate surface and give higher signal than the analyte. In this case, the use of more complex bioreceptors as aptamer or antibody is recommended.

SERS detection of food contaminants is possible with a very good sensitivity, the LoD reached are in ppb to ppm or in the pM to nM range, a large panel of analytes is detected offering a wide range of applications.

In conclusion, SERS sensing has a real potential for detection and for food quality control applications.

## References

1. Mantsch, H. H., Choo-Smith, L.-P. & Shaw, R. A. Vibrational spectroscopy and medicine: an alliance in the making. *Vib. Spectrosc.* **30**, 31–41 (2002).
2. Penney, C. M., Goldman, L. M. & Lapp, M. Raman Scattering Cross Sections. *Nature* **235**, 110–112 (1972).
3. Albrecht, M. G. & Creighton, J. A. Anomalously intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode. *J. Am. Chem. Soc.* **99**, 5215–5217 (1977).
4. Stiles, P. L., Dieringer, J. A., Shah, N. C. & Duynes, R. P. V. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *Annu. Rev. Anal. Chem.* **1**, 601–626 (2008).
5. Kneipp, K. *et al.* Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **78**, 1667–1670 (1997).
6. Doering, W. E. & Nie, S. Single-Molecule and Single-Nanoparticle SERS: Examining the Roles of Surface Active Sites and Chemical Enhancement. *J. Phys. Chem. B* **106**, 311–317 (2002).
7. Wu, D.-Y. *et al.* Chemical Enhancement Effects in SERS Spectra: A Quantum Chemical Study of Pyridine Interacting with Copper, Silver, Gold and Platinum Metals. *J. Phys. Chem. C* **112**, 4195–4204 (2008).
8. Gersten, J. & Nitzan, A. Electromagnetic theory of enhanced Raman scattering by molecules adsorbed on rough surfaces. *J. Chem. Phys.* **73**, 3023–3037 (1980).
9. Le Ru, E. *et al.* Experimental verification of the SERS electromagnetic model beyond the  $|E|^4$  approximation: polarization effects. *J. Phys. Chem. C* **112**, 8117–8121 (2008).
10. Wokaun, A., Gordon, J. P. & Liao, P. F. Radiation Damping in Surface-Enhanced Raman Scattering. *Phys. Rev. Lett.* **48**, 957–960 (1982).
11. Gersten, J. I. The effect of surface roughness on surface enhanced Raman scattering. *J. Chem. Phys.* **72**, 5779–5780 (1980).
12. Grand, J. *et al.* Role of localized surface plasmons in surface-enhanced Raman scattering of shape-controlled metallic particles in regular arrays. *Phys Rev B* **72**, 033407 (2005).
13. Su, K.-H. *et al.* Interparticle Coupling Effects on Plasmon Resonances of Nanogold Particles. *Nano Lett.* **3**, 1087–1090 (2003).
14. Le Ru, E. C. & Etchegoin, P. G. Quantifying SERS enhancements. *MRS Bull* **38**, 631–640 (2013).

15. Le Ru, E. C. & Etchegoin, P. G. Rigorous justification of the  $|E|^4$  enhancement factor in Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* **423**, 63–66 (2006).
16. Le Ru, E. C., Blackie, E., Meyer, M. & Etchegoin, P. G. Surface Enhanced Raman Scattering Enhancement Factors: A Comprehensive Study. *J. Phys. Chem. C* **111**, 13794–13803 (2007).
17. John Turkevich, Stevenson, P. C. & Hillier, J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society* 55–75 (1951).
18. Kimling, J. *et al.* Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited. *J. Phys. Chem. B* **110**, 15700–15707 (2006).
19. Silvert, P.-Y., Herrera-Urbina, R., Duvauchelle, N., Vijayakrishnan, V. & Tekaiia Elhsissen, K. Preparation of colloidal silver dispersions by the polyol process. Part 1—Synthesis and characterization. *J. Mater. Chem.* **6**, 573–577 (1996).
20. Brown, K. R., Walter, D. G. & Natan, M. J. Seeding of Colloidal Au Nanoparticle Solutions. 2. Improved Control of Particle Size and Shape. *Chem. Mater.* **12**, 306–313 (2000).
21. Kumar, P. S., Pastoriza-Santos, I., Rodríguez-González, B., Abajo, F. J. G. de & Liz-Marzán, L. M. High-yield synthesis and optical response of gold nanostars. *Nanotechnology* **19**, 015606 (2008).
22. Xie, J., Zhang, Q., Lee, J. Y. & Wang, D. I. The synthesis of SERS-active gold nanoflower tags for in vivo applications. *ACS Nano* **2**, 2473–2480 (2008).
23. Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L. M. & Mulvaney, P. Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coord. Chem. Rev.* **249**, 1870–1901 (2005).
24. Khoury, C. G. & Vo-Dinh, T. Gold Nanostars For Surface-Enhanced Raman Scattering: Synthesis, Characterization and Optimization. *J. Phys. Chem. C* **112**, 18849–18859 (2008).
25. Galletto, P., Brevet, P. F., Girault, H. H., Antoine, R. & Broyer, M. Enhancement of the Second Harmonic Response by Adsorbates on Gold Colloids: The Effect of Aggregation. *J. Phys. Chem. B* **103**, 8706–8710 (1999).
26. Chursanova, M. V. *et al.* Nanostructured Silver Substrates With Stable and Universal SERS Properties: Application to Organic Molecules and Semiconductor Nanoparticles. *Nanoscale Res. Lett.* **5**, 403 (2010).
27. Merlen, A. *et al.* Surface enhanced Raman spectroscopy of organic molecules deposited on gold sputtered substrates. *Nanotechnology* **20**, 215705 (2009).

28. Galarreta, B. C., Tabatabaei, M., Guieu, V., Peyrin, E. & Lagugné-Labarthe, F. Microfluidic channel with embedded SERS 2D platform for the aptamer detection of ochratoxin A. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 1613–1621 (2013).
29. Rösch, P., Schmitt, M., Kiefer, W. & Popp, J. The identification of microorganisms by micro-Raman spectroscopy. *J. Mol. Struct.* **661–662**, 363–369 (2003).
30. Rösch, P., Harz, M., Schmitt, M. & Popp, J. Raman spectroscopic identification of single yeast cells. *J. Raman Spectrosc.* **36**, 377–379 (2005).
31. Freeman, R. G. *et al.* Self-Assembled Metal Colloid Monolayers: An Approach to SERS Substrates. *Science* **267**, 1629–1632 (1995).
32. Bigioni, T. P. *et al.* Kinetically driven self assembly of highly ordered nanoparticle monolayers. *Nat. Mater.* **5**, 265–270 (2006).
33. Hulteen, J. C. & Duyn, R. P. V. Nanosphere lithography: A materials general fabrication process for periodic particle array surfaces. *J. Vac. Sci. Technol. A* **13**, 1553–1558 (1995).
34. Zhang, X., Yonzon, C. R. & Duyn, R. P. V. Nanosphere lithography fabricated plasmonic materials and their applications. *J. Mater. Res.* **21**, 1083–1092 (2006).
35. Haynes, C. L. & Van Duyn, R. P. Nanosphere Lithography: A Versatile Nanofabrication Tool for Studies of Size-Dependent Nanoparticle Optics. *J. Phys. Chem. B* **105**, 5599–5611 (2001).
36. Murray-Methot, M.-P., Menegazzo, N. & Masson, J.-F. Analytical and physical optimization of nanohole-array sensors prepared by modified nanosphere lithography. *Analyst* **133**, 1714–1721 (2008).
37. Dick, L. A., McFarland, A. D., Haynes, C. L. & Van Duyn, R. P. Metal Film over Nanosphere (MFON) Electrodes for Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS): Improvements in Surface Nanostructure Stability and Suppression of Irreversible Loss. *J. Phys. Chem. B* **106**, 853–860 (2002).
38. Kahl, M., Voges, E., Kostrewa, S., Viets, C. & Hill, W. Periodically structured metallic substrates for SERS. *Sens Actuators B* **51**, 285–291 (1998).
39. Grigorescu, A. E. & Hagen, C. W. Resists for sub-20-nm electron beam lithography with a focus on HSQ: state of the art. *Nanotechnology* **20**, 292001 (2009).
40. Tijunelyte, I. *et al.* Investigation of aromatic hydrocarbon inclusion into cyclodextrins by Raman spectroscopy and thermal analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 1–13 (2015). doi:10.1007/s11356-015-4361-6
41. Cottat, M. *et al.* High Sensitivity, High Selectivity SERS Detection of MnSOD Using Optical Nanoantennas Functionalized with Aptamers. *J Phys Chem C* **119**, 15532–15540 (2015).

42. Sanles-Sobrido, M. *et al.* Label-free SERS detection of relevant bioanalytes on silver-coated carbon nanotubes : The case of cocaine. *Nanoscale* **1**, 153–158 (2009).
43. Butaye, P., Devriese, L. A. & Haesebrouck, F. Antimicrobial Growth Promoters Used in Animal Feed: Effects of Less Well Known Antibiotics on Gram-Positive Bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* **16**, 175–188 (2003).
44. Gossner, C. M.-E. *et al.* The Melamine Incident: Implications for International Food and Feed Safety. *Environ. Health Perspect.* **117**, 1803–1808 (2009).
45. Klosterman, L. J. A research school of chemistry in the nineteenth century: Jean Baptiste Dumas and his research students. *Ann. Sci.* **42**, 41–80 (1985).
46. Hau, A. K., Kwan, T. H. & Li, P. K. Melamine Toxicity and the Kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 245–250 (2009).
47. Zhang, Y. *et al.* Analyses of enrofloxacin, furazolidone and malachite green in fish products with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Food Chem.* **135**, 845–850 (2012).
48. He, L., Lin, M., Li, H. & Kim, N.-J. Surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with dendritic silver nanosubstrate for detection of restricted antibiotics. *J. Raman Spectrosc.* **41**, 739–744 (2010).
49. Ackermann, K. R., Henkel, T. & Popp, J. Quantitative Online Detection of Low-Concentrated Drugs via a SERS Microfluidic System. *ChemPhysChem* **8**, 2665–2670 (2007).
50. Saute, B. & Narayanan, R. Solution-based direct readout surface enhanced Raman spectroscopic (SERS) detection of ultra-low levels of thiram with dogbone shaped gold nanoparticles. *Analyst* **136**, 527–532 (2011).
51. Liu, B. *et al.* Detection of Pesticides in Fruits by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Coupled with Gold Nanostructures. *Food Bioprocess Technol.* **6**, 710–718 (2013).
52. Wijaya, W., Pang, S., Labuza, T. P. & He, L. Rapid Detection of Acetamiprid in Foods using Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS). *J. Food Sci.* **79**, T743–T747 (2014).
53. Fan, Y., Lai, K., Rasco, B. A. & Huang, Y. Determination of carbaryl pesticide in Fuji apples using surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with multivariate analysis. *LWT - Food Sci. Technol.* **60**, 352–357 (2015).
54. Dobson, R. L. M. *et al.* Identification and Characterization of Toxicity of Contaminants in Pet Food Leading to an Outbreak of Renal Toxicity in Cats and Dogs. *Toxicol. Sci.* **106**, 251–262 (2008).
55. Ingelfinger, J. R. Melamine and the Global Implications of Food Contamination. *N. Engl. J. Med.* **359**, 2745–2748 (2008).

56. Lin, M. *et al.* Detection of Melamine in Gluten, Chicken Feed, and Processed Foods Using Surface Enhanced Raman Spectroscopy and HPLC. *J. Food Sci.* **73**, T129–T134 (2008).
57. Nutrition, C. for F. S. and A. Laboratory Methods - Laboratory Information Bulletin: LIB 4421 Melamine and Cyanuric Acid Residues in Infant Formula. Available at: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071637.htm>. (Accessed: 20th November 2016)
58. Cheng, Y. & Dong, Y. Screening melamine contaminant in eggs with portable surface-enhanced Raman Spectroscopy based on gold nanosubstrate. *Food Control* **22**, 685–689 (2011).
59. Du, X., Chu, H., Huang, Y. & Zhao, Y. Qualitative and Quantitative Determination of Melamine by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Using Silver Nanorod Array Substrates. *Appl. Spectrosc.* **64**, 781–785 (2010).
60. Rajapandiyan, P., Tang, W.-L. & Yang, J. Rapid detection of melamine in milk liquid and powder by surface-enhanced Raman scattering substrate array. *Food Control* **56**, 155–160 (2015).
61. Peng, B. *et al.* Vertically Aligned Gold Nanorod Monolayer on Arbitrary Substrates: Self-Assembly and Femtomolar Detection of Food Contaminants. *ACS Nano* **7**, 5993–6000 (2013).
62. Yao, W. *et al.* Development and evaluation of a surface-enhanced Raman scattering (SERS) method for the detection of the antioxidant butylated hydroxyanisole. *Eur. Food Res. Technol.* **233**, 835 (2011).
63. He, S. *et al.* Multivariate qualitative analysis of banned additives in food safety using surface enhanced Raman scattering spectroscopy. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **137**, 1092–1099 (2015).
64. Culp, S. J. *et al.* Toxicity and metabolism of malachite green and leucomalachite green during short-term feeding to Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Chem. Biol. Interact.* **122**, 153–170 (1999).
65. Mulvihill, M., Tao, A., Benjauthrit, K., Arnold, J. & Yang, P. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Trace Arsenic Detection in Contaminated Water. *Angew. Chem.* **120**, 6556–6560 (2008).
66. Audi, J., Belson, M., Patel, M., Schier, J. & Osterloh, J. Ricin Poisoning: A Comprehensive Review. *JAMA* **294**, 2342–2351 (2005).
67. He, L. *et al.* Rapid Detection of Ricin in Milk Using Immunomagnetic Separation Combined with Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J. Food Sci.* **76**, N49–N53 (2011).



68. Cruz-Aguado, J. A. & Penner, G. Determination of Ochratoxin A with a DNA Aptamer. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 10456–10461 (2008).

## I.4. Conclusion

Dans ce premier chapitre, nous avons posé les bases de la plasmonique. Nous avons vu comment utiliser les plasmons délocalisés afin d'effectuer des mesures de détection moléculaire et nous avons également vu comment utiliser les nanostructures afin d'exalter le signal Raman par méthode SERS. De plus, il a été démontré par de nombreux auteurs que cette méthode pouvait être efficace pour détecter et quantifier différents contaminants dans les composés alimentaires. Dans ce contexte et au sein du projet Piranex, nous avons décidé de développer nos propres méthodologies de détection basées sur les deux approches SPRi et SERS. L'objectif de cette thèse était donc de proposer un nouveau substrat nanostructuré permettant non seulement la détection de composés moléculaires par SPRi mais également leur identification à partir de leur signature spectrale mesurée en SERS.

Afin de proposer une approche rapide et efficace maximisant la vitesse d'avancement du projet Piranex, nous avons décidé de nous focaliser sur un seul type de substrats SERS constitués de surfaces nanostructurées et fabriqués par lithographie électronique pour lesquels le laboratoire CSPBAT (Chimie, structure, propriétés des biomatériaux et agents thérapeutiques) a une grande expertise. De même nous nous sommes focalisés sur une molécule en particulier qui est l'ochratoxine A (OTA). L'OTA est une mycotoxine qui a une structure chimique simple, ce qui facilite son identification par spectroscopie Raman. Elle est hautement toxique et représente un réel problème pour l'industrie agro-alimentaire. Elle est notamment présente dans le vin, où la réglementation européenne (*n°123/2005*) limite sa concentration à 2 ppb, c'est-à-dire 5 nM. De plus, cette molécule a déjà été détectée par SERS mais avec un seuil de détection insuffisant (50 nM).<sup>18</sup> Notre objectif est donc d'améliorer cette détection afin de la rendre utilisable à des fins industrielles. Pour atteindre cet objectif, nous devons améliorer la sensibilité. Pour cela il nous faudra optimiser les propriétés d'exaltation de nos substrats en ajustant au mieux les paramètres de la nano structuration.

Ceci nous a donc mené à étudier les propriétés optiques de substrats SERS constitués de nanostructures d'or déposés sur un substrat diélectrique ou sur un film d'or. Par la suite nous avons également utilisé l'aluminium, pour effectuer des études similaires avec les nanoparticules d'aluminium déposés sur un substrat diélectrique ou sur un film d'aluminium. Le développement et l'étude de ces substrats sont présentés dans les chapitres 2 (nanostructures d'or) et 3 (nanostructures d'aluminium) ainsi que leur intérêt dans le cadre du projet Piranex.

Pour la détection, nous ferons un choix sur l'ensemble des substrats pour déterminer lequel sera le plus adapté à la détection de l'ochratoxine. Ces études sont présentées dans le chapitre 4.

## Bibliographie

1. Raether, H. *Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings*. (Springer, 1988).
2. Palik, E. D. *Handbook of Optical Constants of Solids*. (Academic Press, 1991).
3. Johnson, P. B. & Christy, R. W. Optical Constants of the Noble Metals. *Phys. Rev. B* **6**, 4370–4379 (1972).
4. Chapelle, M. L. de la, Gucciardi, P. G. & Lidgi-Guigui, N. *Handbook of Enhanced Spectroscopy*. (Pan Stanford, 2015).
5. Chapelle, M. L. de la & Pucci, A. *Nanoantenna: Plasmon-Enhanced Spectroscopies for Biotechnological Applications*. (CRC Press, 2013).
6. Smekal, A. Zur Quantentheorie der Dispersion. *Naturwissenschaften* **11**, 873–875 (1923).
7. Raman, C. V. & Krishnan, K. S. A New Type of Secondary Radiation. *Nature* **121**, 501–502 (1928).
8. Landsberg, G. S. & Mandelstam, L. I. New phenomenon in scattering of light (preliminary report). *J. Russ. Phys.-Chem. Soc. Phys. Sect.* **60**, 335 (1928).
9. Fleischmann, M., Hendra, P. J. & McQuillan, A. J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem. Phys. Lett.* **26**, 163–166 (1974).
10. Gersten, J. & Nitzan, A. Electromagnetic theory of enhanced Raman scattering by molecules adsorbed on rough surfaces. *J. Chem. Phys.* **73**, 3023–3037 (1980).
11. Le Ru, E. C., Meyer, M., Blackie, E. & Etchegoin, P. G. Advanced aspects of electromagnetic SERS enhancement factors at a hot spot. *J. Raman Spectrosc.* **39**, 1127–1134 (2008).
12. Champion, A., Ivanecky, J. E., Child, C. M. & Foster, M. ON THE MECHANISM OF CHEMICAL ENHANCEMENT IN SURFACE-ENHANCED RAMAN SCATTERING. *J. Am. Chem. Soc.* **117**, 11807–11808 (1995).
13. Wu, D.-Y. *et al.* Surface Catalytic Coupling Reaction of p-Mercaptoaniline Linking to Silver Nanostructures Responsible for Abnormal SERS Enhancement: A DFT Study. *J. Phys. Chem. C* **113**, 18212–18222 (2009).
14. Kneipp, K. *et al.* Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **78**, 1667–1670 (1997).

- 
15. Nie, S. & Emory, S. R. Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* **275**, 1102–1106 (1997).
  16. Kneipp, K. *et al.* Detection and identification of a single DNA base molecule using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. E* **57**, R6281–R6284 (1998).
  17. Wu, D.-Y. *et al.* Chemical Enhancement Effects in SERS Spectra: A Quantum Chemical Study of Pyridine Interacting with Copper, Silver, Gold and Platinum Metals. *J. Phys. Chem. C* **112**, 4195–4204 (2008).
  18. Galarreta, B. C., Tabatabaei, M., Guieu, V., Peyrin, E. & Lagugné-Labarthet, F. Microfluidic channel with embedded SERS 2D platform for the aptamer detection of ochratoxin A. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 1613–1621 (2013).



## Chapitre II. Propriétés plasmoniques des nanoparticules d'or

Introduction .....	43
II.1. SERS de nanostructures d'or sur un substrat diélectrique.....	44
II.2. Amélioration des propriétés d'exaltation en SERS par l'ajout d'un film d'or .....	55
II.3. Spécificité des échantillons sur un film d'or .....	64
II.3.1. Directivité du SERS.....	64
II.3.2. Localisation de l'exaltation .....	74
II.4. Optimisation du signal SERS dans le cas de nanostructures déposées sur un film d'or ....	86
Conclusion.....	91
Bibliographie .....	92

### Introduction

Dans ce chapitre, je m'intéresserai aux propriétés optiques de nanostructures métalliques mesurées par spectroscopie d'extinction (mesure en champ lointain de l'interaction lumière-nanoparticule) ainsi qu'à leurs propriétés d'exaltation du champ proche local mesurées par SERS. Dans un premier temps, nous verrons que l'information en champ lointain permet dans une certaine mesure de prédire les propriétés en champ proche, mais avec un certain nombre de limites. Nous verrons également comment optimiser le signal SERS pour un réseau carré de nanodisques déposés sur un substrat diélectrique. Dans un deuxième temps, je présenterai les principaux résultats obtenus sur les substrats plasmoniques, développés dans le cadre du projet Piranex, qui consistent en des réseaux de nanodisques d'or déposés sur un film d'or. Les nanoparticules d'or serviront ainsi à l'exaltation du signal Raman et le film d'or permettra d'exciter le plasmon de surface propagatif pour la détection en SPRi. Nous montrerons que ceux-ci présentent des propriétés optiques spécifiques différentes de celles de nanodisques déposés sur un substrat diélectrique. Ainsi, ces réseaux Or/Or présentent un meilleur facteur d'exaltation, une directivité du signal et une distribution du champ local spécifique. Pour mettre en évidence ces nouvelles propriétés, je présenterai une étude systématique de ces réseaux en faisant varier leurs paramètres géométriques.

## II.1. SERS de nanostructures d'or sur un substrat diélectrique

Dans un premier temps, nous avons étudié le signal SERS obtenu à partir de nanostructures d'or déposées sur un substrat diélectrique. L'objectif de cette étude était d'optimiser le signal SERS et de déterminer le lien entre la position de la résonance plasmon et le signal SERS collecté.

Cette étude s'inscrit dans la continuité des travaux déjà réalisés dans le laboratoire sur cette thématique. De nombreuses études d'optimisation de l'exaltation Raman sur des nanostructures de différentes formes, notamment des nanocylindres ou des nanobâtonnets<sup>1,2,3</sup>, ont déjà été effectuées<sup>4,5,6,7,8</sup>, et de nombreux protocoles de détection ont déjà été développés<sup>9,10</sup>. Ainsi des protéines telles que la MnSOD<sup>11</sup>, ou des molécules aromatiques telles que le naphthalène et le benzo[a]pyrène ont été détectées avec succès par SERS en milieux complexes au cours des travaux de thèse de Maximilien Cottat<sup>12</sup> ou d'Inga Tijnelyte<sup>13</sup>.

En terme d'optimisation de l'intensité SERS, la règle généralement retenue est que la résonance plasmon doit être comprise entre la longueur d'onde d'excitation et la longueur d'onde de diffusion Raman<sup>14,15,16</sup>. Ce phénomène a été observé pour une excitation située à 633 nm. Cependant, lorsque l'excitation est proche de l'infrarouge (785 nm), N. Guillot et al.<sup>17</sup> ont observé que la position optimale de la LSPR pour l'exaltation SERS était décalée de 50 nm vers le bleu par rapport à la longueur d'onde d'excitation. Une telle différence de comportement fut dans un premier temps expliquée par un décalage entre le maximum de l'exaltation du champ proche (maximum du signal SERS) et le maximum du spectre d'extinction associé à la résonance du plasmon de surface localisé, comme démontré par J. Zuloaga et P. Nordlander<sup>18</sup> sur des nanoparticules sphériques individuelles. Ce décalage est communément dénommé décalage champ proche/champ lointain. Cependant, des simulations effectuées par Florent Colas en utilisant la méthode de l'approximation par des dipôles discrets (DDA) prouvent que dans le cas de nanocylindres en réseau, ce décalage n'excède pas une dizaine de nanomètres. Pour comprendre ce phénomène, nous avons effectué une étude complémentaire exhaustive sur des nanocylindres déposés à la surface d'un diélectrique. Nous avons choisi les nanocylindres pour leur simplicité qui présente plusieurs avantages. Premièrement, de telles structures présentent une symétrie de révolution axiale, ce qui facilite grandement leur modélisation et l'analyse des résultats. Ce choix est donc idéal pour une première approche sur l'optimisation du signal SERS et pour l'utilisation de cette méthode dans un capteur. Nous utiliserons le même type de réseaux de nanocylindres déposés sur un film d'or pour le développement du substrat hybride. Deuxièmement, les nanocylindres sont des structures facile à produire par lithographie électronique permettant ainsi de développer des substrats qui fournissent un signal SERS très reproductibles. Troisièmement, avec ce type de nanostructure, l'exaltation provient de toute la surface du disque et non d'un effet de pointe à l'extrémité d'une nanostructure allongée ou d'un couplage plasmonique entre deux nanoparticules (formation d'un point chaud). Ainsi l'exaltation du champ électromagnétique est plus homogène et il en résulte une bonne reproductibilité du signal SERS même pour deux échantillons fabriqués dans des conditions différentes.

Fabriqué par lithographie électronique, l'échantillon étudié était donc constitué de réseaux carrés de nanocylindres de diamètres variables (allant de 50 à 200 nm par pas de 10 nm). L'ensemble des autres paramètres géométriques a été gardé constant : l'espacement bord à bord entre deux nanocylindres est égal à 200 nm et la hauteur des disques est de 50 nm (figure 1).

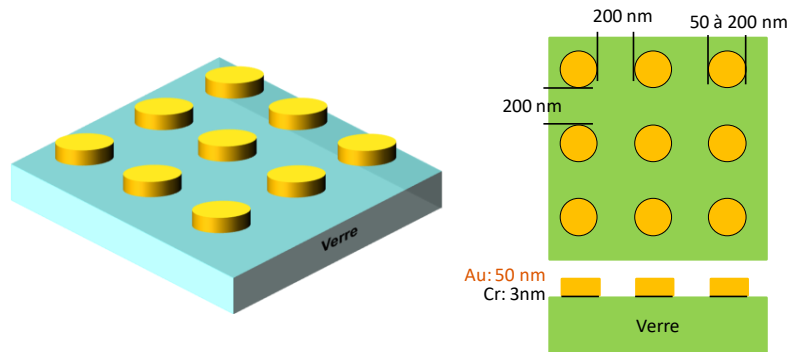


Figure 1 : Schéma des réseaux de nanocylindres sur un substrat de verre

Nous avons observé que lorsque le diamètre augmente, la résonance plasmon se décale vers le rouge, couvrant toute la gamme spectrale de 500 à 800 nm

Nous avons fait une étude systématique de l'intensité SERS de la 1,2-di(4-pyridyl)ethylene (BPE) en utilisant différentes longueurs d'onde d'excitation (633, 660, 691 et 785 nm) pour tous les diamètres et avons comparé les résultats expérimentaux avec les calculs effectués par Florent Colas en DDA et plus précisément avec le code DDSCAT<sup>19</sup>.

Parmi plusieurs méthodes de modélisation électromagnétique, cette technique fut choisie pour plusieurs raisons. Tout d'abord, un code libre est disponible et possède d'excellentes performances de vitesses. De plus, la DDA a fait ses preuves à maintes reprises pour la simulation de spectres d'extinction ainsi que de l'intensité SERS (travaux de G. Schatz sur des nanoparticules de différentes formes<sup>20,21</sup>).

L'approximation des dipôles discrets, dont l'acronyme anglais est DDA, consiste à considérer un objet comme la somme de dipôles élémentaires dont la polarisabilité est calculée à partir de la permittivité relative de l'objet. La réponse à une excitation extérieure est alors calculée comme la somme des réponses de dipôles à cette excitation et à la réponse des champs produits par les autres dipôles. Cette méthode s'appelle également méthode des dipôles couplés. Elle fut proposée pour la première fois par Purcell et Pennypaker en 1973.<sup>22</sup>

Un bon accord entre les résultats simulés et les résultats expérimentaux fut trouvé et dans l'article qui suit, une explication qualitative et quantitative des résultats est proposée.



# Red-Shift Effects in Surface Enhanced Raman Spectroscopy: Spectral or Intensity Dependence of the Near-Field?

Florent J. Colas,<sup>\*,†,‡</sup> Maximilien Cottat,<sup>‡</sup> Raymond Gillibert,<sup>‡</sup> Nicolas Guillot,<sup>‡</sup> Nadia Djaker,<sup>‡</sup> Nathalie Lidgi-Guigui,<sup>‡</sup> Timothée Toury,<sup>§</sup> Dominique Barchiesi,<sup>||</sup> Andrea Toma,<sup>⊥</sup> Enzo Di Fabrizio,<sup>#,∇</sup> Pietro G. Gucciardi,<sup>○</sup> and Marc Lamy de la Chapelle<sup>‡</sup>

<sup>†</sup>IFREMER, Technology Research and Development Department, Detection, Sensors and Measurements Laboratory, F-29280 Plouzané, France

<sup>‡</sup>Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France

<sup>§</sup>ICD-LNIO, UMR STMR CNRS 6279, Université de Technologie de Troyes, 12 rue Marie Curie, F-10000 Troyes, France

<sup>||</sup>Project Group for Automatic Mesh Generation and Advanced Methods, Gamma3 project (UTT-INRIA), Université de Technologies de Troyes, 12 Rue Marie Curie, F-10000 Troyes, France

<sup>⊥</sup>Istituto Italiano di Tecnologia, Via Morego, 30, 16163 Genova, Italy

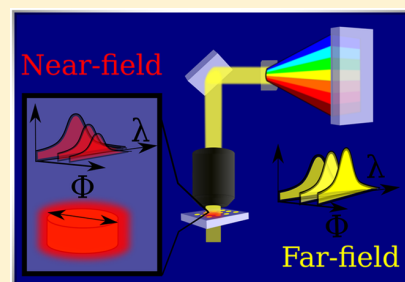
<sup>#</sup>Physical Science and Engineering and BESE Divisions, KAUST, King Abdullah University of Science and Technology, Thuwal 23955–6900, Kingdom of Saudi Arabia

<sup>∇</sup>BIONEM Lab, University of Magna Graecia, Campus Salvatore Venuta, Viale Europa 88100 Germaneto-Catanzaro, Italy

<sup>○</sup>CNR IPCF Istituto per i Processi Chimico-Fisici, Viale F. Stagno D'Alcontres 37, I-98156 Messina, Italy

## Supporting Information

**ABSTRACT:** Optimum amplification in surface enhanced Raman scattering (SERS) from individual nanoantennas is expected when the excitation is slightly blue-shifted with respect to the localized surface plasmon resonance (LSPR), so that the LSPR peak falls in the middle between the laser and the Stokes Raman emission. Recent experiments have shown when moving the excitation from the visible to the near-infrared that this rule of thumb is no more valid. The excitation has to be red-shifted with respect to the LSPR peak, up to 80 nm, to obtain highest SERS. Such discrepancy is usually attributed to a near-field (NF) to far-field (FF) spectral shift. Here we critically discuss this hypothesis for the case of gold nanocylinders. By combining multiwavelength-excitation SERS experiments with numerical calculations, we show that the red-shift of the excitation energy does not originate from a spectral shift between the extinction (FF) and the near-field distribution (NF), which is found to be not larger than 10 nm. Rather, it can be accounted for by looking at the peculiar spectral dependence of the near-field intensity on the cylinders diameter, characterized by an initial increase, up to 180 nm diameter, followed by a decrease and a pronounced skewness.



## INTRODUCTION

Surface enhanced Raman scattering (SERS) is a powerful technique to detect and characterize chemical<sup>1–7</sup> or biological<sup>8–12</sup> species. Due to the high enhancement factor that can be reached in SERS, it has already been demonstrated that molecules can be detected at very low concentrations paving the way to the single molecule sensitivity.<sup>13–19</sup> SERS exploits the optical properties of metallic nanostructures and their resonant interaction with light. It is mainly based on two mechanisms: (i) a chemical<sup>20,21</sup> and (ii) an electromagnetic<sup>22,23</sup> effect. The former results from substrate–adsorbate–photon interactions.<sup>24</sup> The enhancement factor from the chemical effect is estimated to be of the order of 100.<sup>25,26</sup> The second effect is due to the high enhancement of the electromagnetic field at the vicinity of the nanostructure surface. This near-field (NF) enhancement is directly related to the excitation of the

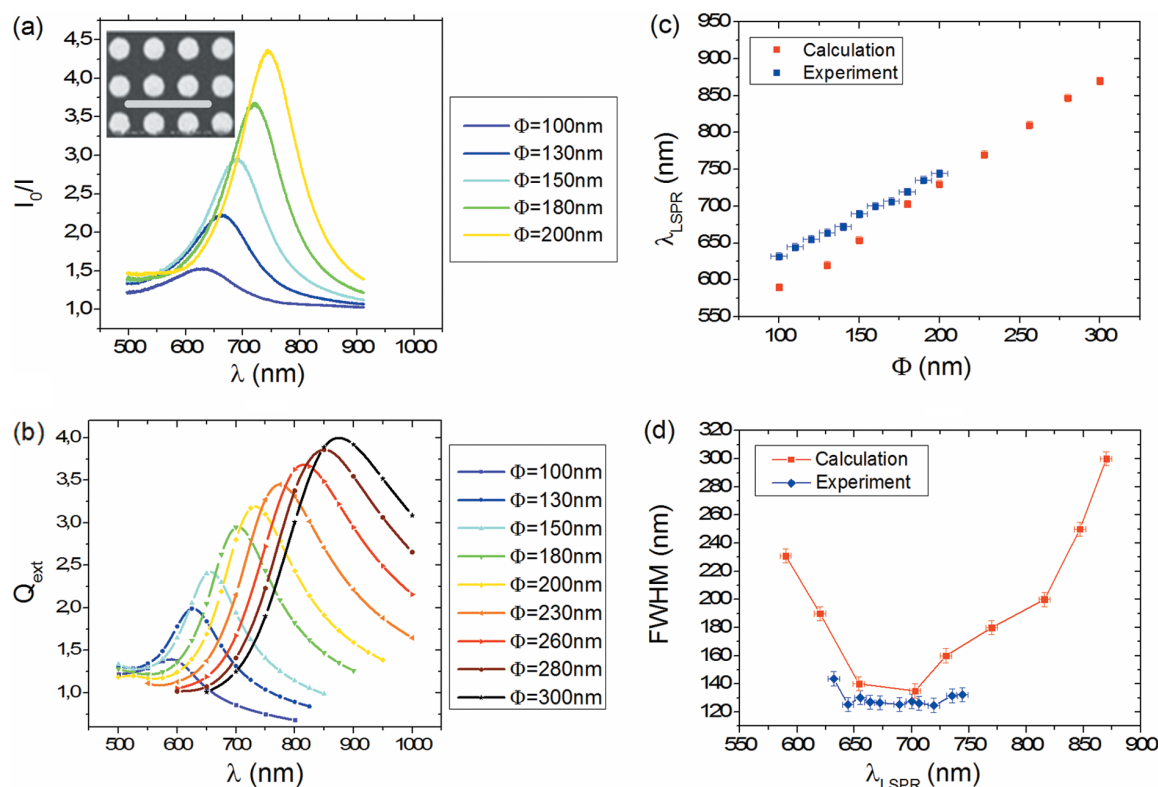
localized surface plasmon resonance (LSPR), which is associated with the collective oscillation of the free electron cloud inside the nanostructure. The LSPR is associated with a high electromagnetic field close to the nanostructure. The electromagnetic enhancement can reach up to  $10^8$  and is then considered as the predominant contribution.<sup>27,28</sup> Such a giant amplification factor comes from a two-step process in which both the excitation and the Raman scattered light are enhanced.<sup>29,32</sup>

The SERS intensity can be written as follows:<sup>32</sup>

**Received:** February 12, 2016

**Revised:** June 6, 2016

**Published:** June 6, 2016



**Figure 1.** Experimental (a) and theoretical (b) extinction spectra of the NCs. The inset of the curve of part a shows a scanning electron microscopy (SEM) image of the 200 nm diameter NC array (the white scale bar is 1  $\mu\text{m}$ ). Positions (c) and fwhm (d) of the measured (blue curve) and calculated (red curve) extinction bands.

$$I_{\text{SERS}} = \mu_s GM(\lambda_{\text{LASER}})M(\lambda_{\text{Raman}}) \frac{\partial \sigma_{\text{RS}}}{\partial \Omega} \Delta \Omega_{\text{Det}} S_{\text{inc}} \quad (1)$$

Here  $\mu_s$  is the surface density of the molecules on the substrate,  $G$  a geometrical factor (see Supporting Information),  $M(\lambda)$  the local field enhancement averaged over the substrate surface at the wavelength  $\lambda$ ,  $\partial \sigma_{\text{RS}} / \partial \Omega$  the differential Raman scattering cross-section,  $\Delta \Omega_{\text{Det}}$  the solid angle for detection, and  $S_{\text{inc}}$  the incident irradiance in the plane of the substrate.

The close relation between the LSPR and the SERS intensity then depends strongly on the spectral features of the enhancement factor  $M(\lambda)$ .<sup>33–39</sup> It has been shown that it is necessary to finely tune the optical properties of the nanostructures in order to reach the highest enhancement factor. Optimization requires maximizing the product of the NF at the excitation and at the Raman band wavelengths (eq 1), which depend strongly on the nanoparticle shape<sup>30,35</sup> and on the excitation wavelength.<sup>30,37</sup>

Several studies claimed that the best enhancement factor is reached for a LSPR position at the midway between the  $\lambda_{\text{LASER}}$  and  $\lambda_{\text{Raman}}$ .<sup>29,34,36,37</sup>

$$\lambda_{\text{LSPR}}^{\text{Opt}} = \frac{\lambda_{\text{LASER}} + \lambda_{\text{Raman}}}{2} \quad (2)$$

In former studies,<sup>38,40</sup> it has been suggested that the deviations between the position of the LSPR given by eq 2 and the experimental results are due to spectral shift between the far-field (FF) resonance, i.e., the energy at which maximum extinction occurs, and a more subtle near-field (NF) resonance, i.e., the energy at which the enhanced field experienced by the

molecules in the NF of the nanoantennas is at the maximum. In other words, does the LSPR peak measured in the FF correspond to the maximum of the NF? Many papers have debated on this subject theoretically and experimentally.<sup>40–48</sup> It has been shown that the NF is generally red-shifted compared to the FF,<sup>40–46</sup> and this spectral shift increases with the particle volume.<sup>44,45</sup> However, the cause of this red-shift is still being investigated. Recent papers aimed to find a phenomenological explanation. Zuloaga and co-workers<sup>46</sup> demonstrated that this effect comes from the losses by the nanoparticles in analogy with driven damped harmonic oscillators and then demonstrated the universality of this rule. This work was completed by Kats and co-workers.<sup>47</sup> Recently Moreno et al. confirmed the universality of this NF to FF red-shift in the case of small particles with a strong dipolar contribution.<sup>48</sup>

In this paper, we investigate the origin of the wavelength dependence of the SERS enhancement of gold nanocylinders (NCs) by combining extinction spectroscopy, SERS measurement of a probe molecule with multiwavelength excitation, and numerical simulation.

## EXPERIMENTAL AND THEORETICAL METHODS

This study was performed with gold NCs produced by electron-beam lithography and lift-off techniques<sup>36</sup> on a microscope glass slide. Their diameters range from 70 to 200 nm with a 10 nm step. The distance between the NC is fixed at 200 nm in both directions. The gold height is 50 nm with a chromium adhesion layer of 2 nm.

The samples were cleaned by UV–ozone process during 30 min, plunged into an ethanol solution, and then dried prior to

the extinction measurements. The extinction spectra were acquired on a LabRam Xplora spectrometer (Horiba Scientific). The extinction measurements were recorded in transmission configuration with a 10× objective (NA = 0.25) on an area of 100 μm diameter selected by the confocal hole. The sample was illuminated in normal incidence with collimated white light.

The probe molecule was deposited on the nanostructures by immersion in a 10<sup>-3</sup> M solution of *trans*-1,2-bis(4-pyridyl)-ethylene (BPE) during 1 h and dried with nitrogen gas flow. The SERS spectra were acquired on three different spectrometers from Horiba Scientific: a LabRam 300 at 633 nm, an Xplora at 660 and 785 nm, and a LabRam HR800 at 691 nm. The signals were collected using a 100× objective with a numerical aperture of 0.9. Acquisition time for one spectrum was 60 s with 200 μW power. For each diameter, measurements were done nine times on different points to analyze the reproducibility of the signal. SERS signals were then averaged, and a standard deviation was calculated and represented as the error bars.

The FF and NF calculation was carried out using DDSCAT 7.3.<sup>49,50</sup> Single gold NC and array of gold NCs was considered on top of a layer of N-BK7 glass, with a chromium film of 2 nm-thickness in between. The refractive index of gold was taken from Johnson and Chrity,<sup>51</sup> with the chromium one from Sopra database, and the refractive index of the glass substrate was taken from the Schott database. The NC top angle was rounded with a radius of curvature of 10 nm to take into account the imperfection of nanoparticle fabrication process. The interdipole length was set to 2 nm (see Supporting Information). The height of the NC was 50 nm, and the diameters were 100, 130, 150, 180, 200, 230, 260, 280, and 300 nm. The calculations were performed at wavelength from 500 to 1000 nm with 50 nm steps far from the resonance and with a 25 nm step close to the resonance. They were performed with the high performance computing facilities of Pôle de Calcul Intensif pour la Mer.<sup>52</sup> The substrate was incorporated in the object as a slide of glass of 100 nm. This choice is described and motivated in the Supporting Information.

The NF enhancement was calculated by averaging the electric field in a volume of 2 nm thickness around the nanoparticles. The mean SERS enhancement was assessed by the product of the NF enhancement at the laser wavelength and at the vibrational mode wavelength (Supporting Information). The uncertainties on the position of the FF and NF plasmon bands as well as on the fwhm were assessed from interpolation errors.

## RESULTS AND DISCUSSION

The experimental and theoretical extinction spectra are plotted in Figure 1a,b, respectively. The positions of the extinction bands red-shift when the particle diameter increases as previously demonstrated by Zorić et al.<sup>53</sup> The positions of the expected LSPR peaks (Figure 1c, blue symbols) show a linear growth similar to the experimental data (Figure 1c, blue symbols), although the values are slightly underestimated. This discrepancy is consistent with the geometrical uncertainties of the nanostructures geometry and a surface roughness of a few nanometers.<sup>54</sup> The full-width at half maximum (fwhm) values of the extinction bands are plotted in Figure 1d. They appeared constant over the range of particle diameter experimentally studied, meaning a constant damping of the nanoparticle resonance.<sup>31</sup> The full width at half maximum (fwhm) values of the LSPR peaks in experiments are between 7% and 23%

thinner than those in simulations. First, the SEM images of the nanostructures showed that the sizes of the nanocylinders are very reproducible from one NC to the other (Figure 1a). The diameter distribution is then very sharp. Second, the fwhm of the LSPR peaks is related to the imaginary part of the relative permittivity, which can show some significant changes from one deposit to the other.<sup>55</sup> The overestimation of the fwhm can then be attributed to the gold relative permittivity change.

The U-shape of the theoretical fwhm curve is similar to that reported by Shen et al.<sup>56</sup> The gold absorption is minimal in the 600–700 nm range,<sup>51</sup> which leads to a resonance sharper in this domain. In addition, as the volume of the NC increases the radiation damping rises and then the resonance peak widens. These two effects contribute to this typical U-shape.

To determine the SERS signal, a probe molecule: the *trans*-1,2-bis(4-pyridyl)ethylene (BPE) was deposited on the NCs. This compound has been extensively used for probing electromagnetic enhancement as the chemical contribution was proven negligible.<sup>57</sup>

Figure 2 shows the SERS spectrum of BPE on 160 nm diameter NCs. The four main peaks at 1007, 1200, 1606, and

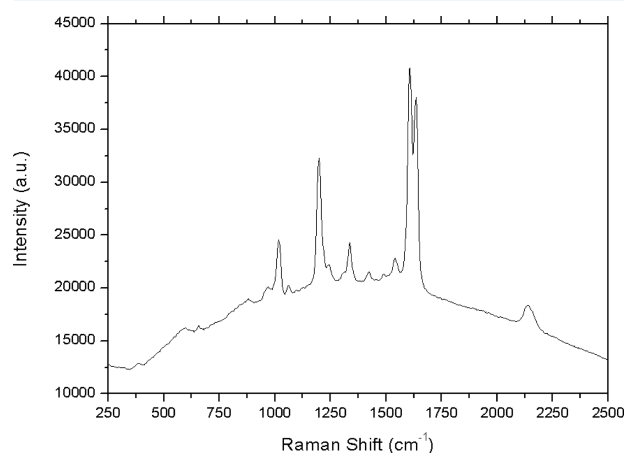
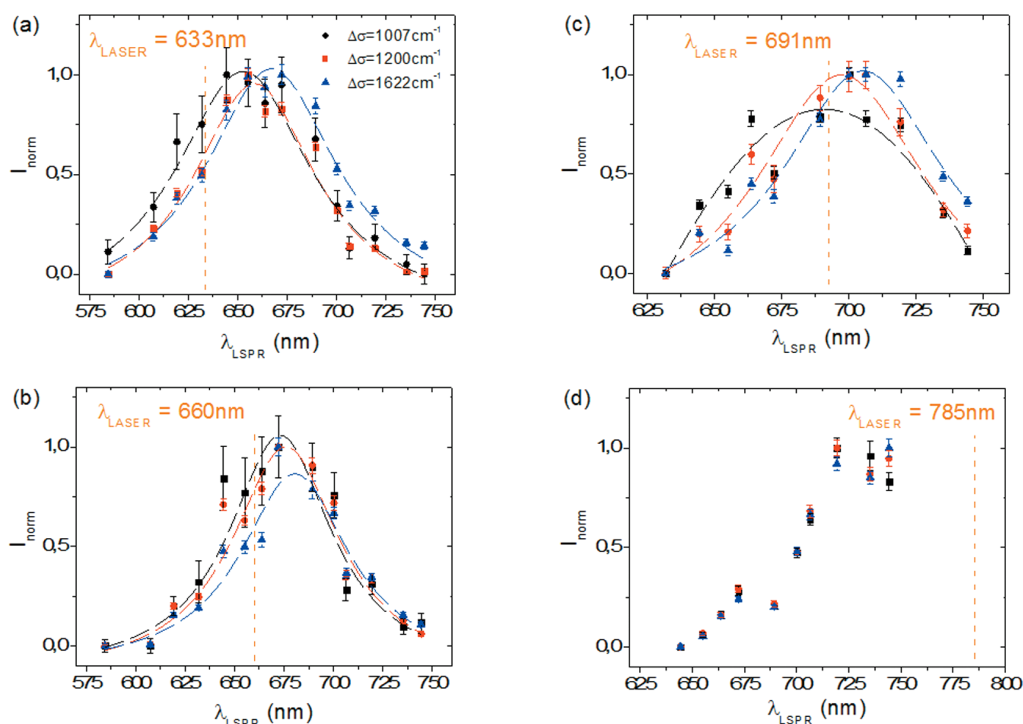


Figure 2. Spectrum of BPE on the 160 nm diameter NCs excited by the laser at 660 nm.

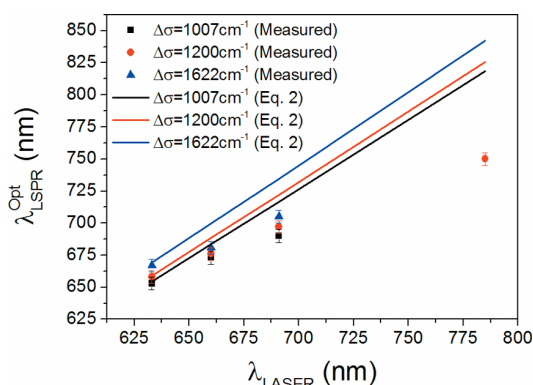
1636 cm<sup>-1</sup> are easily observed. They are in agreement with the bands previously reported.<sup>57,58</sup> They can be attributed to the ring-breathing mode of pyridine, the C=C stretching mode, the aromatic ring stretching mode, and the in-plane ring mode, respectively.<sup>58,59</sup>

Multiwavelength-excitation SERS experiments have been carried out with four different laser wavelengths (633, 660, 691, and 785 nm). The results are plotted in Figure 3. For each laser line the SERS intensity of the different Raman modes was plotted as a function of the LSPR wavelength of the NCs. The 1622 cm<sup>-1</sup> wavenumber corresponds to the average of the two peaks at 1606 and 1636 cm<sup>-1</sup>. The SERS intensity of each peak was normalized to its maximum value. The intensity profiles are fitted with Lorentzians<sup>56</sup> to determine the LSPR wavelength of the NCs that provide optimal SERS intensity, noted  $\lambda_{\text{LSPR}}^{\text{Opt}}$  hereafter. As expected from eq 2, the larger the excitation wavelength is, the larger the LSPR wavelength of the nanostructures providing the optimal SERS enhancement (Figure 4).

At 633 nm, the experimental and expected optimal LSPR positions are very similar whereas for larger laser wavelength,



**Figure 3.** Measured Raman band intensity at 1007, 1200, and 1622  $\text{cm}^{-1}$  with regards to the LSPR positions for four excitation wavelengths: 633 nm (a), 660 nm (b), 691 nm (c), and 785 nm (d).



**Figure 4.** Position of the optimal LSPR wavelengths measured (solid symbols) and expected from eq 2 (lines) with regards to the excitation wavelength. Data are plotted for all the three Raman bands considered (black for the 1007  $\text{cm}^{-1}$ , red for the 1200  $\text{cm}^{-1}$ , and green for the 1622  $\text{cm}^{-1}$  doublet). Data for the 785 nm laser comes from ref 38.

the experimental value found for  $\lambda_{\text{LSPR}}^{\text{Opt}}$  is gradually blue-shifted in comparison to the expected one (Figure 4 and Table 1). In the case of a 785 nm excitation, we could not reach the maximum of the SERS intensity. However, Guillot et al.<sup>38</sup>

**Table 1.** Deviation of the Expected Optimum from Equation 2 to Experimental Results for the 1200  $\text{cm}^{-1}$  Band

$\lambda_{\text{LASER}}$ (nm)	$\Delta\lambda_{1200}$ (nm)
633	1
660	12
691	25
785	80

demonstrated that the maximum SERS intensity was achieved at 750 nm with similar experiment but larger NCs. At this excitation wavelength, the discrepancy of the theoretical to experimental values then goes even up to 80 nm.

The fact that maximum SERS is observed on NCs with a LSPR blue-shifted with respect to the expectations has been attributed to a not-well-understood red-shift phenomenon between NF and FF as previously debated.<sup>38,41–48</sup> Recently, Zuloaga et al.<sup>46</sup> proposed an explanation based on the harmonic oscillator model. The electron cloud of the nanoparticle is described as a damped harmonic oscillator (HO) driven by the electric field of the incoming light. In such a system, two resonances exist: the first one is related to the position of the electron cloud while the second one is related to its speed. Zuloaga et al. associated the NF resonance to the former while the FF is associated to the latter. They then demonstrate that the pulsations of the NF and the FF resonances, respectively, noted  $\omega_{\text{NF}}$  and  $\omega_{\text{FF}}$ , are related by

$$\omega_{\text{NF}} = \omega_{\text{FF}} \sqrt{1 - \frac{\gamma^2}{2\omega_{\text{FF}}^2}} \quad (3)$$

where  $\gamma$  is the damping parameter of the HO.

For low damping,  $\gamma \ll \omega_{\text{FF}}$ , the relative shift between the wavelength of the NF and FF resonances is expected to be

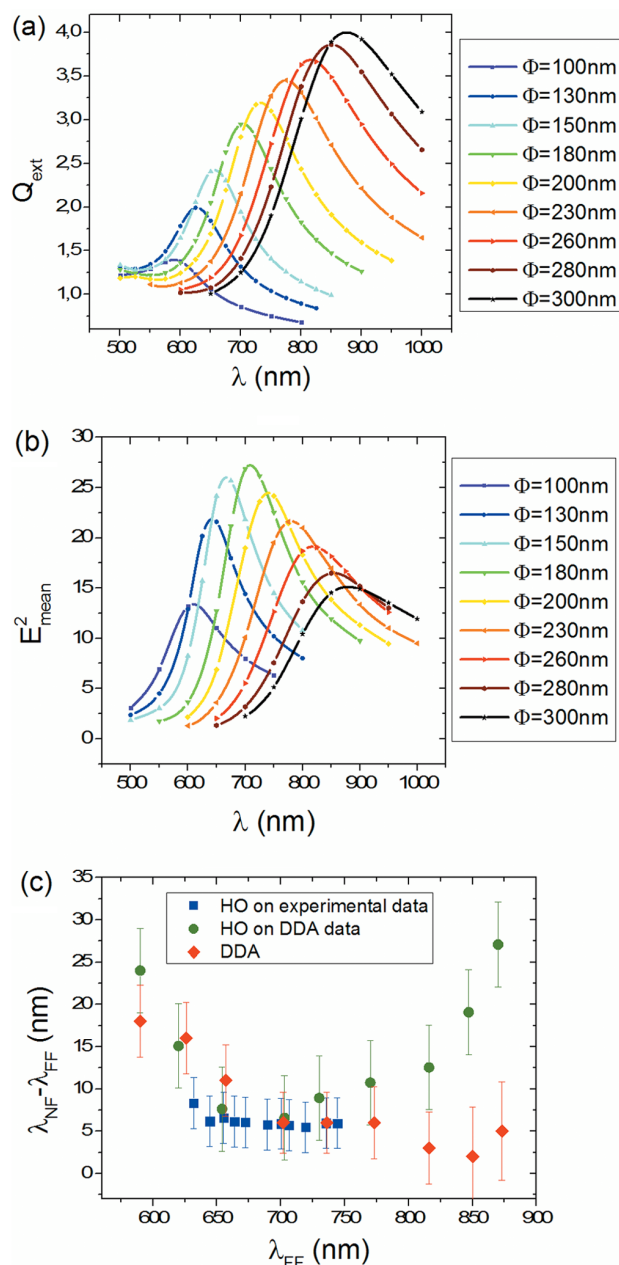
$$\omega_{\text{FF}} - \omega_{\text{NF}} \propto \gamma^2 \lambda_{\text{FF}} \quad (4)$$

where  $\lambda_{\text{FF}} = 2\pi c/\omega_{\text{FF}}$  can be measured in far-field and corresponds to the  $\lambda_{\text{LSPR}}$  and  $c$  is the speed of light.

Several things can be noticed: First, the NF resonance occurs at higher wavelengths with respect to the FF one; i.e., a red-shift is expected in the NF. Second, at constant damping, the higher the FF resonance, the higher the expected red-shift. Finally, the NF to FF red-shift increases with the plasmon

damping. The first two predictions from the HO model seem to be in qualitative agreement with our experimental findings.

To investigate quantitatively the origin of the red-shift, the spectral dependence of the near-field distribution for each cylinder diameter was calculated by DDA as the square of the electric field averaged in a 2 nm thick layer around the nanoparticle. The results are plotted on Figure 5b. The NF to FF shift is shown on Figure 5c (red diamonds). For comparison, the expected NF to FF shift was calculated using the HO model. The  $\gamma$  term of eq 3 was estimated from the



**Figure 5.** (a) Extinction efficiency of arrays of NCs whose diameters vary from 100 to 300 nm calculated by DDA. (b) Mean square electric field around the NCs. (c) NF to FF spectral shift calculated by the HO model from experimental (blue square) and calculated (green circle) extinction bands and from near-field calculation (red diamond).

fwhm of the measured and calculated extinction bands. The results are shown in Figure 5c. In the range of the experimental measurement, the NF to FF shifts calculated by DDA and HO models are similar and remains lower than 10 nm. For lower resonance wavelengths, the NF to FF shift shows an increase while remaining lower than 20 nm. This change is consistent with an increase of the absorption of gold and then of the red-shift according to the HO description. For larger resonance wavelengths, the HO model predicts shifts larger than those from the DDA calculations, but still smaller than 30 nm. Indeed, the model proposed by Zuloaga and co-workers is dedicated to isolated particles that are small compared to the wavelength and then cannot be applied to larger NCs.

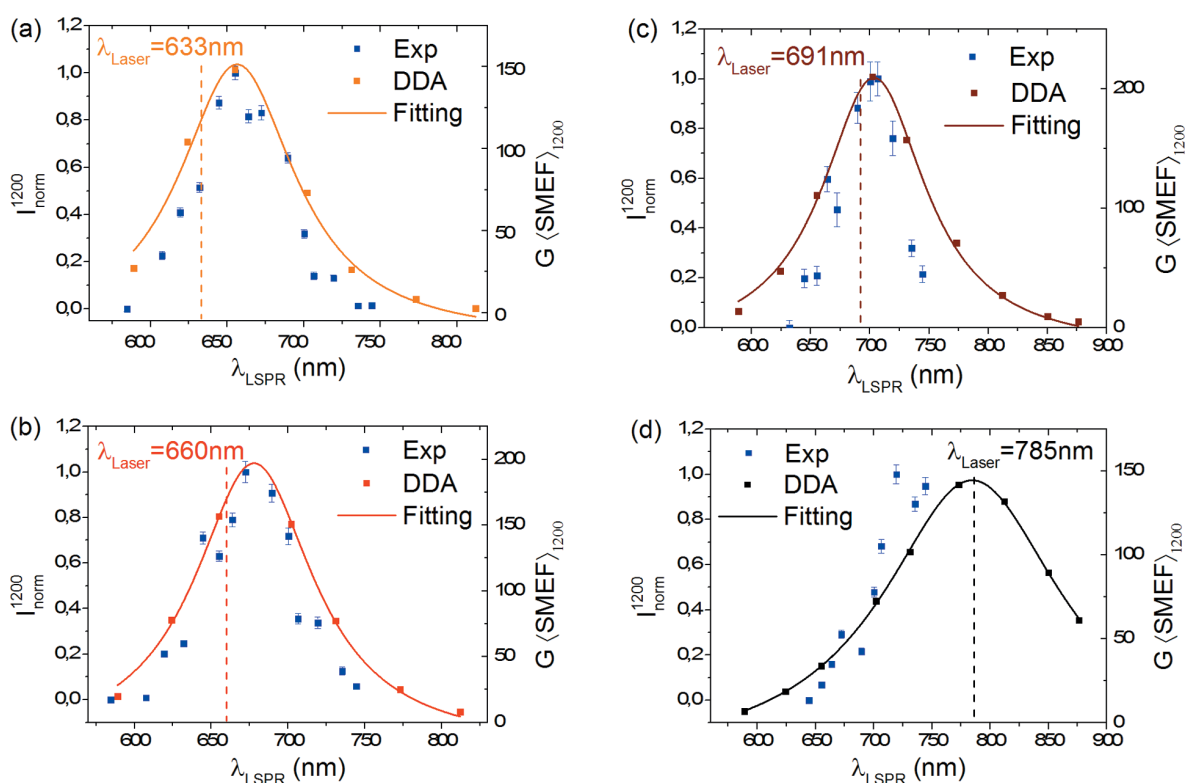
The shift between the optimal positions of the extinction band to the maximum SERS enhancement can reach 80 nm for larger particles and an excitation wavelength of 785 nm (Figure 4). Then, we believe that the discrepancy of the experimental data to eq 2 does not come from an NF to FF spectral shift.

To get more insight on the origin of the discrepancy between the optimal LSPR and the values predicted by eq 2 let us compare the NF of the different NCs (Figure 5b). We first observe that the NF plasmon bands have some asymmetric profile and positive skewness.<sup>61</sup> Furthermore, the NF intensity increases for diameters from 100 to 180 nm and then decreases for higher diameter, whereas the FF extinction efficiency maximum keeps increasing in this range of particle sizes. The NF intensity reaches a maximum for an LSPR position around 650–700 nm. In this spectral range, the fwhm values of the extinction bands are at a minimum (Figure 1b). The quality factors of the corresponding resonators are then at a maximum, which lead to the highest near-field.<sup>56,60</sup>

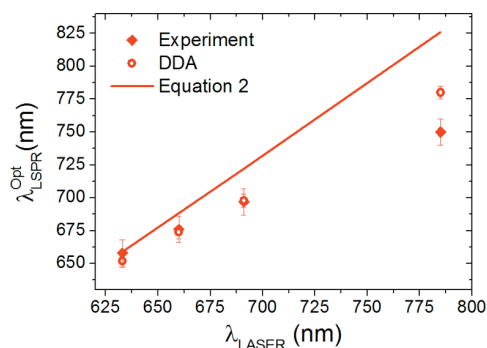
The theoretical SERS intensity was calculated from eq 1 (Supporting Information) for the four excitation wavelengths. The results are plotted in Figure 6 and superimposed to the experimental data. The theoretical points were fitted by a Lorentzian by Shen and co-workers.<sup>56</sup> Theoretical and experimental results fit very well for the first three laser lines, meaning that the enhanced NF calculated by DDA gives an accurate description of the spectral feature of NF as well as the relative intensity. For the 785 nm laser, the missing experimental points for diameters higher than 200 nm make the comparison more difficult even if the experimental points are close to the DDA calculations.

Figure 7 represents  $\lambda_{\text{LSPR}}^{\text{Opt}}$  for the 1200  $\text{cm}^{-1}$  Raman shift with regards to the laser wavelengths. The experimental results are enriched by values of previous work done at 785 nm.<sup>38</sup> Two sets of data are shown: the experimental measurement and the theoretical value calculated from NF DDA simulation. The experimental and theoretical results are very consistent and within the error tolerance except for the 785 nm laser. Indeed, at this wavelength the theoretical  $\lambda_{\text{LSPR}}^{\text{Opt}}$  is overestimated by 30 nm with regards to the experimental one, which is above the error tolerance. This is attributed to the experimental dissimilarities between our study and ref 38.

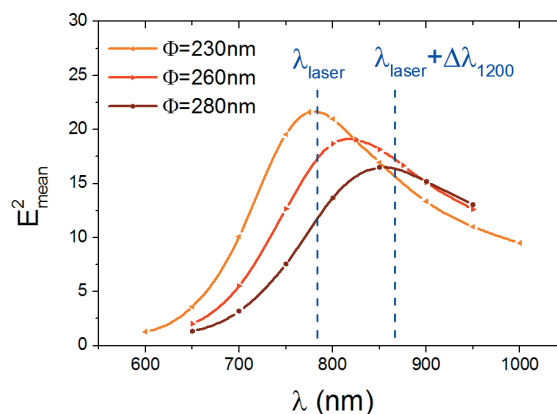
On the basis of this good agreement between the simulation and the experimental data, we propose an explanation for the discrepancy between the optimal extinction band positions measured and calculated with eq 2. Actually, careful attention has to be paid to the NF intensity and not only to the position of its maximum. For the case of NCs, DDA calculations tell us that the NF intensity reaches its maximum for an LSPR position around 650–700 nm (Figure 6b), corresponding to diameters between 150 and 180 nm. Then, as the NC diameter



**Figure 6.** Normalized SERS signal of the  $1200\text{ cm}^{-1}$  band with regards to the extinction band position of the array of NCs measured (on the left-hand side y-axis) and the mean SERS enhancement calculated by DDA (on the right-hand side y-axis) for the four laser wavelengths: 633 nm (a), 660 nm (b), 691 nm (c), and 785 nm (d).



**Figure 7.** Optimal LSPR position with regards to the excitation wavelength from measurements (plain markers), DDA calculations (shallow markers), and eq 2 calculations (plain line).



**Figure 8.** Mean electric field square around the NC.

further increases, the intensity of the maximum of the NF intensity decreases. Moreover, the NF curves widen and become asymmetric with a positive skewness increasing with the diameter of the NC. It can be seen on Figure 6 that for a laser wavelength of 785 nm, the highest SERS enhancement is then reached if the laser line is close to the maximum of the NF enhancement. This becomes clear when looking at Figure 8: the best enhancement is achieved when the intersections of the two dotted lines (the laser of 785 nm and the Raman shift of  $1200\text{ cm}^{-1}$  wavelength) with the NF plasmon band are the highest. This occurs for the NC of 230 nm diameter whose plasmon band is maximum at about 780 nm.

The blue-shift experimentally observed does not come from a spectral shift of the NF as to the FF but from the spectral shape

of the NF that is quite different compared to the extinction band (more asymmetric).

## CONCLUSIONS

This work characterized the FF and NF properties of gold NCs of diameters from 100 to 300 nm fabricated by electron-beam lithography. The FF properties were investigated by extinction spectroscopy while the NF by SERS measurements of a probe molecule adsorbed on the nanoparticles. DDA simulations were then performed to provide some phenomenological description.

This study aims to provide some explanations on the position of the optimal LSPR for SERS with regard to the laser

line. A rule of thumb states that the best SERS enhancement is achieved when the LSPR is located at the midpoint between the laser and the Raman lines. However, this does not apply to all the samples, in particular for large laser wavelength. This discrepancy was often assumed to come from a NF to FF spectral shift.

This work clearly demonstrated that there is no significant spectral shift between the NF and the FF with arrays of far-field coupled NCs. The discrepancy between the optimal LSPR for SERS measured and expected from the aforementioned rule cannot be attributed to any NF red-shift. The explanation lay in the intensity of the NF plasmon band. The NF enhancement is at a maximum for LSPR about 670 nm and then decreases with the LSPR position. A higher SERS signal is then achieved with a LSPR close to this value. The optimal position is then a compromise between the position of the Raman and the laser lines compared to the LSPR and the intensity of the NF band.

## ■ ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jpcc.6b01492.

Modeling parameters and assessment of the results, and relation between the near-field and the measured SERS intensity (PDF)

## ■ AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*E-mail: florent.colas@ifremer.fr.

### Author Contributions

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ■ ACKNOWLEDGMENTS

The authors want to acknowledge the European project Nanoantenna (HEALTH-F5-2009-241818), and the French Research Agency projects PIRANEX (ANR-12-NANO-0016) and REMANTAS (ANR-11-ECOT-0010) for financial support. P.G.G. acknowledges University Paris XIII and the MIUR under Project PRIN 2008J858Y7 financial support.

## ■ ABBREVIATIONS

NF, near-field; FF, far-field; BPE, *trans*-1,2-bis(4-pyridyl)-ethylene; EBL, electron-beam lithography; SEM, scanning electron microscopy; DDA, discrete dipole approximation; NC, nanocylinder; fwhm, full-width at half maximum; SERS, surface enhanced Raman scattering; LSPR, localized surface plasmon resonance; FDTD, finite difference time domain; HO, harmonic oscillator

## ■ REFERENCES

- Chaney, S. B.; Shanmukh, S.; Dluhy, R. A.; Zhao, Y. P. Aligned silver nanorod arrays produce high sensitivity surface-enhanced Raman spectroscopy substrates. *Appl. Phys. Lett.* **2005**, *87* (3), 031908–031903.
- Gupta, R.; Weimer, W. A. High enhancement factor gold films for surface enhanced Raman spectroscopy. *Chem. Phys. Lett.* **2003**, *374* (3–4), 302–306.
- Rodríguez-Lorenzo, L.; Álvarez-Puebla, R. A.; Pastoriza-Santos, I.; Mazzucco, S.; Stephan, O.; Kociak, M.; Liz-Marzán, L. M.; García de Abajo, F. J. Zeptomol detection through controlled ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131* (13), 4616–4618.
- Xu, H.; Bjerneld, E. J.; Käll, M.; Börjesson, L. Spectroscopy of single hemoglobin molecules by surface enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *83* (21), 4357–4360.
- Michaels, A. M.; Nirmal, M.; Brus, L. E. Surface enhanced Raman spectroscopy of individual rhodamine 6G molecules on large Ag nanocrystals. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121* (43), 9932–9939.
- Qian, X. M.; Nie, S. M. Single-molecule and single-nanoparticle SERS: from fundamental mechanisms to biomedical applications. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37* (5), 912–920.
- Guillot, N.; Lamy de la Chapelle, M. Lithographed nanostructures as nanosensors. *J. Nanophotonics* **2012**, *6* (1), 064506-1–064506-28.
- Kneipp, K.; Kneipp, H.; Kartha, V. B.; Manoharan, R.; Deinum, G.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. Detection and identification of a single DNA base molecule using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. E: Stat. Phys., Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.* **1998**, *57* (6), 6281–6284.
- Stewart, S.; Fredericks, P. M. Surface-enhanced Raman spectroscopy of peptides and proteins adsorbed on an electrochemically prepared silver surface. *Spectrochim. Acta, Part A* **1999**, *55* (7–8), 1615–1640.
- Han, X. X.; Zhao, B.; Ozaki, Y. Surface-enhanced Raman scattering for protein detection. *Anal. Bioanal. Chem.* **2009**, *394* (7), 1719–1727.
- David, C.; Guillot, N.; Shen, H.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M. L. SERS detection of biomolecules using lithographed nanoparticles towards a reproducible SERS biosensor. *Nanotechnology* **2010**, *21* (47), 475501.
- Cottat, M.; D'Andrea, C.; Yasukuni; Malashikhina, N.; Grinyte, R.; Lidgi-Guigui, N.; Fazio, B.; Sutton, A.; Oudar, O.; Charnaux, N.; et al. M. High sensitivity, high selectivity SERS detection of MnSOD using optical nanoantennas functionalized with aptamers. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119* (27), 15532–15540.
- Haynes, C. L.; McFarland, A. D.; Duyne, R. P. V. Surface-enhanced Raman spectroscopy. *Anal. Chem.* **2005**, *77* (17), 338–346.
- Saute, B.; Narayanan, R. Solution-based direct readout surface enhanced Raman spectroscopic (SERS) detection of ultra-low levels of thiram with dogbone shaped gold nanoparticles. *Analyst* **2011**, *136* (3), 527–532.
- Álvarez-Puebla, R. A.; Dos Santos, D. S., Jr.; Aroca, R. F. Surface-enhanced Raman scattering for ultrasensitive chemical analysis of 1 and 2-naphthalenethiols. *Analyst* **2004**, *129* (12), 1251–1256.
- Kattumenu, R.; Lee, C. H.; Tian, L.; McConney, M. E.; Singamaneni, S. Nanorod decorated nanowires as highly efficient SERS-active hybrids. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21* (39), 15218–15223.
- Nie, S.; Emory, S. R. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering. *Science* **1997**, *275* (5303), 1102–1106.
- Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. Single molecule detection using surface-enhanced Raman scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78* (9), 1667–1670.
- Le Ru, E. C.; Grand, J.; Sow, I.; Somerville, W. R. C.; Etchegoin, P. G.; Treguer-Delapierre, M.; Charron, G.; Félijd, N.; Lévi, G.; Aubard, J. A scheme for detecting every single target molecule with surface-enhanced Raman spectroscopy. *Nano Lett.* **2011**, *11* (11), 5013–5019.
- Otto, A. Surface-enhanced Raman scattering of adsorbates. *J. Raman Spectrosc.* **1991**, *22* (12), 743–752.
- Kambhampati, P.; Child, C. M.; Foster, M. C.; Campion, A. On the chemical mechanism of surface enhanced Raman scattering: Experiment and theory. *J. Chem. Phys.* **1998**, *108* (12), 5013–5026.

- (22) Schatz, G.; Young, M.; Duyn, R. Electromagnetic Mechanism of SERS. In *Surface-Enhanced Raman Scattering*; Kneipp, K., Moskovits, M., Kneipp, H., Eds.; Springer: Berlin, 2006; pp 19–45.
- (23) Gersten, J.; Nitzan, A. Electromagnetic theory of enhanced Raman scattering by molecules adsorbed on rough surfaces. *J. Chem. Phys.* **1980**, *73* (7), 3023–3037.
- (24) Persson, B. N. J.; Zhao, K.; Zhang, Z. Chemical contribution to surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *96* (20), 207401.
- (25) Jiang, X.; Campion, A. Chemical effects in surface-enhanced Raman scattering: pyridine chemisorbed on silver adatoms on Rh (100). *Chem. Phys. Lett.* **1987**, *140* (1), 95–100.
- (26) Valley, N.; Greeneltch, N.; Van Duyn, R. P.; Schatz, G. C. A look at the origin and magnitude of the chemical contribution to the enhancement mechanism of surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): Theory and experiment. *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4* (16), 2599–2604.
- (27) Le Ru, E. C.; Blackie, E.; Meyer, M.; Etchegoin, P. G. Surface enhanced Raman scattering enhancement factors: A comprehensive study. *J. Phys. Chem. C* **2007**, *111* (37), 13794–13803.
- (28) Xu, H. X.; Aizpurua, J.; Kall, M.; Apell, P. Electromagnetic contributions to single-molecule sensitivity in surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. E: Stat. Phys., Plasmas, Fluids, Relat. Interdiscip. Top.* **2000**, *62* (3), 4318–4324.
- (29) Zimmermann, F.; Wokaun, A. Giant gold clusters stabilized by triphenylphosphine ligands. Characterization by surface enhanced Raman and reflectance spectroscopy. *Mol. Phys.* **1991**, *73* (5), 959–72.
- (30) Guillot, N.; Lamy de la Chapelle, M. L. The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: Enhancement optimization using precisely controlled nanostructures. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* **2012**, *113* (18), 2321–2333.
- (31) Wokaun, A. Surface-enhanced electromagnetic processes. *Solid State Phys.* **1984**, *38*, 223–294.
- (32) Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G. SERS Enhancement Factors and Related Topics. In *Principles of Surface Enhanced Raman Scattering*; Elsevier, 2009; Chapter 4, pp 185–264.
- (33) Haynes, C. L.; Van Duyn, R. P. Plasmon scanned surface-enhanced Raman scattering excitation profiles. *MRS Online Proc. Libr.* **2002**, *728*, DOI: [10.1557/PROC-728-S10.7](https://doi.org/10.1557/PROC-728-S10.7)
- (34) Felidj, N.; Aubard, J.; Levi, G.; Krenn, J. R.; Hohenau, A.; Schider, G.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R. Optimized surface-enhanced Raman scattering on gold nanoparticle arrays. *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *82* (18), 3095–3097.
- (35) Grand, J.; Lamy de la Chapelle, M.; Bijeon, J.-L.; Adam, P.-M.; Vial, A.; Royer, P. Role of localized surface plasmons in surface-enhanced Raman scattering of shape-controlled metallic particles in regular arrays. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2005**, *72* (3), 033407.
- (36) Grand, J.; Kostcheev, S.; Bijeon, J. L.; Lamy de la Chapelle, M. L.; Adam, P. M.; Romyantseva, A.; Léronel, G.; Royer, P. Optimization of SERS-active substrates for near-field Raman spectroscopy. *Synth. Met.* **2003**, *139* (3), 621–624.
- (37) Billot, L.; Lamy de la Chapelle, M.; Grimault, A. S.; Vial, A.; Barchiesi, D.; Bijeon, J. L.; Adam, P. M.; Royer, P. Surface enhanced Raman scattering on gold nanowire arrays: Evidence of strong multipolar surface plasmon resonance enhancement. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *422* (4–6), 303–307.
- (38) Guillot, N.; Shen, H.; Frémaux, B.; Péron, O.; Rinnert, E.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M. L. Surface enhanced Raman scattering optimization of gold nanocylinder arrays: Influence of the localized surface plasmon resonance and excitation wavelength. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *97* (2), 023113–023113.
- (39) McFarland, A. D.; Young, M. A.; Dieringer, J. A.; Van Duyn, R. P. Wavelength-scanned surface-enhanced Raman excitation spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109* (22), 11279–11285.
- (40) Grimault, A. S.; Vial, A.; Lamy de la Chapelle, M. Modeling of regular gold nanostructures arrays for SERS applications using a 3D FDTD method. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2006**, *84* (1–2), 111–115.
- (41) Ross, B. M.; Lee, L. P. Comparison of near- and far-field measures for plasmon resonance of metallic nanoparticles. *Opt. Lett.* **2009**, *34*, 896–898.
- (42) Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668–677.
- (43) Alonso-Gonzales, P.; Albella, P.; Neubrech, F.; Huck, C.; Chen, J.; Golmar, F.; Casanova, F.; Hueso, L. E.; Pucci, A.; Aizpurua, J.; et al. Experimental verification of the spectral shift between near- and far-field peak intensities of plasmonic infrared nanoantennas. *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *110*, 203902.
- (44) Quinten, M. *Optical Properties of Nanoparticle Systems: Mie and Beyond*; Wiley-VCH, 2011.
- (45) Bryant, G. W.; Garcia de Abajo, F. J.; Aizpurua, J. Mapping the plasmon resonances of metallic nanoantennas. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 631–636.
- (46) Zuloaga, J.; Nordlander, P. On the energy shift between near-field and far-field peak intensities in localized plasmon systems. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1280–1283.
- (47) Kats, M. A.; Yu, N.; Genevet, P.; Gaburro, Z.; Capasso, F. Effect of radiation damping on the spectral response of plasmonic components. *Opt. Express* **2011**, *19* (22), 21748–21753.
- (48) Moreno, F.; Albella, P.; Nieto-Vesperinas, M. Analysis of the spectral behavior of localized plasmon resonances in the near- and far-field regimes. *Langmuir* **2013**, *29*, 6715–6721.
- (49) Draine, B. T.; Flatau, P. J. Discrete-dipole approximation for periodic targets: theory and tests. *J. Opt. Soc. Am. A* **2008**, *25*, 2693–2703.
- (50) Flatau, P. J.; Draine, B. T. Fast near field calculations in the discrete dipole approximation for regular rectilinear grids. *Opt. Express* **2012**, *20*, 1247–1252.
- (51) Johnson, P. B.; Christy, R. W. Optical constants of the noble metals. *Phys. Rev. B* **1972**, *6* (12), 4370–4379.
- (52) Pôle de Calcul Intensif pour la Mer, PCIM, <http://www.ifremer.fr/pcim> (accessed June 6, 2016).
- (53) Zorić, I.; Zäch, M.; Kasemo, B.; Langhammer, C. Gold, platinum, and aluminum nanodisk plasmons: material independence, subradiance, and damping mechanisms. *ACS Nano* **2011**, *5* (4), 2535–2546.
- (54) Barchiesi, D.; Kessentini, S.; Guillot, N.; Lamy, De La Chapelle, M.; Grosge, T. Localized surface plasmon resonance in arrays of nano-gold cylinders: inverse problem and propagation of uncertainties. *Opt. Express* **2013**, *21* (2), 2245–2262.
- (55) Aspnes, D. E.; E, D.; Kinsbron, E.; Bacon, D. D. Optical properties of Au: Sample effects. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **1980**, *21*, 3290.
- (56) Shen, H.; Guillot, N.; Rouxel, J.; Lamy de la Chapelle, M.; Toury, T. Optimized plasmonic nanostructures for improved sensing activities. *Opt. Express* **2012**, *20* (19), 21278–21290.
- (57) Felidj, N.; Aubard, J.; Levi, G.; Krenn, J. R.; Salerno, M.; Schider, G.; Leitner, A.; Aussenegg, F. R.; Lamprecht, B. Controlling the optical response of regular arrays of gold particles for surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2002**, *65*, 075419.
- (58) Yang, W. H.; Hulteen, J. C.; Schatz, G. C.; Van Duyn, R. P. A surface-enhanced hyper-Raman and surface-enhanced Raman scattering study of trans-1,2-bis(4-pyridyl)ethylene adsorbed onto silver film over nanosphere electrodes. Vibrational Assignments: Experiment and Theory. *J. Chem. Phys.* **1996**, *104*, 4313.
- (59) Sun, G.; Grundmeier, G. Surface-enhanced Raman spectroscopy of the growth of ultra-thin organosilicon plasma polymers on nanoporous Ag/SiO<sub>2</sub>-bilayer films. *Thin Solid Films* **2006**, *515*, 1266.
- (60) Lamy de la Chapelle, M.; Shen, H.; Guillot, N.; Frémaux, B.; Guelorget, B.; Toury, T. New Gold nanoparticles adhesion process opening the way of improved and highly sensitive plasmonics technologies. *Plasmonics* **2013**, *8*, 411–415.
- (61) Aizpurua, J.; Bryant, G. W.; Richter, L. J.; Garcia de Abajo, F. J.; Kelley, B. K.; Mallouk, T. Optical properties of coupled metallic



nanorods for field-enhanced spectroscopy. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2005**, *71*, 235420.

## II.2. Amélioration des propriétés d'exaltation en SERS par l'ajout d'un film d'or

L'objectif du projet Piranex était de faire des mesures en SPRi et des mesures en SERS en utilisant le même substrat. Dans ce contexte, nous avons été amenés à fabriquer des échantillons constitués d'un film mince d'or déposé sur une lame de verre avec une couche d'accroche en titane d'une épaisseur de 2 nm, et sur lequel est placé un réseau de nanodisques. Ces derniers permettent l'exaltation du signal Raman, comme précisé dans la section II.1, alors que le film métallique offre la possibilité d'exciter un plasmon propagatif utilisé pour la SPRi. De telles nanostructures furent fabriquées à l'institut d'électronique fondamentale (IEF) par Jean-François Bryche. Cependant, dû au changement de substrat, on s'attend à obtenir des propriétés plasmoniques complètement différentes de celles de réseaux de nanostructures déposées directement sur une lame de verre par l'intermédiaire d'une couche d'accroche de titane ou de chrome dont l'effet, déjà démontré, est de baisser le facteur d'exaltation SERS<sup>23</sup> dû à la forte absorption de ces métaux, mais une telle couche d'accroche est nécessaire afin d'assurer une bonne tenue des nanocylindres sur le substrat. Une présentation plus précise de ces nouvelles propriétés plasmoniques lors de l'ajout d'un film d'or sera faite dans la section II.3.

Ainsi, nous avons pu constater que l'ajout de ce film d'or sous les nanostructures conduit à une plus grande exaltation du signal SERS comparativement aux mêmes nanostructures déposées sur du verre. Ainsi nous avons comparé les propriétés plasmoniques et SERS de réseaux de nanodisques et de nanolignes, ayant exactement les mêmes paramètres structuraux mais les uns déposés sur un film d'or de 30 nm et les autres directement sur un substrat de verre, toujours avec une couche d'accroche de 2 nm de titane entre l'or et le verre. Dans tous les cas, nous avons observé un gain sur l'exaltation en SERS d'environ un ordre de grandeur en faveur des nanostructures sur film métallique. Plus-tard Monsieur Jean-François Bryche, poussa plus loin l'étude en comparant le signal SERS fourni par des nanotriangles d'or fabriqués par lithographie à nanosphères, déposés sur des films d'or de différentes épaisseurs, prouvant ainsi que l'on pouvait encore gagner un peu de signal SERS en augmentant l'épaisseur du film jusqu'à une limite d'environ 50 nm.<sup>24</sup>

L'article qui suit donne une description détaillée de ce résultat. L'ensemble des expériences fut réalisé par moi-même hormis la fabrication des échantillons, qui fut effectuée par J.-F. Bryche, premier auteur de l'article.

# Plasmonic Enhancement by a Continuous Gold Underlayer: Application to SERS Sensing

Jean-François Bryche<sup>1,2</sup> · Raymond Gillibert<sup>2,3,4</sup> · Grégory Barbillon<sup>1</sup> ·  
Philippe Gogol<sup>1</sup> · Julien Moreau<sup>2</sup> · Marc Lamy de la Chapelle<sup>3</sup> ·  
Bernard Bartenlian<sup>1</sup> · Michael Canva<sup>2,5</sup>

Received: 20 July 2015 / Accepted: 15 September 2015  
© Springer Science+Business Media New York 2015

**Abstract** In this paper, we report on an improved enhancement of the surface-enhanced Raman scattering (SERS) effect. Such improvement is obtained by using a continuous gold film (underlayer), which is added below an array of gold nanostructures. Two types of nanostructures were studied to validate our results: regular disk arrays with two diameters (110 and 210 nm) and lines with a width of 110 nm, all on a gold film of 30 nm thick. A supplementary gain of one order of magnitude on the SERS enhancement factor (EF) was experimentally demonstrated for several excitation wavelengths: 633, 660, and 785 nm. With such SERS substrates, EFs of  $10^7$  are observed for thiophenol detection. This opens the way towards routine and reliable detection of molecules at low concentration.

**Electronic supplementary material** The online version of this article (doi:10.1007/s11468-015-0088-y) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Jean-François Bryche  
jean-francois.bryche@u-psud.fr

<sup>1</sup> Institut d'Électronique Fondamentale, CNRS, Univ Paris Sud, Université Paris-Saclay, Bâtiment 220, rue André Ampère, 91405 Orsay Cedex, France

<sup>2</sup> Laboratoire Charles Fabry, CNRS, Institut d'Optique Graduate School, Université Paris-Saclay, 2 Avenue Augustin Fresnel, 91127 Palaiseau Cedex, France

<sup>3</sup> Laboratoire CSPBAT, Université de Paris 13, Sorbonne Paris Cité, CNRS, 74 Rue Marcel-Cachin, 93017 Bobigny, France

<sup>4</sup> HORIBA Jobin Yvon, Avenue de la Vauve, Passage Jobin Yvon, 45002-91120 Palaiseau, France

<sup>5</sup> Laboratoire Nanotechnologie Nanosystème, LN2 UMI CNRS 3463, 3IT, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, QC, Canada

**Keywords** Plasmonics · SERS · Biosensors · Nanostructuration · Localized surface plasmon resonance

## Introduction

Although the Raman effect has been known since 1928 [1], the weak intensity of the Raman signal was a disadvantage and has restricted its utilization to solid materials or highly concentrated solutions. This disadvantage has been overcome by the discovery of surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy by Fleischmann [2] in 1974, with the first observations of the Raman spectra of pyridine on roughened silver. This technique allows a significant enhancement of the Raman signal due to the exploitation of the plasmonic properties of metallic nanostructures. Since the SERS has paved the way to the single-molecule sensitivity [3], the interest for SERS has grown exponentially [4].

Nowadays, SERS is a well-known versatile technique used to detect and identify chemical and biological species [5, 6]. The surface roughness [7] of films or nanoparticles [8, 9]/ nanostructures [10] is a key point to enhance the electromagnetic field [11] for SERS measurements. High confinement of electromagnetic fields can be associated with the optical properties of metallic nanostructures as the localized surface plasmon resonances [11]. However, surface roughness is hard to control and it is most desirable for SERS applications to have reproducible and robust signals. Therefore, nanoscience and nanotechnology have been extensively used in recent years for SERS applications [11–13], especially nanofabrication [14] using techniques such as electron beam lithography [11, 12, 15–17], focused ion beam [11, 18], nanoimprint lithography (soft [11, 19–21] and hard [15]), and nanosphere lithography [11, 20, 22]. With these nanostructured samples, SERS now covers fields like biosensing [4], electrochemical and

environmental analyses [14], and new multi-techniques [13] such as femtosecond stimulated Raman spectroscopy (FSRS) [23] or tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS) [24].

The influence of the nanostructure geometry and as a consequence of their optical properties on the SERS signal was intensively studied for nanostructure on Si [4, 14, 17] but less on glass [25] substrate or metallic layer. Some comparisons between flat gold and nanostructures on a gold layer on Si [26] are reported. In other fields of study, some comparisons between properties of square nanoparticles on a glass substrate [27] and on a gold film layer [28] were done with an investigation of field-enhancement effects in regular arrays by using two-photon luminescence microscopy [29]. Due to its strong resonance peak in the visible range, its chemical stability in air, and its biocompatibility, the gold is used for our experiments.

Here, we report on a systematic way to improve sensitivity of SERS based on an array of gold nanostructures. By the addition of a thin gold layer (30 nm) under the array, we show a significant enhancement factor of the SERS signal of thiophenol deposited on the sample. The gold underlayer adds no complex step on the manufacturing process and even eases the realization of samples as well as their robustness. Measurements are done for three excitation wavelengths (633, 660, and 785 nm), two geometries of nanostructures (disks and lines), two types of samples (on gold and on glass), and several periods and diameters.

## Experimental Section

### Fabrication of Gold Nanostructures on Gold Underlayer and on Glass Substrate

First, the D263 Thin Borosilicate Glass substrate is cleaned with the following protocol: ethanol, acetone, and piranha solution (3:1 concentrated sulfuric acid to 30 % hydrogen peroxide solution). Next, a thin gold layer of 30 nm ( $h_1$ ) is deposited by e-beam evaporation on the substrate. A 2-nm-thick titanium layer is used as adhesion layer between gold and glass. An 80-nm layer of polymethylmethacrylate A2 (PMMA A2) was spin-coated on the substrate and then exposed to the electron beam. Several  $400 \times 400 \mu\text{m}^2$  areas with gold nanodisks or line arrays were fabricated by electron beam lithography (NanoBeam). A step of development in 1:3 methylisobutylketone/isopropanol (MIBK/IPA) solution is used to reveal nanostructures. Next, a 30-nm gold film is evaporated on the sample. Finally, nanostructures were obtained after a lift-off process in acetone. The samples obtained are called gold nanostructures (GN) (disks or lines) on a gold underlayer (GU), so GNGU (Fig. 1a, c, e). For the fabrication of gold nanostructures on glass substrate, the same process is used without the evaporation of the gold underlayer, and the

samples are simply called gold nanostructures (GN) (Fig. 1b, d, f). Due to the absence of a conductive layer under the resist and the insulating nature of the glass substrate, monitoring of experimental parameters (current and electron energy) and/or adding of a sacrificial layer [30] are commonly used to avoid charge effects. In our experiment, we added a thin layer of conductive polymer (Espacer 300Z, thickness around 20 nm) on the top of the resist deposited by spin-coating before the e-beam lithography step in order to avoid charge effects [31, 32]. Then, before the development step, this conductive thin layer was removed by deionized water during 1 min. Geometrical parameters of nanostructures are a height of 30 nm ( $h_2$ ) and diameter ( $D$ ) of 110 nm for disks with periods ( $P$ ) of 200, 250, 300, and 210 nm for 300, 350, and 400 nm. Lines with a width of 110 nm are also studied for two periods (400 and 500 nm).

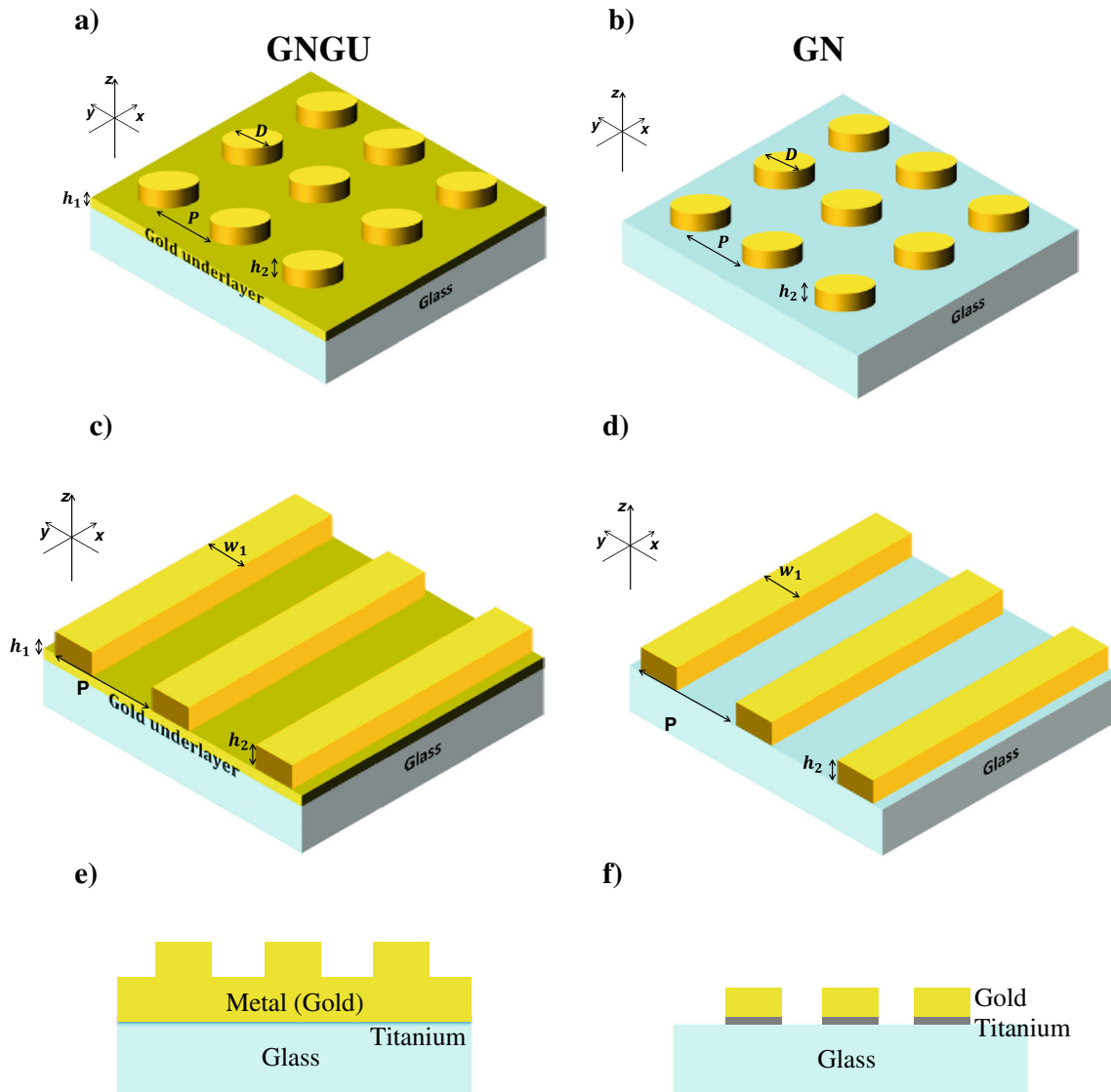
Nanostructure dimensions were measured by scanning electron microscopy (SEM, SEMFEG Philips) (Fig. 2) and confirmed by atomic force microscopy (AFM). Thicknesses of the different layers were obtained by ellipsometry (ellipsometry-spectroscopy WOOLLAM) and X-ray (Xpert MRD Philips).

### Deposition of the Thiophenol

Samples are immersed in a 0.1-mM solution of thiophenol ( $\text{C}_6\text{H}_6\text{S}$ ) for 2.5 h to have a saturation of the gold surface, then rinsed with ethanol for 5 min and dried up with nitrogen. Thiophenol is frequently used as a probe molecule for SERS studies as it grafts on metal surface like other alkanethiols leading to a self-assembled monolayer. In addition, the thiophenol concentration used for the Raman experiment in solution is 1 M.

### Optical Characterization

SERS measurements were performed using an Xplora spectrophotometer from Horiba Scientific with a microscope objective ( $\times 100$ , N.A.=0.9). Measurements were carried out in air using 633, 660, and 785 nm incident laser wavelengths. Characteristic Raman modes of thiophenol are observable at  $419/1000 \text{ cm}^{-1}$  (out of plane C-C-C stretch),  $1025 \text{ cm}^{-1}$  (out of plane C-H stretching),  $1075 \text{ cm}^{-1}$  (C-C-C stretch in plane and C-S stretching), and  $1575 \text{ cm}^{-1}$  (C-C stretching). The same acquisition protocol was used for GNGU and GN samples. In our experiments, SERS signals were obtained and averaged on several zones of the sample. In addition, for classical Raman measurements in solution, a macro-objective with a focal length of 40 mm (N.A.=0.18) and the three excitation wavelengths previously cited were used. All data have been normalized by the laser power and the acquisition time to be able to compare them.



**Fig. 1** (Top) Schematic representations of the samples used for SERS detection. Samples are made of an array of gold nanodisks (a) or lines (c) on a gold underlayer (GNGU) or gold nanodisks (b) or lines (d) on a glass

substrate (GN). (Bottom) Schematic cross-section views for GNGU (e) and GN (f)

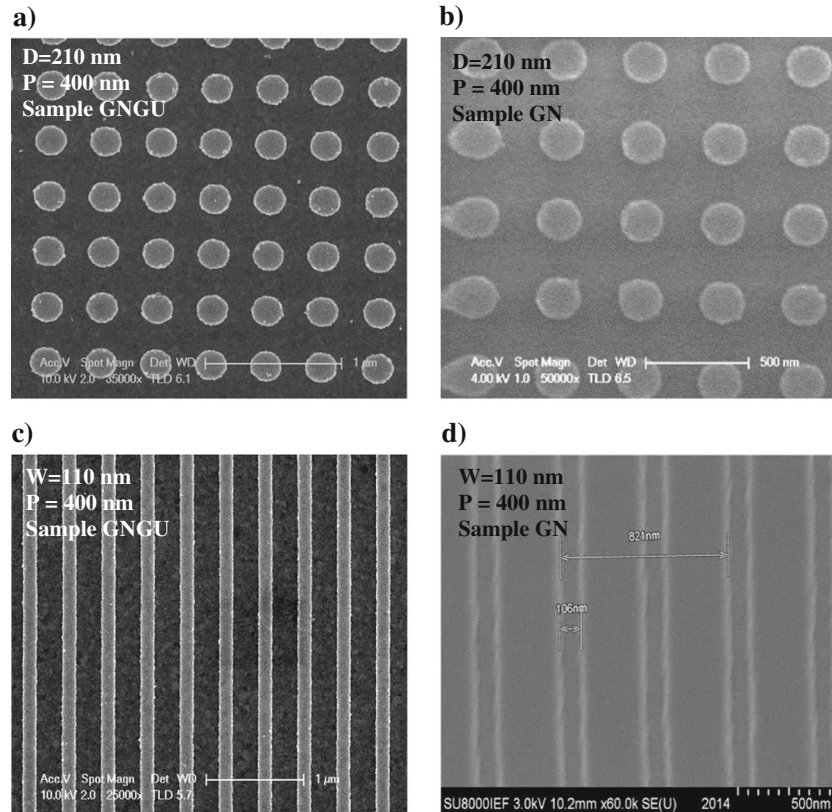
## Results and Discussion

### Influence of the Gold Film on the SERS Signal

We demonstrate the influence of the continuous gold underlayer by reporting the SERS intensity of a periodic array of gold nanodisks (Fig. 3) and nanolines (Fig. 4) for an excitation wavelength of 660 nm for both types of substrate. For reference, no characteristic Raman peak is detected on a flat gold or a flat glass substrate (Figs. 3 and 4).

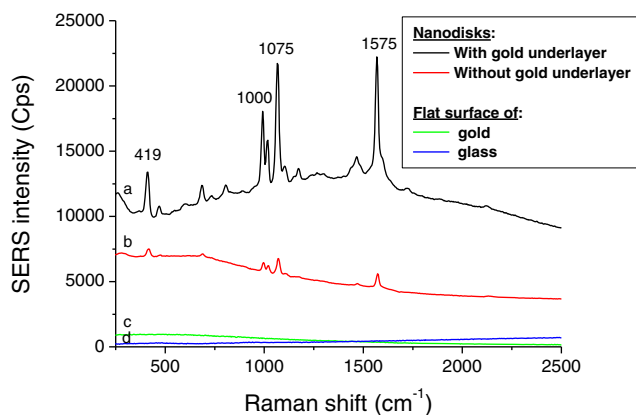
It is clear from these results that the average SERS intensity of the GNGU samples is significantly higher than that for GN samples, for the same acquisition time and the same laser power. Quantitatively, we defined the following ratio:  $I_{\text{GNGU}}/I_{\text{GN}}$  where  $I_{\text{GNGU}}$  is the peak intensity for the

GNGU sample and  $I_{\text{GN}}$  for the GN sample. The characteristic peaks of Raman signal on the nanodisks are increased by a factor between 5 and 13 for the GNGU sample compared to the GN sample (Fig. 3) and by a factor 2 to 6 for lines (Fig. 4) depending on the Raman modes (see Table 1 for the  $1575\text{ cm}^{-1}$  peak for all geometries). These results demonstrate the interest of using a continuous gold layer under a nanostructured sample to enhance the SERS signals, with a relatively low impact on the fabrication process. In addition, this gain between GNGU and GN cannot be explained by the increasing of overall gold surfaces, which would be linked to the number of excited molecules. Indeed, on flat gold, we have no signal of thiophenol and only those bonded to the nanostructures contribute to the detection (Figs. 3 and 4).



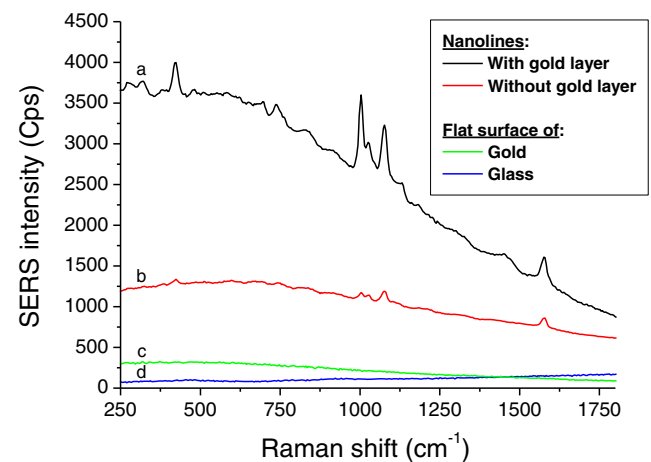
**Fig. 2** SEM pictures of gold disks (a) and lines (c) for GNGU, and disks (b) and lines (d) for GN

We find similar behaviors (see Table 1 and supplementary data Figures S1, S2, S3) for nanodisks with diameters of 110 nm and three different periods (300/250/200 nm) and also for lines with a width of 110 nm and a period of 500 nm. Note that the reflectivity of the substrate has a role in SERS measurements. From the paper of Zhao et al. [33], the SERS intensity increases linearly with the metallic underlayer reflectivity. Our SERS intensities and the reflectivity of gold and glass substrates used in our experiments are in good agreement with their studies.



**Fig. 3** SERS intensity of thiophenol for an array of nanodisks with a diameter of 210 nm and a period of 400 nm on gold (GNGU) (a) and on glass (GN) (b), for flat surfaces of gold (c) and glass (d)

For excitation wavelengths at 633 and 785 nm, a similar behavior is found between the different samples. For an excitation of 633 nm, ratios were measured between 7 and 13.1 for the four characteristic peaks of thiophenol (419, 1000, 1075, and 1575 cm<sup>-1</sup>). For 785 nm, values are between 8.4 and 15. If we consider only the 1575 cm<sup>-1</sup> Raman peak, for all excitation wavelengths (633, 660, and 785 nm), a gain of one order of magnitude on the ratio is observed with the disk GNGU ( $D=210$  nm and  $P=410$  nm) samples.



**Fig. 4** SERS intensity as function of Raman shift for a periodic array of lines with a width of 110 nm and a period of 400 nm on gold (GNGU) (a) and on glass (GN) (b), and for flat surfaces of gold (c) and glass (d)

**Table 1** Integrated peak ( $1575\text{ cm}^{-1}$ ) ratio versus disk or line dimensions for three excitation wavelengths

Disk dimensions (diameter-period)	Integrated peak ratio $I_{\text{GNGU}}/I_{\text{GN}}$	Disk dimensions (diameter-period)	Integrated peak ratio $I_{\text{GNGU}}/I_{\text{GN}}$
110–200 nm	2.9 at 633 nm 6.2 at 660 nm 24.3 at 785 nm	210–300 nm	5.9 at 633 nm 10 at 660 nm 23.8 at 785 nm
110–250 nm	2.6 at 633 nm 5.3 at 660 nm 16.2 at 785 nm	210–350 nm	6.9 at 633 nm 13.5 at 660 nm 19.2 at 785 nm
110–300 nm	2.8 at 633 nm 5.9 at 660 nm 15.9 at 785 nm	210–400 nm	12.4 at 633 nm 9.9 at 660 nm 10.2 at 785 nm
Line dimensions (width-period)	Integrated peak ratio $I_{\text{GNGU}}/I_{\text{GN}}$		
110–400 nm	3.3 at 633 nm 2.7 at 660 nm 3.5 at 633 nm		
110–500 nm	1.2 at 660 nm		

### Quantification of Enhancement Factor and Discussion

The enhancement factor (EF) is defined by

$$\text{EF} = I_{\text{SERS}} N_{\text{Raman}} / I_{\text{Raman}} N_{\text{SERS}} \quad (1)$$

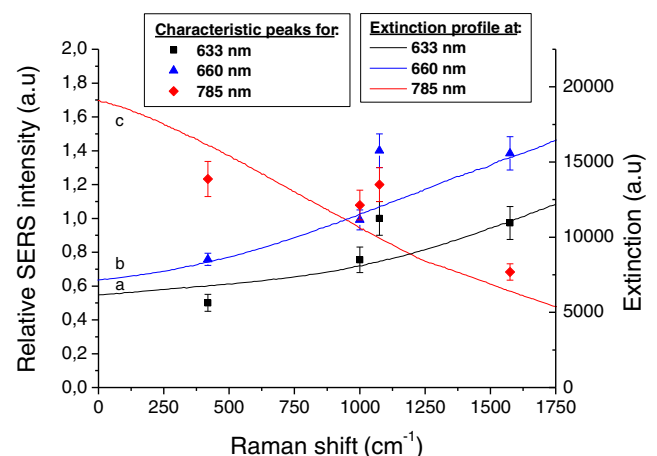
where  $I_{\text{SERS}}$  and  $I_{\text{Raman}}$  are, respectively, the Raman intensities for thiophenol adsorbed on the nanostructured surface and for thiophenol in solution.  $N_{\text{SERS}}$  and  $N_{\text{Raman}}$  are the numbers of thiophenol molecules on the sample surface and in the bulk illuminated by the laser, respectively. Typically, EF can be as much as  $10^4$ – $10^6$ . For the number of thiophenol molecules on the sample surface, we define  $N_{\text{SERS}}$  as

$$N_{\text{SERS}} = N_{\text{A}} \times S_{\text{collected}} \times \frac{S_{\text{structures}}}{p^2} \times \sigma_{\text{surf}} \quad (2)$$

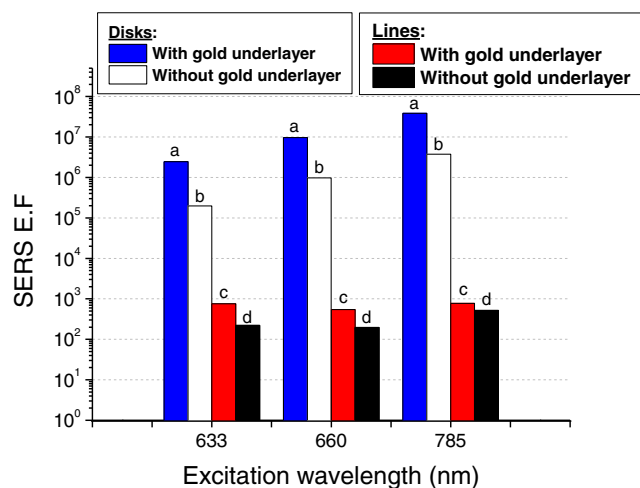
$N_{\text{A}}$  is Avogadro's number ( $\text{mol}^{-1}$ ),  $S_{\text{collected}}$  is the surface illuminated by the laser, and  $S_{\text{collected}} \approx 144\ \mu\text{m}^2$  in our configuration.  $S_{\text{structures}}$  is the sum of the lateral and top surfaces of the nanodisk.  $p$  is the period of the nanodisks, and  $\sigma_{\text{surf}}$  represents the surface coverage density of thiophenol, which is around [26]  $0.54\ \text{nmol}/\text{cm}^2$ . In the Raman experiment (solution), the number of excited molecules  $N_{\text{Raman}}$  is  $4.22 \times 10^{15}$ . This number is calculated from the following equation [34]:  $N_{\text{Raman}} = N_{\text{A}} C V$  where  $C$  is the used concentration of thiophenol (1 M) and  $V$  is the scattering volume  $V = 7\ \text{nL}$ . An EF of  $3.9 \times 10^5$  for a nanodisk array on a glass substrate with similar disk size and periodicity ( $D = 180\ \text{nm}$  and  $P = 450\ \text{nm}$ ) was obtained in literature [35]. In our case, the presence of the thin gold film significantly increases the EF. For disks with 210 nm of diameter and 400 nm of period, we measured an EF around  $2.4 \times 10^6$  for 633 nm,  $9.7 \times 10^6$  for 660 nm, and  $3.8 \times 10^7$  for 785 nm. EFs obtained without the gold underlayer are in good

agreement with literatures and are comprised between  $1.1 \times 10^5$  and  $3.7 \times 10^6$  depending on the excitation wavelength and parameters of the nanostructures.

To get a better understanding of these results and to estimate the behavior of the Raman gain, it is useful to look at the link between the excitation wavelength, the Raman shift, and the plasmonic resonance of this type of structure (Figure S3: extinction profile) [36, 37]. Figure 5 displays the relative SERS intensity of the characteristic peaks of thiophenol as function of the Raman shift for different excitation wavelengths. We compare these intensities to the experimental plasmonic resonance obtained through the extinction profile, for an array of nanodisks with a gold underlayer (GNGU



**Fig. 5** Comparison between the relative SERS intensities of four characteristic peaks of thiophenol ( $419$ ,  $1000$ ,  $1075$ , and  $1575\ \text{cm}^{-1}$ ) and the extinction profiles, for different excitation wavelengths (633 nm (squares, a), 660 nm (triangles, b), and 785 nm (diamonds, c)). These measurements were made on nanodisks on a gold underlayer with  $D = 210\ \text{nm}$  and  $P = 400\ \text{nm}$



**Fig. 6** Evolution of the SERS enhancement factor, at  $1575\text{ cm}^{-1}$ , for three excitation wavelengths. *a*, *b*, *c*, and *d* are, respectively, EF for gold nanodisks ( $D=210\text{ nm}$ ,  $P=400\text{ nm}$ ) of GNGU, GN, gold lines ( $W=110\text{ nm}$ ,  $P=400\text{ nm}$ ) of GNGU, and GN

sample). For the three excitation wavelengths, the relative SERS intensities of each peak (symbols) follow the same trend as the extinction profiles (lines a, b, c). This is in agreement with several publications [38–40], which have reported the key role of the plasmonic resonance on the SERS intensity.

Furthermore, for 210-nm disks with a period of 400 nm for the two types of sample (GNGU and GN), we find  $\lambda_{\text{SPGNGU}}=664\text{ nm}$  and  $\lambda_{\text{SPGN}}=769\text{ nm}$  (Figure S3), where  $\lambda_{\text{SP}}$  is the plasmonic resonance wavelength of each sample. We can see that  $\lambda_{\text{SPGNGU}}$  is closer to the excitation wavelength of 660 nm than  $\lambda_{\text{SPGN}}$  and this can explain part of the experimental SERS gain between GNGU and GN.

In addition, coupling between surface plasmon polariton and localized surface plasmon could also provide further SERS enhancement [41]. This coupling has been already shown experimentally and demonstrated for samples with a glass substrate with a  $\text{SiO}_2$  spacer between gold nanodisks and gold film [35, 42]. The possibility to have the excitation of localized and propagating surface plasmon modes can be also obtained with microhole arrays in thin Au films [43]. Finally, in contrast to classical structures with a metallic array on glass or Si substrates, where only the localized plasmon resonance (LSPR) can be excited and is primary contributor to SERS signal, here, a uniform layer supports the propagating surface plasmon (PSP) resonance. Due to the large numerical aperture of our setup (0.9), such coupling between the different modes is possible and could provide a better SERS intensity.

Finally, some of the EFs obtained with GNGU and GN samples for arrays of nanodisks and lines are shown in Fig. 6. We observe that the overall enhancement factor of nanodisks is higher than that for lines, showing the difference between a 1D and a 2D lattice and in agreement with the higher confinement of electromagnetic field in nanodisks. Note that EFs are normalized by the nanostructure surface.

EFs increase from 633 to 785 nm by a factor around 10, which is in good agreement with previous results showing the importance of the excitation wavelength as function of the diameter [44] for disks. A further optimization of the optical response could be done by replacing the titanium adhesive layer by 3-mercaptopropyl-trimethoxysilane (MPTMS) in order to reduce the optical damping [45] where a gain around 10 is obtained in replacement of the chrome (also used as adhesive layer for gold on glass) by MPTMS, by increasing the thickness of the gold layer or by reducing the gap between nanostructures to obtain zones of stronger EM fields [46].

## Conclusion

In summary, in the context of plasmonic substrates, placing gold underlayer film under regular disk or line arrays has allowed demonstrating a significant improvement of the SERS effect, which can be controlled by varying the diameter/width or the periodicity of nanostructures. Furthermore, the reproducibility as well as the homogeneity of the nanostructure realization is improved by adding such gold underlayer, which is also of great interest for industrial applications. Enhancement factors, EFs, close to  $6 \times 10^7$  were measured with thiophenol. Independently of the geometrical parameters (110 and 210 nm disks with periodicities from 200 to 400 nm and lines of 110 nm of width and periods of 400 and 500 nm) and the excitation wavelength (633, 660, or 785 nm), a gain of one order of magnitude is observed for gold nanostructures on gold underlayer substrates in comparison to classical gold nanostructure substrates. This approach could be generalized to other nanostructures (pyramids, nanorings) to improve the performance of biosensors based on the exploitation of the optical properties of the nanostructures such as SPR sensors or other plasmonic enhanced spectroscopies.

**Acknowledgments** The authors acknowledge ANR P2N (ANR-12-NANO-0016) and the support of the French Government for partial funding of the project in which this work takes place. This work was partly supported by the French RENATECH network. IOGS/CNRS is also part of the European Network of Excellence in BioPhotonics, Photonics for Life, P4L.

## References

1. Raman CV (1928) A new radiation. *Indian J Phys* 2:387–398
2. Fleischmann M, Hendra P, McQuillan A (1974) Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode. *Chem Phys Lett* 26(2):163–166. doi:10.1016/0009-2614(74)85388-1
3. Le Ru EC, Etchegoin PG (2012) Single-molecule surface-enhanced Raman spectroscopy. *Annu Rev Phys Chem* 63(1):65–87. doi:10.1146/annurev-physchem-032511-143757



4. Sharma B, Frontiera RR, Henry A-I, Ringe E, Van Duyne RP (2012) SERS: materials, applications, and the future. *Materials Today* 15(1–2):16–25. doi:10.1016/S1369-7021(12)70017-2
5. Guillot N, de la Chapelle ML (2012) Lithographed nanostructures as nanosensors. *NANOP* 6 (1):064506-064501-064506-064528. doi:10.1117/1.JNP.6.064506
6. Vo-Dinh T, Wang H-N, Scaffidi J (2010) Plasmonic nanoprobe for SERS biosensing and bioimaging. *J Biophotonics* 3(1–2):89–102. doi:10.1002/jbio.200910015
7. Tian ZQ, Ren B, Wu DY (2002) Surface-enhanced Raman scattering: from noble to transition metals and from rough surfaces to ordered nanostructures. *J Phys Chem B* 106(37):9463–9483. doi:10.1021/jp0257449
8. Baia M, Baia L, Astilean S, Popp J (2006) Surface-enhanced Raman scattering efficiency of truncated tetrahedral Ag nanoparticle arrays mediated by electromagnetic couplings. *Appl Phys Lett* 88(14), 143121. doi:10.1063/1.2193778
9. Yuan H, Fales AM, Khoury CG, Liu J, Vo-Dinh T (2013) Spectral characterization and intracellular detection of surface-enhanced Raman scattering (SERS)-encoded plasmonic gold nanostars. *J Raman Spectrosc* 44(2):234–239. doi:10.1002/jrs.4172
10. Vo-Dinh T, Dhawan A, Norton SJ, Khoury CG, Wang H-N, Misra V, Gerhold MD (2010) Plasmonic nanoparticles and nanowires: design, fabrication and application in sensing. *J Phys Chem C* 114(16):7480–7488. doi:10.1021/jp911355q
11. Guillot N, de la Chapelle ML (2012) The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: enhancement optimization using precisely controlled nanostructures. *J Quant Spectrosc Radiat Transf* 113(18):2321–2333. doi:10.1016/j.jqsrt.2012.04.025
12. Brown RJC, Milton MJT (2008) Nanostructures and nanostructured substrates for surface-enhanced Raman scattering (SERS). *J Raman Spectrosc* 39(10):1313–1326. doi:10.1002/jrs.2030
13. Cialla D, Marz A, Bohme R, Theil F, Weber K, Schmitt M, Popp J (2012) Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): progress and trends. *Anal Bioanal Chem* 403(1):27–54. doi:10.1007/s00216-011-5631-x
14. Fan M, Andrade GFS, Brolo AG (2011) A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry. *Anal Chim Acta* 693(1–2):7–25. doi:10.1016/j.aca.2011.03.002
15. Yu QM, Braswell S, Christin B, Xu JJ, Wallace PM, Gong H, Kaminsky D (2010) Surface-enhanced Raman scattering on gold quasi-3D nanostructure and 2D nanohole arrays. *Nanotechnology* 21(35):9. doi:10.1088/0957-4484/21/35/355301
16. Yue WS, Yang Y, Wang ZH, Han JG, Syed A, Chen LQ, Wong K, Wang XB (2012) Improved surface-enhanced Raman scattering on arrays of gold quasi-3D nanoholes. *J Phys D-Appl Phys* 45(42):7. doi:10.1088/0022-3727/45/42/425401
17. Yu Q, Guan P, Qin D, Golden G, Wallace PM (2008) Inverted size-dependence of surface-enhanced Raman scattering on gold nanohole and nanodisk arrays. *Nano Lett* 8(7):1923–1928. doi:10.1021/nl0806163
18. Lin YY, Liao JD, Ju YH, Chang CW, Shiau AL (2011) Focused ion beam-fabricated Au micro/nanostructures used as a surface enhanced Raman scattering-active substrate for trace detection of molecules and influenza virus. *Nanotechnology* 22(18):8. doi:10.1088/0957-4484/22/18/185308
19. Hamouda F, Sahaf H, Held S, Barbillon G, Gogol P, Moyen E, Aassime A, Moreau J, Canva M, Lourtioz JM, Hanbucken M, Bartenlian B (2011) Large area nanopatterning by combined anodic aluminum oxide and soft UV-NIL technologies for applications in biology. *Microelectron Eng* 88(8):2444–2446. doi:10.1016/j.mee.2011.02.013
20. Lee SY, Jeon HC, Yang SM (2012) Unconventional methods for fabricating nanostructures toward high-fidelity sensors. *J Mater Chem* 22(13):5900–5913. doi:10.1039/c2jm16568f
21. Barbillon G, Hamouda F, Held S, Gogol P, Bartenlian B (2010) Gold nanoparticles by soft UV nanoimprint lithography coupled to a lift-off process for plasmonic sensing of antibodies. *Microelectron Eng* 87(5–8):1001–1004. doi:10.1016/j.mee.2009.11.114
22. Masson J-F, Gibson KF, Provencher-Girard A (2010) Surface-enhanced Raman spectroscopy amplification with film over etched nanospheres. *J Phys Chem C* 114(51):22406–22412. doi:10.1021/jp106450y
23. Fang C, Frontiera RR, Tran R, Mathies RA (2009) Mapping GFP structure evolution during proton transfer with femtosecond Raman spectroscopy. *Nature* 462 (7270):200–204. doi:10.1038/nature08527
24. Klingsporn JM, Sonntag MD, Seideman T, Van Duyne RP (2014) Tip-enhanced Raman spectroscopy with picosecond pulses. *J Phys Chem Lett* 5(1):106–110. doi:10.1021/jz4024404
25. Barchiesi D, Kessentini S, Guillot N, de la Chapelle ML, Grosjes T (2013) Localized surface plasmon resonance in arrays of nano-gold cylinders: inverse problem and propagation of uncertainties. *Opt Express* 21(2):2245–2262. doi:10.1364/OE.21.002245
26. Caldwell JD, Glembocki O, Bezares FJ, Bassim ND, Rendell RW, Feygelson M, Ukaegbu M, Kasica R, Shirey L, Hosten C (2011) Plasmonic nanopillar arrays for large-area, high-enhancement surface-enhanced Raman scattering sensors. *ACS Nano* 5(5):4046–4055. doi:10.1021/nn200636t
27. Hohenau A, Krenn JR, Garcia-Vidal FJ, Rodrigo SG, Martin-Moreno L, Beermann J, Bozhevolnyi SI (2007) Spectroscopy and nonlinear microscopy of gold nanoparticle arrays on gold films. *Phys Rev B* 75(8):085104. doi:10.1103/PhysRevB.75.085104
28. Hohenau A, Krenn JR, Beermann J, Bozhevolnyi SI, Rodrigo SG, Martin-Moreno L, Garcia-Vidal F (2006) Spectroscopy and nonlinear microscopy of Au nanoparticle arrays: experiment and theory. *Phys Rev B* 73(15):155404. doi:10.1103/PhysRevB.73.155404
29. Hohenau A, Krenn JR, Garcia-Vidal FJ, Rodrigo SG, Martin-Moreno L, Beermann J, Bozhevolnyi SI (2007) Comparison of finite-difference time-domain simulations and experiments on the optical properties of gold nanoparticle arrays on gold film. *J Opt A Pure Appl Opt* 9(9):S366. doi:10.1088/1464-4258/9/9/S14
30. Aassime A, Hamouda F, Richardt I, Bayle F, Pillard V, Lecoer P, Aubert P, Bouchier D (2013) Anti-charging process for electron beam observation and lithography. *Microelectron Eng* 110:320–323. doi:10.1016/j.mee.2013.02.036
31. Wang Y, Abb M, Boden SA, Aizpurua J, de Groot CH, Muskens OL (2013) Ultrafast nonlinear control of progressively loaded, single plasmonic nanoantennas fabricated using helium ion milling. *Nano Lett* 13(11):5647–5653. doi:10.1021/nl403316z
32. Iriarte GF, Rodriguez-Madrid JG, Calle F (2012) Fabrication of sub-100 nm IDT SAW devices on insulating, semiconducting and conductive substrates. *J Mater Process Technol* 212(3):707–712. doi:10.1016/j.jmatprotec.2011.08.007
33. Zhou Q, Liu Y, He Y, Zhang Z, Zhao Y (2010) The effect of underlayer thin films on the surface-enhanced Raman scattering response of Ag nanorod substrates. *Appl Phys Lett* 97(12), 121902. doi:10.1063/1.3489973
34. Cottat M, Lidgi-Guigui N, Tijnelyte I, Barbillon G, Hamouda F, Gogol P, Aassime A, Lourtioz J-M, Bartenlian B, de la Chapelle M (2014) Soft UV nanoimprint lithography-designed highly sensitive substrates for SERS detection. *Nanoscale Res Lett* 9(1):623. doi:10.1186/1556-276X-9-623
35. Chu Y, Banaee MG, Crozier KB (2010) Double-resonance plasmon substrates for surface-enhanced Raman scattering with enhancement at excitation and Stokes frequencies. *ACS Nano* 4(5):2804–2810. doi:10.1021/nn901826q

36. Mandal P, Ramakrishna SA (2011) Dependence of surface enhanced Raman scattering on the plasmonic template periodicity. *Opt Lett* 36(18):3705–3707. doi:[10.1364/OL.36.003705](https://doi.org/10.1364/OL.36.003705)
37. Mandal P, Nandi A, Ramakrishna SA (2012) Propagating surface plasmon resonances in two-dimensional patterned gold-grating templates and surface enhanced Raman scattering. *J Appl Phys* 112(4), 044314. doi:[10.1063/1.4748180](https://doi.org/10.1063/1.4748180)
38. Willets KA, Van Duyne RP (2007) Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu Rev Phys Chem* 58:267–297. doi:[10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607](https://doi.org/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607)
39. Aroca R (2006) Surface enhanced vibrational spectroscopy, John Wiley & Sons, Chichester, Ltd. doi:[10.1002/9780470035641](https://doi.org/10.1002/9780470035641)
40. Le Ru EC, Grand J, Félidj N, Aubard J, Lévi G, Hohenau A, Krenn JR, Blackie E, Etchegoin PG (2008) Experimental verification of the SERS electromagnetic model beyond the  $|E|^4$  approximation: polarization effects. *J Phys Chem C* 112(22):8117–8121. doi:[10.1021/jp802219c](https://doi.org/10.1021/jp802219c)
41. Sarkar M, Besbes M, Moreau J, Bryche J-F, Olivéro A, Barbillon G, Coutrot A-L, Bartenlian B, Canva M (2015) Hybrid plasmonic mode by resonant coupling of localized plasmons to propagating plasmons in a Kretschmann configuration. *ACS Photonics* 2(2): 237–245. doi:[10.1021/ph500351b](https://doi.org/10.1021/ph500351b)
42. Chu Y, Crozier KB (2009) Experimental study of the interaction between localized and propagating surface plasmons. *Opt Lett* 34(3):244–246. doi:[10.1364/OL.34.000244](https://doi.org/10.1364/OL.34.000244)
43. Live LS, Dhawan A, Gibson KF, Poirier-Richard H-P, Graham D, Canva M, Vo-Dinh T, Masson J-F (2012) Angle-dependent resonance of localized and propagating surface plasmons in microhole arrays for enhanced biosensing. *Anal Bioanal Chem* 404(10):2859–2868. doi:[10.1007/s00216-012-6195-0](https://doi.org/10.1007/s00216-012-6195-0)
44. Guillot N, Shen H, Fremaux B, Peron O, Rinnert E, Toury T, de la Chapelle ML (2010) Surface enhanced Raman scattering optimization of gold nanocylinder arrays: influence of the localized surface plasmon resonance and excitation wavelength. *Appl Phys Lett* 97(2), 023113. doi:[10.1063/1.3462068](https://doi.org/10.1063/1.3462068)
45. Shen H, Guillot N, Rouxel J, Lamy de la Chapelle M, Toury T (2012) Optimized plasmonic nanostructures for improved sensing activities. *Opt Express* 20(19):21278–21290. doi:[10.1364/OE.20.021278](https://doi.org/10.1364/OE.20.021278)
46. Bryche JF, Gillibert R, Barbillon G, Sarkar M, Coutrot AL, Hamouda F, Aassime A, Moreau J, de la Chapelle ML, Bartenlian B, Canva M (2015) Density effect of gold nanodisks on the SERS intensity for a highly sensitive detection of chemical molecules. *J Mater Sci* 50(20):6601–6607. doi:[10.1007/s10853-015-9203-x](https://doi.org/10.1007/s10853-015-9203-x)

## II.3. Spécificité des échantillons sur un film d'or

Comme nous l'avons montré, un substrat déposé sur un film d'or (or/or) présente un avantage important en termes d'exaltation par rapport aux échantillons déposés sur un substrat de verre (or/verre). Grâce à une exaltation supérieure, leur utilisation en tant que capteur SERS est donc parfaitement adapté au projet Piranex. D'autant plus que les travaux de Mitradeep Sarkar<sup>25</sup> et d'Aurore Olivero<sup>26</sup> ont permis de valider le bon fonctionnement de ces substrats en SPRi avec une très bonne sensibilité. Cela signifie que de tels substrats peuvent être directement utilisés dans l'appareil bimodal SPRi/SERS développé dans le projet Piranex. Au vu de ces bons résultats, nous avons décidé de ne pas considérer d'autres géométries de nanostructures, mais plutôt de nous focaliser sur l'étude des propriétés plasmoniques de ces substrats pour une exploitation maximale dans le cadre de la détection bimodale.

### II.3.1. Directivité du SERS

J'ai donc effectué une série d'études pour caractériser le plus exhaustivement possible les propriétés plasmoniques des nanoparticules déposées sur un film d'or. Dans un premier temps, des mesures de spectres d'extinctions et SERS furent réalisées pour différents angles d'incidence, permettant de déterminer la relation entre les différents modes plasmoniques et l'exaltation mesurée en SERS. J'ai constaté que l'exaltation du signal Raman vient principalement du mode de Bragg, qui correspond au couplage entre le plasmon délocalisé et le réseau de nanostructures. Ainsi, l'excitation de ce mode dépend fortement de l'angle d'incidence de la lumière, ce qui implique une intensité SERS fortement directionnelle.

L'article décrivant ce phénomène en détails est présenté ci-après, les échantillons furent fabriqués à l'IEF (Institut d'électronique fondamentale), par J.-F. Bryche, l'ensemble des expériences ainsi que la rédaction de l'article furent effectués par moi-même et les simulations furent réalisées par Mitradeep Sarkar au LCF (Laboratoire Charles Fabry). Le LCF travaille depuis plusieurs années sur un code de simulations basées sur la décomposition en éléments finis, qui est une technique générique de simulations pour tout système décrit par des équations aux dérivées partielles et découpé sous forme d'un maillage discret. La technique peut être appliquée à la résolution des équations de Maxwell et le code présente de très bonnes performances. Cette grande expertise dans l'outil de simulation a mené le LCF à être le partenaire chargé des simulations du projet Piranex.

# Directional surface enhanced Raman scattering on gold nano-gratings

Raymond Gillibert<sup>1,2</sup>, Mitradeep Sarkar<sup>3</sup>, Jean-François Bryche<sup>3,4</sup>,  
Ryohei Yasukuni<sup>1</sup>, Julien Moreau<sup>3</sup>, Mondher Besbes<sup>3</sup>, Grégory Barbillon<sup>4</sup>,  
Bernard Bartenlian<sup>4</sup>, Michael Canva<sup>3,5</sup> and Marc Lamy de la Chapelle<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France

<sup>2</sup> HORIBA Jobin Yvon S.A.S. Villeneuve d'Ascq, 231 rue de Lille 59650 Lille, France

<sup>3</sup> Institut d'Optique Graduate School, Laboratoire Charles Fabry CNRS UMR 8501, 91227 Palaiseau, France

<sup>4</sup> Université Paris-Sud, Institut d'Électronique Fondamentale CNRS UMR 8622, Bâtiment 220, 91405 Orsay Cedex, France

<sup>5</sup> Université de Sherbrooke, Laboratoire Nanotechnologie Nanosystème, LN2, UMI CNRS 3463, 3IT, Canada

E-mail: [marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr](mailto:marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr)

Received 4 November 2015, revised 12 January 2016

Accepted for publication 14 January 2016

Published 12 February 2016



CrossMark

## Abstract

Directional plasmon excitation and surface enhanced Raman scattering (SERS) emission were demonstrated for 1D and 2D gold nanostructure arrays deposited on a flat gold layer. The extinction spectrum of both arrays exhibits intense resonance bands that are redshifted when the incident angle is increased. Systematic extinction analysis of different grating periods revealed that this band can be assigned to a propagated surface plasmon of the flat gold surface that fulfills the Bragg condition of the arrays (Bragg mode). Directional SERS measurements demonstrated that the SERS intensity can be improved by one order of magnitude when the Bragg mode positions are matched with either the excitation or the Raman wavelengths. Hybridized numerical calculations with the finite element method and Fourier modal method also proved the presence of the Bragg mode plasmon and illustrated that the enhanced electric field of the Bragg mode is particularly localized on the nanostructures regardless of their size.

Keywords: surface enhanced Raman scattering, plasmon, gold, grating

(Some figures may appear in colour only in the online journal)

## 1. Introduction

Metallic nanostructures have proved to be very useful for various applications owing to their capability to confine electromagnetic (EM) fields at the nanometric scale by the excitation of surface plasmon resonances (SPRs) [1–4]. One of the most relevant applications of this effect is surface enhanced Raman scattering (SERS), which is a highly sensitive spectroscopic technique for the detection of molecules and the analysis of their chemical structures [5–11]. In fact, the SERS effect has been observed for a large variety of metallic nanostructures [12–17], fabricated by various techniques such as chemical synthesis, electrochemical etching and nanolithography [18–26].

Recently, directionality of SERS in regularly structured or flat metal substrates has been reported in several publications as a useful technique to control SERS efficiency. First, a basic angular dependence of the SERS signal was reported for a flat metallic surface in the Kretschmann configuration. In such works, it was shown that the maximum of SERS intensity is reached when the angle matches the angle of the SPR excitation of the flat metal surface [27–29]. In this case, the SERS signal dependence is only due to the angular dependence of the plasmon excitation. For nanostructured surfaces, some advanced angular plasmonic and SERS studies have been performed. For instance, Chu *et al* have studied a double resonance SERS substrate [30], namely a combination

of a gold nanodisk array and a gold film with a thin dielectric spacer. This SERS substrate shows that local field enhancement around the nanodisk is very sensitive to the excitation angle. This effect is essentially due to a coupling of the localized surface plasmon (LSP) of the gold nanodisks with the propagative surface plasmon (PSP) of the gold film. Moreover, Baumberg *et al* have reported a comprehensive extinction and SERS angular study on a two-dimensional nanohole array in a gold film [31]. A directionality of the SERS emission was found and explained by the excitation of plasmonic modes originating from the periodicity of the nanoholes. Thus, these previous studies featured SERS directionality as a result of directional excitations of complex surface plasmon modes. However, their general behaviors have not yet been clearly determined because of the lack of systematic studies of their structural parameters. In addition, little was pointed out for the coupling of SERS emission processes with such plasmon modes.

In this paper, we present a complete study of the angular dependence of the plasmon excitation and of the SERS signal. This study has been performed with 1D and 2D gold nanostructure arrays deposited on a flat gold film, which sustain both LSP and PSP. In order to examine complex surface plasmon modes excited in the fabricated SERS substrates and their contribution to the SERS intensities, the grating period of the gold nanostructure array as well as the excitation wavelength have been systematically changed. The nanostructured arrays were realized by electron beam lithography, that allows the fabrication of regular and reproducible nanostructures leading to predictable EM field enhancement [32–41]. Numerical simulations were carried out to calculate the EM field intensity and its near-field distribution, and were compared with our experimental results. In this paper, we discuss the directional SERS as an intrinsic property of all periodic structures, which can be simply explained by the excitation of PSPs which satisfy the Bragg condition of the arrays at certain angle of incidences. This work demonstrates that an intensity gain of one order of magnitude can be obtained just by tilting the sample, and that the collection angle must be optimized to reach the highest SERS signals.

## 2. Results and discussion

### 2.1. Directional extinction analysis

As shown in figures 1(a), (b) and (c), we used two different nanostructures for these studies: nanolines (30 nm in height and 100 nm in width) and nanodisks (30 nm in height and with a diameter of 220 nm) with an underlying thin gold film (30 nm in height). The width or the diameter of the nanostructures is fixed for all experiments. Directional extinction spectra were recorded using a low numerical aperture objective (NA = 0.25) and by tilting the sample with respect to the optical axis, as shown in figure 1(c).

As shown in figure 2(a), the extinction spectra of the nanoline array exhibit two resonance peaks: one between 650 and 800 nm and the other beyond 850 nm. The positions of

both peaks are highly dependent on the excitation angle and on the period of the nanoline array (figure 2(b)). The resonance position of both peaks undergoes a linear redshift with the angle of incidence. One can also notice that the slopes of the curves increase when the array period increases from 300 nm to 500 nm. We can then observe a clear dependence of the resonance on the measurement angle and the array period. Similar behavior is also observed for the 2D array with nanodisks: linear dependence of the resonance position on the measurement angle. In this case, resonance positions of both the peaks are close to those measured for the 1D array of nanolines. Thus, it indicates that the resonance position is independent of the shape of the nanostructure, and is only related to the period of the array.

A similar phenomenon has been reported by Xu *et al* on 1D metal grating structures [42]. They explained the shift of resonance position as an excitation of different modes of the PSP. In our case, the excitation of the two plasmonic modes could be explained as follows. Because of the presence of the flat gold film below the grating [43, 44], the PSP can be excited. Its wave-vector in the plane parallel to the metal–dielectric interface ( $k_x$ ) can be written as [45]

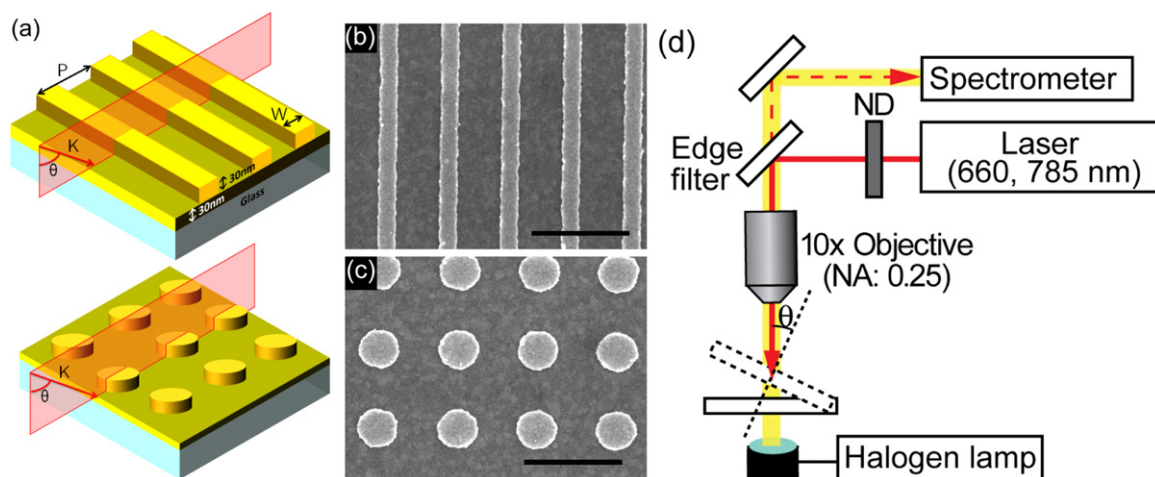
$$k_{\text{spp}} = k_0 \sqrt{\frac{n_d^2 \varepsilon_m(\omega)}{n_d^2 + \varepsilon_m(\omega)}} \quad (1)$$

where  $\varepsilon_m(\omega)$  is the complex permittivity of the metal,  $k_0 = 2\pi/\lambda$  is the free space wave-vector for the wavelength  $\lambda$  and  $n_d$  is the refractive index of the dielectric medium.  $n_d$  is equal to  $n_a$  (refractive index of air) when the PSP is excited at the metal–air interface and is equal to  $n_g$  (refractive index of the glass substrate) when the PSP is excited at the metal–glass interface.

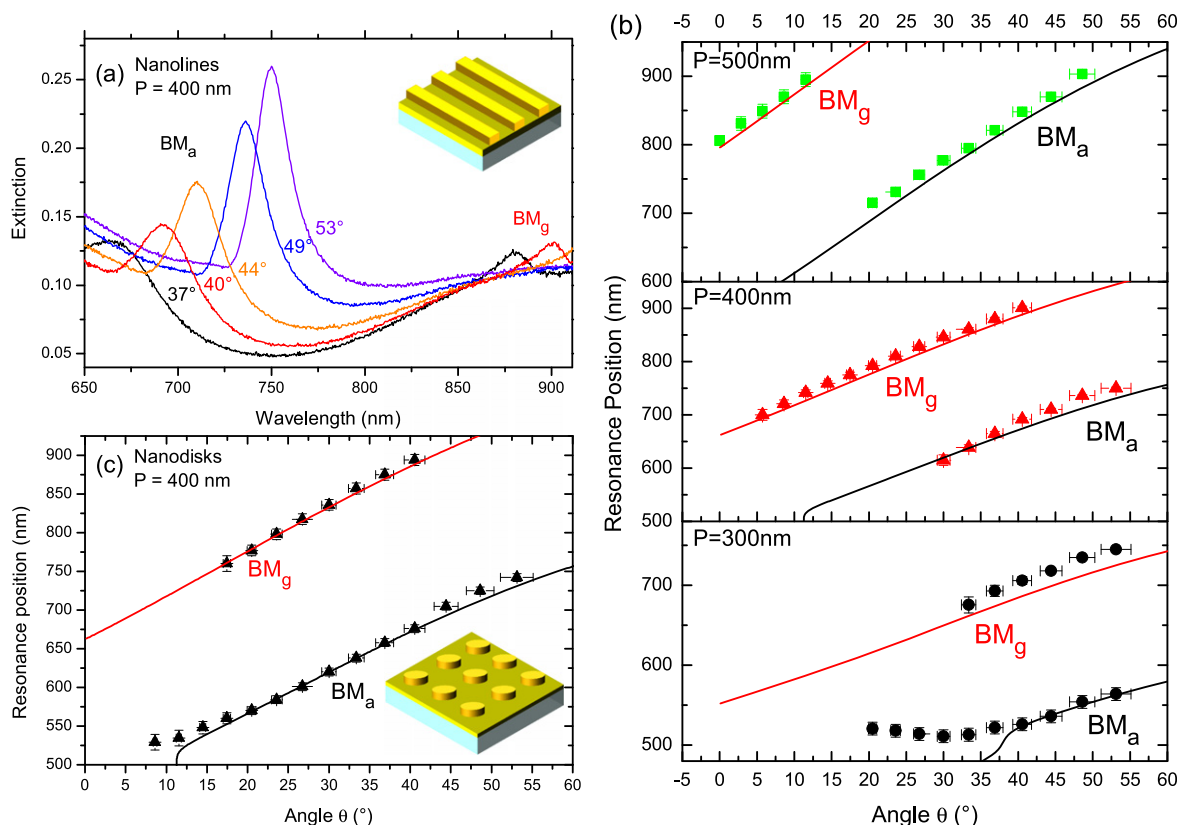
When the wave-vector of the PSP matches the Bragg vector ( $k_B = 2\pi/P$ , where  $P$  is the grating constant) of the array, a highly confined electromagnetic field is created around the nanostructures due to the constructive interference of the PSP at the positions of the nanostructures. This mode is called the Bragg mode (BM) in analogy to Bragg diffraction in periodic structures. The condition for the excitation of the BM can be written as [46]

$$k_{\text{BM}} = k_{\text{spp}} \pm k_B \quad (2)$$

where  $k_{\text{BM}}$  is the in-plane wave-vector given by  $k_0 \sin \theta$ . The analytical solution of equation 2 (shown as solid lines in figures 2(b) and 2(c)) is in good agreement, for all periods and geometries, with the experimental position of the plasmon resonances. This confirms that the resonance depends only on the array period and on the measurement angle and not on the nanostructure shape. The mode at lower wavelengths ( $\text{BM}_a$ ) is due to the fulfillment by the PSP of the condition at the metal–air interface, and the mode at higher wavelengths ( $\text{BM}_g$ ) is due to the fulfillment of the condition at the metal–glass interface. Bragg modes of higher order are not observed since the grating periods are smaller than the wavelengths of our measured spectral range. It should be noted that the LSPs of both nanolines and nanodisks are visible around 550 nm and their positions exhibit no angular dependence (data not shown).



**Figure 1.** (a) Schematic diagram of the nanoline and nanodisk substrates. (b), (c) SEM images of nanolines (b) and nanodisks (c) with a period of 400 nm. The scale bars are 500 nm long. (d) Schematic diagram of the SERS and extinction configuration with respect to the substrate. For SERS, both excitation and collection are done with a 10× microscope objective ( $NA = 0.25$ ). For extinction measurement, the excitation is done in transmission configuration using white light illumination from below the sample whereas the transmitted light is collected with the 10× objective. For all experiments, the excitation polarization is transverse magnetic (TM) and the wave-vector  $K$  is parallel to the grating axis, meaning an azimuthal angle of  $0^\circ$ .

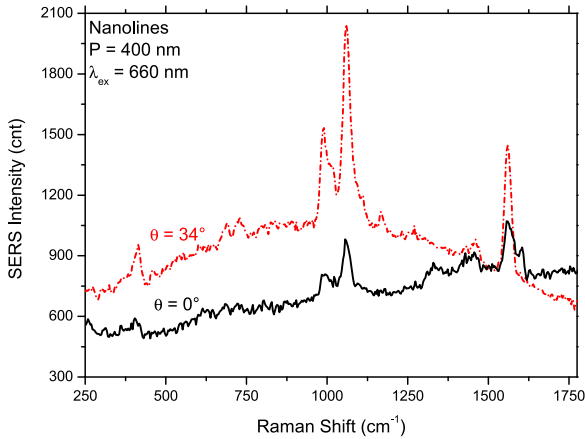


**Figure 2.** (a) Extinction spectra for different  $\theta$  angles on nanolines with a 400 nm grating period. (b), (c) Plasmon resonance position as a function of  $\theta$  angle for three different periods for nanolines (b) and for nanodisks with a 400 nm grating period (c). The solid lines represent the analytical solution of equation 2 for the corresponding grating periods.

## 2.2. Directional SERS intensity analysis

To measure the SERS signal, thiophenol was used as a probe molecule because of its high Raman cross-section and the strong affinity of the thiol group towards the gold surface. Such a molecule also a homogeneous self-assembled

monolayer giving a reproducible SERS signal [47]. Several intense Raman peaks of thiophenol are observable at 419, 1000, 1024, 1075 and  $1575\text{ cm}^{-1}$ . The most intense band is observable at  $1075\text{ cm}^{-1}$  and was used to measure the SERS intensity. Figure 3 shows the SERS spectra of thiophenol



**Figure 3.** SERS spectra of thiophenol recorded on the nanolines (width = 100 nm and grating period = 400 nm) at 660 nm. Excitation angles  $\theta$  are  $0^\circ$  (solid black line) and  $34^\circ$  (dashed red line).

recorded on nanolines with a grating period of 400 nm for two excitation angles,  $\theta = 0^\circ$  and  $34^\circ$  (excitation wavelength = 660 nm). A clear increase of the SERS signal is noticed for the excitation angle of  $34^\circ$ , indicating an angular dependence of the SERS intensity.

To demonstrate this, the SERS intensity was experimentally recorded as a function of the incident angle  $\theta$  in the range  $[0, 50^\circ]$  at three different wavelengths (633, 660 and 785 nm) on the nanoline array for three different grating periods (300, 400 and 500 nm), and on the nanodisk array for a grating period of 400 nm (figure 4).

Strong variations of the SERS intensity were observed depending on the angle with intensity peaks at specific angles. At these angles, the intensity is between five and ten times higher than that measured at normal incidence ( $\theta = 0^\circ$ ). The systematic study reveals that large intensity peaks for the SERS signal are obtained when the  $BM_a$  are excited, whereas smaller peaks for the SERS signal are observed when the  $BM_g$  are excited. Hence, it can be considered that the improvement of SERS intensity at a certain incidence angle is caused by the excitation of the  $BM_a$ . The angle of incidence which satisfies the condition for excitation of the BM increases when the excitation wavelength is redshifted or when the grating period is increased.

The smaller values of the SERS intensity at the positions of  $BM_g$  are due to the confinement of the EM near-field of the  $BM_g$  at the metal–glass interface. Furthermore its decay length is not long enough to produce a high field enhancement at the interface between gold and air, where the thiophenol molecules are located. We have also observed that the extinction values corresponding to the  $BM_g$  were lower than those for the  $BM_a$ .

It is also interesting that we observe a second maximum at the angle where the emission wavelength ( $\lambda_R$ ) matches the BM resonance conditions marked by vertical dashed lines. This indicates that the Raman scattering couples with the BMs. Thus the Raman scattering depends on the directional emission of BMs.

Finally, we found similar behaviors between 1D nanolines (figures 4(d), (e) and (f)) and 2D nanodisks (figures 4(j), (k) and (i)) when they have the same 400 nm grating period, even though they have different geometries. These angular dependences of the SERS intensity imply that they would be sensitive to only the grating period, and not to the geometry of the nanostructure.

In order to explain the experimental results, the angular dependence of the SERS intensity was numerically simulated based on the local EM field intensity calculation using a hybrid of the finite element method (FEM) and the Fourier modal method (FMM) [48, 49]. The SERS intensity is generally considered to be proportional to the local EM field intensities at the excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) and the Raman scattering wavelength ( $\lambda_R$ ). By introducing the excitation angle  $\theta_{ex}$  and the Raman collection angle  $\theta_R$ , the SERS intensity  $I_{SERS}$  in our experiments can be analytically expressed as [51]

$$I_{SERS} \propto E_{ex}^2(\lambda_{ex}, \theta_{ex}) \times E_R^2(\lambda_R, \theta_R) \quad (3)$$

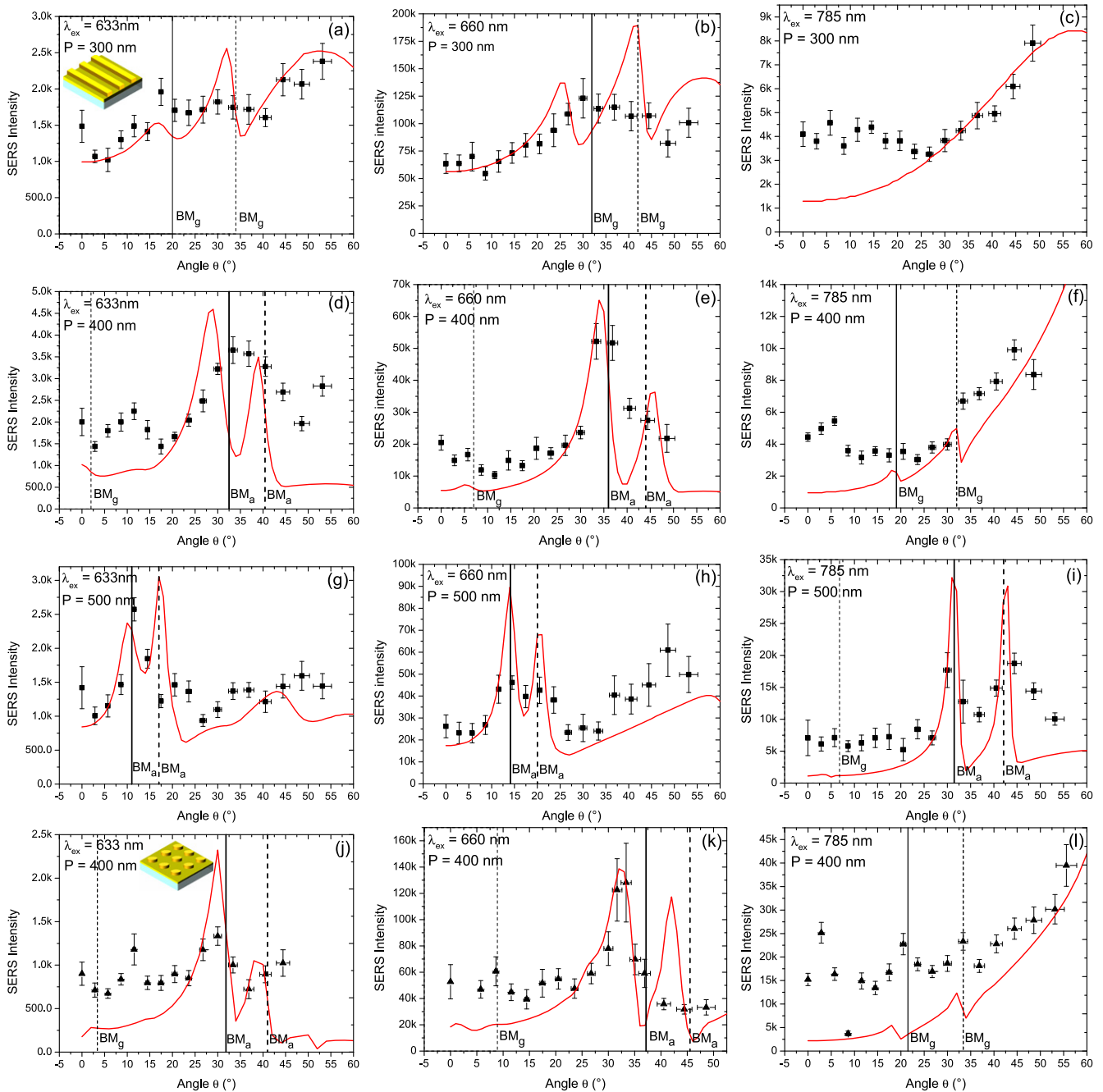
where  $E_{ex}^2$  and  $E_R^2$  are the local EM field enhancement normalized by the EM field intensity of incident light  $E_0^2$  at the excitation wavelength ( $\lambda_{ex}$ ) and Raman emission wavelength ( $\lambda_R$ ) respectively [50, 51].  $\theta_0$  and  $\theta_R$  are the same angle in our case. The right-hand side of equation 3 represents the SERS gain in the EM enhancement mechanism.

In figure 5, spatial distributions of the calculated SERS gain at the gold–air interface, where the molecules are adsorbed, are illustrated for the 100 nm width nanolines and the 220 nm diameter nanodisks considering a grating period of 400 nm. For the calculation, the excitation wavelength at 660 nm was used, and the incident angles were taken at  $0^\circ$  and  $34^\circ$  to the plane of normal incidence. The  $34^\circ$  angle corresponds to the maximum SERS intensity for these specific experimental conditions (figures 4(e) and (k)). When  $\theta_{ex}$  and  $\theta_R$  are  $0^\circ$ , the effective SERS gain is only observable at the edge of nanostructures, which can be assigned to a small contribution of LSP excitation. In contrast, when  $\theta_{ex}$  and  $\theta_R$  are  $34^\circ$ , a SERS gain stronger by one order of magnitude is observed compared to the  $0^\circ$  angle. Moreover, the SERS gain comes from the entire nanostructure and is not limited to the borders. In addition, the SERS signal is also enhanced on the gold film between the cylinders. Although the signal from the nanostructures would dominate the SERS intensity, the contribution from the flat surface might not be ignored. This means that nearly all the molecules deposited on the gold surface contribute to the SERS signal due to the excitation of the BM.

The experimentally obtained angular dependence of SERS intensity was calculated from the integral of the SERS gain over the whole surface shown in figure 5. The total SERS gain is as follows:

$$G_{total} = \int_{S_{struct}} E_{ex}^2(\lambda_{ex}, \theta_{ex}) E_R^2(\lambda_R, \theta_R) dS. \quad (4)$$

The calculated  $G_{total}$  is superimposed in figure 4 (red solid lines). The numerical calculations reproduces the experimental peak positions and the angular dependence in each condition. Therefore, the coupling of the excitation and emission light with the BM is the main factor that improves



**Figure 4.** Experimental (dots) and numerical (solid red line) angular dependences of the SERS intensities at different excitation wavelengths (633, 660 and 785 nm) on nanolines (a–i) with grating periods from 300 to 500 nm and on nanodisks (j–l) with a grating period of 400 nm. Vertical lines indicate the angles of BM excitation at the excitation (solid) and emission (dashed) wavelengths.

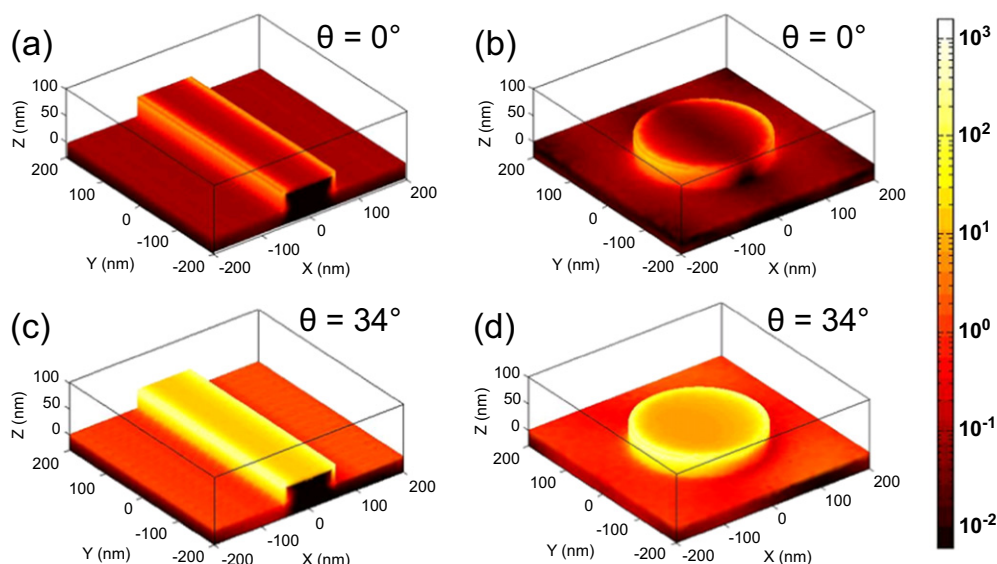
the SERS signal in our substrate. However, for the experimental peaks, the intensity contrast is much lower and the full widths at half maximum of the peaks are larger than those observed with the simulated peaks. This could be explained by the fact that we used a microscope objective with a non-zero NA, which means that the excitation and the collection angles have a certain distribution. Thus, the decrease of the contrast and the broadening of the peaks result from the lower angular resolution. In addition, the roughness of the nanostructure is not taken into account in the simulation, and can also induce a higher SERS signal at

unexpected angles, decreasing the experimental intensity contrast. However, these simulations confirm the high directivity of the SERS signal for specific and precise angles.

### 3. Conclusion

We demonstrated that, in the case of a nanostructure grating over a metallic film, the propagating surface plasmon couples with the grating, which results in the Bragg mode. Due to this coupling, there is a specific resonance angle for each





**Figure 5.** Spatial distributions of the calculated SERS gain for 100 nm width nanolines (a), (c) and for 220 nm diameter nanodisks (b), (d) at 660 nm excitation. The periodicity is set as 400 nm. The incidence and emission angles  $\theta$  were  $0^\circ$  (a), (b) and  $34^\circ$  (c), (d). The excitation polarization is transverse magnetic (TM) and the wave-vector  $K$  is parallel to the grating axis.

wavelength of interacting light that induces a strong increase of the SERS signal. This induces a directivity of the SERS emission and thus might be useful for future applications in SERS. Thus, in a setup where one needs to work at long distances, the knowledge of this behavior might be critical for the optimization of the SERS signal.

#### 4. Methods

A thin gold layer of 30 nm was deposited on a glass substrate by electron beam evaporation. Then gold nanostructure arrays were designed on the gold film by electron beam lithography followed by a lift-off process. Surface functionalization was done by immersing the substrate for 150 min into a solution of thiophenol ( $10^{-4}$  M) dissolved in ethanol. SERS spectra were recorded with commercial confocal Raman microspectrometers with a set of continuous wavelength lasers ( $\lambda = 633, 660$  and  $785$  nm). A Horiba Scientific LabRam spectrometer was used at 633 nm and a Horiba Scientific Xplora spectrometer was used at 660 and 785 nm. For each spectrometer, the Raman measurements were carried out in backscattering configuration through a  $10\times$  objective (NA = 0.25). Incident laser power was measured at the sample position and adjusted to 3 mW with a neutral density filter (ND) for all laser wavelengths. Extinction spectra were recorded with the same spectrometer as SERS measurements, after removing the edge filters. A halogen lamp was used as white light source in transmission configuration (figure 1). A reference spectrum was acquired on the flat gold surface for each incident angle far from the nanostructures and the extinction was calculated as the logarithm of the ratio between reference spectrum and the spectrum acquired on the grating  $\log(I_0/I)$ .

#### Acknowledgments

The authors acknowledge ANR P2N (ANR-12-NANO-0016) and the support of the French Government for partial funding of the project in which this work takes place and ANRT (Association Nationale de la Recherche et de la Technologie) for partial funding. The authors also thank l'Initiative d'Excellence de Paris Saclay for funding.

#### References

- [1] Barnes W L, Dereux A and Ebbesen T W 2003 Surface plasmon subwavelength optics *Nature* **424** 824–30
- [2] Nelayah J, Kociak M, Stéphan O, Javier García de Abajo F, Tencé M, Henrard L, Taverna D, Pastoriza-Santos I, Liz-Marzán L M and Colliex C 2007 Mapping surface plasmons on a single metallic nanoparticle *Nat. Phys.* **3** 348–53
- [3] Davis T J, Gómez D E and Vernon K C 2010 Simple model for the hybridization of surface plasmon resonances in metallic nanoparticles *Nano Lett.* **10** 2618–25
- [4] Zheng Y B, Kiraly B, Cheunkar S, Huang T J and Weiss P S 2011 Incident-angle-modulated molecular plasmonic switches: a case of weak exciton–plasmon coupling *Nano Lett.* **11** 2061–5
- [5] Braun G, Lee S J, Dante M, Nguyen T-Q, Moskovits M and Reich N 2007 Surface-enhanced Raman spectroscopy for DNA detection by nanoparticle assembly onto smooth metal films *J. Am. Chem. Soc.* **129** 6378–9
- [6] David C, Guillot N, Shen H, Toury T and de la Chapelle M L 2010 SERS detection of biomolecules using lithographed nanoparticles towards a reproducible SERS biosensor *Nanotechnology* **21** 475501
- [7] Heyns J B, Sears L M, Corcoran R C and Carron K T 1994 SERS study of the interaction of alkali metal ions with a thiol-derivatized dibenzo-18-crown-6 *Anal. Chem.* **66** 1572–4

- [8] Guillot N and de la Chapelle M L 2012 Lithographed nanostructures as nanosensors *J. Nanophotonics* **6** 064506
- [9] Cottat M, Lidgi-Guigui N, Hamouda F, Bartenlian B, Venkataraman D, Marks R S, Steele T W J and de la Chapelle M L 2015 Highly sensitive detection of paclitaxel by surface enhanced Raman scattering *J. Opt.* **17** 114019
- [10] Cottat M *et al* 2015 High sensitivity, high selectivity SERS detection of MnSOD using optical nanoantennas functionalized with aptamers *J. Phys. Chem. C* **119** 15532–40
- [11] Boujday S, de la Chapelle M L, Srajer J and Knoll W 2015 Enhanced vibrational spectroscopies as tools for small molecule biosensing *Sensors* **15** 21239–64
- [12] de la Chapelle M L, Guillot N, Frémaux B, Shen H and Toury T 2013 Novel apolar plasmonic nanostructures with extended optical tunability for sensing applications *Plasmonics* **8** 475–80
- [13] Péron O, Rinnert E, Toury T, de la Chapelle M L and Compere C 2011 Quantitative SERS sensors for environmental analysis of naphthalene *Analyst* **136** 1018–22
- [14] Talley C E, Jackson J B, Oubre C, Grady N K, Hollars C W, Lane S M, Huser T R, Nordlander P and Halas N J 2005 Surface-enhanced Raman scattering from individual Au nanoparticles and nanoparticle dimer substrates *Nano Lett.* **5** 1569–74
- [15] Cottat M, Lidgi-Guigui N, Tijnelyte I, Barbillon G, Hamouda F, Gogol P, Aassime A, Lourtioz J-M, Bartenlian B and de la Chapelle M L 2014 Soft UV nanoimprint lithography-designed highly sensitive substrates for SERS detection *Nanoscale Res. Lett.* **9** 623
- [16] Ye J, Wen F, Sobhani H, Lassiter J B, Dorpe P V, Nordlander P and Halas N J 2012 Plasmonic nanoclusters: near field properties of the Fano resonance interrogated with SERS *Nano Lett.* **12** 1660–7
- [17] Xie J, Zhang Q, Lee J Y and Wang D I C 2008 The synthesis of SERS-active gold nanoflower tags for in vivo applications *ACS Nano* **2** 2473–80
- [18] White D J, Mazzolini A P and Stoddart P R 2007 Fabrication of a range of SERS substrates on nanostructured multicore optical fibres *J. Raman Spectrosc.* **38** 377–82
- [19] Kuncicky D M, Prevo B G and Velev O D 2006 Controlled assembly of SERS substrates templated by colloidal crystal films *J. Mater. Chem.* **16** 1207–11
- [20] Ward D R, Grady N K, Levin C S, Halas N J, Wu Y, Nordlander P and Natelson D 2007 Electromigrated nanoscale gaps for surface-enhanced Raman spectroscopy *Nano Lett.* **7** 1396–400
- [21] Wang H, Levin C S and Halas N J 2005 Nanosphere arrays with controlled sub-10-nm gaps as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates *J. Am. Chem. Soc.* **127** 14992–3
- [22] D'Andrea C *et al* 2013 Optical nanoantennas for multiband surface-enhanced infrared and Raman spectroscopy *ACS Nano* **7** 3522–31
- [23] Herriott D R and Brewer G R 1980 Electron-beam lithography machines *Electron-Beam Technology in Microelectronic Fabrication* (New York: Academic) pp 1–58
- [24] Grand J, Kostcheev S, Bijeon J-L, de la Chapelle M L, Adam P-M, Romyantseva A, Lérondel G and Royer P 2003 Optimization of SERS-active substrates for near-field Raman spectroscopy *Synth. Met.* **139** 621–4
- [25] Shen H, Guillot N, Rouxel J, de la Chapelle M L and Toury T 2012 Optimized plasmonic nanostructures for improved sensing activities *Opt. Express* **20** 21278–90
- [26] Bryce J-F *et al* 2015 Density effect of gold nanodisks on the SERS intensity for a highly sensitive detection of chemical molecules *J. Mater. Sci.* **50** 6601–7
- [27] Li H, Xu S, Liu Y, Gu Y and Xu W 2012 Directional emission of surface-enhanced Raman scattering based on a planar-film plasmonic antenna *Thin Solid Films* **520** 6001–6
- [28] Meyer S A, Auguie B, Le Ru E C and Etchegoin P G 2012 Combined SPR and SERS microscopy in the Kretschmann configuration *J. Phys. Chem. A* **116** 1000–7
- [29] Barchiesi D, Grosjes T, Colas F and de la Chapelle M L 2015 Combined SPR and SERS: Otto and Kretschman configurations *J. Opt.* **17** 114009
- [30] Chu Y, Zhu W, Wang D and Crozie K B 2011 Beamed Raman: directional excitation and emission enhancement in a plasmonic crystal double resonance SERS substrate *Opt. Express* **19** 20054–68
- [31] Baumberg J J, Kelf T A, Sugawara Y, Cintra S, Abdelsalam M E, Bartlett P N and Russell A E 2005 Angle-resolved surface-enhanced Raman scattering on metallic nanostructured plasmonic crystals *Nano Lett.* **5** 2262–7
- [32] Kahl M, Voges E, Kostrewa S, Viets C and Hill W 1998 Periodically structured metallic substrates for SERS *Sensors Actuators B* **51** 285–91
- [33] Félidj N, Aubard J, Lévi G, Krenn J R, Salerno M, Schider G, Lamprecht B, Leitner A and Aussenegg F R 2002 Controlling the optical response of regular arrays of gold particles for surface-enhanced Raman scattering *Phys. Rev. B* **65** 075419
- [34] Félidj N, Aubard J, Lévi G, Krenn J R, Hohenau A, Schider G, Leitner A and Aussenegg F R 2003 Optimized surface-enhanced Raman scattering on gold nanoparticle arrays *Appl. Phys. Lett.* **82** 3095–7
- [35] Guillot N, Shen H, Frémaux B, Péron O, Rinnert E, Toury T and de la Chapelle M L 2010 Surface enhanced Raman scattering optimization of gold nanocylinder arrays: influence of the localized surface plasmon resonance and excitation wavelength *Appl. Phys. Lett.* **97** 023113
- [36] Guillot N and de la Chapelle M L 2012 The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: enhancement optimization using precisely controlled nanostructures *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* **113** 2321–33
- [37] Grand J, de La Chapelle M L, Bijeon J-L, Adam P-M, Vial A and Royer P 2005 Role of localized surface plasmons in surface-enhanced Raman scattering of shape-controlled metallic particles in regular arrays *Phys. Rev. B* **72** 033407
- [38] Billot L, de La Chapelle M L, Grimault A-S, Vial A, Barchiesi D, Bijeon J-L, Adam P-M and Royer P 2006 Surface enhanced Raman scattering on gold nanowire arrays: evidence of strong multipolar surface plasmon resonance enhancement *Chem. Phys. Lett.* **422** 303–7
- [39] Kessentini S, Barchiesi D, D'Andrea C, Toma A, Guillot N, Fabrizio E D, Fazio B, Marago O M, Gucciardi P G and de la Chapelle M L 2014 Gold dimer nanoantenna with slanted gap for tunable LSPR and improved SERS *J. Phys. Chem. C* **118** 3209–19
- [40] Grimault A-S, Vial A and De La Chapelle M L 2006 Modeling of regular gold nanostructures arrays for SERS applications using a 3D FDTD method *Appl. Phys. B* **84** 111–5
- [41] Grimault A-S, Vial A, Grand J and de la Chapelle M L 2008 Modelling of the near-field of metallic nanoparticle gratings: localized surface plasmon resonance and SERS applications *J. Microsc.* **229** 428–32
- [42] Xu B-B, Ma Z-C, Wang H, Liu X-Q, Zhang Y-L, Zhang X-L, Zhang R, Jiang H-B and Sun H-B 2011 A SERS-active microfluidic device with tunable surface plasmon resonances *Electrophoresis* **32** 3378–84
- [43] Wang X, Gogol P, Cambriel E and Palpant B 2012 Near- and far-field effects on the plasmon coupling in gold nanoparticle arrays *J. Phys. Chem. C* **116** 24741–7
- [44] Saikin S K, Chu Y, Rappoport D, Crozier K B and Aspuru-Guzik A 2010 Separation of electromagnetic and

- chemical contributions to surface-enhanced Raman spectra on nanoengineered plasmonic substrates *J. Phys. Chem. Lett.* **1** 2740–6
- [45] Raether H 1988 *Surface-Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings* (Berlin: Springer)
- [46] Barnes W L, Preist T W, Kitson S C and Sambles J R 1996 Physical origin of photonic energy gaps in the propagation of surface plasmons on gratings *Phys. Rev. B* **54** 6227
- [47] Han S W, Lee S J and Kim K 2001 Self-assembled monolayers of aromatic thiol and selenol on silver: comparative study of adsorptivity and stability *Langmuir* **17** 6981–7
- [48] Hugonin J-P, Besbes M and Lalanne P 2008 Hybridization of electromagnetic numerical methods through the *G*-matrix algorithm *Opt. Lett.* **33** 1590–2
- [49] Sarkar M, Besbes M, Moreau J, Bryche J-F, Olivéro A, Barbillon G, Coutrot A-L, Bartenlian B and Canva M 2015 Hybrid plasmonic mode by resonant coupling of localized plasmons to propagating plasmons in a Kretschmann configuration *ACS Photonics* **2** 237–45
- [50] Kneipp K, Moskovits M and Kneipp H 2006 *Surface-Enhanced Raman Scattering: Physics and Applications* vol 103 (Berlin: Springer)
- [51] Le Ru E C and Etchegoin P G 2013 Quantifying SERS enhancements *MRS Bull.* **38** 631–40

Dans cet article, nous n'avons pas comparé les propriétés plasmoniques de ces réseaux déposés sur un film d'or avec les mêmes structures déposées sur un substrat diélectrique. Une telle comparaison est présentée sur la Figure 2, sur laquelle on peut observer que tout effet de directivité du signal SERS disparaît dès lors qu'on se place sur un simple substrat de verre.

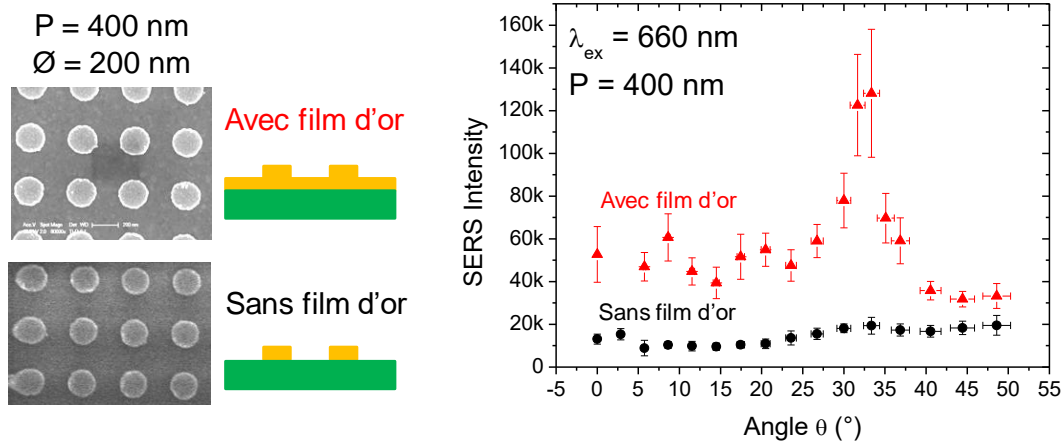


Figure 2 : Comparaison du profil angulaire d'intensité SERS avec (triangles rouges) et sans (cercles noirs) le film d'or pour des réseaux de nanocylindres de diamètre 200 nm et de période constante de 400 nm. Longueur d'onde d'excitation : 660 nm.

J'ai pu constater de même que, quel que soit l'angle d'excitation, l'intensité émise en présence du film d'or est supérieure à celle émise dans le cas du substrat de verre. Ces résultats sont en accord avec les expériences précédentes.

Nous pouvons donc en conclure que la principale contribution à l'exaltation SERS pour ces substrats or/or est due aux modes de Bragg. En effet, dans une configuration standard, avec un objectif de microscope possédant une large ouverture numérique, tous les angles sont inclus dans l'excitation et la collection, ce qui permet d'exciter le mode de Bragg quelle que soit la longueur d'onde d'excitation. De plus, la position du mode de Bragg ne dépendant que de la périodicité du réseau, cela signifie que quelle que soit la taille ou la forme des nanostructures, l'excitation de ce mode offrira une forte exaltation.

Un autre intérêt de cette propriété réside dans l'optimisation du signal Raman. En effet il est possible en illuminant astucieusement la pupille d'entrée de l'objectif de microscope d'envoyer la lumière du laser excitateur selon un angle donné compris dans l'ouverture numérique de l'objectif. Ainsi en excitant seulement avec le bon angle, il serait possible de minimiser la puissance laser d'excitation tout en conservant la même intensité SERS. Ainsi par rapport à une configuration classique où l'on éclaire toute la pupille de l'objectif, cela serait utile d'exciter le substrat en utilisant uniquement les angles « utiles » à l'exaltation SERS. Une telle configuration pourrait avoir des applications importantes lors de la caractérisation en SERS ou de son utilisation en tant que capteur car les fortes densités de puissance ont tendance à dégrader l'échantillon et à empêcher l'observation des molécules déposées à la surface des nanostructures.

### II.3.2. Localisation de l'exaltation

Après avoir montré que la principale composante de l'exaltation en SERS est due au mode de Bragg, nous avons voulu en savoir plus sur les propriétés en champ proche de ces échantillons. Plus spécifiquement, nous nous sommes intéressés à la distribution spatiale de l'exaltation du champ électrique. Ceci présente un intérêt pour l'optimisation du substrat en temps que capteur. En effet, comme nous l'avons précisé précédemment, il est préférable d'avoir une exaltation homogène sur les nanostructures afin d'améliorer la reproductibilité et la fiabilité du capteur, car toute molécule s'adsorbant à la surface participe alors au signal SERS mesuré.

Nous avons tout d'abord effectué une première étude sur des échantillons constitués de nanocylindres déposés sur un film d'or et sur un substrat de verre. Les échantillons furent ensuite fonctionnalisés avec du thiophenol avant le processus de lift-off. Nous avons alors émis l'hypothèse que le thiophenol s'adsorbait uniquement sur le sommet des nanostructures et pas sur leurs bords, rendus inaccessibles par la résine PMMA (Figure 3). De plus, nous avons utilisé une solution concentrée à 1 mM dans l'éthanol, afin de former une monocouche auto-assemblée sur toute la surface d'or accessible. Par la suite nous avons effectué le lift-off en plongeant l'échantillon dans l'acétone pendant une nuit. Cela supprime donc la résine PMMA et l'or qui est situé au-dessus.

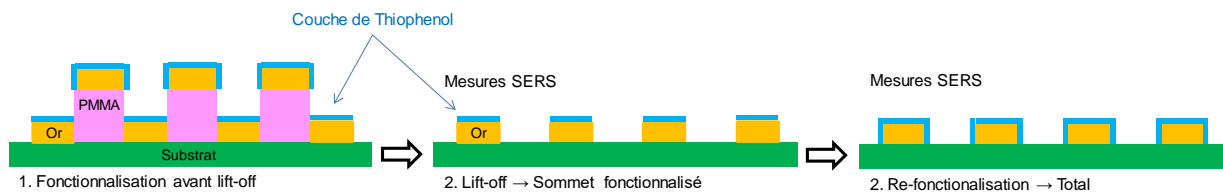


Figure 3 : Principe de mesure de la localisation de l'exaltation sur les nanostructures faites par lithographie électronique.

Nous avons ensuite effectué une série de dix mesures SERS sur chaque échantillon afin de mesurer la valeur moyenne et l'écart-type du signal après fonctionnalisation partielle (uniquement sommet des nanocylindres). Par la suite l'échantillon fut re-fonctionnalisé avec le même protocole afin de couvrir cette fois-ci toute la surface d'or d'une monocouche de thiophenol (sommet et bord des nanocylindres). Le même jour, une seconde série de mesures SERS fut effectuée avec exactement les mêmes paramètres d'acquisition. Nous pouvons ainsi comparer les spectres SERS avant et après lift-off (Figure 4), en s'attendant à une différence en terme d'intensité SERS.

Nous constatons cependant (Figure 4) qu'il n'y a pas de différence notable de l'intensité SERS entre les mesures juste après le lift-off et celles après la seconde fonctionnalisation. En effet nous avons calculé la moyenne et l'écart-type de l'intégrale de la bande située à  $1075\text{ cm}^{-1}$  (Figure 4-c, 4-d) et la différence n'est pas significative que ce soit dans le cas du substrat de verre ou avec le film d'or sous les nanostructures.

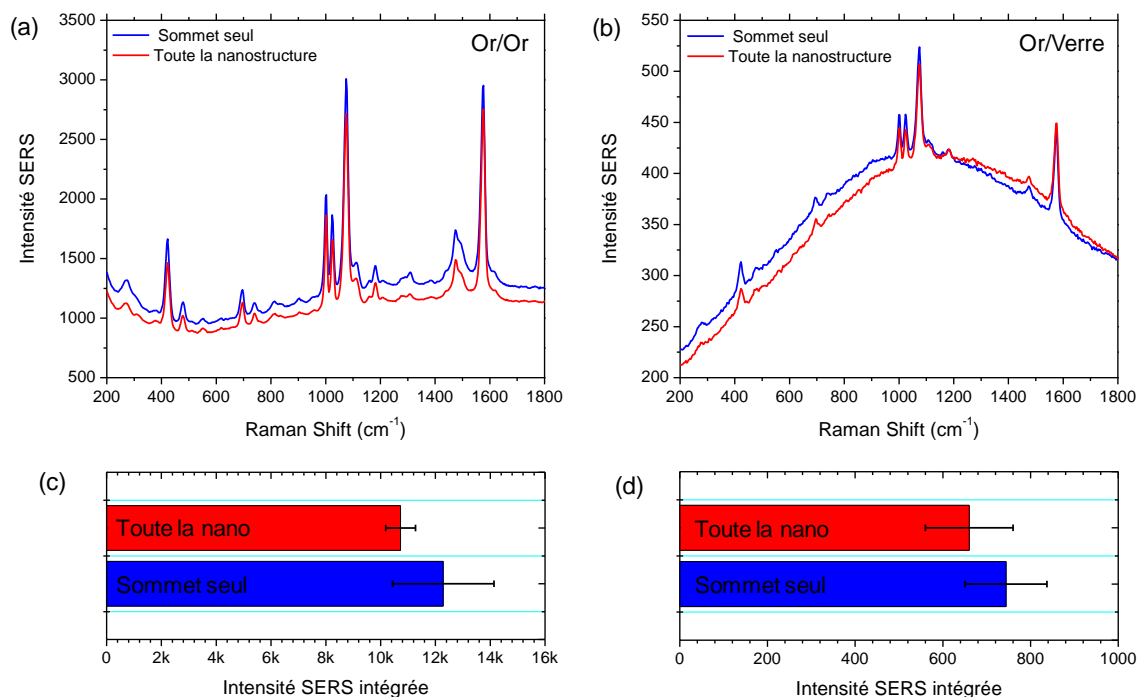


Figure 4: Spectres SERS moyennés du thiophenol déposé sur le sommet (bleu) et sur toute la surface de la nanostructure (rouge) pour un réseau de nanocylindres déposé (a) sur un film d'or ou (b) un substrat de verre (longueur d'excitation : 633 nm). Moyenne et écart-type du signal SERS mesurés sur dix valeurs pour des nanostructures déposées sur (c) un film d'or et sur (d) un substrat de verre

De cette étude nous ne pouvons donc pas conclure définitivement étant donné que dans tous les cas le signal SERS est identique avec une fonctionnalisation partielle ou totale. A la suite de telles expériences, deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer cette faible variation du signal SERS : soit le signal des bords du nanocylindre est négligeable en comparaison au signal du sommet, soit dès la première fonctionnalisation, le thiophenol a recouvert toute la nanostructure. Ainsi rien ne confirme notre hypothèse initiale que le thiophenol ne s'adsorbe que sur le sommet des nanoparticules. Par ailleurs nous n'avons aucune preuve de l'herméticité du PMMA. Cette expérience n'étant pas concluante, nous avons décidé d'en mener une deuxième plus pertinente.

Pour cette nouvelle étude, une série d'échantillons a été fabriquée par moi-même à la Centrale de Proximité en Nanotechnologies de Paris Nord de l'Université Paris 13. Sur une partie de ces échantillons, une fine couche de silice a été déposée sur le sommet des nanostructures afin d'éviter l'adsorption des molécules sondes sur la surface d'or par l'intermédiaire des groupements thiols. Nous avons ainsi pu déterminer la fraction du signal SERS venant de chacune des faces des nanostructures et comparer cette fraction pour différents types d'échantillons. Dans l'article suivant, nous démontrons ainsi que l'exaltation SERS provient presque essentiellement

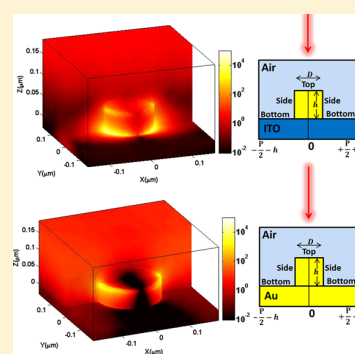
des bords des nanocylindres si ces derniers sont déposés sur un film métallique, alors que dans le cas d'un substrat de verre, l'exaltation provient essentiellement du sommet des nanocylindres.

En SPR pour des nanocylindres sur un film d'or, il avait déjà été montré par le calcul, grâce aux travaux de Mitraddeep Sarkar<sup>27</sup>, que la majorité de la réponse SPR venait de leur sommet et non de leurs bords. *In fine*, pour le développement d'un capteur SPRi/SERS, il sera important de s'assurer que les bords des nanostructures sont bien fonctionnalisés et restent accessibles aux cibles dans la solution et que celles-ci se déposent majoritairement à cet emplacement pour être détectées.

## Near-Field Enhancement Localization on Plasmonic Gratings

Raymond Gillibert,<sup>†,‡</sup> Mitradeep Sarkar,<sup>§</sup> Julien Moreau,<sup>§</sup> Mondher Besbes,<sup>§</sup> Michael Canva,<sup>§</sup> and Marc Lamy de la Chapelle<sup>\*,†</sup><sup>†</sup>Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France<sup>‡</sup>HORIBA Jobin Yvon S.A.S., 231 rue de Lille, 59650 Villeneuve d'Ascq, France<sup>§</sup>Laboratoire Charles Fabry, Institut d'Optique Graduate School, CNRS, Université Paris Saclay, 91227 Palaiseau, France

**ABSTRACT:** Plasmonic properties of arrays of gold nanodisks were investigated to study the localization of the near-field enhancement at the surface of the nanodisks. To measure the near field, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) was performed on different kinds of substrates with and without an over layer of silica that disabled the possibility for our SERS probe to adsorb on the top of our structures. Thanks to this, we were able to determine, depending on the substrate, which fraction of the SERS enhancement was coming from the top of our structures. We demonstrate that the near-field enhancement is mainly localized at the top of the nanodisks in the case of dielectric substrate, whereas it comes from the nanodisk side for metallic subfilm substrate.



## INTRODUCTION

Surface-enhanced Raman scattering (SERS) is a versatile technique based on the exploitation of the near field enhancement produced at the vicinity of metallic nanostructures through their specific optical properties (plasmon excitation, lightning rod effect, etc.). SERS has received growing interest, especially due to the huge enhancement of the Raman signal of molecules that has paved the way of the single-molecule observation<sup>1–6</sup> and with the apparition of new lithography techniques that enables fabrication of reproducible SERS substrates.<sup>7–10</sup> With such substrates, it is thus possible to control and precisely tune the optical properties of metallic nanostructures as well as their near-field enhancement efficiency.<sup>11–25</sup> SERS method is intensively applied in the detection field to observe chemical or biological species at very low concentrations.<sup>26–31</sup> In this sensing framework, it is of first importance to be able to achieve a better understanding of the near-field enhancement and to optimize it to reach limit of detection as low as possible. One of the main parameters that limits such optimization is the nonhomogeneous distribution of the field around the nanostructure and the localization of the highest field enhancement.<sup>32–34</sup> Several simulations methods, such as finite element method (FEM),<sup>35–37</sup> discrete dipole approximation (DDA)<sup>38–42</sup> or finite-difference time-domain (FDTD),<sup>43–47</sup> can be used to predict those properties and thus help to further optimize them. Those methods are very accurate when it comes to simulate any properties of the plasmonic structure as extinction, scattering, or average electromagnetic field enhancement at the surface of the structures.<sup>48–51</sup> They can also provide some maps of the near-field distribution. However, this generated near-field distribution is less under-

stood and hardly measurable because few experimental methods exist to measure it actually. We use SERS to determine the effective near-field enhancement and its localization. With electron beam lithography, we produced specific samples of gold nanodisks capped or not with silica layers. These latter ones allow us to block the accessibility of the molecules to the nanostructure surface and as a consequence to the enhanced near-field. We are thus able to compare the SERS signal produced by the nanodisks with or without silica layers and to provide information on the near-field enhancement localization, averaged on the different part of the nanostructures.

## EXPERIMENTAL SECTION

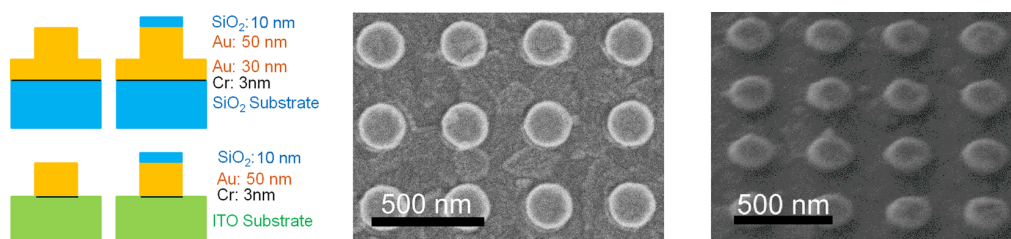
**Gold Nanostructures.** Arrays of gold nanodisks with diameters ( $D$ ) from 50 to 250 nm were fabricated using electron beam lithography on two different substrates: ITO-coated glass slide, commonly used for e-beam lithography, or a gold film (Figure 1). The ITO substrate is a commercial 0.7 mm thick glass slide already covered with a 160 nm thick indium thin oxide layer, whereas the gold film substrate is a commercial 0.7 mm thick glass slide covered by a flat gold layer with a thickness of  $30 \pm 3$  nm. For both substrates, a 140 nm thick poly(methyl methacrylate) (PMMA) layer was deposited by spin coating. The PMMA exposition was performed using the electron beam of a scanning electron microscope, and its development was done for 40 s in a standard 1:3 methyl

Received: September 26, 2016

Revised: November 12, 2016

Published: November 14, 2016





**Figure 1.** (a) Schemes of used samples, and SEM images of the sample deposited on ITO substrate with silica cap (b) at normal incidence and (c) with a 45° tilt.

isobutyl ketone/isopropanol (MIBK/IPA) solution. The exposition was performed with the same patterning parameters for all samples to ensure identical structures.  $50 \pm 3$  nm of gold was deposited by thermal evaporation. To have a good adhesion of the gold on the ITO or on the glass,  $3 \pm 1$  nm of chromium was deposited before gold. Finally, a lift-off was done on the sample to remove the remaining PMMA layer and to produce the nanodisks. To study the effect of the molecular localization, a silica blocking layer ( $10 \pm 3$  nm) was sputtered on top of the nanodisks before the lift-off. For such samples with silica layer, the probe molecules are expected to be localized only on the edges of the nanodisks, as the thiol group ( $-SH$ ) cannot graft to silica ( $SiO_2$ ). Because we have no probe molecules on the top of the nanodisks with the silica cap, no SERS signal could be collected from this region.

The height of the nanodisks is 50 nm, and a constant gap of 200 nm is maintained between the nanodisks, avoiding any significant near-field coupling. Furthermore, even if the ITO is a conductive material, we assume that the eventual far-field coupling between the nanodisks through the ITO substrate is limited and has almost no impact on the nanodisk properties as the positions of our plasmon resonances are similar to the ones measured on nanodisks deposited on glass.<sup>51</sup> The period of the arrays was  $P = D + 200$  nm. A scanning electron microscope was used to ensure the quality of our substrate (Figure 1). The grating constant can be accurately verified as  $\pm 1$  nm. The standard deviation on the diameter of the nanodisks is around  $\pm 3$  nm for all structures.

**Extinction Spectroscopy.** Extinction was performed with an XploRA confocal Raman microspectrometer (Horiba Scientific) after removing the edge filters. A nonpolarized white lamp was used to enlighten the substrate in transmission configuration. The transmitted light was collected with a 10× magnification objective (numerical aperture of 0.25). A reference spectrum was also recorded outside the nanostructures to normalize the transmitted spectrum by the transfer function of the spectrometer.

**Raman Spectroscopy.** SERS measurements were performed with the same XploRA confocal Raman microspectrometer (Horiba Scientific) in backscattering configuration. The Raman signal was recorded with a 100× magnification objective (numerical aperture of 0.90) in the case of ITO substrate to ensure a good collection of signal to maximize SERS intensity. However, for gold substrate, as it was demonstrated that the SERS emission is anisotropic,<sup>50</sup> we used a 10× objective (numerical aperture of 0.25) so that SERS signal can be measured at normal incidence as well as with a 50° tilt. An excitation wavelength of 660 nm was used. The spectral resolution was fixed at  $3 \text{ cm}^{-1}$ .

To measure the SERS signal, thiophenol was chosen as the probe molecule because of its high Raman cross-section and the

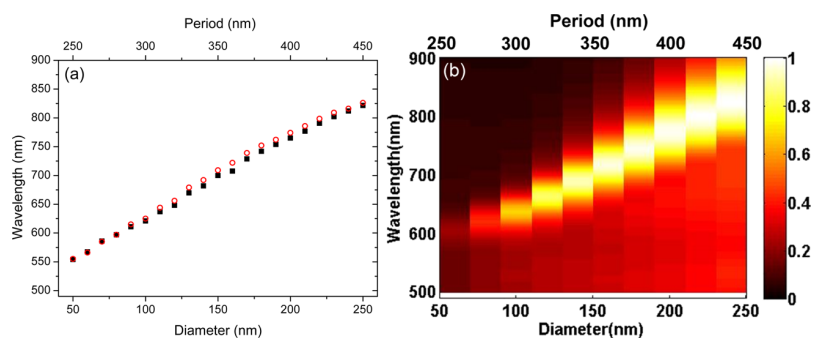
strong affinity of the thiol group toward the gold surface. Thiophenol is also known to form a self-assembled monolayer on metal surfaces and to not graft to silica surfaces. After UV-ozone treatment, all nanodisk samples were functionalized with thiophenol for 1 h in a 1 mM concentrated solution in ethanol. Several intense Raman peaks of thiophenol are observable at 415, 998, 1023, 1075, and  $1575 \text{ cm}^{-1}$ . For all nanostructures, five Raman spectra were measured at different locations randomly distributed. The SERS intensity was determined using the area of the  $1075 \text{ cm}^{-1}$  band, as it is the most intense one. An average intensity was calculated by using the five Raman spectra, and the standard deviation was used as error bar.

**Electromagnetic Numerical Simulation.** The extinction spectra were calculated numerically to compare with the extinction spectra obtained experimentally. The numerical model used is a combination of two well-known methods, namely, the Fourier modal method (FMM) and the finite element method (FEM).<sup>52,53</sup> For the calculations, a plane wave was considered to be TM-polarized and incident from the side of the substrate. This is similar to the experimental conditions used to measure the extinction spectra. The reflectivity ( $R$ ) and transmission ( $T$ ) from one unit period of the structure were then calculated, and the absorption ( $A$ ) of the structure was taken to be  $A = 1 - R - T$ . Such extinction spectra were calculated for different nanodisk diameters (with the range of 50–250 nm with steps of 20 nm).

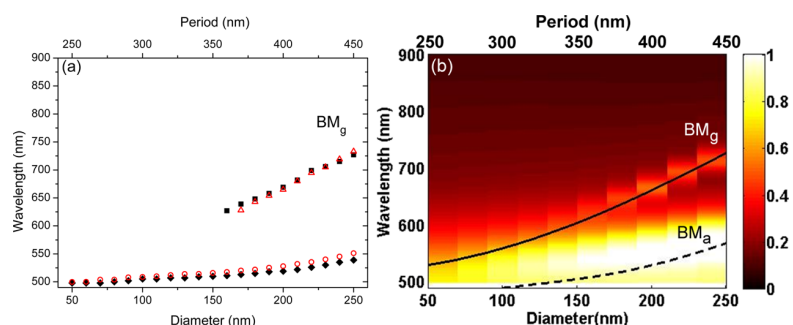
Similarly, to compare the experimentally obtained SERS intensity, local electromagnetic intensity was calculated for the nanodisks arrays using FEM for one unit period of the structure. For the calculation, a TM polarized plane wave was considered to be incident from air on the structure arrays with incident electric field  $E_0 = 1 \text{ V/m}$ . The local electric field intensity ( $I = E^2/E_0^2$ ) distribution for each finite element of meshed domain was thus calculated. The SERS intensity is proportional to the product of the local field intensity at the excitation wavelength and the emission wavelength, integrated over the surface, where the molecules are expected to be localized. Thus, from the calculated intensity distribution the SERS intensity was evaluated as

$$G_{\text{SERS}} = \int_{S_{\text{surf}}} E_{\text{ex}}^2(\lambda_{\text{ex}}) \times E_{\text{R}}^2(\lambda_{\text{R}}) \text{ dS} \quad (1)$$

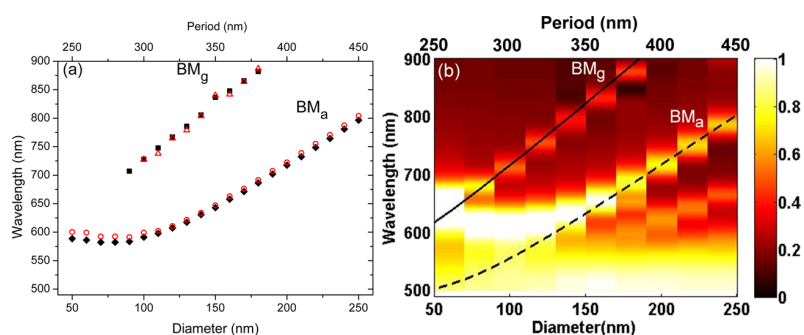
where  $\lambda_{\text{ex}} = 660 \text{ nm}$  is the excitation wavelength and  $\lambda_{\text{R}} = 710 \text{ nm}$  is the emission wavelength for the thiophenol band at  $1075 \text{ cm}^{-1}$ . The  $S_{\text{surf}}$  denotes the surface over which the integral was performed. It was taken as the total surface of the nanodisks for the samples without the silica layer on top and only the sides of the nanodisks for the case where the silica layer was considered on top of the disks.



**Figure 2.** (a) Experimental and (b) theoretical  $LSP_T$  resonance position as a function of nanodisk diameter when arrays are deposited on ITO substrate. The hollow red dots represent the same mode position with the silica overlayer.



**Figure 3.** (a) Experimental and (b) theoretical extinction peak position as a function of nanodisk diameter when arrays are deposited on a gold film with a normal incident excitation. The hollow red scatters represent the same modes with the silica overlayer.



**Figure 4.** (a) Experimental and (b) theoretical extinction peaks position as a function of nanodisks diameter when arrays are deposited on a gold film with a  $50^\circ$  tilted excitation. The hollow red scatters represent the same modes with the silica overlayer.

## RESULTS AND DISCUSSION

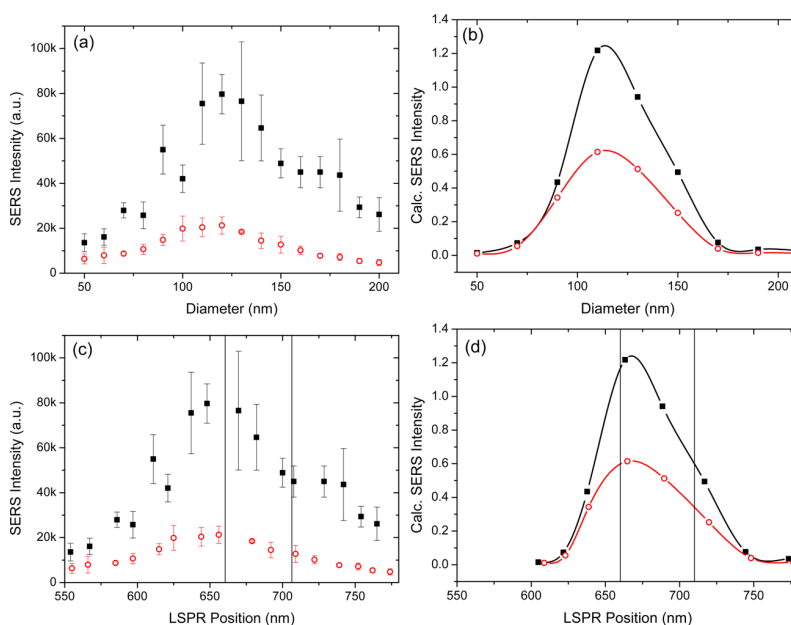
**Extinction Analysis.** For the nanodisks on ITO substrate, because there is no coupling, we observe the localized surface plasmon ( $LSP$ ) of the individual nanodisks. Because the nanodisks are excited with TM polarized light at normal incidence (incidence direction parallel to the axis of the disks), the electric field lies in the plane perpendicular to the axis of the disks, and as a consequence, the excited  $LSP$  is the transverse one in the plane of the disk (perpendicular to the disk axis). We call it the  $LSP_T$ .

The positions of the  $LSP_T$  resonance as a function of the nanodisk diameter obtained from the experimental and numerical extinction spectra are shown in Figure 2a,b, respectively. We observe that the positions of the calculated extinction spectra match closely to the experimental ones. The  $LSP_T$  position is red-shifted with increasing diameters, as expected, because the  $LSP_T$  is oriented along the direction

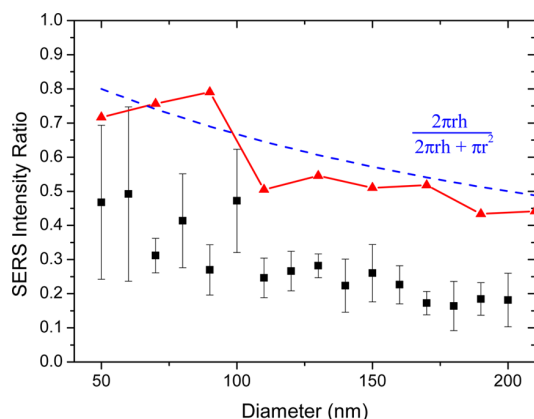
transverse to the axis of the disks and thus the change of disk diameter has an important effect on the  $LSP$  resonance positions.

For the samples with the silica layer deposited on the top of the nanodisks, we observe a slight red shift of the  $LSP_T$  resonance less than 10 nm (red dots in Figure 2a). A similar trend of the  $LSP_T$  resonance shift with a silica layer is also observed for the numerically calculated extinction spectra (data not shown).

For the nanodisks on gold substrate, hybrid modes called the Bragg modes (BMs) are excited. As described in our previous publication,<sup>50</sup> the uniform gold film can support propagating surface plasmons (PSPs), and Bragg modes are excited when the in-plane propagation vector of the PSP ( $k_{spp}$ ) matches the Bragg wave-vector given by  $k_B = 2\pi/P$ , owing to the periodicity ( $P$ ) of the array. The resonance condition for the BMs depends purely on the array periodicity and undergoes a red shift with



**Figure 5.** (a) Experimental and (b) simulated SERS intensity of the thiophenol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of nanodisks diameter for ITO substrate ( $\lambda_{\text{ex}} = 660\text{ nm}$ ) without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer. In panel b, the black and red lines are just a guide for the eyes. (c) Experimental and (d) simulated SERS intensity of the thiophenol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of LSPR resonance position for ITO substrate ( $\lambda_{\text{ex}} = 660\text{ nm}$ ) without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer. In panel d, the black and red lines are just a guide for the eyes. The vertical lines in panels c and d represent the spectral positions of the excitation wavelength (660 nm) and the emitted Raman band (710 nm).



**Figure 6.** SERS intensity ratio between the sample with and without silica overlayer in regard to nanodisk diameter for the experimental (black squares) and the simulated values (red triangles). The blue dashed line represents the ratio between the surface area of the sides of the disks ( $2\pi rh$ ) and the surface area of the disks ( $2\pi rh + \pi r^2$ ).

increasing periods. The resonance wavelength ( $\lambda_{\text{BM}}$ ) can be analytically written as  $2\pi n_{\text{inc}} \sin \theta / \lambda_{\text{BM}} = k_{\text{spp}} \pm k_{\text{B}}$ , where  $n_{\text{inc}}$  is the refractive index of the incident medium and  $\theta$  is the angle of incidence with respect to the axis of the disks.

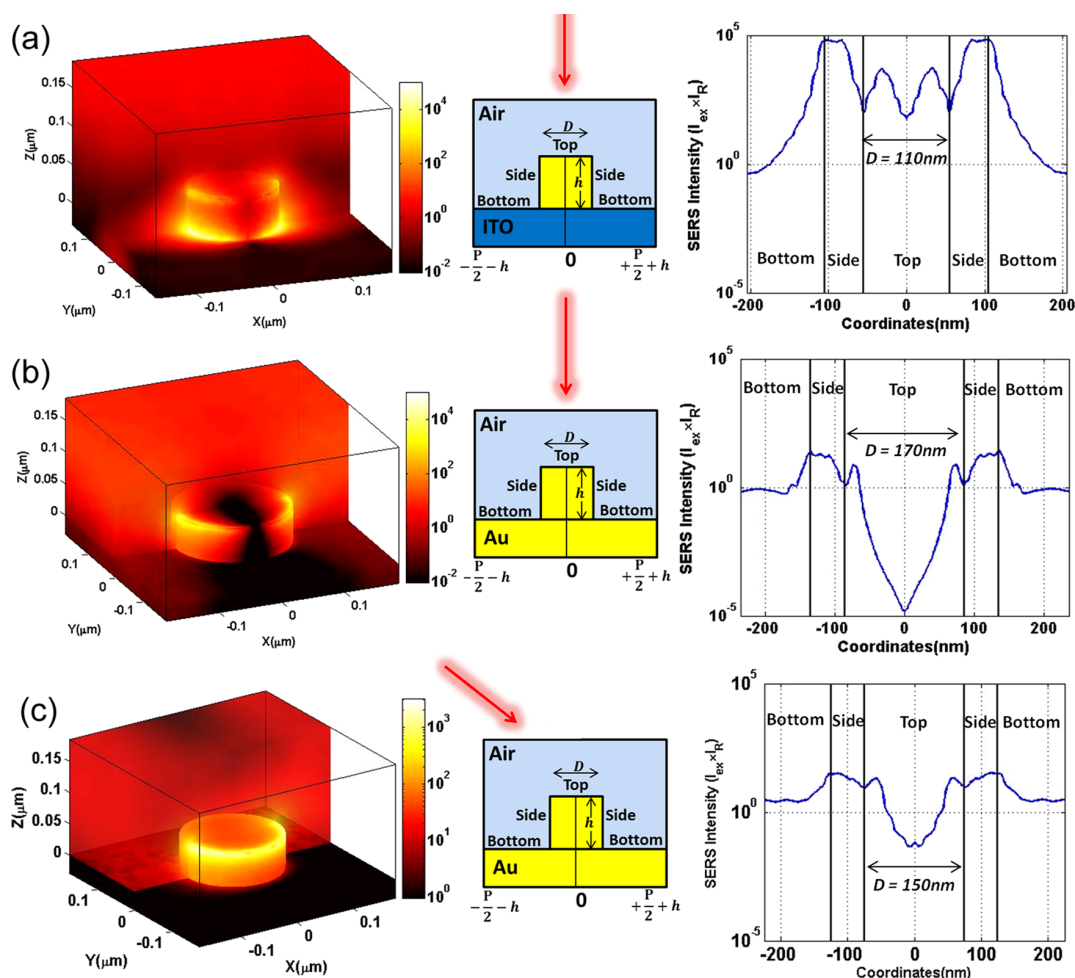
For a periodic array on a thin-metal film, two types of BMs are excited: the  $\text{BM}_g$  caused by the PSP on the metal–substrate interface and the  $\text{BM}_a$  caused by the PSP on the metal–air interface.

The peaks of the extinction spectra obtained experimentally for the nanodisks arrays on gold substrate are shown in Figure 3a.  $\text{BM}_g$  and  $\text{BM}_a$  are observed for the structures, and the resonance condition are seen to undergo a red shift with increasing diameters. The numerically and analytically calcu-

lated extinction spectra also show the presence of the two peaks (colored map and black lines in Figure 3b, respectively). It can be noticed that the positions of the extinction peaks correspond closely with the condition of the BMs excitation. It should be noted that the red shift of the BMs with respect to the diameter is due to the fact that the array period is also increased with increasing diameters ( $P = D + 200\text{ nm}$ ).

A specific behavior is observed when the incident light is no more perpendicular to the sample surface but comes with an oblique angle. For this experiment, the sample is tilted such as the incidence direction is at an angle ( $\theta$ ) of  $50^\circ$  with the axis of the disks. In this case, the two BMs are still excited as expected and the resonance wavelengths are shown in Figure 4a. These two modes are observable on the numerically calculated extinction spectra (Figure 4b) and match closely to the analytical condition for resonance positions above 600 nm (plain and dotted lines in Figure 4b). Below 600 nm, a divergence between the numerical and the analytical models can be observed because the extinction peaks bend away toward higher wavelengths with decreasing diameters.

At oblique incidence, the incident electric field (TM polarization) has two components: one perpendicular to the nanodisk axis that excites the BM modes and one along the nanodisk axis. This latter one excites an LSP oriented perpendicularly to the film and in the disk axis direction (we will call it  $\text{LSP}_L$  for longitudinal LSP). The change of diameter of the disks is expected to only induce a slight blue shift with increasing diameters and constant height owing to the change of aspect ratio of the disks. For nanodisks of height 50 nm, the  $\text{LSP}_L$  is expected to undergo resonance at a wavelength around 570 nm.<sup>53</sup> Thus when the BM resonance condition is close to the  $\text{LSP}_L$  resonance condition an harmonic coupling occurs between these two plasmonic modes. Such coupling results in the appearance of plasmonic band gaps and an anticrossing



**Figure 7.** Electromagnetic enhancement maps and SERS intensity as a function of curvilinear coordinate on the structures profile for (a) 110 nm nanodisks on ITO with normal incidence excitation, (b) 170 nm nanodisks on gold film with normal incidence excitation, and (c) 150 nm nanodisks on gold film with a 50° tilted excitation.

phenomena, as observed numerically and experimentally between 500 and 600 nm on the Figure 4.

As for the nanodisks directly on ITO, the BM position  $s$  are slightly red-shifted with a silica layer (<10 nm) under both conditions (normal and tilted incidences). Thus, whatever the substrate used (ITO or gold), the deposition of a silica layer and as a consequence the modification of the optical index at the top of the nanodisks have nearly no influence on the position of the plasmon resonance and thus on the resonance itself. In the case of the tilted incidence, a larger effect on the resonance position can be expected because we excite the  $LSP_L$  that could induce a large field enhancement at the top of the disk. This is only slightly observed for diameter <100 nm. This means that the field created by the  $LSP_L$  is very low compared with the one created by the BM mode. As a consequence, the main contribution to the plasmon mode in the tilted configuration comes mainly from the BM mode and not from the  $LSP_L$ .

**SERS Analysis. Arrays on ITO Substrate.** The experimentally measured SERS intensity for the nanodisks arrays on ITO substrate as a function of the diameter and the  $LSP_T$  resonance position is shown in Figure 5a,c. It can be noticed that the SERS intensity reaches a maximum for a diameter of 120 nm and an  $LSP_T$  resonance position close to 650 nm. Such

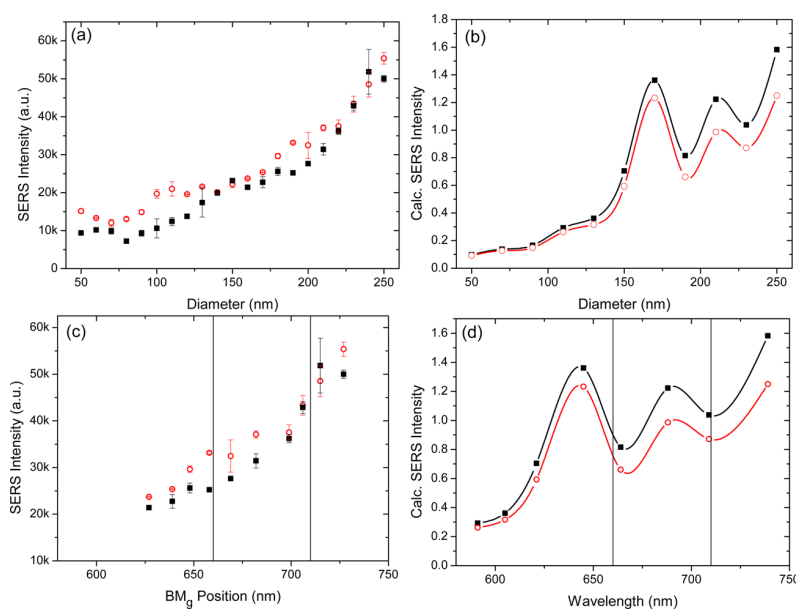
observation is in agreement with the numerical calculation of the SERS intensity shown in Figure 5b,d. The  $LSP_T$  resonance wavelength is close to the SERS excitation wavelength (660 nm), as already previously observed.

When the top of the nanodisks is covered with the silica layer, we observe a large decrease in the SERS intensity, confirmed by the numerical calculations (Figure 5, red dots). This demonstrates that a significant proportion of the SERS intensity comes from the molecules localized on the top of the nanodisks, and this is a clear evidence that a large part of the enhanced near-field is localized at this nanodisk surface.

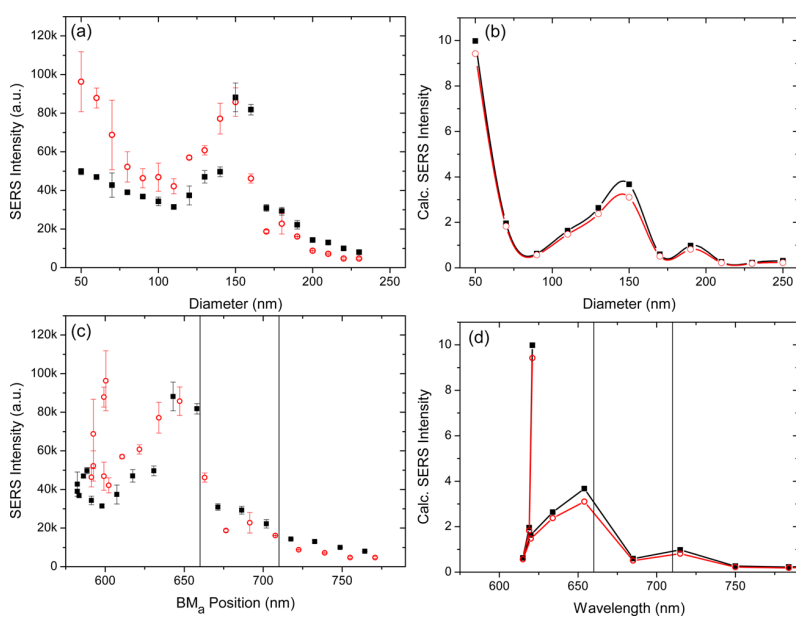
To quantify the field enhancement on the top compared with the one of the whole nanodisk, we calculated the ratio between the SERS intensity measured with and without the silica overlayer,  $I_{\text{SERS with silica}}$  and  $I_{\text{SERS without silica}}$ , respectively, as a function of the disk diameter (Figure 6) to be

$$\frac{I_{\text{SERS with silica}}}{I_{\text{SERS without silica}}} = \frac{I_{\text{side}}}{(I_{\text{top}} + I_{\text{side}})} \quad (2)$$

where  $I_{\text{top}}$  is the SERS signal from the top of the nanodisk and  $I_{\text{side}}$  is the SERS signal from the side of the nanodisk. This ratio directly gives us the proportion of the near-field intensity coming from the side of the nanodisks (Figure 6).



**Figure 8.** (a) Experimental and (b) simulated SERS intensity of benzenethiol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of disks diameter for gold substrate without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer at normal incidence. (c) Experimental and (d) simulated SERS intensity of the thiophenol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of  $BM_g$  position for ITO substrate ( $\lambda_{\text{ex}} = 660\text{ nm}$ ) without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer. In panel d, the black and red lines are just guides for the eyes. The vertical lines in panels c and d represent the spectral positions of the excitation wavelength (660 nm) and the emitted Raman band (710 nm).



**Figure 9.** (a) Experimental and (b) simulated SERS intensity of benzenethiol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of disk diameter for gold substrate without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer with a tilt of  $50^\circ$ . (c) Experimental and (d) simulated SERS intensity of the thiophenol  $1075\text{ cm}^{-1}$  Raman band as a function of  $BM_d$  position for ITO substrate ( $\lambda_{\text{ex}} = 660\text{ nm}$ ) without (solid black squares) and with (hollow red circles) silica overlayer. In panel d, the black and red lines are just guides for the eyes. The vertical lines on panels c and d represent the spectral positions of the excitation wavelength (660 nm) and the emitted Raman band (710 nm).

For both the experimental and numerical results, we see that the SERS intensity ratio decreases with increasing diameters. This means that the contribution of the nanodisk side to the SERS intensity decreases with the diameter and that the top of the nanodisks gives more and more SERS signal with the diameter. To be sure that it is not a simple geometrical effect, we have also calculated the ratio between the surface area of the

sides of the disks ( $2\pi rh$ ) and the surface area of the disks ( $2\pi rh + \pi r^2$ ) (Figure 6). We see that this geometrical ratio is always largely higher than the experimental values. We can conclude from these results that for the  $LSP_T$  mode the SERS intensity comes mainly from the molecules localized at the top of the nanodisks.

The top surface contribution goes from  $\sim 50\%$  up to nearly  $85\%$  of the SERS signal for diameter  $>180$  nm. Indeed, for such nanoparticles, the near-field enhancement is mainly localized at the corners of the nanostructures (between the top and the side) and at the interface between the nanostructure and the substrate. In the latter case, this enhancement is hardly exploitable because the field is inside the substrate and very few molecules can be excited at this interface. Thus the SERS signal is essentially due to the corners, as can be seen in Figure 7. In our case, the silica layer covers these corners and should make these ones inaccessible to the molecules, drastically reducing the SERS signal. It can also be noticed that the experimental SERS intensity ratio is systematically lower than the calculated one. This can be due to the fact that the silica layer is perfectly modeled and does not entirely cover the nanodisk corners. In this case, the corners can still contribute to the SERS signal and thus provide higher SERS signal compared with the experiments.

**Arrays on Gold Film.** SERS measurements were performed in the same manner on nanodisks arrays deposited on gold substrate at normal incidence (Figure 8) and with a  $50^\circ$  tilt in transverse magnetic (TM) configuration (Figure 9).

For both experimental and numerical SERS intensity the correlation between the position of the BM and the excitation or Raman wavelengths is not so clear, and no specific rule can be actually defined to optimize the SERS signal. However, we can observe a continuous increase in the SERS signal with the diameter in the case of the normal incidence (Figure 9). This behavior can be observed in the simulations, and an additional sharp SERS intensity increase is observed for diameter 170 nm. This peak is not present in the experiment, and this can be due to the fact that a non-null numerical aperture is used for collection of the SERS signal. Thus several angles for scattered light and for excitation light are collected and integrated in the same signal, which means we are averaging the signal of several angles collected simultaneously. As demonstrated previously,<sup>50</sup> the SERS of such substrate is strongly dependent on the excitation and collection angle. Hence we assume that the deviation between the experimental and simulated SERS intensities is due to the difference between the experimental and simulated conditions for the excitation and collection of the SERS intensities. For the tilted incidence (Figure 9), we observe a maximum for a diameter of 150 nm and a signal increase for low diameters due to the excitation of the BM and of the  $LSP_L$  mode, respectively. This time the simulated values predict very accurately the measured intensity.

We notice that there is almost negligible difference between the SERS signal recorded experimentally with and without the silica layer in normal incidence as well as for the tilted measurements. The same observation can be made for the numerically calculated values. This is quite clear on the EM field maps (Figure 7b,c). The top of the nanodisk has an enhancement factor smaller than 1 on most of its area for both normal and tilted excitation.

We can conclude from these results that for the BMs the significant contribution to the SERS intensity enhancement comes from the molecules localized on the sides of the nanodisk and that the molecules localized on the top of the nanodisks have negligible contribution. This is because the BM result from the PSP is owing to the periodicity of the structure and so a major portion of the electric-field intensity for these modes lies in the gaps between adjacent nanodisks.

## CONCLUSIONS

Using different lithographed structures, with and without silica capping, it has been demonstrated that SERS signals from molecules deposited on substrates consisting of gold nanodisks arrays are very different depending on their specific localization on the structure. More specifically, the main contributions can be, respectively, attributed to either the top of the disks, in the case of sole metal disks arrays, or from the disk's sides, in the case of the use of underlying gold film. This is indicative of the regions of high electromagnetic field enhancement and of the field distribution around the nanostructures; it is in good agreement in the case of a gold substrate and partial agreement in the case of ITO substrate with the field calculations performed using the hybrid FEM/FMM model. It demonstrates that the field distribution is highly dependent on the direct environment of the nanostructures and on the substrates used (dielectric or gold film) and as a consequence on the nature of the excited plasmon: localized plasmonic mode in the former case and Bragg mode in the latter case where the propagating and localized modes are resonantly coupled to the array periodicity. This observation is also of first importance for sensing issues. Indeed, to be highly efficient and to reach the lowest detection limit, it is necessary to capture preferentially the molecules to be detected inside the highest field enhancement localization using molecular layer functionalization. It means that different strategies have to be developed depending on the nanostructures used and thus on the SERS sensor architecture.

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*E-mail: marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr.

### ORCID

Raymond Gillibert: 0000-0003-4318-6346

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ACKNOWLEDGMENTS

We acknowledge ANR P2N (ANR-12-NANO-0016) and the support of the French Government and ANRT *Association Nationale de la Recherche et de la Technologie* for funding of the project in which this work takes place and *initiatives d'excellence, IDEX Paris-Saclay*. We thank the *Centrale de Proximité en Nanotechnologies de Paris Nord (CPN2, 99 Avenue Jean-Baptiste Clément 93430 Villetaneuse, France)* for supplying the clean room for sample fabrication. In addition, we thank Dr. Inga Tijnelyte for SEM measurements.

## REFERENCES

- (1) Kneipp, K.; Wang, Y.; Kneipp, H.; Perelman, L. T.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. Single Molecule Detection Using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). *Phys. Rev. Lett.* **1997**, *78*, 1667–1670.
- (2) Nie, S.; Emory, S. R. Probing Single Molecules and Single Nanoparticles by Surface-Enhanced Raman Scattering. *Science* **1997**, *275*, 1102–1106.
- (3) Xu, H.; Bjerneld, E. J.; Käll, M.; Börjesson, L. Spectroscopy of Single Hemoglobin Molecules by Surface Enhanced Raman Scattering. *Phys. Rev. Lett.* **1999**, *83*, 4357–4360.
- (4) Doering, W. E.; Nie, S. Single-Molecule and Single-Nanoparticle SERS: Examining the Roles of Surface Active Sites and Chemical Enhancement. *J. Phys. Chem. B* **2002**, *106*, 311–317.

- (5) Qian, X.-M.; Nie, S. M. Single-molecule and single-nanoparticle SERS: from fundamental mechanisms to biomedical applications. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 912.
- (6) Luo, S.-C.; Sivashanmugan, K.; Liao, J.-D.; Yao, C.-K.; Peng, H.-C. Nanofabricated SERS-active substrates for single-molecule to virus detection in vitro: A review. *Biosens. Bioelectron.* **2014**, *61*, 232–240.
- (7) Herriott, D. R.; Brewer, G. R. Electron-beam lithography machines. *Electron-Beam Technology in Microelectronic Fabrication* **1980**, 141–216.
- (8) Le, F.; Brandl, D. W.; Urzhumov, Y. A.; Wang, H.; Kundu, J.; Halas, N. J.; Aizpurua, J.; Nordlander, P. Metallic nanoparticle arrays: a common substrate for both surface-enhanced Raman scattering and surface-enhanced infrared absorption. *ACS Nano* **2008**, *2*, 707–718.
- (9) Cottat, M.; Lidgi-Guigui, N.; Tijunelyte, I.; Barbillon, G.; Hamouda, F.; Gogol, P.; Aassime, A.; Lourtioz, J.-M.; Bartenlian, B.; de la Chapelle, M. L. Soft UV nanoimprint lithography-designed highly sensitive substrates for SERS detection. *Nanoscale Res. Lett.* **2014**, *9*, 623.
- (10) Grand, J.; Kostcheev, S.; Bijeon, J.-L.; de la Chapelle, M. L.; Adam, P.-M.; Romyantseva, A.; Léronnel, G.; Royer, P. Optimization of SERS-active substrates for near-field Raman spectroscopy. *Synth. Met.* **2003**, *139*, 621–624.
- (11) Wang, H.; Levin, C. S.; Halas, N. J. Nanosphere arrays with controlled sub-10-nm gaps as surface-enhanced Raman spectroscopy substrates. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 14992–14993.
- (12) Lamy de la Chapelle, M.; Guillot, N.; Frémaux, B.; Shen, H.; Toury, T. Novel apolar plasmonic nanostructures with extended optical tunability for sensing applications. *Plasmonics* **2013**, *8*, 475–480.
- (13) Wokaun, A. In *Solid State Physics*; Ehrenreich, H., Spaepen, F., Ed.; Academic Press, 1984; Vol. 38, pp 223–294.
- (14) Eric Le Ru, P. E. *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*; Elsevier Science, 2008.
- (15) Féliđj, N.; Aubard, J.; Lévi, G.; Krenn, J.; Salerno, M.; Schider, G.; Lamprecht, B.; Leitner, A.; Aussenegg, F. Controlling the optical response of regular arrays of gold particles for surface-enhanced Raman scattering. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2002**, *65*, 075419.
- (16) Féliđj, N.; Aubard, J.; Levi, G.; Krenn, J.; Hohenau, A.; Schider, G.; Leitner, A.; Aussenegg, F. Optimized surface-enhanced Raman scattering on gold nanoparticle arrays. *Appl. Phys. Lett.* **2003**, *82*, 3095–3097.
- (17) Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P. Plasmon-sampled surface-enhanced Raman excitation spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 7426–7433.
- (18) Jensen, T. R.; Malinsky, M. D.; Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P. Nanosphere lithography: tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles. *J. Phys. Chem. B* **2000**, *104*, 10549–10556.
- (19) Le Ru, E.; Grand, J.; Féliđj, N.; Aubard, J.; Levi, G.; Hohenau, A.; Krenn, J.; Blackie, E.; Etchegoin, P. Experimental verification of the SERS electromagnetic model beyond the  $E \sim 4$  approximation: polarization effects. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 8117–8121.
- (20) McFarland, A. D.; Young, M. A.; Dieringer, J. A.; Van Duyne, R. P. Wavelength-scanned surface-enhanced Raman excitation spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **2005**, *109*, 11279–11285.
- (21) Guillot, N.; de la Chapelle, M. L. The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: Enhancement optimization using precisely controlled nanostructures. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transfer* **2012**, *113*, 2321–2333.
- (22) Shen, H.; Guillot, N.; Rouxel, J.; Lamy de la Chapelle, M.; Toury, T. Optimized plasmonic nanostructures for improved sensing activities. *Opt. Express* **2012**, *20*, 21278–21290.
- (23) Guillot, N.; Shen, H.; Frémaux, B.; Péron, O.; Rinnert, E.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M. Surface enhanced Raman scattering optimization of gold nanocylinder arrays: Influence of the localized surface plasmon resonance and excitation wavelength. *Appl. Phys. Lett.* **2010**, *97*, 023113.
- (24) Billot, L.; de la Chapelle, M. L.; Grimault, A.-S.; Vial, A.; Barchiesi, D.; Bijeon, J.-L.; Adam, P.-M.; Royer, P. Surface enhanced Raman scattering on gold nanowire arrays: evidence of strong multipolar surface plasmon resonance enhancement. *Chem. Phys. Lett.* **2006**, *422*, 303–307.
- (25) Grand, J.; de La Chapelle, M. L.; Bijeon, J.-L.; Adam, P.-M.; Vial, A.; Royer, P. Role of localized surface plasmons in surface-enhanced Raman scattering of shape-controlled metallic particles in regular arrays. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2005**, *72*, 033407.
- (26) David, C.; Guillot, N.; Shen, H.; Toury, T.; de la Chapelle, M. L. SERS detection of biomolecules using lithographed nanoparticles towards a reproducible SERS biosensor. *Nanotechnology* **2010**, *21*, 475501.
- (27) Guillot, N.; de la Chapelle, M. L. Lithographed nanostructures as nanosensors. *J. Nanophotonics* **2012**, *6*, 064506-1.
- (28) Cottat, M.; D'Andrea, C.; Yasukuni, R.; Malashikhina, N.; Grinyte, R.; Lidgi-Guigui, N.; Fazio, B.; Sutton, A.; Oudar, O.; Charnaux, N.; et al. High Sensitivity, High Selectivity SERS Detection of MnSOD Using Optical Nanoantennas Functionalized with Aptamers. *J. Phys. Chem. C* **2015**, *119*, 15532–15540.
- (29) Boujday, S.; Chapelle, M. L. d. l.; Srajer, J.; Knoll, W. Enhanced Vibrational Spectroscopies as Tools for Small Molecule Biosensing. *Sensors* **2015**, *15*, 21239–21264.
- (30) Cottat, M.; Lidgi-Guigui, N.; Hamouda, F.; Bartenlian, B.; Venkataraman, D.; Marks, R. S.; Steele, T. W. J.; de la Chapelle, M. L. Highly sensitive detection of paclitaxel by surface enhanced Raman scattering. *J. Opt.* **2015**, *17*, 114019.
- (31) Péron, O.; Rinnert, E.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M.; Compère, C. Quantitative SERS sensors for environmental analysis of naphthalene. *Analyst* **2011**, *136*, 1018–1022.
- (32) Chen, T.; Du, C.; Tan, L. H.; Shen, Z.; Chen, H. Site-selective localization of analytes on gold nanorod surface for investigating field enhancement distribution in surface-enhanced Raman scattering. *Nanoscale* **2011**, *3*, 1575–1581.
- (33) Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G. Sub-wavelength localization of hot-spots in SERS. *Chem. Phys. Lett.* **2004**, *396*, 393–397.
- (34) Vernon, K. C.; Davis, T. J.; Scholes, F. H.; Gómez, D. E.; Lau, D. Physical mechanisms behind the SERS enhancement of pyramidal pit substrates. *J. Raman Spectrosc.* **2010**, *41*, 1106–1111.
- (35) Coggon, J. Electromagnetic and electrical modeling by the finite element method. *Geophysics* **1971**, *36*, 132–155.
- (36) Chen, Y.; Nielsen, T. R.; Gregersen, N.; Lodahl, P.; Mørk, J. Finite-element modeling of spontaneous emission of a quantum emitter at nanoscale proximity to plasmonic waveguides. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2010**, *81*, 125431.
- (37) Kuna, M. *Finite Elements in Fracture Mechanics; Solid Mechanics and Its Applications 201*; Springer: The Netherlands, 2013; pp 153–192, DOI: [10.1007/978-94-007-6680-8\\_4](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6680-8_4).
- (38) Draine, B. T.; Flatau, P. J. Discrete-dipole approximation for periodic targets: theory and tests. *J. Opt. Soc. Am. A* **2008**, *25*, 2693–2703.
- (39) Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668–677.
- (40) Hao, E.; Schatz, G. C. Electromagnetic fields around silver nanoparticles and dimers. *J. Chem. Phys.* **2004**, *120*, 357–366.
- (41) Jensen, T. R.; Schatz, G. C.; Van Duyne, R. P. Nanosphere lithography: surface plasmon resonance spectrum of a periodic array of silver nanoparticles by ultraviolet-visible extinction spectroscopy and electrodynamic modeling. *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 2394–2401.
- (42) Kessentini, S.; Barchiesi, D.; D'Andrea, C.; Toma, A.; Guillot, N.; Di Fabrizio, E.; Fazio, B.; Maragó, O. M.; Gucciardi, P. G.; Lamy de la Chapelle, M. Gold dimer nanoantenna with slanted gap for tunable LSPR and improved SERS. *J. Phys. Chem. C* **2014**, *118*, 3209–3219.
- (43) Taflove, A. Special Issue on Numerical Methods for Electromagnetic Wave Interactions Review of the formulation and applications of the finite-difference time-domain method for numerical modeling of

electromagnetic wave interactions with arbitrary structures. *Wave Motion* **1988**, *10*, 547–582.

(44) Luebbers, R. J.; Kunz, K. S.; Schneider, M.; Hunsberger, F. A. finite-difference time-domain near zone to far zone transformation [electromagnetic scattering]. *IEEE Trans. Antennas Propag.* **1991**, *39*, 429–433.

(45) Grimault, A.-S.; Vial, A.; de La Chapelle, M. L. Modeling of regular gold nanostructures arrays for SERS applications using a 3D FDTD method. *Appl. Phys. B: Lasers Opt.* **2006**, *84*, 111–115.

(46) Grimault, A.-S.; Vial, A.; Grand, J.; Lamy de la Chapelle, M. Modelling of the near-field of metallic nanoparticle gratings: localized surface plasmon resonance and SERS applications. *J. Microsc.* **2008**, *229*, 428–432.

(47) Vial, A.; Grimault, A.-S.; Macías, D.; Barchiesi, D.; de La Chapelle, M. L. Improved analytical fit of gold dispersion: Application to the modeling of extinction spectra with a finite-difference time-domain method. *Phys. Rev. B: Condens. Matter Mater. Phys.* **2005**, *71*, 085416.

(48) Sarkar, M.; Besbes, M.; Moreau, J.; Bryche, J.-F.; Olivéro, A.; Barbillon, G.; Coutrot, A.-L.; Bartenlian, B.; Canva, M. Hybrid plasmonic mode by resonant coupling of localized plasmons to propagating plasmons in a Kretschmann configuration. *ACS Photonics* **2015**, *2*, 237–245.

(49) Barchiesi, D.; Grosjes, T.; Colas, F.; de la Chapelle, M. L. Combined SPR and SERS: Otto and Kretschman configurations. *J. Opt.* **2015**, *17*, 114009.

(50) Gillibert, R.; Sarkar, M.; Bryche, J.-F.; Yasukuni, R.; Moreau, J.; Besbes, M.; Barbillon, G.; Bartenlian, B.; Canva, M.; de la Chapelle, M. L. Directional surface enhanced Raman scattering on gold nano-gratings. *Nanotechnology* **2016**, *27*, 115202.

(51) Colas, F. J.; Cottat, M.; Gillibert, R.; Guillot, N.; Djaker, N.; Lidgi-Guigui, N.; Toury, T.; Barchiesi, D.; Toma, A.; Di Fabrizio, E.; et al. Red-Shift Effects in Surface Enhanced Raman Spectroscopy: Spectral or Intensity Dependence of the Near-Field? *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 13675–13683.

(52) Hugonin, J.-P.; Besbes, M.; Lalanne, P. Hybridization of electromagnetic numerical methods through the G-matrix algorithm. *Opt. Lett.* **2008**, *33*, 1590–1592.

(53) Sarkar, M.; Bryche, J.-F.; Moreau, J.; Besbes, M.; Barbillon, G.; Bartenlian, B.; Canva, M. Generalized analytical model based on harmonic coupling for hybrid plasmonic modes: comparison with numerical and experimental results. *Opt. Express* **2015**, *23*, 27376–27390.



## II.4. Optimisation du signal SERS dans le cas de nanostructures déposées sur un film d'or

Suite aux résultats présentés dans les articles précédents, la pertinence de tels substrats pour le SERS est démontrée. De plus, des études en SPRi sur des échantillons analogues ont été effectuées à l'institut d'optique par Mitradeep Sarkar et Aurore Olivéro, ouvrant alors la voie à l'utilisation d'un même échantillon pour une détection à la fois en SPRi et en SERS. Dans un deuxième temps, j'ai effectué une étude systématique des plasmons de surface et du SERS en fonction des paramètres des nanostructures, afin d'optimiser le signal SERS.

Des simulations ont été effectuées par Mitradeep Sarkar au sein du laboratoire Charles Fabry (LCF) à l'Institut d'Optique, partenaire de l'ANR Piranex à partir d'un programme développé en interne, couplant la méthode des éléments finis (FEM)<sup>28</sup> et la méthode *Rigorous coupled-wave analysis* (RCWA)<sup>29</sup>. La géométrie optimale des échantillons pour leur utilisation en SPRi a été calculée selon les paramètres suivants : épaisseur du film d'or de 30 nm et hauteur des nanostructures d'or de 30 nm. Nous nous sommes donc tenus à ces paramètres pour la suite des études en SERS.

Nous avons ensuite tenté de déterminer quelles nanostructures donnaient la plus grande exaltation en SERS. Nous nous sommes fixés deux périodes pour le réseau de nanodisques : 250 nm et 400 nm, et nous avons fait varier le diamètre des structures de 50 à 200 nm pour une période de 250 nm et de 50 à 300 nm pour la période 400 nm. Pour chacune de ces structures, le spectre d'extinction a été mesuré ainsi que les spectres SERS, afin de quantifier l'exaltation.

Après un nettoyage à l'UV-Ozone, l'échantillon a été plongé dans une solution millimolaire de benzenethiol dilué dans l'éthanol. L'échantillon a ensuite été rincé à l'éthanol et séché à l'azote.

Les mesures d'extinction ont toutes été faites avec le spectromètre XploRa, en transmission en excitant l'échantillon avec la lumière d'une lampe blanche située en dessous de l'échantillon. Les mesures SERS ont été effectuées avec le même spectromètre avec une longueur d'onde d'excitation de 660 nm. Des spectres SERS ont été enregistrés en 10 points différents de la zone nanostructurée. Pour évaluer l'intensité SERS, l'intégrale des trois bandes du benzenethiol situées entre 1000 et 1075  $\text{cm}^{-1}$  a été calculée, après soustraction de la ligne de base. L'intensité de l'émission SERS a été quantifiée en moyennant les valeurs des dix intégrales, et l'écart-type de l'intensité SERS a été utilisé comme barre d'erreur.

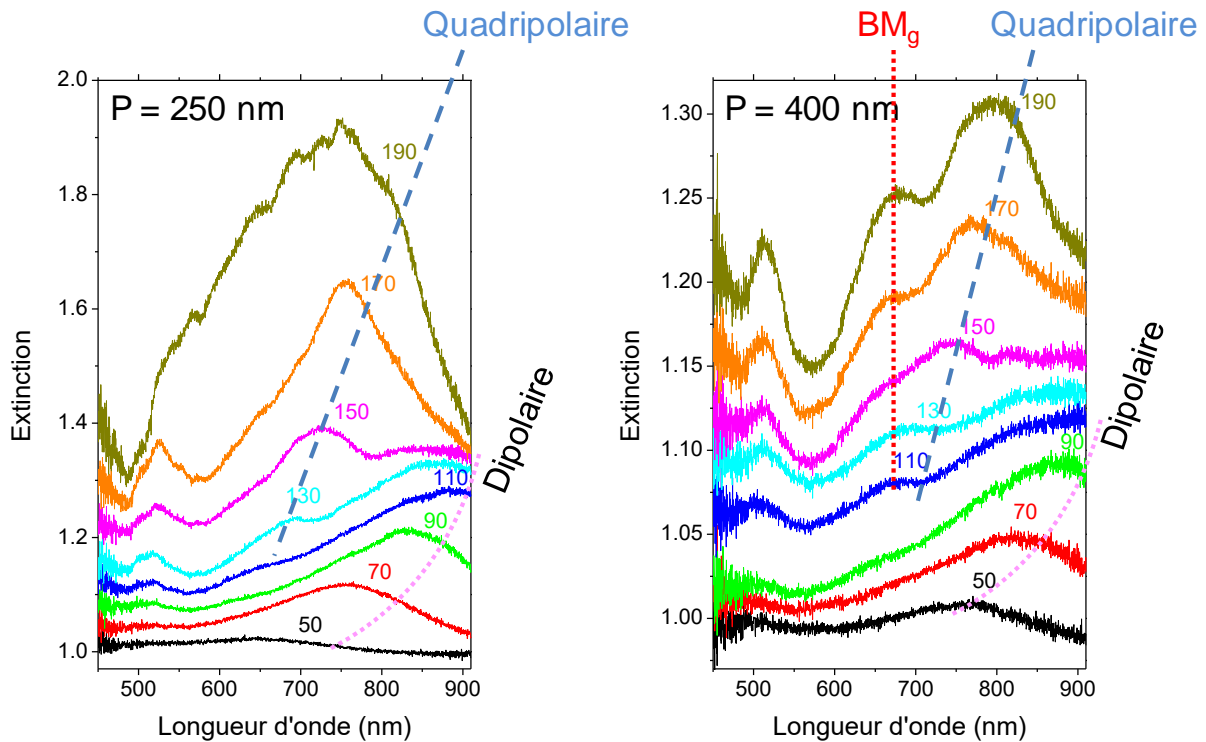


Figure 5 : Spectres d'extinction pour des réseaux de nanodisques de différents diamètres, et une période de (a) 250 nm et (b) 400 nm.

Sur les spectres d'extinction, on peut constater la présence de plusieurs modes plasmoniques qui dépendent du diamètre et se décalent vers le rouge lorsque le diamètre augmente. On peut attribuer ces modes aux modes plasmon localisés dipolaires et quadripolaires. Pour les deux périodes, on observe également un mode situé à environ 500 nm, qui ne se décale pas avec le diamètre, mais dont l'intensité augmente avec le diamètre des nanodisques. Nous n'avons pas encore attribué cette bande. Enfin, pour la période de 400 nm, pour les diamètres plus grands que 130 nm, on peut voir un mode apparaître à 655 nm, et qui reste à position fixe. Il correspond précisément au mode de Bragg  $BM_g$ , décrit précédemment (voir section II.3.1). Les positions de tous ces modes plasmoniques sont tracées Figure 6. Sur cette dernière, on peut constater que le mode plasmonique dipolaire se décale lorsque la période change alors que les positions du mode quadripolaire et du mode fixe ne changent pas de manière significative. Ce fort décalage du mode dipolaire est certainement dû à la présence du  $BM_g$  situé à 655 nm, qui lui est fortement couplé. Ainsi ils ne peuvent vibrer à la même fréquence et le mode dipolaire se retrouve décalé vers le rouge. Ce décalage s'atténue fortement lorsque le diamètre augmente et que la résonance plasmon dipolaire se trouve éloignée du mode de Bragg.

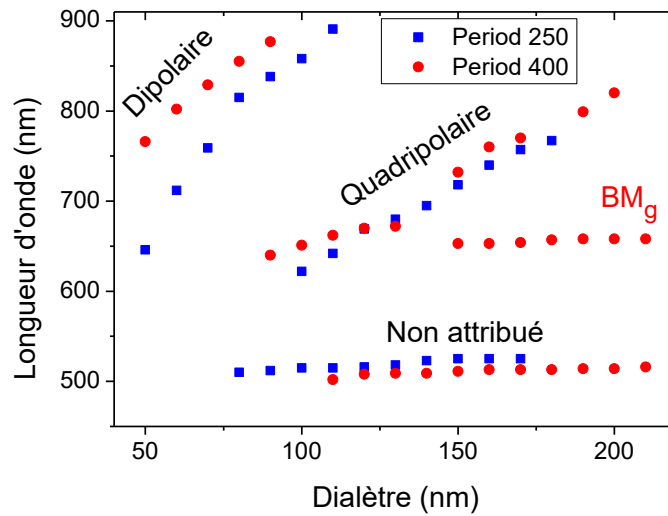


Figure 6 : Positions des différents modes plasmoniques en fonction du diamètre pour les deux périodes 250 nm (carré bleu) et 400 nm (disques rouges).

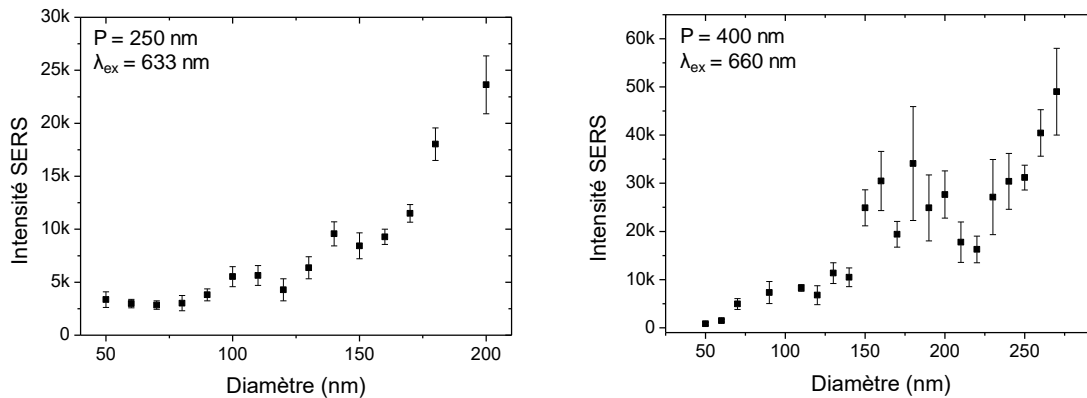


Figure 7 : Intensité SERS en fonction du diamètre des nanodisques pour deux différentes périodes du réseau (a) 250 nm ( $\lambda_{\text{ex}} = 633$  nm) et (b) 400 nm ( $\lambda_{\text{ex}} = 660$  nm).

Après avoir fonctionnalisé l'échantillon avec du benzenethiol, nous avons mesuré l'intensité SERS à 633 nm pour le réseau de période 250 nm, et à 660 nm pour la période 400 nm. Les résultats sont présentés sur la Figure 7. Pour les deux périodes, on observe que l'intensité augmente de manière monotone lorsque le diamètre des nanocylindres augmente avec la présence de deux maxima locaux d'intensité pour des diamètres autour de 100 et 180 nm. Pour la période de 400 nm, nous pouvons également constater qu'il y a une forte déviation du signal SERS d'un point à l'autre, ce qui se traduit par de grandes barres d'erreurs. Ceci peut être dû au fait que pour une grande période du réseau, nous n'avons qu'une dizaine de disques sous notre spot laser, ainsi toute rugosité aléatoire, même faible, peut avoir une forte influence sur le signal en SERS.

Afin de mieux comprendre l'origine exacte de l'exaltation, nous avons tracé sur la Figure 8 l'intensité SERS en fonction de la position du mode plasmonique quadripolaire, qui se déplace de manière quasi linéaire en fonction du diamètre des nanocylindres. Nous avons donc extrapolé la position du mode plasmonique pour les diamètres inférieurs à 90 nm et pour les diamètres supérieurs à 200 nm pour lesquels nous n'avons pas été capables de positionner le mode, en raison des bandes se superposant ou de la trop faible intensité de ce mode.

Pour la période de 250 nm, on constate que les maxima locaux sont proches des longueurs d'onde d'excitation ( $\lambda_{ex}$ ) 633 nm et de la longueur d'onde de réémission Raman ( $\lambda_R$ ) 700 nm. Cela signifie qu'une exaltation est portée par ce mode dit quadripolaire. Nous pouvons expliquer la tendance générale d'augmentation avec le diamètre du signal SERS par le fait que, la période du réseau étant constante, l'espace entre les disques se réduit lorsque le diamètre augmente, ce qui crée un phénomène de couplage plasmonique qui augmente considérablement le facteur d'exaltation. Ainsi, la même tendance est observée pour la période de 400 nm. De plus, les deux maxima se trouvent autour des 630 et 765 nm pour une excitation à 660 nm et une émission à 708 nm. La propriété du plasmon quadripolaire n'est donc pas retrouvée, cependant il faut prendre en compte que le mode de Bragg, ( $BM_g$ ) est situé à 665 nm, proche de la longueur d'onde d'excitation. Or le plasmon quadripolaire est couplé au mode de Bragg, ce qui signifie que ce mode est qualitativement différent dans cette région et on peut alors supposer que l'exaltation ne suive pas exactement le comportement attendu.

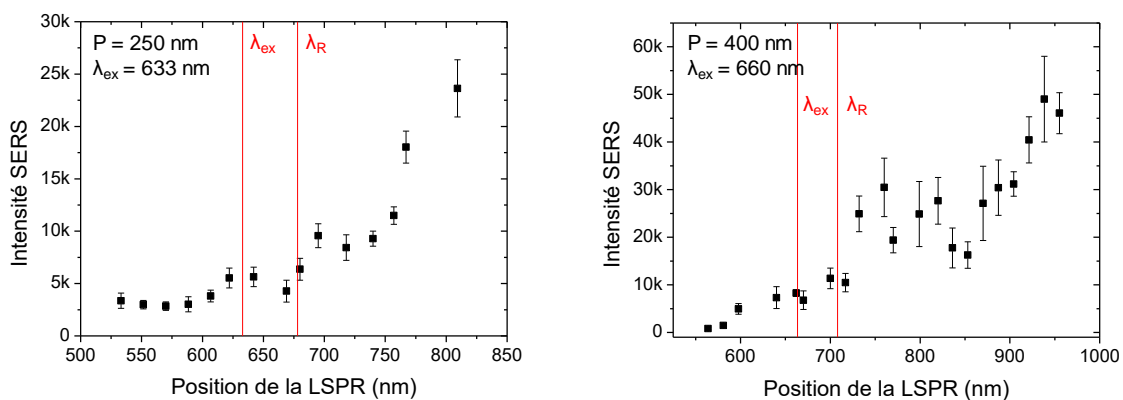


Figure 8 : Intensité SERS sur les réseaux de période 250 nm avec une longueur d'onde d'excitation de 633 nm et sur les réseaux de période 400 nm avec une excitation à 660 nm en fonction de la position spectrale du mode plasmonique quadripolaire. Les lignes rouges représentent les positions respectives de la longueur d'onde d'excitation et de la longueur d'onde d'émission Raman.

Nous pouvons donc conclure que pour l'obtention du plus grand facteur d'exaltation, nous pouvons jouer sur la taille des structures et sur la distance qui les sépare. Il semble que les plus gros diamètres offrent le meilleur facteur d'exaltation, probablement grâce au couplage plasmonique en champ proche entre les nanodisques.

Dans le cadre du projet Piranex, les dimensions sont en partie fixées par la méthode de fabrication des nanostructures. En effet, pour éviter un coût élevé de fabrication, les partenaires de l'institut d'électronique fondamental ont proposé d'utiliser la lithographie par nano-impression UV (UV-NIL, *UV nano imprint lithography*). Cette technique permet une fabrication rapide et à bas coût des nanostructures mais dont la taille est limitée à environ 200 nm. Nous avons donc choisi de focaliser par la suite l'essentiel de nos études sur ce type de nanostructures (diamètre de 200 nm et période de 400 nm). Nous n'avons pas choisi de plus grands diamètres, car même si en SERS, l'exaltation peut être supérieure, il a été démontré que la sensibilité en SPRi s'en trouve très diminuée.

## Conclusion

En conclusion, nous avons dans un premier temps optimisé le signal SERS des échantillons dédiés au projet et démontré que la configuration or/or était la plus adaptée à la détection bimodale. Nous nous sommes ensuite focalisés sur les propriétés spécifiques de ces échantillons afin d'obtenir une meilleure compréhension des mécanismes d'exaltation du signal en SERS.

Nous pouvons donc retenir que le mode de Bragg, présent sur nos réseaux de nanocylindres d'or déposés sur un film d'or, permet d'obtenir un facteur d'exaltation SERS supérieur à celui obtenu à l'aide du plasmon localisé pour des nanoparticules déposées sur un substrat diélectrique. La position spectrale de ce mode de Bragg dépend de l'angle d'incidence induisant une directivité du signal SERS. Enfin la localisation spatiale de l'exaltation SERS est différente en présence du film métallique. En effet, sur un substrat diélectrique, l'exaltation est essentiellement localisée sur le sommet du nanodisque alors que dans le cas des nanostructures déposées sur un film métallique, la majeure partie de l'exaltation provient des bords des nanodisques.

Dans ce chapitre le seul matériau plasmonique étudié fut l'or. Les raisons évoquées précédemment sont sa biocompatibilité ainsi que sa faible absorption dans le rouge, gamme spectrale d'intérêt pour l'étude par spectroscopie Raman des milieux biologiques (réduction ou élimination du phénomène de fluorescence souvent présent dans les échantillons biologiques). Cependant de nombreux matériaux ont été utilisés en plasmonique, tels que l'argent, le platine, le palladium, le cuivre ainsi que l'aluminium. Ce dernier étant extrêmement bon marché, et présentant une résonance plasmon accordable dans le visible et l'UV, il a récemment suscité un grand intérêt dans la communauté plasmonique. Je me suis donc également intéressé à ce matériau, afin d'étudier de plus près ses potentielles applications en SERS.

## Bibliographie

1. Surface Enhanced Raman Scattering Of Gold Nanostructures: Role Of Dipolar And Multipolar Localized Surface Plasmons. *AIP Conf. Proc.* **1267**, 964–965 (2010).
2. Billot, L. *et al.* Surface enhanced Raman scattering on gold nanowire arrays: evidence of strong multipolar surface plasmon resonance enhancement. *Chem Phys Lett* **422**, 303–307 (2006).
3. Kessentini, S. *et al.* Gold dimer nanoantenna with slanted gap for tunable LSPR and improved SERS. *J Phys Chem C* **118**, 3209–3219 (2014).
4. Lamy de la Chapelle, M., Guillot, N., Frémaux, B., Shen, H. & Toury, T. Novel apolar plasmonic nanostructures with extended optical tunability for sensing applications. *Plasmonics* **8**, 475–480 (2013).
5. Cottat, M. *et al.* Soft UV nanoimprint lithography-designed highly sensitive substrates for SERS detection. *Nanoscale Res Lett* **9**, 623 (2014).
6. D'Andrea, C. *et al.* Optical Nanoantennas for Multiband Surface-Enhanced Infrared and Raman Spectroscopy. *ACS Nano* **7**, 3522–3531 (2013).
7. Guillot, N. & de la Chapelle, M. L. The electromagnetic effect in surface enhanced Raman scattering: Enhancement optimization using precisely controlled nanostructures. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.* **113**, 2321–2333 (2012).
8. Grand, J. *et al.* Role of localized surface plasmons in surface-enhanced Raman scattering of shape-controlled metallic particles in regular arrays. *Phys Rev B* **72**, 033407 (2005).
9. Péron, O., Rinnert, E., Toury, T., Lamy de la Chapelle, M. & Compère, C. Quantitative SERS sensors for environmental analysis of naphthalene. *The Analyst* **136**, 1018–1022 (2011).
10. Shen, H., Guillot, N., Rouxel, J., Lamy de la Chapelle, M. & Toury, T. Optimized plasmonic nanostructures for improved sensing activities. *Opt. Express* **20**, 21278 (2012).
11. Cottat, M. *et al.* High Sensitivity, High Selectivity SERS Detection of MnSOD Using Optical Nanoantennas Functionalized with Aptamers. *J Phys Chem C* **119**, 15532–15540 (2015).
12. Cottat, M. Optimisation de nanostructures plasmoniques pour la détection et la caractérisation structurelle des protéines par Diffusion Raman Exaltée de Surface. (Paris 13, 2014).
13. Tijunelyte, I. Development of SERS Nanosensor for Detection of Water Pollution. (Paris 13, 2016).

14. Felidj, N. *et al.* Optimized surface-enhanced Raman scattering on gold nanoparticle arrays. *Appl Phys Lett* **82**, 3095–3097 (2003).
15. Haynes, C. L. & Van Duyne, R. P. Plasmon-sampled surface-enhanced Raman excitation spectroscopy. *J. Phys. Chem. B* **107**, 7426–7433 (2003).
16. Grand, J. *et al.* Optimization of SERS-active substrates for near-field Raman spectroscopy. *Synth Met* **139**, 621–624 (2003).
17. Guillot, N. *et al.* Surface enhanced Raman scattering optimization of gold nanocylinder arrays: Influence of the localized surface plasmon resonance and excitation wavelength. *Appl. Phys. Lett.* **97**, 023113 (2010).
18. Zuloaga, J. & Nordlander, P. On the energy shift between near-field and far-field peak intensities in localized plasmon systems. *Nano Lett* **11**, 1280–1283 (2011).
19. Draine, B. T. & Flatau, P. J. Discrete-Dipole Approximation For Scattering Calculations. *JOSA A* **11**, 1491–1499 (1994).
20. Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L. & Schatz, G. C. The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape, and dielectric environment. *J. Phys. Chem. B* **107**, 668–677 (2003).
21. Haes, A. J. *et al.* Plasmonic materials for surface-enhanced sensing and spectroscopy. *MRS Bull.* **30**, 368–375 (2005).
22. Purcell, E. M. & Pennypacker, C. R. Scattering and absorption of light by nonspherical dielectric grains. *Astrophys. J.* **186**, 705–714 (1973).
23. Lamy de la Chapelle, M. *et al.* New Gold Nanoparticles Adhesion Process Opening the Way of Improved and Highly Sensitive Plasmonics Technologies. *Plasmonics* **8**, 411–415 (2013).
24. Bryche, J.-F. *et al.* Surface enhanced Raman scattering improvement of gold triangular nanoprisms by a gold reflective underlayer for chemical sensing. *Sens. Actuators B Chem.* **228**, 31–35 (2016).
25. Sarkar, M. Hybrid surface plasmon modes in metallic nanostructures : Theory, numerical analysis and application to bio-sensing. (Paris Saclay, 2015).
26. Olivéro, A. Développement d'un instrument plasmonique bimodal couplant SPRI et SERS pour la détection et l'identification de molécules biologiques. (Paris Saclay, 2016).
27. Sarkar, M. *et al.* Hybrid plasmonic mode by resonant coupling of localized plasmons to propagating plasmons in a Kretschmann configuration. *ACS Photonics* **2**, 237–245 (2015).



28. Zienkiewicz, O. C., Taylor, R. L. & Zhu, J. Z. *The Finite Element Method: Its Basis and Fundamentals*. (Butterworth-Heinemann, 1977).
29. Sarkar, M. *et al.* Generalized analytical model based on harmonic coupling for hybrid plasmonic modes: comparison with numerical and experimental results. *Opt. Express* **23**, 27376–27390 (2015).

## Chapitre III. Propriétés plasmoniques des nanoparticules d'aluminium

Introduction .....	95
III.1. Plasmonique et SERS sur des nanostructures d'aluminium déposés sur un substrat diélectrique. ....	97
III.2. Plasmonique sur des nanostructures d'aluminium déposées sur un film d'aluminium ..	121
Conclusion.....	126
Bibliographie.....	127

### Introduction

L'aluminium est un métal qui est naturellement présent dans la bauxite et qui est très abondant sur terre. Il s'agit en effet du troisième élément le plus présent à la surface de la croûte terrestre. Le procédé de purification de l'aluminium par réduction fut proposé pour la première fois par Hans Christian Ørsted (Danois) en 1825. Mais ce procédé était très coûteux et impliquait la réduction du composé  $\text{AlCl}_3$  par du sodium métallique. À cette époque, l'aluminium était donc plus cher que l'or et n'était utilisé qu'en joaillerie. C'est en 1886 que le procédé moderne de réduction par électrolyse fut mis au point de manière indépendante par Paul Héroult (Français, *brevet 175711*) et Charles Martin Hall (Américain, *US Patent 400,664*). À partir de ce moment l'aluminium est devenu un métal bon marché et les applications se multiplièrent au fil du temps.

Le bas coût actuel du métal et son abondance en font un candidat intéressant pour les applications en plasmonique, car, même si seulement une très faible fraction du prix d'un substrat SERS provient du métal, on peut espérer que cela change dans l'avenir, la production en masse de ces substrats baissant leur coût et le prix de l'or et de l'argent allant en augmentant de manière à peut près certaine grâce à leur valeurs spéculatives. L'utilisation de l'aluminium permettrait ainsi de réduire le prix des substrats, dans l'hypothèse où celui-ci serait un bon candidat en SERS. En effet si l'on s'intéresse aux propriétés optiques de ce métal, on constate que la partie réelle de sa per-

mittivité électrique est négative et ce sur l'ensemble des longueurs d'ondes allant du proche UV au proche IR. (figure 1).

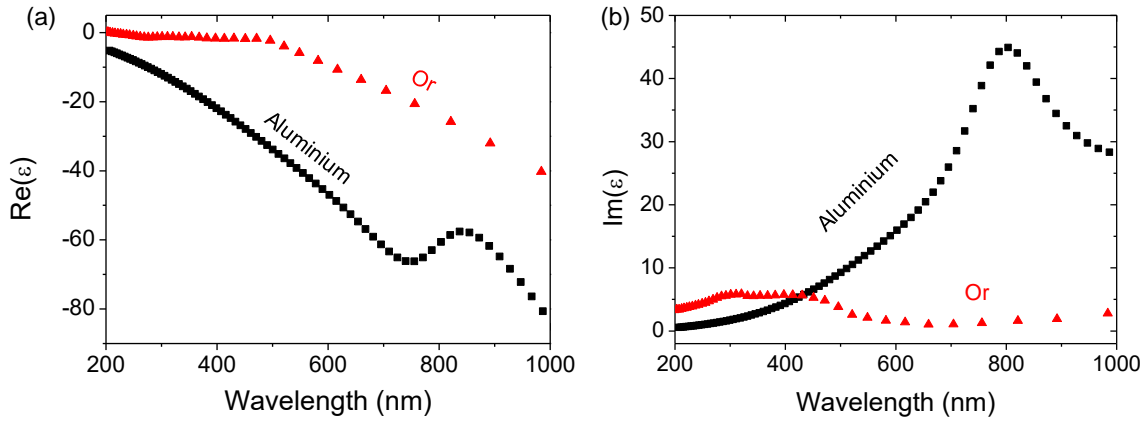


Figure 1 : Partie réelle (a) et imaginaire (b) de la permittivité de l'Or (rouge, Johnson & Christy<sup>1</sup>) et de l'aluminium (noir, Rakić<sup>2</sup>) en fonction de la longueur d'onde.

Grace à cela nous savons d'avance qu'*a priori*, la résonance plasmon de nanoparticules d'aluminium est accordable sur l'ensemble de la gamme spectrale du visible. Par contre, si l'on compare la partie imaginaire de ce matériau à celle de l'or, on constate que les transitions interbandes du matériau se situent dans le rouge, autour de 800 nm alors que pour l'or, elles se situent au dessous de 500 nm, dans le bleu et le proche UV. Les deux matériaux vont donc présenter des propriétés d'absorption optique complètement différentes et donc un comportement plasmonique très différent. C'est pour étudier ces propriétés et la forte différence entre les deux matériaux que nous avons effectué une série d'expériences sur des réseaux de nanostructures d'aluminium similaires à celles qui avaient été faites avec l'or. Nous avons étudié deux types d'échantillons différents avec des nanostructures d'aluminium. Tout d'abord, je me suis intéressé à des nanocylindres d'Al déposés sur un substrat diélectrique dans le but d'observer les résonances plasmon de ces nanostructures et d'effectuer des mesures SERS. Ensuite, je présenterai une étude plasmonique sur des nanocylindres d'Al déposés sur un film d'Al.

### **III.1. Plasmonique et SERS sur des nanostructures d'aluminium déposés sur un substrat diélectrique.**

Afin d'étudier le potentiel de l'aluminium dans notre domaine d'applications, la spectroscopie Raman exaltée de surface, j'ai fabriqué une série de nanocylindres d'aluminium de même géométrie que ceux en or que nous avons étudiés précédemment (voir chapitre II, section II.1). Nous allons voir dans l'article suivant que la résonance plasmon est accordable sur toute la gamme spectrale du visible, même pour des longueurs d'onde très proches des transitions inter-bandes à 800 nm. Cependant des mesures SERS effectuées à des longueurs d'onde d'excitation dans le rouge (660 en 785 nm) montrent un facteur d'exaltation insuffisant pour des applications en tant que capteur SERS dans cette gamme spectrale. En effet l'absorption du matériau étant très forte à ces longueurs d'onde, l'exaltation en champ proche est faible et ce malgré une bande plasmon intense et fine.

De plus, une étude sur le vieillissement des nanostructures a été effectuée. En effet, l'aluminium réagit très rapidement avec l'oxygène de l'air pour former une couche d'oxyde d' $\text{Al}_2\text{O}_3$  à la surface du matériau. Cette étude a permis de constater que même deux mois après la fabrication de l'échantillon, l'épaisseur d'oxyde restait inférieure à 2 nm impliquant un décalage vers le rouge de la résonance plasmon de quelques nanomètres seulement. Ceci indique une bonne stabilité des nanostructures. Mais cette oxydation implique une modification de la composition chimique de la surface des nanostructures et donc de trouver de nouvelles stratégies de fonctionnalisation de surface en cas d'utilisation dans des biocapteurs.

Pour l'article suivant, j'ai effectué l'ensemble des expériences (fabrication des échantillons et mesures plasmoniques et SERS) alors que les simulations furent faites par Florent Colas de l'Ifremer.

# Plasmonic Properties of Aluminium Nanocylinders in the Visible Range

Raymond Gillibert,<sup>†,‡</sup> Florent Colas,<sup>¶</sup> Ryohei Yasukuni,<sup>†</sup> Gennaro Picardi,<sup>†</sup> and  
Marc Lamy de la Chapelle<sup>\*,†</sup>

*Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue  
Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France, HORIBA Jobin Yvon S.A.S. 231 rue de Lille  
59650 Villeneuve d'Ascq, France, and Laboratoire Ditection, Capteurs et Mesures, Centre  
Bretagne - ZI de la Pointe du Diable - CS 10070 - 29280 Plouzané*

E-mail: marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr

---

\*To whom correspondence should be addressed

<sup>†</sup>Université Paris 13

<sup>‡</sup>HORIBA Jobin Yvon S.A.S.

<sup>¶</sup>Ifremer

## Abstract

Plasmonic and surface enhanced Raman scattering (SERS) studies have been performed on aluminium nanocylinders arrays of different diameters. We observed sharp localised surface plasmon resonance (LSPR) peaks that can be tuned on the whole visible range and having the same behaviour than gold nanocylinders. The near-field enhancement was measured by SERS on probe molecules as well as on the indium tin oxide (ITO) substrate using two excitation wavelengths: 660 and 785 nm. No SERS signal of the probe molecules was detected. Using the ITO substrate SERS signal, we were able to measure a small near-field enhancement largely lower than the one reached with gold nanocylinders indicating that this kind of structure is not usable for SERS in this spectral range. A spectral shift is also observed between the SERS measurement and the LSPR position. All the experimental results are compared to DDA simulation in order to provide interpretation of the data.

## Introduction

Aluminium as plasmonic material has attracted considerable attention in the recent years and several plasmonic studies have been performed on aluminium nanostructures. Indeed, the real part of the Al dielectric constant is strongly negative and allows having a plasmon resonance from the ultra-violet to the far infra-red. As a consequence, the aluminium appears to be usable in plasmonics on a very wide spectral range. Moreover, its price is very low compared to gold or silver usually used in plasmonic devices which make Al a good candidate to reduce the cost of such systems for mass production. Plasmonic studies were conducted by C. Langhammer *et al.*<sup>1</sup> on aluminium nanocylinders randomly distributed on a glass slide. Those substrates showed a tuneable resonance position depending on the disk diameter. It was also shown that a thin alumina oxide layer of a few nanometers is quickly formed at the surface of the structures, its thickness slowly growing with time. The potential applications of such nanostructures to surface enhanced spectroscopy have also been studied. For instances,

in 2007, C. Zhang *et al.*<sup>2</sup> designed an aluminium substrate for surface enhanced Raman scattering (SERS) produced by anodisation and the SERS signal of protein and bacteria were recorded with a 514 nm laser line. Later, a strong SERS signal of crystal violet has been reported on a simple aluminium sputtered surface with a UV excitation (244 nm) by T. Dörfer *et al.*<sup>3</sup> More recently, B. Cerjan *et al.*<sup>4</sup> demonstrated the application of Al asymmetric nanoantenna in surface enhanced IR absorption (SEIRA) taking advantage of the alumina oxide layer to graft molecules at the nanoantenna surface. It is also known that the imaginary part of the Al dielectric constant exhibits a large absorption close to 800 nm that could induce a decrease of the plasmonics performances due to large damping of the plasmon resonance. However, in the studies performed by C. Langhammer *et al.*,<sup>1</sup> sharp plasmonic resonances were obtained in the near infra-red (NIR) indicating a potential for near-field enhancement in this spectral region. In this framework, we present a far-field and a near-field study of periodic aluminium nanocylinders arrays with different diameters. Those samples featured localised surface plasmon resonances that could be tuned from UV to NIR. We also observe multiple orders of resonance as well as strong Wood's anomalies in the plasmon excitation. The Wood anomalies are related to the Fano resonance coming from the interference of the plasmon mode of the nanocylinders and the grating modes of the array of nanocylinder.<sup>5</sup> SERS was equally performed to quantify the near-field enhancement of those structures. Despite the high quality factor plasmonic resonators, we could not achieve a very high SERS activity. Advanced DDA calculations demonstrated that such structures could provide only limited near-field enhancement not sufficient for most of the SERS applications and not comparable to gold nanostructures even if their far-field optical properties are similar.

# Experimental and Theoretical Methods

## Experimental

Square array of aluminium nanocylinders were fabricated by electron beam lithography in clean room. On top of a commercial 0.7 mm thick glass slide already covered with a 160 nm thick indium tin oxide (ITO) layer, a 140 nm thick Poly(methyl methacrylate) (PMMA) layer was deposited by spin coating. The PMMA layer was exposed with an electron beam using a ZEISS scanning electron microscope. The PMMA development was then done for 40 s in a standard 1:3 methyl isobutyl ketone / isopropanol (MIBK/IPA) solution. An aluminium layer of 30 nm was then deposited on the substrate. Finally a lift-off process was performed for one night in acetone to remove the PMMA.

The nanocylinder height was fixed to 30 nm and the nanocylinder diameters were varied from 50 to 250 nm by a 10 nm step. A gap of 200 nm was kept constant between the nanocylinders to avoid any near-field coupling. The quality of our nanostructures was verified by scanning electron microscopy in order to determine their exact sizes (figure 1).

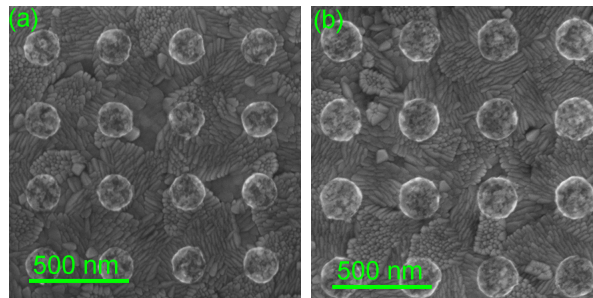


Figure 1: SEM images of arrays of aluminium nanocylinders produced by electron beam lithography for diameter of (a) 180 nm and (b) 205 nm. The disks are deposited on a ITO coated glass substrate.

Extinction and SERS measurements were performed with an XploRA confocal Raman micro spectrometer (Horiba Scientific). For extinction measurements a non polarised white lamp was used to excite the nanocylinders and the transmitted light was collected with a 10 $\times$  magnification objective (numerical aperture of 0.25) after removing the edge filters inside the



Raman spectrometer. For SERS, the Raman spectra were recorded with 660 nm and 785 nm excitations wavelengths in backscattering configuration using a 100 $\times$  magnification objective (numerical aperture of 0.90). The laser power was adjusted to 300  $\mu$ W with neutral density filter.

To measure the SERS signal, several probe molecules were chosen because of their high Raman cross-section. These molecules are thiophenol (TP), 1,2-di(4-pyridyl)ethylene (BPE) and methylene blue (MB). After UV-Ozone treatment the probe molecules were adsorbed on the nanocylinder samples sequentially. We started with the TP and finished with the MB. For all these probe molecules, the samples were immersed in a 1 mM concentrated solution in ethanol for 1 hour and then dried. For each probe molecule, five Raman spectra were measured at different locations randomly distributed on each nanocylinder array. An average intensity was calculated by using the five Raman spectra and the standard deviation was used as error bar.

## Modeling

The electric field calculation was performed by DDA (Discrete Dipole Approximation)<sup>6</sup> using DDSCAT 7.3.<sup>7,8</sup> The shape of the nanoparticles was generated by a home-made code written in Python. It consisted in arrays of nanocylinders of diameters going from 100 nm to 260 nm by a 20 nm step. Their upper corner had been rounded with a radius of curvature of 6 nm to take into account the imperfection of the lift-off process. The nanocylinders were arranged in a square lattice. The inter-particle spacing was set to 200 nm.

The nanoparticle was discretized by dipoles separated by a distance of 1 nm. The polarizability of each dipole was calculated by the filtered dipole as suggested by Piller and Martin.<sup>9</sup> The inversion was carried out by biconjugate gradient with stabilization algorithm as proposed by Sleijpen and van der Vorst.<sup>10</sup> Calculation was performed in double precision on the high performance calculation facilities PCIM (*Pole Calcul Intensif pour la Mer*). The convergence tolerance was set to  $10^{-7}$ . The nanoparticle was considered in an effective medium

of relative permittivity as the mean of that of air and of ITO (Indium Tin Oxide). The former was considered constant and equal to 1 while the latter was measured by ellipsometry. The relative permittivity came from the paper of Rakić.<sup>11</sup>

The effect of a thin layer of alumina oxide ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) around the nanocylinders was investigated following the approach proposed by Knight et al..<sup>12</sup> As the oxide layer appears the nanocylinders was considered as a mixture of oxide and aluminium whose relative permittivity was calculated with the Bruggeman model. The oxide refractive index was taken from<sup>13</sup> (see supplementary information). The near-field features of the nanocylinders were calculated by averaging the electric-field in a shell of 1 nm thickness around the nanocylinders. This quantity is noted  $\langle E^2 \rangle$  hereafter.

## Results and discussion

### Extinction analysis

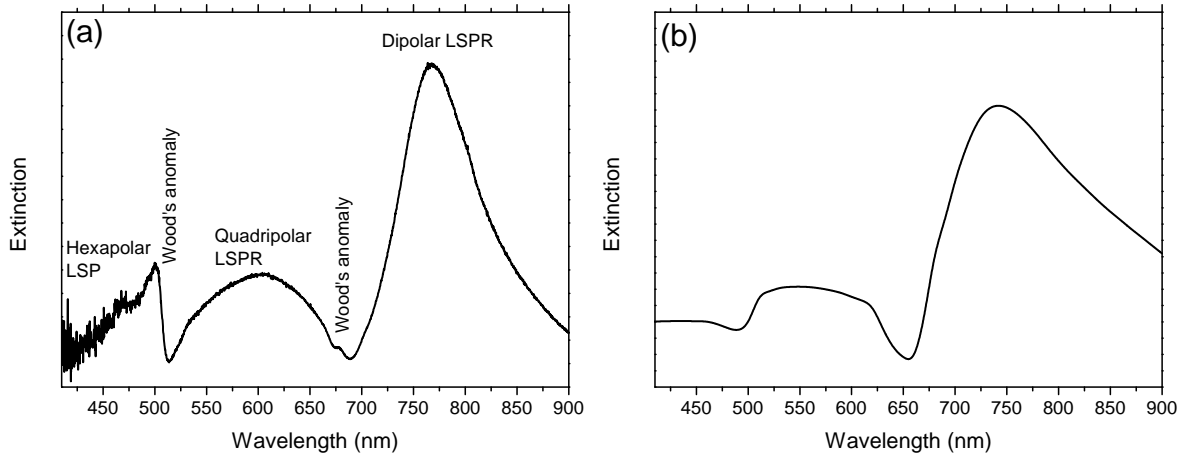


Figure 2: (a) Experimental and (b) simulated extinction spectra for nanocylinders array with diameter of 250 nm.

The day after the nanocylinder production, the extinction spectrum of each nanocylinder diameter were recorded. The experimental extinction spectrum of 250 nm diameter nanocylinders is shown on figure 2a. It exhibits an intense dipolar mode at 770 nm as well as bands

at lower wavelengths that could be assigned to higher orders of resonance (quadripolar and hexapolar modes). These latter bands are observable only for large diameters (higher than 80 nm for quadripolar mode and 210 nm for hexapolar one). LSPR position is plotted as a function of the nanocylinders diameter on figure 3. As expected, whatever the order of resonance is, the LSPR position red-shifts when the diameter monotonically increases as already observed for gold nanocylinders.<sup>14</sup>

The simulated extinction spectrum for nanocylinder diameter of 250 nm is shown in figure 2b. One can notice a very good agreement with the experimental spectrum and the simulation reproduces the different LSP modes. Such agreement is observable for all diameters as shown by the comparison of the simulated and experimental LSP positions on figure 3.

The dipolar mode exhibits an asymmetric band shape because of the inter-band transitions of aluminium close to 800 nm (maximum of the imaginary part of the Al dielectric constant, figure 4). In the spectral range of the inter-band transitions, the damping of the plasmon increases and the extinction band broadens. The LSPR asymmetry is amplified by the Wood's anomaly observable as a drop of the extinction intensity on the low wavelength side of the LSPR. This anomaly is due to far field coupling between the individual nanocylinders through the array.<sup>15</sup> The Wood's anomaly is clearly observable with those structures because of the ITO coating. Indeed, this latter one could induce the apparition of a guided mode at the substrate surface that amplifies the coupling between the nanostructures and as a consequence the Wood's anomaly observation. Very similar phenomenon was described by A. Christ et al.<sup>16</sup>

The LSPR broadening can be observed on figure 3 as the full width at half maximum of the dipolar mode is plotted as a function of its position. One can notice that the dipolar mode can be very thin (width lower than 50 nm) and that the width increases strongly when the resonance becomes closer to the inter-band transitions at 800 nm. This result is consistent with the intrinsic property of the aluminum.<sup>17</sup> However, the widths are still comparable or even thinner than the ones measured for gold nanocylinders.<sup>18-20</sup> This is actually remarkable

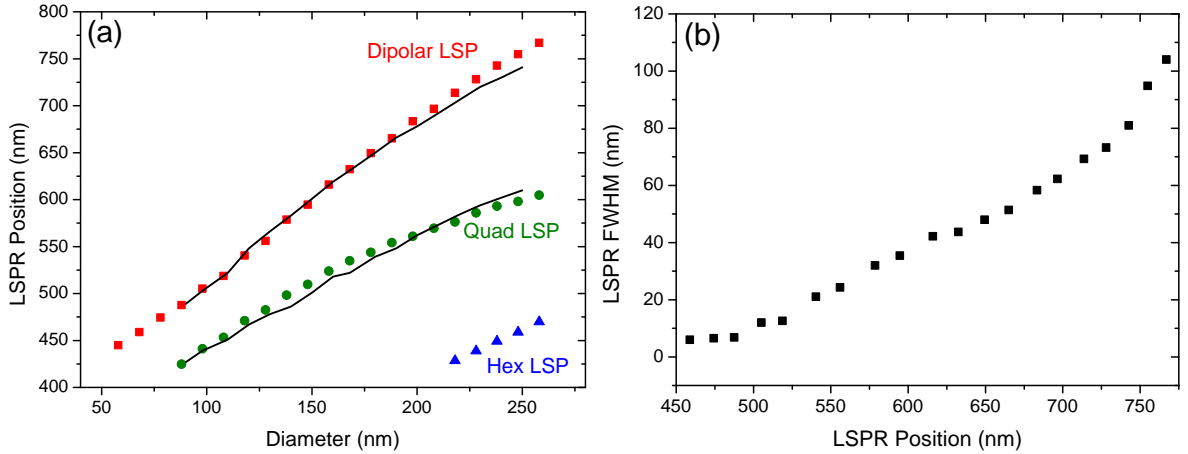


Figure 3: (a) LSPs position as a function of nanocylinders diameters. Dots correspond to the experimental measurements (red squares: dipolar mode, green dots: quadripolar mode, blue triangle: hexapolar mode) whereas the black lines correspond to DDA simulations. (b) Full width at half maximum of the dipolar mode as a function of the dipolar mode position.

since the imaginary part of Al is largely higher than the one of Au (between 10 and 50 times higher on the 600-900 nm range). This property could be exploited in sensors based on the observation of the LSPR shift due to the adsorption of molecules at the nanostructure surface and could confer to such systems a very high sensitivity

Moreover, the bandwidth has a direct influence on the Q-factor of the resonance. As previously demonstrated,<sup>18,21</sup> a thinner LSPR band and as a consequence a larger the Q-factor of the plasmon resonator induces a greater near-field enhancement.

In the quasi-static approximation, Wang and Shen<sup>22</sup> demonstrated that the quality ( $Q$ ) factor of the LSPR is given by:

$$Q = \omega \frac{\frac{\partial \epsilon_r}{\partial \omega}(\omega)}{2(\epsilon_i(\omega))^2} \quad (1)$$

where  $\epsilon_r$  and  $\epsilon_i$  are the real and the imaginary parts of the dielectric constant of the material and  $\omega$  is the pulsation. The application of this formula shows that in the visible range, the Q factor of aluminum nanoparticles is very low (lower than 0.5 for wavelength higher than 500 nm and nearly null around 800 nm, fig.4a)<sup>17</sup> whereas for gold, the Q factor is above 5 in the visible range and up to 25 for wavelength around 700 nm. This is due to

the largely higher imaginary part of the Al compared to Au in the visible range.

However, the Q-factor calculated experimentally from the extinction spectrum of Al nanocylinders can take values up to 70 for wavelengths lower than 500 nm (figure 5), which is of the same order of magnitude than for gold nanoparticles. The Q-factor decreases with the wavelength as the LSPR becomes closer to the inter-band transitions but is still higher than 5. This actually differs very much from the quasi-static approximation calculation probably thanks to the far-field coupling of LSPR with the grating, sharpening the extinction band and also to the fact that quasi-static approximation cannot be actually applied for big structures. In fact, the sharpening of the plasmon bands can be explained by two different effects: the far-field coupling of the nanocylinders<sup>5,23–25</sup> and the Wood's anomalies. In the former case, the coupling leads to a reduction of the Full-Width at Half Maximum of the extinction band. In the latter case, the Wood's anomaly is always located slightly blue shifted compared to the LSPR, inducing a possible coupling between those two modes and a supplementary sharpening of the LSPR. Thus, although the poor optical properties of alumina in the red, far-field properties of nanocylinders leads us to expect strong local field enhancement and then SERS detection capabilities even in the NIR region, when plasmon resonance is close to the inter-band transitions.

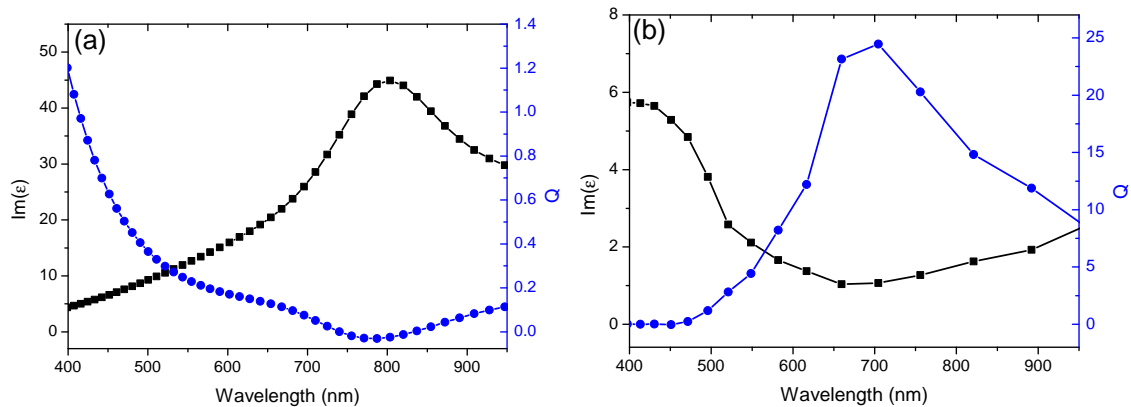


Figure 4: Imaginary part of the dielectric constant of Aluminium (black squares, left axis) and Q-factor in the quasi-static approximation (blue circles, right axis) with refractive index from Rakić 1998. (b) Same for gold with refractive index from Johnson and Christy.

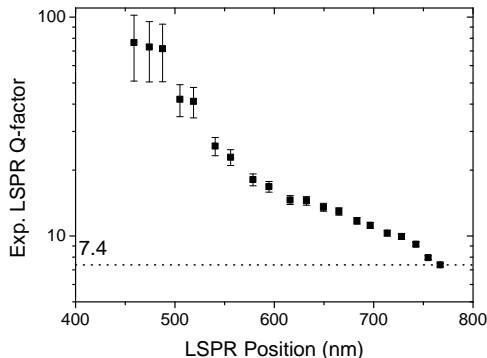


Figure 5: Experimental Q-factor calculated from the extinction spectra of the Al nanocylinders as a function of the LSPR position.

## SERS Analysis

Several probe molecules were deposited sequentially at the surface of the nanocylinders (1st TP, 2nd BPE and 3rd MB) and SERS spectra were acquired at 660 nm and 785 nm excitation wavelengths for each nanocylinders diameter. For all diameters, none of the specific Raman bands of TP, BPE or MB were observed on the SERS spectrum as shown on figure 6a. This can be due to two distinct reasons. First, one can assume that the molecules cannot graft or adsorb at the nanocylinder surface and as a consequence, are not present at the surface of the nanocylinders during the SERS experiments. Second, the aluminium oxide layer prevented the molecules from attaining the near-field enhanced region. The oxide plays the role of a spacer layer between the molecules and the metallic surface. In both cases, we could not observe any SERS spectrum from the probe molecules that limit considerably the use of such metal for SERS.

However some Raman features in the low frequency range between 300 and 700  $\text{cm}^{-1}$  can be observed, corresponding to the ITO substrate (figure 6). The intensity of these bands is enhanced in the presence of the nanocylinders and we used them to quantify the SERS enhancement. In figures 6(b) and 6(c), is shown the integrated SERS intensity from 300 to 700  $\text{cm}^{-1}$  for 660 nm and 785 nm excitation wavelengths as a function of the LSPR positions. We observe a strong variation of the SERS signal when we tune the LSPR with a maximum

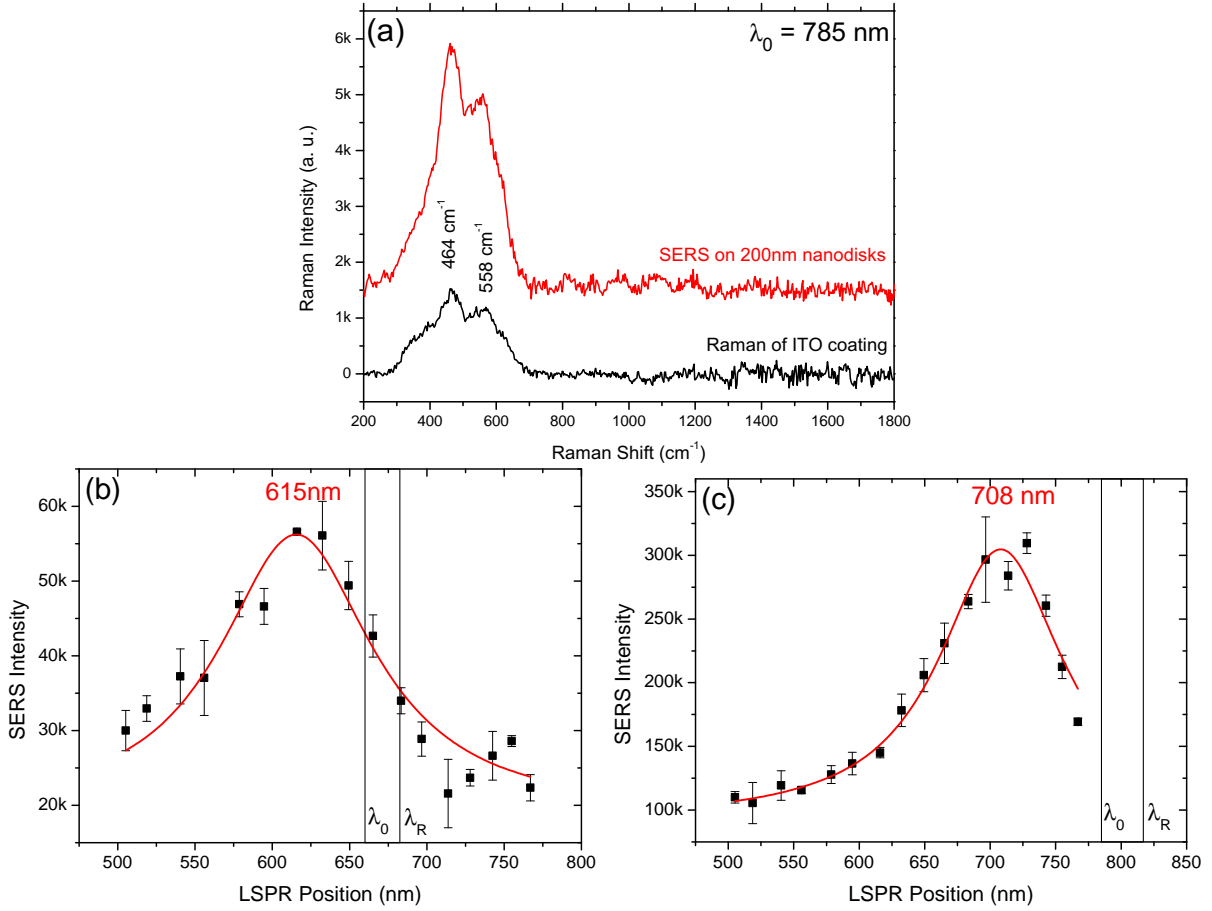


Figure 6: (a) Raman spectra on ITO coating and on nanocylinders array with the 785 nm excitation wavelength and SERS intensity as a function of the LSPR position for (b) 660 nm and (c) 785 nm excitation wavelengths. The black vertical lines correspond to the position of the excitation and Raman wavelengths ( $\lambda_0$  and  $\lambda_R$  respectively).

of intensity at a specific LSPR. However, the SERS efficiency is lower than the one observed for gold since the ratio between the highest and the lowest signals is between 2 and 3 for Al whereas it is more than 10 for Au.<sup>18</sup> In addition, when we compare the size of the laser spot and the area of the nanocylinders, an enhancement less than 15 can be calculated in the case of the 200 nm diameter nanocylinders excited at 785 nm. It is definitely much lower than typical SERS enhancement achieved with gold nanocylinders.<sup>26</sup>

This lower near-field enhancement with Al cannot be explained by a bad quality factor in this spectral range as we demonstrate in the previous section that the Q factor is high for our Al nanocylinders.

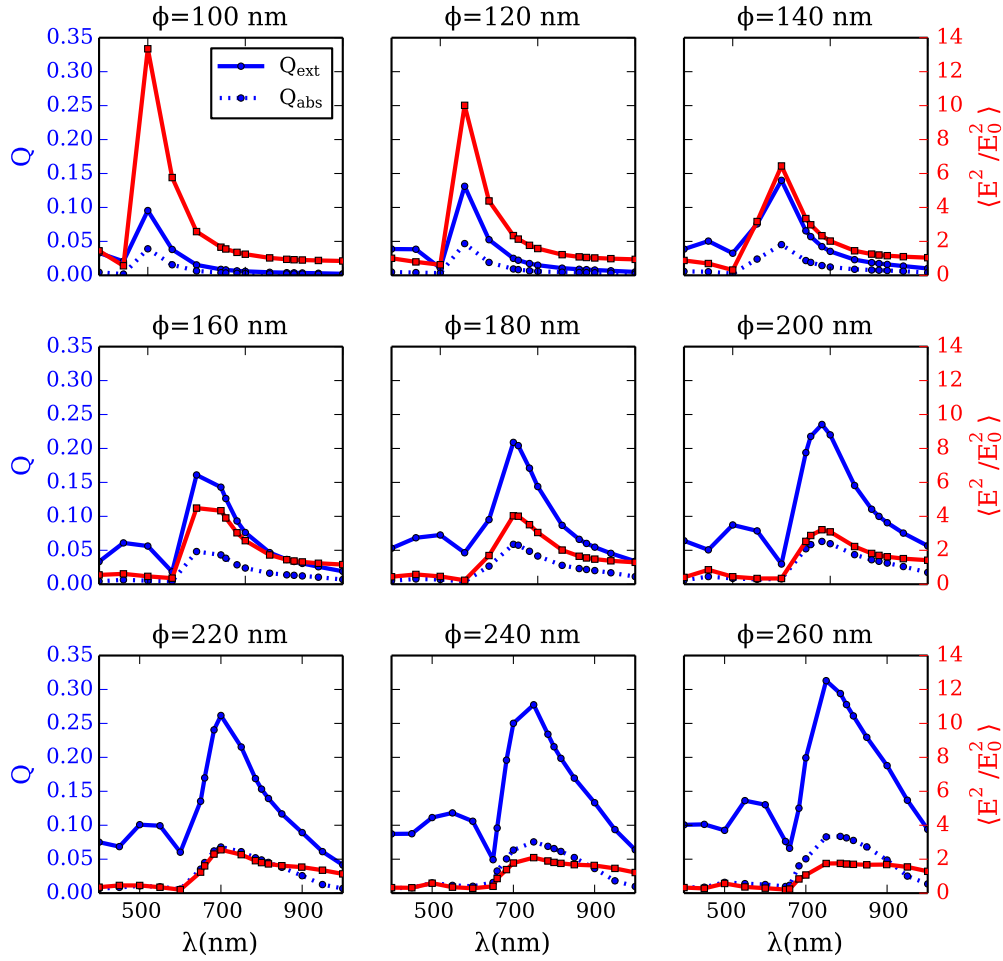


Figure 7: Near-Field feature of the Al nanocylinders: The near-field enhancement is plotted as  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  (red curve and right axis), the extinction cross section (blue curve and left axis) and the absorption cross section (blue dotted curve and left axis) are plotted versus the wavelength depending on the nanocylinder diameter ( $\Phi$ ).

This is confirmed by the DDA calculation. The average electric field around the nanocylinders is plotted on fig. 7 for diameters ranging from 100 nm to 260 nm and superimposed with the absorption and the extinction cross-section. First, the maxima of the absorption and the extinction cross-sections increase with the LSPR wavelength. Second, the maximum value of  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  decreases with the resonance wavelength, up to sevenfold when comparing the 100 nm and the 260 nm diameter nanocylinders. Third, for resonance wavelength larger than



700 nm, the near-field spectrum appears wide and flat. These three main features can be explained by the inter-band transition. Indeed, the imaginary part of aluminium dielectric constant increases monotonically in the 400-700 nm range (figure 4). It has two consequences: first, an increase of the absorption and subsequently of the extinction cross-section, second, a decrease of the local field. In addition, the absorption maximum of the alumina is around 800 nm and at this wavelength, the plasmon mode is strongly absorbed.

The comparison of fig. 7 with previous work by Colas et al.<sup>18</sup> shows that in the 600-800 nm domain  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  is an order of magnitude lower than in the case of gold nanocylinders,<sup>18</sup> which lead to a lower SERS enhancement with aluminum as experimentally observed.

Moreover, the optimum LSPR position is largely outside the spectral range  $\lambda_0, \lambda_R$  with  $\lambda_0$  the excitation wavelength and  $\lambda_R$  the Raman wavelength as the optimum LSPR positions to maximise the SERS signal is located at 615 nm for a 660 nm excitation wavelength and at 708 nm for a 785 nm excitation (figure 6). Previous works demonstrated experimentally and theoretically that the near-field can be red-shifted<sup>27-33</sup> compared to the far-field resonance. This shift can reach up to 200 nm in the case of nanoantenna resonating in the mid-IR.<sup>29</sup> However, figure 7 shows that the near-field is slightly shifted with regards to the far-field. This is similar to a previous study considering gold and aluminium nanocylinders<sup>18,34</sup> in this spectral range. Indeed, the red-shift increases with the damping of the electron cloud oscillation inside the nanocylinder.<sup>31</sup> It can be characterized by the Full Width at Half Maximum of the extinction bands. In the case of the nanocylinders, the FWHM increases from 20 nm to 100 nm as the diameter goes from 100 to 240 nm. The losses associated with the nanocylinders are then expected to be small<sup>18</sup> and the near-field to far-field red-shift subsequently low. Thus the assumption of a near-field to far-field shift cannot be considered to explain our SERS results.

As we previously noted, the absolute value of the  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  decreases and its band width increases when the LSPR is red-shifted. For example, for the 100 nm nanocylinder, the maximum value of  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  is around 14 with a bandwidth of 100 nm whereas the maximum

value of  $\langle E^2/E_0^2 \rangle$  is only 3 for a 200 nm nanocylinder with a bandwidth around 130 nm. Since the SERS intensity is proportional to the average Single Molecule Enhancement Factor<sup>17</sup> ( $\langle SMEF \rangle$ ) defined by:

$$\langle SMEF \rangle \propto \int_V \frac{E(\lambda_0)^2 E(\lambda_R)^2}{E_0(\lambda_0)^4} dV \quad (2)$$

where  $E(\lambda_0)$  and  $E(\lambda_R)$  are electric fields around the nanocylinders at the excitation and the Raman wavelengths respectively,  $E_0$  is the incoming electric field and  $V$  is the volume in which the calculation is carried out, the SERS intensity depends directly on the electric field around the nanocylinders. From fig. 7 we can assume that the SERS enhancement will be larger for the low resonance wavelengths even out of resonance compared to nanocylinders having higher resonance wavelength. For example, in the case of  $\lambda_0=660$  nm,  $\langle E^2(\lambda_0)/E_0^2 \rangle$  is larger for a diameter of 160 nm than a diameter of 180 nm. However, the first resonates at 618 nm while the second at 656 nm. This effect has already been observed and explained with gold nanocylinders.<sup>18</sup>

In addition, aluminium absorbs light in the 700-900 nm domain because of the inter-band transitions (Fig. 4). In this range, the electromagnetic energy is then converted to heat.<sup>34</sup> This thermal effect is assumed to reduce electromagnetic enhancement traditionally express by eq. 2.

These two effects contribute to reach a larger SERS signal with nanocylinder resonating at lower wavelengths and then to obtain an optimal LSPR position strongly blue shifted with regards to the excitation and the Raman wavelengths. The near-field enhancement is largely lower for Al than for Au as experimentally observed and this could also explain why we could not detect any SERS signal from the probe molecules, especially with the presence of the oxide layer at the nanocylinder surface.

## Conclusion

Aluminium nanocylinders were produced by electron beam lithography and their optical properties were investigated. We demonstrate that the LSPR can be tuned on the whole visible range. A broadening of the LSPR line width is observed when the LSPR is redshifted due to the inter band transitions occurring close to 800 nm. We measured the near-field enhancement by SERS on probe molecules as well as on the ITO substrate. For the former ones no SERS signal was recorded due to very low enhancement and to the formation of the oxide layer. This means that such substrate could not be applied for SERS in this spectral range. The low enhancement is confirmed by the observation of the ITO SERS signal. The signal variation with the LSPR position is one order of magnitude lower than the one observed with gold. This enhancement is largely decreased when the LSPR is close to the inter band transition at 800 nm that results in a spectral shift between the SERS signal optimum and the LSPR position.

## Supporting Information

Aging study over two months of the aluminium nanocylinders arrays, using LSPR position.

## Acknowledgement

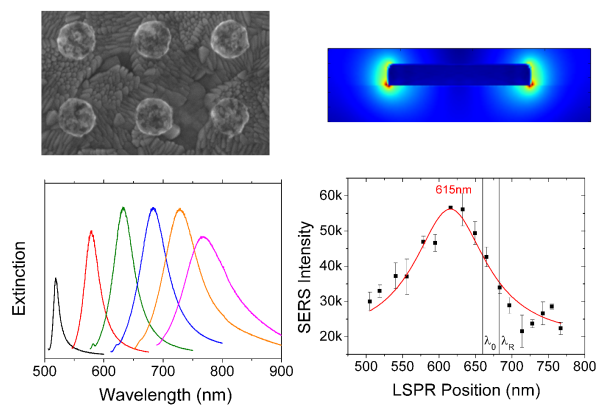
The authors thank Tina Odaka and Denis Croizé-Fillon for their kind and efficient advices and help with the high calculation facilities. Thanks to the *Centrale de Proximité en Nanotechnologies de Paris Nord (CPN2, 99 Avenue Jean-Baptiste Clément 93430 Villetaneuse, France)* to supply the clean room for samples fabrication. The authors also acknowledge ANR P2N (ANR-12-NANO-0016) and the support of the French Government and ANRT *Association Nationale de la Recherche et de la Technologie* for funding.

## References

- (1) Langhammer, C.; Schwind, M.; Kasemo, B.; Zoric, I. Localized Surface Plasmon Resonances in Aluminum Nanodisks. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 1461–1471.
- (2) Zhang, C.; Smirnov, A.; Hahn, D.; Grebel, H. Surface Enhanced Raman Scattering of Biospecies on Anodized Aluminum Oxide Films. *Chem. Phys. Lett.* **2007**, *440*, 239–243.
- (3) Dörfer, T.; Schmitt, M.; Popp, J. Deep-UV Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Raman Spectrosc.* **2007**, *38*, 1379–1382.
- (4) Cerjan, B.; Yang, X.; Nordlander, P.; Halas, N. J. Asymmetric Aluminum Antennas for Self-Calibrating Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy. *ACS Photonics* **2016**, *3*, 354–360.
- (5) Hicks, E. M.; Zou, S.; Schatz, G. C.; Spears, K. G.; Van Duyne, R. P.; Gunnarsson, L.; Rindzevicius, T.; Kasemo, B.; Käll, M. Controlling Plasmon Line Shapes Through Diffractive Coupling in Linear Arrays of Cylindrical Nanoparticles Fabricated by Electron Beam Lithography. *Nano Lett.* **2005**, *5*, 1065–1070.
- (6) Purcell, E. M.; Pennypacker, C. R. Scattering and Absorption of Light by Nonspherical Dielectric Grains. *Astrophys. J.* **1973**, *186*, 705–714.
- (7) Draine, B. T.; Flatau, P. J. Discrete-Dipole Approximation for Periodic Targets: Theory and Tests. *J. Opt. Soc. Am. A* **2008**, *25*, 2693–2703.
- (8) Flatau, P. J.; Draine, B. T. Fast Near Field Calculations in the Discrete Dipole Approximation for Regular Rectilinear Grids. *Opt. Express* **2012**, *20*, 1247–1252.
- (9) Piller, N.; Martin, O. J. Increasing the Performance of the Coupled-Dipole Approximation: A Spectral Approach. *IEEE Trans. Antennas Propag.* **1998**, *46*, 1126–1137.
- (10) Sleijpen, G. L.; van der Vorst, H. A. Reliable Updated Residuals in Hybrid Bi-CG Methods. *Computing* **1996**, *56*, 141–163.
- (11) Rakić, A. D. Algorithm for the Determination of Intrinsic Optical Constants of Metal Films: Application to Aluminum. *Appl. Opt.* **1995**, *34*, 4755–4767.
- (12) Knight, M. W.; King, N. S.; Liu, L.; Everitt, H. O.; Nordlander, P.; Halas, N. J. Aluminum for Plasmonics. *ACS Nano* **2014**, *8*, 834–840, PMID: 24274662.

- (13) Palik, E. *Handbook of Optical Constants of Solids II*; Academic Press handbook series; Academic Press, 1991.
- (14) Zorić, I.; Zäch, M.; Kasemo, B.; Langhammer, C. Gold, Platinum, and Aluminum Nanodisk Plasmons: Material Independence, Subradiance, and Damping Mechanisms. *ACS Nano* **2011**, *5*, 2535–2546, PMID: 21438568.
- (15) Haynes, C. L.; McFarland, A. D.; Zhao, L.; Van Duyne, R. P.; Schatz, G. C.; Gunnarsson, L.; Prikulis, J.; Kasemo, B.; Käll, M. Nanoparticle Optics: The Importance of Radiative Dipole Coupling in Two-Dimensional Nanoparticle Arrays. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 7337–7342.
- (16) Christ, A.; Tikhodeev, S.; Gippius, N.; Kuhl, J.; Giessen, H. Waveguide-Plasmon Polaritons: Strong Coupling of Photonic and Electronic Resonances in a Metallic Photonic Crystal Slab. *Phys. Rev. Lett.* **2003**, *91*, 183901.
- (17) Le Ru, E. C.; Etchegoin, P. G. In *Principles of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy*; Le Ru, E. C., Etchegoin, P. G., Eds.; Elsevier: Amsterdam, 2009; pp 121–183.
- (18) Colas, F. J.; Cottat, M.; Gillibert, R.; Guillot, N.; Djaker, N.; Lidgi-Guigui, N.; Toury, T.; Barchiesi, D.; Toma, A.; Di Fabrizio, E. et al. Red-Shift Effects in Surface Enhanced Raman Spectroscopy: Spectral or Intensity Dependence of the Near-Field? *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 13675–13683.
- (19) Lamy de la Chapelle, M.; Shen, H.; Guillot, N.; Frémaux, B.; Guelorget, B.; Toury, T. New Gold Nanoparticles Adhesion Process Opening the Way of Improved and Highly Sensitive Plasmonics Technologies. *Plasmonics* **2013**, *8*, 411–415.
- (20) Shen, H.; Guillot, N.; Rouxel, J.; Lamy de la Chapelle, M.; Toury, T. Optimized Plasmonic Nanostructures for Improved Sensing Activities. *Opt. Express* **2012**, *20*, 21278–21290.
- (21) Colas, F.; Barchiesi, D.; Kessentini, S.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M. Comparison of Adhesion Layers of Gold on Silicate Glasses for SERS Detection. *J. Opt.* **2015**, *17*, 114010.
- (22) Wang, F.; Shen, Y. R. General Properties of Local Plasmons in Metal Nanostructures. *Phys. Rev. Lett.* **2006**, *97*, 206806.
- (23) Meier, M.; Wokaun, A.; Liao, P. F. Enhanced Fields on Rough Surfaces: Dipolar Interactions Among Particles of Sizes Exceeding the Rayleigh Limit. *J. Opt. Soc. Am. B* **1985**, *2*, 931–949.

- 
- (24) Carron, K. T.; Fluhr, W.; Meier, M.; Wokaun, A.; Lehmann, H. W. Resonances of Two-Dimensional Particle Gratings in Surface-Enhanced Raman Scattering. *J. Opt. Soc. Am. B* **1986**, *3*, 430–440.
- (25) Félidj, N.; Laurent, G.; Aubard, J.; Lévi, G.; Hohenau, A.; Krenn, J. R.; Aussenegg, F. R. Grating-Induced Plasmon Mode in Gold Nanoparticle Arrays. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 221103.
- (26) David, C.; Guillot, N.; Shen, H.; Toury, T.; Lamy de la Chapelle, M. SERS Detection of Biomolecules Using Lithographed Nanoparticles Towards a Reproducible SERS Biosensor. *Nanotechnology* **2010**, *21*, 475501.
- (27) Ross, B. M.; Lee, L. P. Comparison of Near- and Far-Field Measures for Plasmon Resonance of Metallic Nanoparticles. *Opt. Lett.* **2009**, *34*, 896–898.
- (28) Kelly, K. L.; Coronado, E.; Zhao, L. L.; Schatz, G. C. The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *J. Phys. Chem. B* **2003**, *107*, 668–677.
- (29) Alonso-González, P.; Albella, P.; Neubrech, F.; Huck, C.; Chen, J.; Golmar, F.; Casanova, F.; Hueso, L. E.; Pucci, A.; Aizpurua, J. et al. Experimental Verification of the Spectral Shift between Near- and Far-Field Peak Intensities of Plasmonic Infrared Nanoantennas. *Phys. Rev. Lett.* **2013**, *110*, 203902.
- (30) Bryant, G. W.; de Abajo, F. J. G.; Aizpurua, J. Mapping the Plasmon Resonances of Metallic Nanoantennas. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 631–636.
- (31) Zuloaga, J.; Nordlander, P. On the Energy Shift between Near-Field and Far-Field Peak Intensities in Localized Plasmon Systems. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 1280–1283.
- (32) Kats, M. A.; Yu, N.; Genevet, P.; Gaburro, Z.; Capasso, F. Effect of Radiation Damping on the Spectral Response of Plasmonic Components. *Opt. Express* **2011**, *19*, 21748–21753.
- (33) Moreno, F.; Albella, P.; Nieto-Vesperinas, M. Analysis of the Spectral Behavior of Localized Plasmon Resonances in the Near- and Far-Field Regimes. *Langmuir* **2013**, *29*, 6715–6721.
- (34) Picardi, G.; Colas, F. J.; Gillibert, R.; Lamy de la Chapelle, M. Spectral Shift of the Plasmon Resonance Between the Optical Extinction and Absorption of Gold and Aluminum Nanodisks. *J. Phys. Chem. C* **2016**,



TOC graphic

# PLASMONIC PROPERTIES OF ALUMINIUM NANOCYLINDERS IN THE VISIBLE RANGE: SUPPLEMENTARY INFORMATIONS

Raymond Gillibert,<sup>†,‡</sup> Florent Colas,<sup>¶</sup> Ryohei Yasukuni,<sup>†</sup> Gennaro Picardi,<sup>†</sup> and  
Marc Lamy de la Chapelle<sup>\*,†</sup>

*Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue  
Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France, HORIBA Jobin Yvon S.A.S. 231 rue de Lille  
59650 Villeneuve d'Ascq, France, and Laboratoire Ditection, Capteurs et Mesures, Centre  
Bretagne - ZI de la Pointe du Diable - CS 10070 - 29280 Plouzané*

E-mail: marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr

---

\*To whom correspondence should be addressed

<sup>†</sup>Université Paris 13

<sup>‡</sup>HORIBA Jobin Yvon S.A.S.

<sup>¶</sup>Ifremer



## Sample ageing

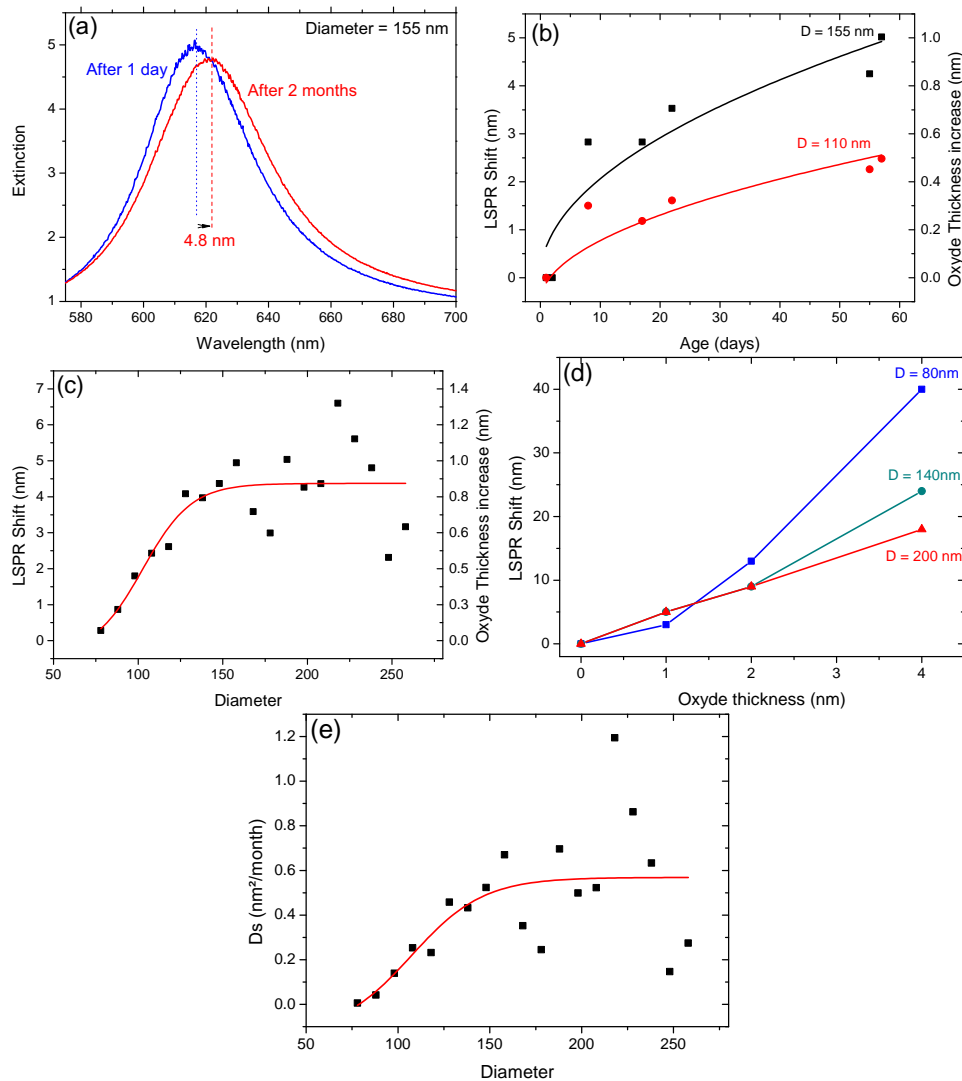


Figure S1: (a) Extinction spectra after 1 day and two months after Al deposition for diameter 155 nm. (b) LSPR Shift and corresponding calculated oxide thickness as a function of time for nanocylinders of diameters 110 nm and 155 nm, and (c) LSPR shift and corresponding calculated oxide thickness after two months for different nanocylinders diameters (d) Simulated LSPR shift as a function of oxide thickness for different nanocylinders diameters. (e) Surface diffusion coefficient ( $D_s$ ) calculated from eq.1 with experimental data as a function of nanocylinders diameter.

It is known that aluminium is oxidised very quickly, but the formed oxide creates a protection layer for the aluminium against the outside air due to the diffusion of the oxygen through the oxide layer, continuously thicker in time. Thus the oxidation is expected to grow

slowly as the square root of time:

$$e(t) = \sqrt{D_s \times t} \quad (1)$$

With  $D_s$  the surfacic diffusion coefficient of oxygen through the alumina protective layer. To minimize the oxidation process, the sample was stored in a desiccated environment.

The LSPR position was recorded day after day to follow the oxidation process (figure S1). For both diameters shown on figure S1(b), we observe a fast redshift of a few nanometres in the first days followed by a slower redshift after a few weeks due to the formation of the aluminium oxide layer (dielectric layer) at the surface of the nanoparticle and to the increase of its thickness with time. The shift evolution can be fitted by a square root function which means that the LSPR shift is proportional to the alumina layer thickness as confirmed by the DDA calculation (figure S1(d)). Indeed for shift lower than 5 nm the LSPR shift is linear with the oxide thickness and nearly similar for all diameters. One can notice that for thickness higher than 5 nm, we observe some divergence between the diameters: the lower diameter, the higher shift. This can be explained by the proportion of oxide layer located at the surface of the nanoparticle relatively to its volume. When the nanocylinder diameter decreases this proportion increases and thus the influence of the oxide layer on the LSPR increases as well.

However, after two months, the final LSPR redshift is always in the range of 5 nm or lower, which implies that our LSPR shift is still linear with the thickness, but not similar for all diameter (figure S1(c)). From figure S1(d), the oxide thickness after two months is estimated for all diameters (right scale on figure S1(b)). The final thickness increases linearly for diameter between 80 and 120 nm and reaches a plateau around 1 nm for diameter higher than 120 nm as often described in the literature.<sup>1-3</sup> One can notice that the thickness is very low and corresponds to few layers of oxide molecules.

Furthermore, using the equation 1, we can determine the diffusion coefficient,  $D_s$ . One can observe a clear dependence of the coefficient with the diameter. The  $D_s$  increases linearly

for diameter between 80 nm and 150 nm and then reaches a plateau above 150 nm around 0.6 nm<sup>2</sup>/month. For diameter lower than 100 nm, the  $D_s$  is lower than 0.2 nm<sup>2</sup>/month that induces a very slow diffusion of the oxygen through the alumina layer. The small diameters are thus nearly not affected by the oxidation process.

## References

- (1) Langhammer, C.; Schwind, M.; Kasemo, B.; Zoric, I. Localized Surface Plasmon Resonances in Aluminum Nanodisks. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 1461–1471.
- (2) Chan, G. H.; Zhao, J.; Schatz, G. C.; Duyne, R. P. V. Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy of Triangular Aluminum Nanoparticles. *J. Phys. Chem. C* **2008**, *112*, 13958–13963.
- (3) Knight, M. W.; King, N. S.; Liu, L.; Everitt, H. O.; Nordlander, P.; Halas, N. J. Aluminum for Plasmonics. *ACS Nano* **2013**, *8*, 834–840.

### **III.2. Plasmonique sur des nanostructures d'aluminium déposées sur un film d'aluminium**

Comme dans le cas de l'or, nous avons voulu étudier l'influence de la présence d'un film métallique en-dessous des nanostructures. Une série de mesures d'extinction a donc été effectuée sur des réseaux de nanocylindres de différents diamètres et avec des périodicités différentes déposés sur un film mince d'Al. Nous avons ainsi pu mettre en évidence l'existence de modes de Bragg comme dans le cas des échantillons en or. Ces modes semblent avoir les mêmes propriétés que ceux observés avec les substrats d'or quelque soit la zone spectrale étudiée. La forte absorption de l'aluminium à 800 nm ne semble pas modifier le comportement du mode de Bragg. Nous avons également pu démontrer un couplage fort entre le mode de Bragg et le mode de plasmon localisé sur ces réseaux. Ainsi, un phénomène d'« anti-crossing » a pu être observé lors de mesures angulaires.

Dans la publication suivante je propose une indexation complète des modes plasmoniques ainsi qu'une description des propriétés plasmoniques de ces réseaux. Les expériences ont été réalisées par moi même et M<sup>elle</sup> Tassadit Tafer, stagiaire en Master 2 dans notre laboratoire.

# Strong coupling between localized surface plasmon and Bragg mode on aluminum nanocylinders grating deposited on aluminum film

Raymond Gillibert,<sup>1,2</sup> Tassadit Tafer,<sup>1</sup> and Marc Lamy de la Chapelle<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, Laboratoire CSPBAT, CNRS, (UMR 7244), 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France

<sup>2</sup> HORIBA Jobin Yvon S.A.S. 231 rue de Lille, 59650 Villeneuve d'Ascq, France

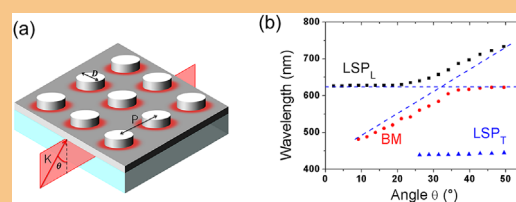
Received 25 October 2016, revised 14 February 2017, accepted 27 March 2017

Published online 23 June 2017

**Keywords** aluminum, nanocylinders, plasmons, surface plasmon resonances

\* Corresponding author: e-mail marc.lamydelachapelle@univ-paris13.fr, Phone: +33-1-48387691

Plasmonic properties of arrays of aluminum nanocylinders produced by electron beam lithography on aluminum thin film were investigated. A localized surface plasmon and Bragg mode were observed. Systematic studies on the nanocylinders size, the grating constant and the excitation angle were experimentally performed in order to determine the dependence of the plasmon position on the modification of the geometrical parameters of the aluminum nanostructures. We demonstrated that both modes can be tuned in the whole visible range. We also observed a strong coupling of the Bragg mode with the localized surface plasmon. In this case, we measured a Rabi energy of 0.2 eV.



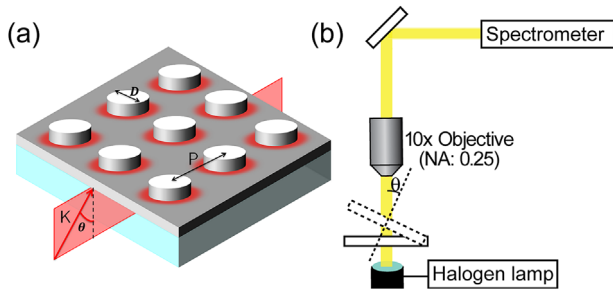
(a) Scheme of aluminum nanograting and excitation configuration. (b) Bragg mode and LSP positions as a function of the angle.

© 2017 WILEY-VCL Verglas Gamba & Co. KAKA, Wertheim

**1 Introduction** In recent years, the interest for non noble materials such as copper and aluminum applied to plasmonics has increased [1, 2], even if their bulk properties exhibit more damping than the most commonly used silver or gold metals [3]. These new materials are much cheaper, which seems very promising for future large scale applications, but they have different surface chemistry with an oxide layer at the surface that could limit the access to the enhanced near-field. The real part of the aluminum permittivity is negative from UV to IR, with inter-band transitions located at 800 nm [4]. This means that nanoparticles with proper geometrical parameters can resonate in this spectral range and the surface plasmon can be tuned in the whole visible range [5] and even further in the IR range [2]. Thus, aluminum is a metal of choice for plasmonic applications in the UV-visible range [6, 7], where the imaginary part of its permittivity is small, permitting a good quality factor on the plasmonic bands [8, 9].

Here, a systematic plasmonics study was performed on Al nanocylinders arrays deposited on Al thin film by changing both the gratings constant and the nanocylinders diameters. Different plasmonic modes were observed and the variations of their positions were monitored in the whole visible range. Hence, we have been able to observe a strong coupling between the localized surface plasmon of the nanocylinders and the Bragg mode formed through the grating and the Al film.

**2 Methods** Square arrays of nanocylinders were produced by electron beam lithography. In the first step, aluminum layer of 30 nm was deposited on a standard BK7 microscopic glass, which was followed by the spin-coating of 80 nm of Poly(methyl methacrylate) (PMMA) on the substrate before annealing for 3 min at 180 °C. The PMMA layer was exposed with an electron beam using a ZEISS scanning electron microscope. The PMMA development



**Figure 1** (a) Scheme of the nanocylinder samples excited in TM configuration ( $P$ , grating constant;  $D$ , nanocylinder diameter;  $\theta$ , tilting angle; and  $K$ , wave vector), (b) setup used for extinction measurements.

**Table 1** Geometrical parameters of the aluminum nanostructures

grating constant (nm)	diameter range (nm)	step (nm)
250	50–200	10
300	50–250	10
400	50–300	10

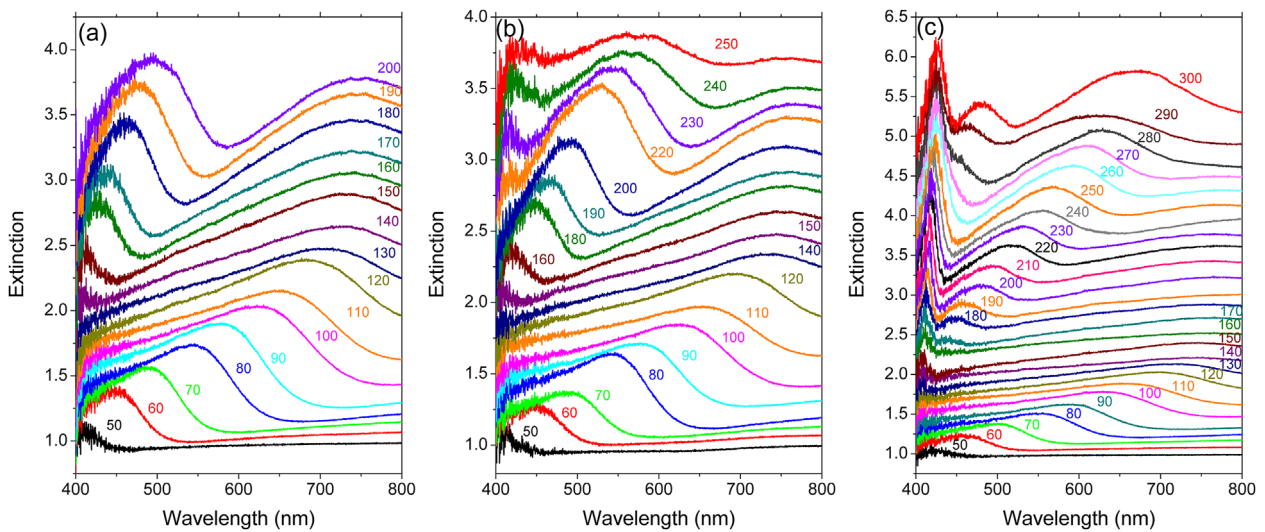
was then done for 40 s in a standard 1:3 methyl isobutyl ketone:isopropanol (MIBK/IPA) solution. Another layer of 30 nm aluminum was then deposited on the substrate before the lift-off process for one night in acetone (see Fig. 1).

Three different values of grating constant were used (250, 300, and 400 nm). For each grating constant, a range of nanocylinders diameters were used see Table 1. The arrays were deposited on a 30 nm aluminum film and nanocylinder height was also 30 nm.

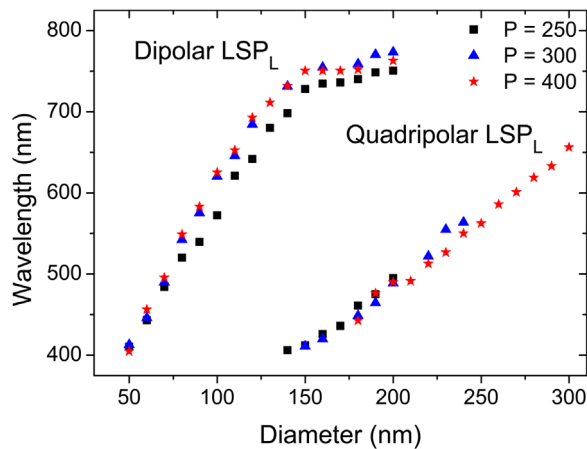
Extinction measurements were performed with an XploRA Raman micro spectrometer (Horiba Scientific) after the removal of the edge filters. A polarizer was placed over a white lamp to excite the nanostructures through the substrate with a TM polarized light, and the transmitted light was

collected with an  $\times 10$  microscope objective (numerical aperture of 0.25). A reference spectrum was acquired on the flat aluminum film and then divided for each diameter by the signal collected on the nanocylinders arrays, to get the extinction spectrum.

**3 Results and discussion** Extinction spectra were recorded at normal incidence ( $\theta = 0^\circ$ ) for all nanocylinder arrays and are presented in Fig. 2. Extinction bands located in the blue range (400–500 nm) can be seen for diameters smaller than 70 nm (Fig. 3). As expected, this extinction band is red-shifted when the diameter increases up to the diameter of 150 nm. This mode can be assigned to the longitudinal dipolar localized surface plasmon ( $LSP_L$ ) in the nanocylinders, the plasmon oscillates parallel to the substrate surface. For diameter higher than 150 nm, the  $LSP_L$  stops red-shifting and stays at a constant position. Moreover, the width of the  $LSP_L$  increases with the diameters. Spectral peaks width is around 50 nm for nanocylinders of diameter 50 nm and goes up to 200 nm for diameters of 200 nm. Both phenomena (stop of the red-shifting and band broadening) can be explained by the presence of the inter-band transitions at 800 nm. When the  $LSP_L$  comes closer to 800 nm, the inter-band transitions induce a larger absorption and as a consequence, a larger damping of the resonance that broadens the LSP resonance. Hence, for big diameters, the observed band is an absorption band at a constant position corresponding to the inter-band transition wavelength (around 800 nm) and is no longer red-shifted when the diameter increases. The intensity of this band increases and becomes more and more dominant on the extinction spectrum when the nanocylinder diameter increases, since the volume of Al increases in the same way. It explains why this band is not observable for the diameter lower than 100 nm and that it becomes very intense for the higher diameters. This observation is confirmed by the modification of the period. Indeed, we observe this band for all



**Figure 2** Extinction spectra at normal incidence for different nanocylinder arrays with different periods: (a) 250 nm, (b) 300 nm, and (c) 400 nm. For each grating's constant all diameters are presented.



**Figure 3** Extinction peaks position as a function of nanocylinders diameter for period 250, 300, and 400 nm.

periods but its intensity decreases when the period increases due to a lower number of nanocylinders at the surface. For diameters above 140 nm a second, plasmonic mode is visible in the low wavelength range. It undergoes red-shift when the diameter increases and exhibits a similar width increase as a function of its spectral position. We have assigned this band as quadripolar  $LSP_L$  resonance.

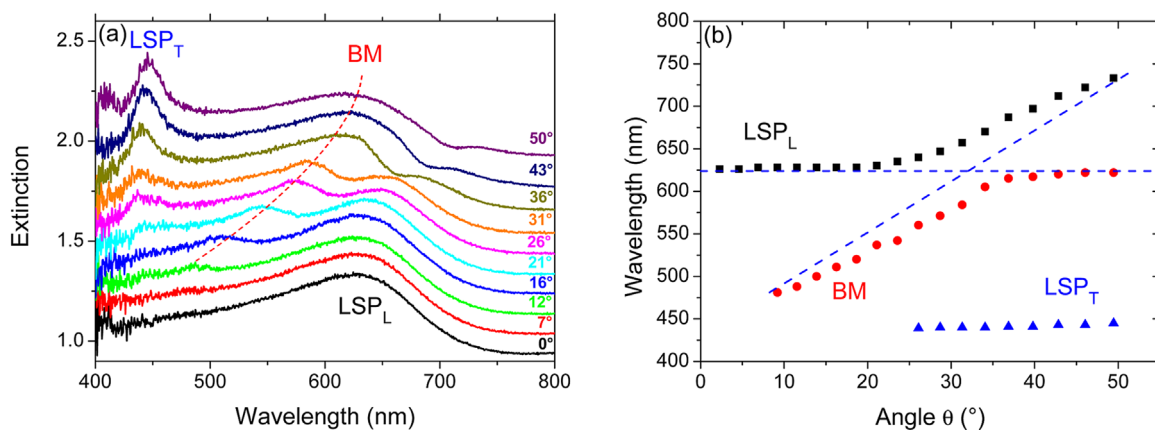
As seen in Fig. 3, the positions of both modes are not modified by the grating constant and only depend on the nanocylinder diameter. This behavior confirms our assignment of these bands to localized surface plasmon. Moreover, the variation of spectral position of both  $LSP_L$  modes is linear on the range 400–750 nm and the slope for the  $LSP_L$  observed at lowest wavelength is half of the one of  $LSP_L$  observed at higher wavelength. This slope relation between both modes confirms that the  $LSP_L$  mode at lowest wavelength is assigned to a higher order resonance mode and thus to a quadripolar  $LSP_L$ .

In the previous studies, similar structures made of gold [10], arrays deposited on a metallic film exhibits a named Bragg mode (BM) corresponding to the coupling of the Bragg

diffraction waves and the propagative surface plasmons on the aluminum film at the metal/air or metal/glass interfaces. This particular BM is visible just above 400 nm (Fig. 3c) for a grating period of 400 nm. This BM is very sharp and does not shift with the cylinder diameters. For the smaller periods of 250 and 300 nm, the BM is out of the spectral range (400–800 nm) and is then not observable on the extinction spectrum.

For grating period 400 nm, we performed extinction measurements for different angles by tilting the sample in TM configuration from 0 to 50°. The 400 nm grating period and nanocylinder diameter of 100 nm were chosen because the BM was visible at normal incidence in the blue range and the  $LSP_L$  is located at 625 nm nearly in middle of the visible range. By tilting the sample, the BM mode is red-shifted due to the modification of the projection of the incident wave vector on the grating. Thus, the BM can be tuned in the whole visible range corresponding to the acquisition range chosen and could cross the  $LSP_L$  position. The extinction spectra recorded at different angles are plotted in Fig. 4a. BM is clearly observable for an angle of 12° close to 500 nm and is linearly red-shifted up to 625 nm when the incident angle increases (Fig. 4b). For angles higher than 36°, its position stops showing red-shift and reaches 625 nm. On the contrary, the  $LSP_L$  position is fixed until an angle of 21° and then starts to show red-shift following the BM's linear trend.

In Fig. 4b, one can observe an anti-crossing behavior between the BM and  $LSP_L$  modes. Both modes cannot resonate at the same frequency and therefore, a band gap is formed at 30° when both modes are expected to have the same position. Such behavior indicates a strong coupling between these modes, which induces a Rabi splitting and a removal of the degeneracy when the energy of the two modes becomes closer to each other. The energy gap between both modes at the anti-crossing position corresponds to the Rabi energy and is relevant for the coupling between the BM and the  $LSP_L$  modes. In our case, we find a Rabi energy of 0.2 eV (high value) which represents 10% of the total energy of the plasmon and correspond to a strong  $LSP/BM$  coupling.



**Figure 4** (a) Extinction spectra for nanocylinders with a diameter of 100 nm and a period of 400 nm with different tilt angles from 0 to 50°. (b) Extinction bands positions as a function of tilting angles.

Similar values for this energy have been reported by Bellessa et al. [11] for the coupling between surface plasmon in a silver film and extinction in an organic semiconductor. Again, a similar Rabi energy was found by Christ et al. [12] for an LSP/guided mode coupling with a plasmonic grating deposited on a dielectric waveguide.

In addition, for angles above  $25^\circ$ , a band located at 425 nm appears and it was assigned as excitation of the transverse LSP resonance ( $LSP_T$ ) that corresponds to an electron oscillation perpendicular to the substrate surface (or along the nanocylinder axis). The  $LSP_T$  position remains clearly unchanged with the tilting angle, confirming that it is a localized plasmon resonance and also, that it is not related to the grating.  $LSP_T$  can be excited when the sample is tilted and its intensity increases when the tilt angle increases.

**4 Conclusions** Systematic studies were performed on square arrays of aluminum nanocylinders located on an aluminum thin film by changing the periodicity as well as the diameters. Such samples exhibit dipolar and quadripolar localized surface plasmon, which can be tuned on the whole visible range. In addition, thanks to the aluminum thin film, we also observed a coupled grating-SPP mode called Bragg mode whose position can also be tuned in the visible range by tilting the sample and changing the wave vector projection on the grating. We demonstrated the strong coupling of Bragg mode with the localized surface plasmon of the nanocylinders. We expect a local field enhancement that follows both the Bragg mode position and the LSP position. We have no clear evidences of the near-field behavior for excitation wavelengths close to the anti-crossing of the plasmonics modes. Spatial localization of the near-field is expected to be mostly distributed on the sides of the nanocylinders, as it was previously demonstrated for similar structures made of gold [13].

**Acknowledgements** The authors acknowledge the ANR P2N PIRANEX project (ANR-12-NANO-0016) for financial support and the *Centrale de Proximité en Nanotechnologies de Paris Nord (CPN2, 99 Avenue Jean-Baptiste Clément 93430 Villetaneuse, France)* to supply the clean room facilities for samples fabrication.

## References

- [1] Q. C. Sun, Y. Ding, S. M. Goodman, H. H. Funke, and P. Nagpal, *Nanoscale* **6**(21), 12450–12457 (2014).
- [2] G. H. Chan, J. Zhao, G. C. Schatz, and R. P.V. Duyne, *The J. Phys. Chem. C* **112**(36), 13958–13963 (2008).
- [3] A. D. Rakić, A. B. Djurišić, J. M. Elazar, and M. L. Majewski, *Appl. Opt.* **37**(22), 5271 (1998).
- [4] H. Ehrenreich, H. Philipp, and B. Segall, *Phys. Rev.* **132**(5), 1918 (1963).
- [5] R. Gillibert, F. Colas, R. Yasukuni, G. Picardi, and M. L. de la Chapelle, *J. Phys. Chem. C* **121**(4), 2402–2409 (2017).
- [6] T. Dörfer, M. Schmitt, and J. Popp, *J. Raman Spectrosc.* **38**(11), 1379–1382 (2007).
- [7] C. Zhang, A. Smirnov, D. Hahn, and H. Grebel, *Chem. Phys. Lett.* **440**(4), 239–243 (2007).
- [8] C. Langhammer, M. Schwind, B. Kasemo, and I. Zoric, *Nano Lett.* **8**(5), 1461–1471 (2008).
- [9] M. W. Knight, N. S. King, L. Liu, H. O. Everitt, P. Nordlander, and N. J. Halas, *ACS Nano* **8**(1), 834–840 (2014), PMID: 24274662.
- [10] R. Gillibert, M. Sarkar, J. F. Bryche, R. Yasukuni, J. Moreau, M. Besbes, G. Barbillon, B. Bartenlian, M. Canva, and M. L. de La Chapelle, *Nanotechnology* **27**(11), 115202 (2016).
- [11] J. Bellessa, C. Bonnand, J. Plenet, and J. Mugnier, *Phys. Rev. Lett.* **93**(3), 036404 (2004).
- [12] A. Christ, S. Tikhodeev, N. Gippius, J. Kuhl, and H. Giessen, *Phys. Rev. Lett.* **91**(18), 183901 (2003).
- [13] R. Gillibert, M. Sarkar, J. Moreau, M. Besbes, M. Canva, and M. L. de la Chapelle, *J. Phys. Chem. C* **120**(48), 27562–27570 (2016).



## Conclusion

En conclusion, nous pouvons dire que l'aluminium présente des propriétés plasmoniques qui peuvent être d'intérêt pour l'avenir avec l'observation de résonances plasmon fines et accordables sur une large gamme spectrale. Nous avons également pu constater que même lorsque l'on rapproche la résonance plasmon des transitions inter-bandes de l'aluminium, il est possible d'obtenir une bande plasmon fine. Ceci indique un fort potentiel pour l'exploitation de tels substrats comme capteur LSPR. De plus, même sous la forme de nanostructures, l'aluminium semble stable au fil des mois. Cet intérêt pour l'aluminium est renforcé par les études thermiques menées au sein du groupe montrant un fort potentiel pour un échauffement local par l'intermédiaire de nanostructures d' $\text{Al}^3$ . De telles nanostructures pourraient alors être exploitées dans le cadre d'applications en hyperthermie.

Cependant la forte absorption de ce métal limite son utilisation en diffusion Raman exaltée de surface lorsque l'excitation se situe dans le rouge. Nous avons ainsi pu mettre en évidence de faibles facteurs d'exaltation. Ce matériau ne présente donc pas d'intérêt pour le projet Piranex et nous avons donc abandonné nos investigations concernant les substrats d'aluminium dans la suite de cette thèse. Par contre, ce métal semble plus intéressant pour des longueurs d'onde d'excitation inférieures à 600 nm et dans le proche UV<sup>4</sup>. Par manque de temps il ne me fut pas possible d'effectuer des expériences supplémentaires. Cependant, des études complémentaires sur le SERS avec des longueurs d'onde inférieures à 600 nm et avec d'autres géométries de nanostructure doivent être menées pour confirmer cette hypothèse. Pour finir, afin d'accrocher des molécules sonde de manière covalente à la surface des nanostructures d'aluminium, nous comptons aussi utiliser dans l'avenir des molécules possédant un groupement carboxylique qui présente une forte affinité avec l'oxyde d'aluminium<sup>5</sup> et ainsi être en mesure d'effectuer de nouvelles études LSPR et SERS sur ce type d'échantillons.

## Bibliographie

1. Johnson, P. B. & Christy, R. W. Optical Constants of the Noble Metals. *Phys. Rev. B* **6**, 4370–4379 (1972).
2. Rakić, A. D., Djurišić, A. B., Elazar, J. M. & Majewski, M. L. Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices. *Appl. Opt.* **37**, 5271 (1998).
3. Picardi, G., Colas, F. J., Gillibert, R. & de la Chapelle, M. L. Spectral Shift of the Plasmon Resonance Between the Optical Extinction and Absorption of Gold and Aluminum Nanodisks. *J. Phys. Chem. C* **120**, 26025–26033 (2016).
4. Sigle, D. O., Perkins, E., Baumberg, J. J. & Mahajan, S. Reproducible Deep-UV SERRS on Aluminum Nanovoids. *J. Phys. Chem. Lett.* **4**, 1449–1452 (2013).
5. Jouet, R. J. *et al.* Surface Passivation of Bare Aluminum Nanoparticles Using Perfluoroalkyl Carboxylic Acids. *Chem. Mater.* **17**, 2987–2996 (2005).



## Chapitre IV. Détection par SERS de l'ochratoxine

Introduction .....	129
IV.1. Présentation de l'ochratoxine.....	130
IV.2. Études des aptamers par spectroscopie Raman et par SERS .....	132
IV.2.1. Présentation des aptamers .....	132
IV.2.2. Étude Raman et SERS.....	134
IV.3. Détection de l'ochratoxine .....	138
Conclusion.....	143
Bibliographie.....	144

### Introduction

Dans ce chapitre nous allons nous intéresser à la détection de l'ochratoxine par effet SERS. Pour cette détection, notre approche consiste notamment en l'utilisation d'un substrat de nanostructures d'or recouvertes d'un aptamer. Ce dernier est un biorécepteur spécifique de la molécule cible et dont l'affinité est maximale avec l'ochratoxine, ce qui minimise les interactions avec d'autres molécules.

Pour proposer une détection sans ambiguïté de l'ochratoxine, nous avons, dans un premier temps effectué une étude de l'aptamer seul par spectroscopie Raman et par SERS pour déterminer le spectre de référence du capteur sans la molécule cible. Dans un deuxième temps, j'ai développé un protocole de détection de l'ochratoxine par SERS.

## IV.1. Présentation de l'ochratoxine

L'ochratoxine est une mycotoxine, produite par différents fungi, *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus carbonarius*, qui poussent aisément sur la nourriture, en particulier, les céréales, les grains de café, la viande de porc, et le raisin<sup>1</sup>. Ces fungi peuvent également se trouver dans des pièces humides<sup>2</sup> ou des conduits de chauffage<sup>3</sup> et relâcher de l'ochratoxine dans l'environnement. La structure de l'ochratoxine A (OTA) est présentée figure 1. Nous pouvons constater la présence de deux cycles aromatiques ainsi que d'un groupement carboxylique, d'un groupement amide et d'une cétone. L'ensemble de ces groupements offriront une signature spectrale intense car ils ont une forte section efficace de diffusion Raman.

### Ochratoxine A

Masse: 403.8 Da

Soluble dans l'éthanol et le méthanol

Solubilité dans l'eau: 2.44  $\mu$ M

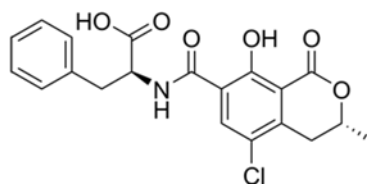


Figure 1: Formule chimique de l'ochratoxine A

Il est connu depuis longtemps que l'ochratoxine est néphrotoxique<sup>4,5,6</sup> et l'absorption d'aliments contaminés ou l'exposition prolongée à un environnement contaminé peuvent entraîner des insuffisances rénales chez l'homme. Cette toxine est également génotoxique et est donc potentiellement cancérigène<sup>7</sup>. De plus, son élimination est très lente, entraînant un effet d'accumulation en cas d'expositions répétées ce qui augmente les risques associés. La toxicité létale a été étudiée sur des rats<sup>8</sup> et la DL50 est d'environ 28 mg/kg de rat.

Les différents organismes de régulation limitent donc sa concentration dans la nourriture. L'autorité européenne de sécurité des aliments (AESA) a décrété qu'un apport acceptable en toxine ne devait pas dépasser 120 ng par kilogramme de corps humain sur une semaine. La réglementation européenne N° 123/2005 détaille les concentrations maximales autorisées dans la nourriture. Une concentration maximale de 5 ppb est autorisée dans les grains bruts des différentes céréales (blé, orge, riz, sarrasin...) et une concentration maximale de 2 ppb est autorisée dans les vins et les jus de raisins. C'est cette dernière limite qui nous intéresse car le projet Piranex a pour but de détecter l'ochratoxine dans le vin. Il faut également noter que pour la réglementation canadienne la concentration maximale dans le vin est de 1 ppb et qu'en matière de nourriture destinée aux nourrissons, la concentration ne doit pas excéder 0,5 ppb. Cela nous donne une cible pour la limite de détection à atteindre.

À l'heure actuelle l'ochratoxine est détectable à l'aide d'un test ELISA<sup>9</sup> dont la limite de détection est à 0,5 ppb et qui permet de quantifier la concentration en toxine jusqu'à 10 ppb. Ce test est donc tout à fait adapté au contrôle qualité en agro-alimentaire. De tels tests sont disponibles sur le marché et sont couramment utilisés. Cependant, les tests ELISA nécessitent plusieurs heures afin d'être réalisés. C'est pourquoi nous proposons de développer un protocole SPRI/SERS qui serait plus rapide et qui permettrait dans un avenir proche de

détecter simultanément d'autres toxines grâce aux possibilités de multiplexage offert par l'appareil nouvellement développé dans le projet Piranex.

Dans le test ELISA, la sonde utilisée pour capturer l'ochratoxine est un anticorps monoclonal. Ces anticorps sont coûteux et leur stabilité est limitée dans le temps. De plus ces anticorps ont une très grande taille (quinzaine de nanomètres) et ne peuvent donc être utilisés en SERS car dans ce cas la cible se trouverait en dehors de la zone d'exaltation qui ne fait que quelques nanomètres. Nous avons donc décidé de nous focaliser sur un système de sonde appelé aptamer et constitué d'un oligonucléotide.

## IV.2. Études des aptamers par spectroscopie Raman et par SERS

### IV.2.1. Présentation des aptamers

Un aptamer est un simple brin d'ADN (ssDNA), appelé également oligonucléotide. Les aptamers sont développés dans le but de maximiser leur interaction avec une molécule cible. Ils peuvent donc se substituer à d'autres sondes et notamment aux anticorps ou à leurs fragments. L'ADN (Acide désoxyribonucléique) est constituée de bases (Adénine, Cytosine, Guanine, Thymines (Figure 2)), liées entre elles par un sucre, le désoxyribose, et par des groupements phosphate. Un simple brin d'ADN est donc caractérisé par une suite des bases ATGC, présentées sur la figure 2.

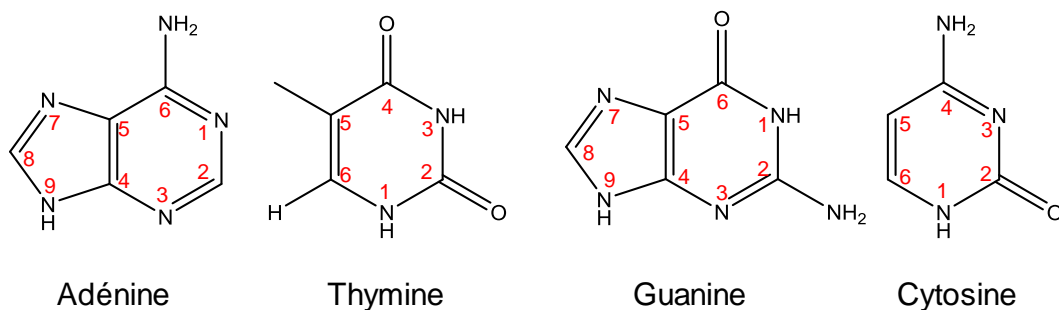


Figure 2: Structures des différentes bases composant l'ADN

Ces bases sont complémentaires et se lient deux à deux par des forces de Van Der Waals. L'Adénine est complémentaire de la Thymines et la Guanine de la Cytosine. Grâce à ces forces électrostatiques, chaque brin d'ADN peut se lier à un autre brin complémentaire formant ainsi une double hélice, découverte par Watson et Crick<sup>10</sup>. Il y a une chiralité dans la structure de l'ADN, ce qui permet de définir un sens canonique de lecture. Une séquence commence au groupement phosphate libre situé en 5' du désoxyribose qui débute la séquence et se finit à l'alcool libre situé sur le carbone 3' du désoxyribose terminal. Afin que les deux hélices puissent s'imbriquer et former une double hélice, chaque base est associée à sa base conjuguée et l'ordre des bases est inversé de 5' à 3'. Ainsi, sur l'exemple présenté sur la Figure 3, la séquence complémentaire de ACTG devient CAGT.

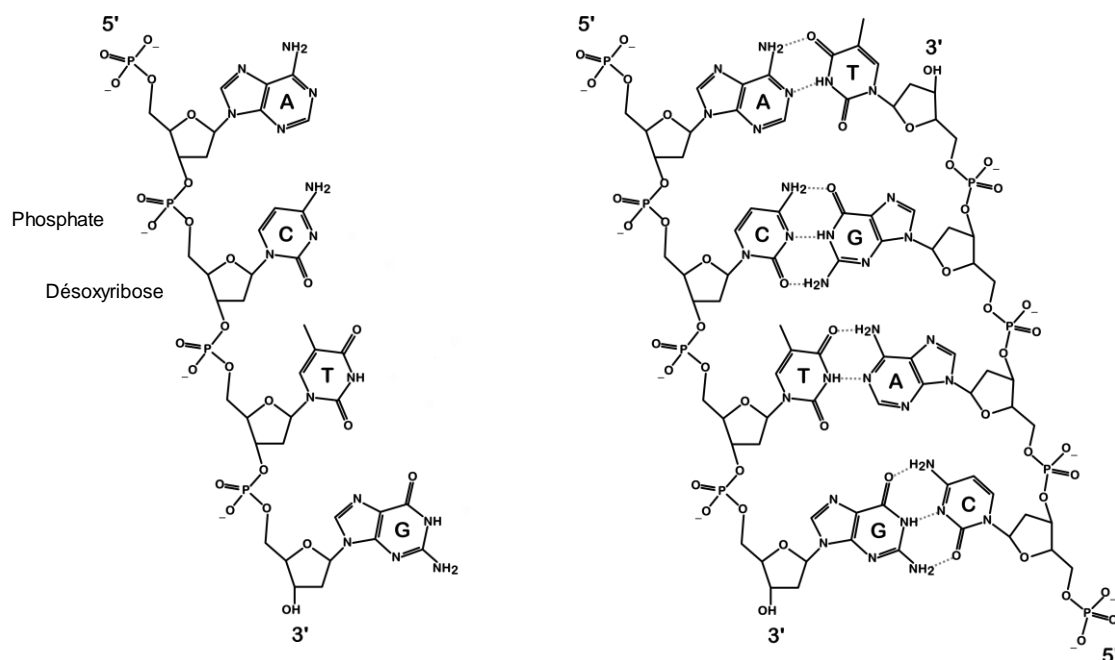


Figure 3: Structure d'un simple brin d'ADN de séquence ACTG (gauche) et appariement avec sa séquence complémentaire CAGT donnant un double brin d'ADN (droite).

En vue de la détection de l'ochratoxine, un aptamer a été sélectionné par méthode SPR. Lors de ces tests, plusieurs séquences ont été utilisées et celle présentant la plus grande affinité avec la molécule cible a été choisie pour être utilisée au sein du capteur.

Cette séquence est la suivante: 5' GAT CGG GTG TGG GTG GCG TAA AGG GAG CAT CGG ACA 3' et a été proposée dans les références<sup>11,12</sup>.

Une chaîne de six carbones, terminée par un thiol est accrochée en extrémité 5' de l'aptamer. Cette extrémité pourra ainsi s'accrocher à la surface de l'or pour fonctionnaliser notre échantillon.

Dans le cadre du projet nanoantenna, un aptamer fut également développé pour la détection de la protéine Manganèse super oxyde dismutase (MnSOD).<sup>13</sup> Le protocole de détection a donc déjà été défini et celui-ci permet de détecter la présence de cette protéine dans du sérum ou de la salive à une concentration nanomolaire. La quantification de la MnSOD dans des fluides biologiques a un intérêt médical car celle-ci joue un rôle important dans la réduction du stress oxydatif. Ainsi, sa concentration est modifiée lors de l'apparition de cancers ou d'autres maladies, même dans la phase pré-symptomatique. Un capteur de MnSOD serait alors une aide au diagnostic précoce du cancer, et c'est dans ce but qu'il fut développé.

L'aptamer pour la protéine MnSOD a la séquence suivante : 5' TT TTT TTT TTT TTC TTC TCT AGC TGA ATA ACC GGA AGT AAC TCA TCG TTT CGA TGA GTT ACT TCC GGT TAT TCA GCT AGA GAA G 3'.

Il est à noter que les 14 premières bases, qui sont des thymines ont été ajoutées en tant qu'espaceur entre la surface d'or et l'aptamer afin de maximiser l'interaction avec la molécule



cible, comme démontré par B. Waybrant *et al.*<sup>14</sup>. En effet il semblerait que la thymine étant hydrophobe, l'ajout de cette chaîne permet une meilleure interaction avec la protéine MnSOD qui est également hydrophobe.

#### IV.2.2. Étude Raman et SERS

Nous allons dans un premier temps étudier le spectre Raman de chacun de ces oligonucléotides afin de comprendre l'origine de chaque bande. Pour ce faire, nous avons laissé sécher une goutte de solution concentrée à 20  $\mu\text{M}$  d'oligonucléotide sur un substrat de quartz, avant d'effectuer un spectre Raman sur la zone périphérique, où la matière déposée est la plus concentrée. Les deux spectres sont présentés figure 3.

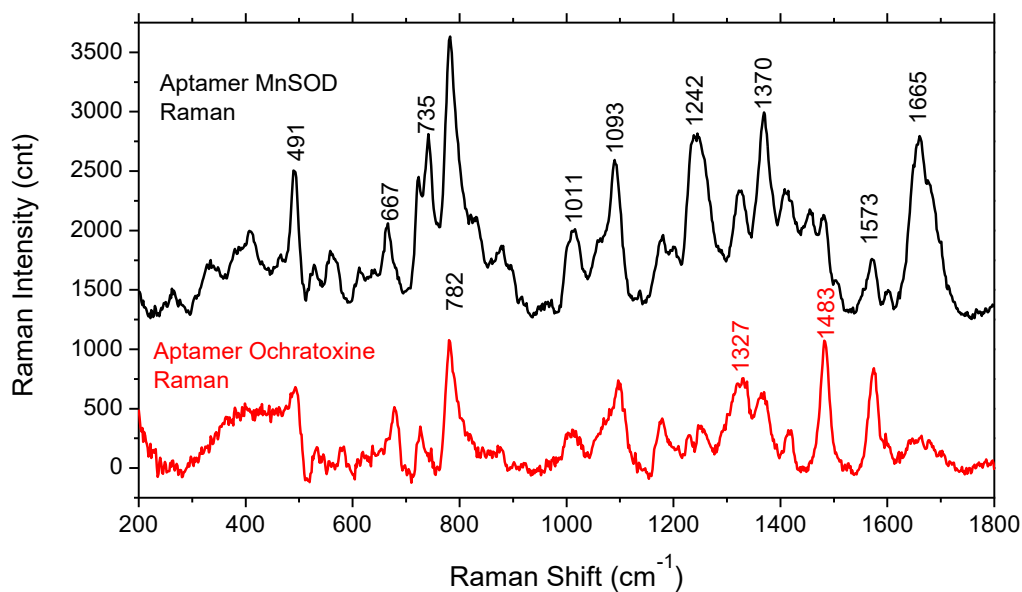


Figure 4: Spectres Raman des aptamers spécifiques de la MnSOD (noir) et de l'ochratoxine (rouge).

On peut constater que la plupart des bandes est visible sur les deux spectres, mais avec des intensités relatives différentes. Cette observation se justifie en considérant que le spectre final observé se résume à la superposition des spectres de chaque base qui constitue le brin d'ADN. Les bases étant liées à des saccharides connectés par des phosphates, on s'attend soit à des décalages spectraux des bandes Raman par rapport aux bases isolées ou selon l'ordre des bases dans la séquence de l'aptamer, soit à de nouvelles bandes. Ainsi, nous pouvons résumer nos aptamers à une chaîne de dextrose-phosphate liée aux bases et la composition de chacun de nos aptamers se résume à :

Aptamère de l'ochratoxine : 22% Adénine, 17% Thymine, **47% Guanine**, 14% Cytosine.

Aptamère de la MnSOD : 21% Adénine, **44% Thymine**, 16% Guanine, 17% Cytosine.

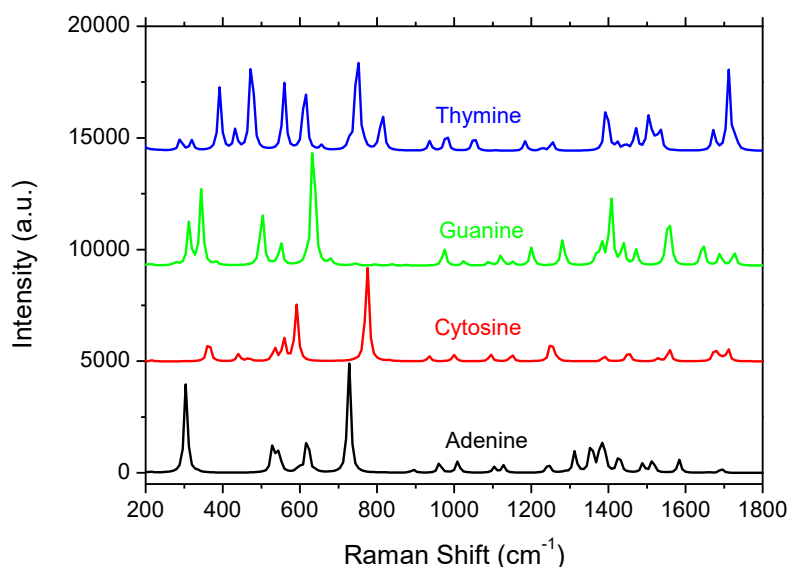


Figure 5: Spectres Raman simulés par DFT des bases adénine, cytosine, guanine, thymine.

Les spectres tracés en Figure 5, sont issus de simulations moléculaires quantiques utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT, *Density Functional Theory*). Elles ont été réalisées par Shivalika Tanwar, doctorante au laboratoire CSPBAT, travaillant sur la modélisation moléculaire et la cristallographie. Nous avons utilisé ces spectres comme base d'interprétation des bandes Raman des aptamers. Une autre source bibliographique correspond aux travaux de C. Otto *et al.*<sup>15</sup> (1986) qui proposent une attribution détaillée des différentes bandes des bases d'ADN visibles en diffusion Raman et en SERS. Enfin les travaux de B. Prescott *et al.*<sup>16</sup> ont permis une analyse des spectres de brins d'ADN dans différentes conformations. Nous avons utilisé ces résultats afin d'effectuer une attribution des bandes les plus intenses de nos spectres (Tableau 1).

Tableau 1. Attribution des principales bandes Raman de nos aptamers			
$\nu$ (cm <sup>-1</sup> )	Bases attribuées	Vibration	Dominant
1665	T / G / C	C=O (2 cétones dan T)	Aptamer MnSOD
1573	G	N <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> -C <sub>5</sub>	Aptamer OTA
1483	G	N <sub>1</sub> -C <sub>2</sub> et N <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Aptamer OTA
1370	T	$\delta$ (C <sub>5</sub> -Methyl)	Aptamer MnSOD
1327	A / G	N <sub>7</sub> entre les C <sub>5</sub> et C <sub>8</sub>	Aptamer OTA
1242	T	Cycle stretching	Aptamer MnSOD
1093	Phosphate	$\nu$ (PO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Égal
1011	Desox.-Phosp.	P-O-C, antisymmetric stretching	Égal
782	C / T	Ring breathing mode	Égal
735	A	Ring stretching	Égal
667	T/ G / A		Égal

La bande assez large, visible sur les deux spectres, située à 1665 cm<sup>-1</sup> correspond aux vibrations en élongation des cétones des bases T, G et C. Ceci explique pourquoi cette bande

est l'une des plus intenses dans le cas de l'aptamère de la MnSOD, qui contient 44% de thymine et la thymine contient deux cétones. Les bandes situées à 1483 et 1573  $\text{cm}^{-1}$  correspondent principalement à des vibrations de la guanine et sont donc dominantes sur le spectre de l'aptamère de l'ochratoxine.

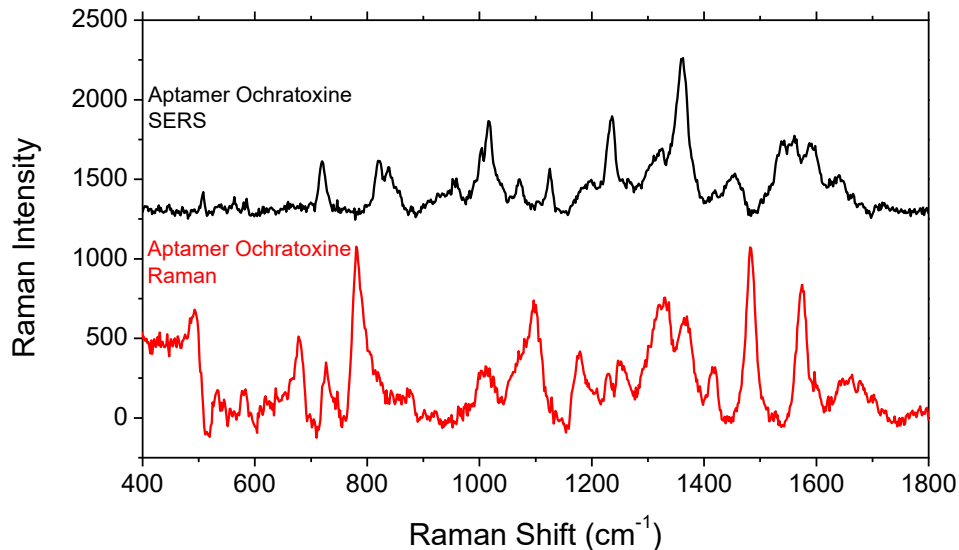


Figure 6 : Comparaison des spectres Raman (rouge) et SERS (noir) de l'aptamère spécifique de l'ochratoxine.

Si l'on compare maintenant les spectres SERS et Raman de l'aptamère de l'ochratoxine, (Figure 6), on peut constater un grand nombre de différences spectrales. En effet on constate en SERS la disparition de certaines bandes. Pour expliquer de telles différences, on peut tout d'abord supposer que le brin d'ADN subit un changement de conformation lorsqu'il est séché et accroché de manière covalente à la surface d'or. On peut ainsi comprendre qu'il y ait un léger décalage des bandes Raman ainsi qu'un changement de leur intensité relative. Mais cette hypothèse ne peut expliquer une si grande différence entre les spectres. Nous savons que notre brin d'ADN faisant 36 nucléotides a une longueur dépliée de 12 nm (environ un tiers de nanomètre par base<sup>17</sup>). Or l'intensité SERS décroît de manière exponentielle lorsque la molécule s'éloigne de la surface sur une distance de l'ordre de quelques nanomètres. Ainsi, si le brin d'ADN est orthogonal à la surface, seules les premières bases du brin seront visibles, ce qui explique le nombre réduit de bandes Raman observables sur le spectre SERS. De manière plus détaillée, on peut observer que la bande à 1483  $\text{cm}^{-1}$  attribuée à la guanine disparaît complètement. Ce comportement peut également s'expliquer par le fait que les règles de sélection en SERS sont différentes de celles en diffusion Raman classique. La disparition de cette même bande fut observée par C. Otto *et al.*<sup>15</sup> sur la guanine seule. La guanine étant la première base de notre chaîne et composant 47% de notre séquence totale, ce résultat était attendu. On constate de même la disparition des bandes phosphate  $\nu(\text{PO}_2^-)$  à 1093  $\text{cm}^{-1}$ . Étant donné qu'il s'agit d'un groupement chargé, il n'est pas étonnant que l'interaction chimique avec l'or change drastiquement le comportement de la bande. La bande située à 782  $\text{cm}^{-1}$ , quant à elle, se décale vers les plus hautes fréquences et baisse d'intensité.

En conclusion, nous pouvons dire que l'ensemble des séquences concernées ont été caractérisées en SERS et que les principales composantes du spectre ont été identifiées. Pour ce qui est de la MnSOD, l'aptamer a déjà été caractérisé et utilisé en SERS et a permis d'obtenir de bon résultats en terme de détection de la MnSOD.

### IV.3. Détection de l'ochratoxine

Maintenant que nous avons déterminé l'origine des spectres SERS de l'aptamer, nous pouvons passer à la détection de l'ochratoxine.

L'aptamer a été acheté à la société Eurogentec. La séquence commandée est : HS(C<sub>6</sub>)-5' GAT CGG GTG TGG GTG GCG TAA AGG GAG CAT CGG ACA 3'. À l'extrémité 5' du simple brin d'ADN, la séquence commandée présente une chaîne de 6 carbones terminée par le groupement thiol afin que le brin d'ADN puisse s'accrocher de manière covalente avec la surface d'or.

Tout d'abord nous avons fabriqué un substrat SERS, qui ne requiert aucune technique de lithographie et qui est constitué d'une lamelle de microscope standard en verre sur lequel nous avons déposé 5 nm d'or par évaporation thermique. Comme l'or mouille mal le verre, il se forme des nano-îlots d'or sur la surface de la lamelle (Figure 7a) formant un substrat SERS. La raison de l'utilisation de tels substrats est qu'ils sont facile à produire, que leur coût de fabrication est faible et qu'ils sont très simple d'utilisation. Ainsi ces substrats sont adaptés aux nombreux tests nécessaires à la définition des protocoles de fonctionnalisation. Nous nous sommes donc orientés vers ce choix afin de ne pas devoir utiliser de nombreux échantillons lithographiés qui sont plus longs à fabriquer.

Dans un second temps, nous avons fonctionnalisé la surface du film rugueux d'or avec l'aptamer, en déposant une goutte de solution concentrée à 10 µM pendant toute une nuit avant de rincer à l'eau distillée.

Ensuite, la surface a été bloquée avec du 6-mercaptohexanol (MOH) afin de couvrir la surface d'or entre les aptamers, de sorte qu'aucune molécule ne vienne s'adsorber directement sur la surface d'or nue et ne soit détectée. Un schéma de principe est présenté Figure 7.

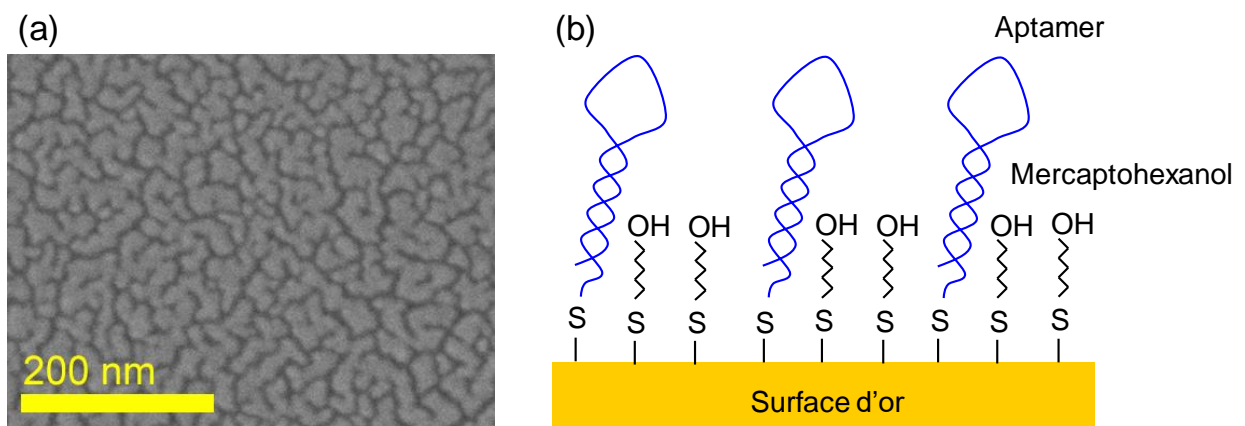


Figure 7: (a) Image MEB d'un film rugueux d'or utilisé comme substrat SERS. (b) Schéma de principe de la fonctionnalisation de surface de notre substrat SERS. Les aptamers vont permettre la capture de la molécule cible et le mercaptohexanol évite toute adsorption non spécifique sur la surface d'or.

À chaque étape, une série de spectres SERS a été acquise sur l'échantillon, afin de contrôler parfaitement l'évolution de la fonctionnalisation. L'acquisition pour tous les spectres qui suivent fut effectuée avec un objectif de grossissement 80 ayant une ouverture numérique de 0.75, la puissance du laser à 660 nm fut fixée à environ 288  $\mu\text{W}$  (1%) sur le spectromètre XploRa, en utilisant le réseau de diffraction 1200T offrant une résolution spectrale d'environ  $5\text{ cm}^{-1}$ , la largeur des fentes à l'entrée du spectromètre fut fixée à  $100\text{ }\mu\text{m}$  et le diamètre du trou confocal fut fixé à  $300\text{ }\mu\text{m}$  enfin chaque spectre fut intégré sur trois acquisitions de 20 secondes. L'ensemble des spectres est présenté Figure 8. En noir est présentée une référence du MOH seul sur un film rugueux. On constate ainsi que le spectre final de l'échantillon fonctionnalisé est proche de la somme des spectres du MOH et de l'aptamer, sauf pour la large bande située autour des  $1600\text{ cm}^{-1}$ , qui disparaît presque entièrement lors de l'ajout du MOH, et pour la bande proche des  $950\text{ cm}^{-1}$ , qui disparaît également lors de l'ajout du MOH. Nous pouvons en déduire qu'en présence de l'agent bloquant, nous avons une réorientation de l'aptamer qui change l'intensité relative des bandes SERS que l'on observe.

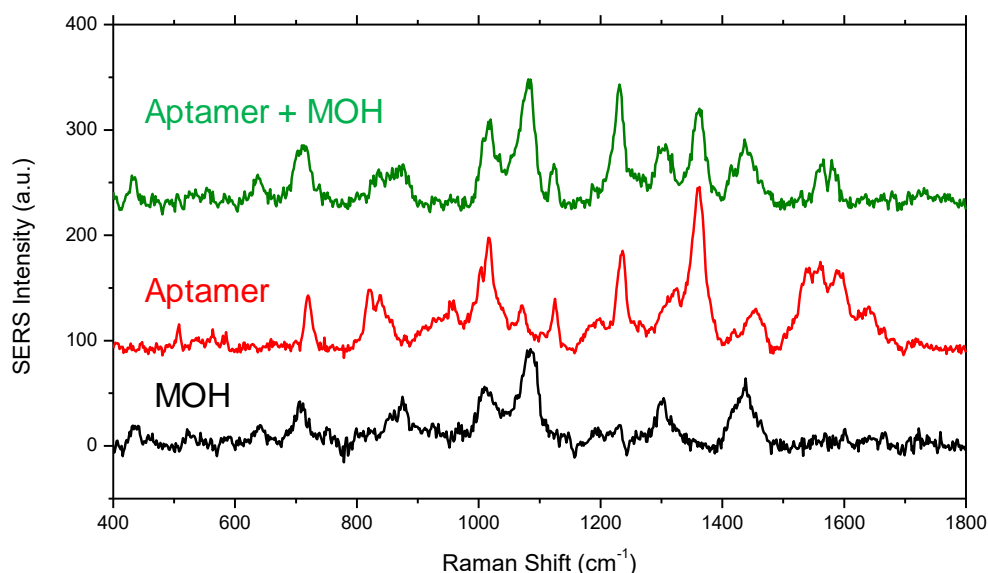


Figure 8: Spectres SERS sur un film rugueux de l'agent de blocage seul, MOH (noir), de l'aptamer seul (rouge), et de l'aptamer après ajout de mercaptohexanol (vert).

Avant d'effectuer un test de détection, nous avons voulu caractériser la molécule cible en Raman et en SERS. Nous avons donc effectué une mesure Raman de la poudre solide d'ochratoxine et nous avons également déposé une goutte de solution à 1 mM d'ochratoxine sur un substrat d'or rugueux, avant de rincer ce dernier et d'effectuer une mesure SERS. Les spectres sont présentés Figure 9. Le spectre SERS et le spectre Raman ont des bandes communes et on constate un élargissement des bandes en SERS.

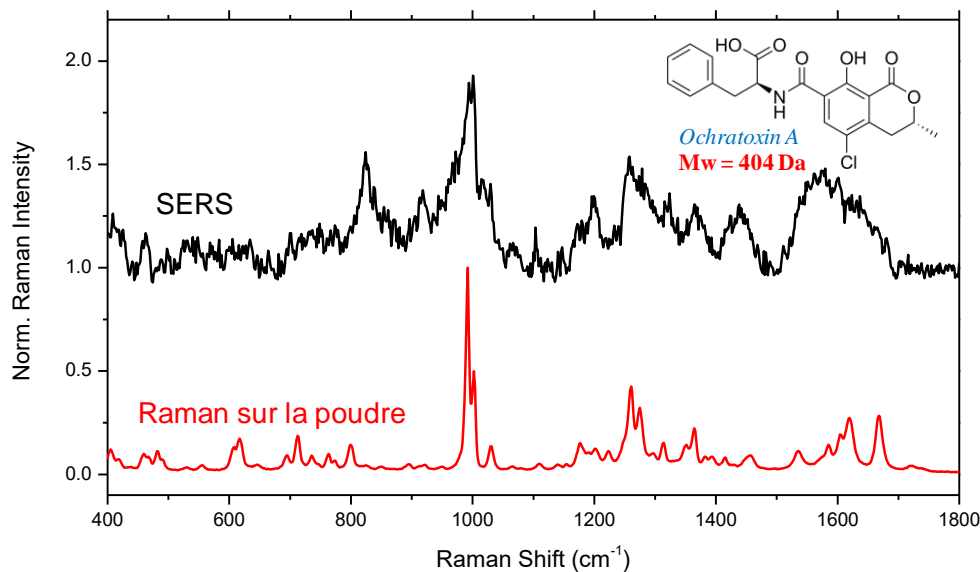


Figure 9 : Spectres Raman (rouge) et SERS (noir) de l'ochratoxine A.

Après avoir complètement caractérisé les molécules d'intérêt, nous avons déposé une solution d'ochratoxine de concentration 10 pM sur la surface d'or rugueuse fonctionnalisée avec l'aptamer. L'ochratoxine a été diluée dans une solution de KCl à 1 M, de sorte que la solution impose une forte pression ionique sur l'aptamer, ce qui mène à son dépliement. Un temps d'incubation d'une heure a été appliqué afin que les molécules d'ochratoxine aient le temps de s'accrocher à l'aptamer. L'échantillon a ensuite été abondamment rincé à l'eau distillée afin d'éliminer toute adsorption non spécifique des molécules d'ochratoxine sur le substrat, ainsi que le tampon salin. L'échantillon a ensuite été séché et caractérisé en SERS. Le même protocole a été répété 8 fois pour des concentrations supérieures (augmentation d'une décade pour chaque nouvelle concentration). L'ensemble des spectres est présenté figure 10. Le spectre noir est le spectre de référence avant ajout de l'ochratoxine. Au-dessus sont présentés les spectres obtenus pour des concentrations croissantes par décade. Lorsque la concentration d'ochratoxine augmente, une évolution du spectre est visible, sur les bandes situées à 700, 850 et 1075  $\text{cm}^{-1}$ , qui baissent d'intensité avec la concentration. A contrario, l'intensité de la bande située autour des 1600  $\text{cm}^{-1}$ , très large et à peine visible en l'absence d'ochratoxine augmente progressivement pour les fortes concentrations d'ochratoxine.

Nous nous attendions naïvement à voir le spectre de l'ochratoxine s'ajouter au spectre de l'aptamer. Cependant, il semblerait que le changement de conformation dû au repliement du brin d'ADN autour de la molécule ait plus d'influence sur le spectre SERS que la molécule d'ochratoxine elle-même. Enfin, même si l'évolution spectrale est ténue, il est possible de voir la différence spectrale à partir d'une concentration nanomolaire, ce qui est suffisant pour une application industrielle.

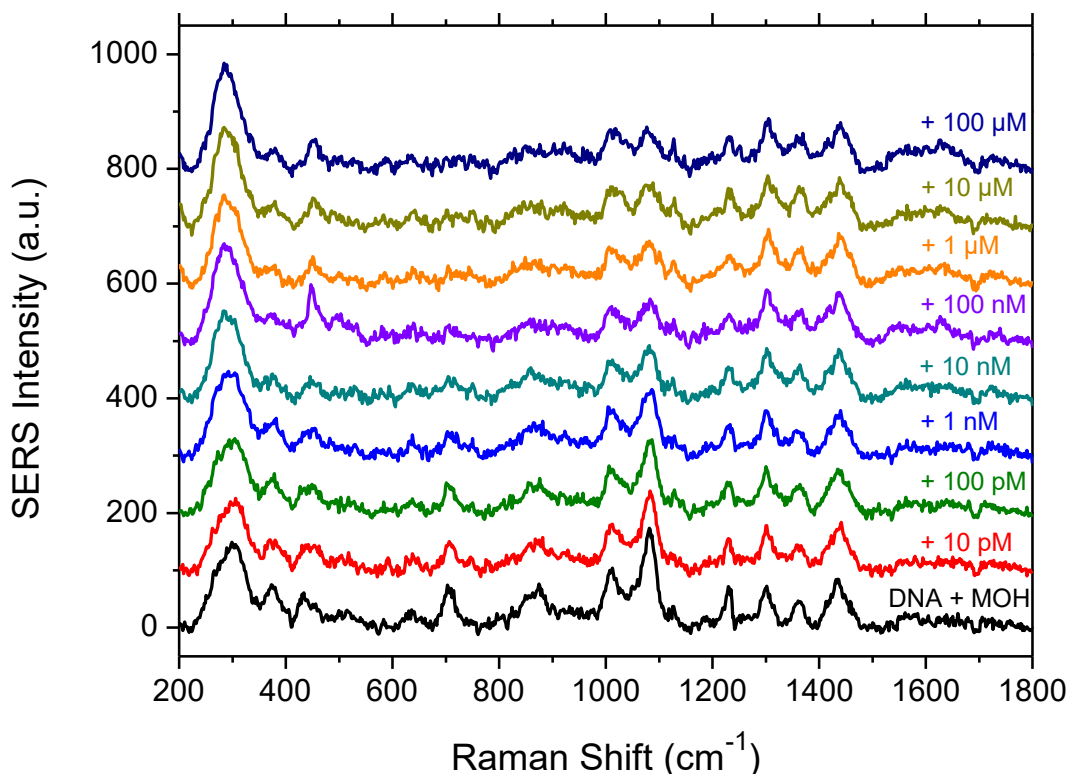


Figure 10: Spectres SERS d'un échantillon fonctionnalisé avec l'aptamer et le MOH (noir, bas) puis après l'ajout des différentes concentrations d'ochratoxine.

Comme nous voulions quantifier précisément la concentration en ochratoxine et être capable de détecter les concentrations les plus faibles, nous avons fait appel à des modèles statistiques *Partial Least Square Regression* (PLSR) pour analyser les spectres. Le docteur Mohamed Triba m'a permis d'utiliser cet outil qu'il développe lui-même au sein du laboratoire. Ainsi, l'ensemble des spectres acquis furent libellés par la concentration d'ochratoxine à laquelle ils correspondaient et une régression linéaire sur l'ensemble des variables du spectre fut calculée, permettant la création d'un modèle prédictif. Une composante prédictive, c'est-à-dire séparant les spectres et correspondant à une combinaison linéaire des variables du spectre, a été calculée. Cette composante est représentée figure 11a. Le coefficient de corrélation est codé dans la couleur du spectre, ce qui permet de confirmer ainsi ce que l'on voyait difficilement à l'œil, c'est-à-dire que la baisse de l'intensité des bandes situées à 700, 850 et 1075  $\text{cm}^{-1}$  est très fortement corrélée à l'augmentation de la concentration en ochratoxine. Cela confirme également la corrélation positive sur les bandes situées à 280 et 1600  $\text{cm}^{-1}$ . Sur la figure 11b, est tracé le score des deux composantes principales pour chaque spectre : la composante prédictive, qui sépare les spectres en fonction de la concentration d'ochratoxine et une composante orthogonale représentée en ordonnée qui n'est pas prédictive et qui correspond à une variation aléatoire indépendante de la concentration.



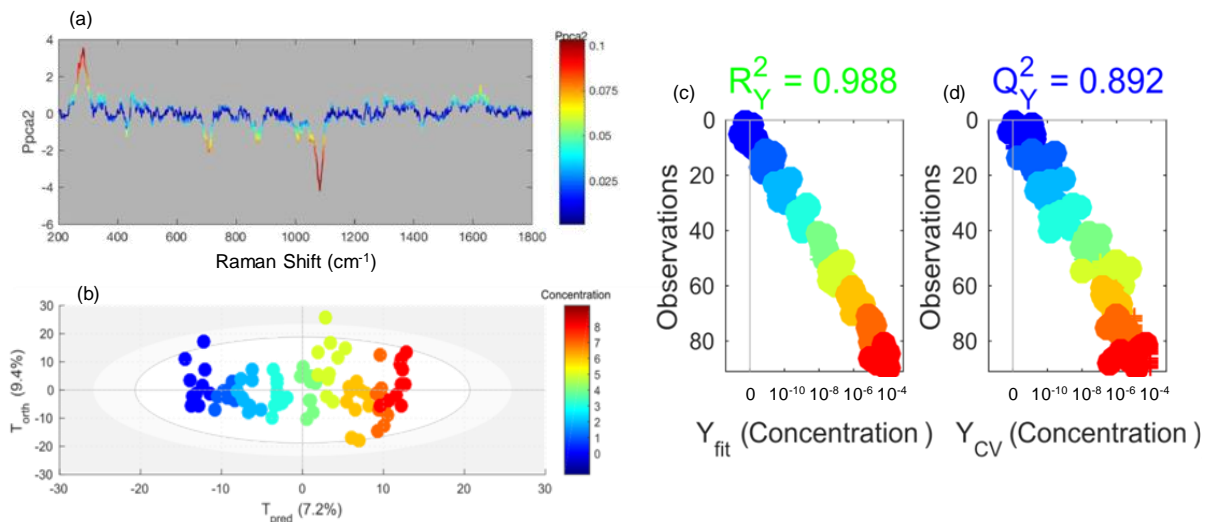


Figure 11 : Résultats de la PLSR : (a) image des coefficients de la composante séparant les spectres en fonction de la concentration, (b) tracé des deux composantes principales pour chaque spectre, (c) prédiction de la concentration pour chaque spectre acquis (d) modèle de validation croisée Monte-Carlo.

En Figure 11c, est tracée pour chaque spectre (axe des ordonnées) la concentration (axe des abscisses) calculée avec le modèle qui fut ajusté sur l'ensemble des spectres. Nous pouvons constater que la prédiction est bonne ( $R^2 = 0.988$ ). Pour confirmer la validité du protocole, nous avons effectué une validation croisée Monte-Carlo. Celle-ci consiste à refaire un modèle avec une partie seulement des spectres et permet donc d'observer la robustesse du modèle (Figure 11d). Nous arrivons ainsi à une prédiction tout a fait correcte ( $Q^2 = 0.892$ ), ce qui indique que notre modèle est robuste et qu'il est possible de quantifier la concentration d'ochratoxine pour des concentrations allant de 10 pM à 100 $\mu$ M. Nous pouvons constater que la concentration inférieure de détection (10 pM) est largement en dessous de la limite de détection nécessaire pour le contrôle qualité en agro-alimentaire. Nous avons donc conçu un protocole de détection efficace et applicable pour le système bimodal que nous développons.

## Conclusion

Dans ce chapitre nous avons vu que l'ochratoxine était une mycotoxine hautement dangereuse dont la concentration doit absolument être régulée et contrôlée dans tout produit pouvant en contenir. Malgré l'existence d'un test ELISA, nous avons choisi cette cible car elle représente un intérêt majeur pour le contrôle qualité en agro-alimentaire et nous souhaitons valider l'instrument développé dans le cadre du projet Piranex pour la détection de toxines. Nous proposons une détection avec un aptamer, tant pour des raisons de stabilité et de coût que pour sa faible taille permettant ainsi une meilleure réponse en SERS. Nous avons caractérisé en Raman classique et en SERS l'aptamer choisi. Enfin nous avons démontré qu'il était possible de détecter l'ochratoxine par méthode SERS sur une large plage de concentration avec une limite inférieure de l'ordre du pM. Nous pouvons également constater que nous n'avons pas une réelle identification de la molécule cible mais que sa détection se fait par l'observation de modification du spectre de l'aptamer.

Dun point de vue coût, le test ELISA permet actuellement d'effectuer 96 tests pour un prix d'environ 700 € (MBS282200) donc un peu plus de 7 € par test. Pour l'instant notre méthode permet d'effectuer une détection avec un meilleur seuil, avec un aptamer coûtant environ 70 € pour 100 nmol chez Eurogentec, ce qui fait par substrat environ 7 centimes d'aptamer, (1 goutte de 10  $\mu$ l à 10  $\mu$ M), cependant le prix actuel des substrats SERS reste conséquent mais nous avons utilisé des simples films rugueux qui coûtent de l'ordre d'un euro pièce. Ainsi notre détection est déjà moins chère. Nous n'avons cependant pas encore effectué de détection en milieux complexe, ces études seront faites dans le futur.

Cette détection a été démontrée sur des substrats de film rugueux d'or pour des raisons de simplicité et de disponibilité des substrats. Par la suite, il sera donc nécessaire d'effectuer cette même détection sur les substrats or/or optimisé dans le cadre du projet Piranex puis de valider la détection bimodale avec l'appareil développé dans le projet.

## Bibliographie

1. O'Brien, E. & Dietrich, D. R. Ochratoxin A: The Continuing Enigma. *Crit. Rev. Toxicol.* **35**, 33–60 (2005).
2. Polizzi, V. *et al.* JEM Spotlight: Fungi, mycotoxins and microbial volatile organic compounds in mouldy interiors from water -damaged buildings. *J. Environ. Monit.* **11**, 1849–1858 (2009).
3. Richard, J. L., Plattner, R. D., May, J. & Liska, S. L. The occurrence of ochratoxin A in dust collected from a problem household. *Mycopathologia* **146**, 99 (1999).
4. Krogh, P., Hald, B. & Pedersen, E. J. Occurrence of Ochratoxin a and Citrinin in Cereals Associated with Mycotoxic Porcine Nephropathy. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. [B] Microbiol. Immunol.* **81B**, 689–695 (1973).
5. Huff, W. E., Wyatt, R. D. & Hamilton, P. B. Nephrotoxicity of Dietary Ochratoxin A in Broiler Chikens. *Appl. Microbiol.* **30**, 48–51 (1975).
6. Suzuki, S., Kozuka, Y., Satoh, T. & Yamazaki, M. Studies on the nephrotoxicity of ochratoxin A in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **34**, 479–490 (1975).
7. Pfohl-Leszkowicz, A. & Manderville, R. A. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol. Nutr. Food Res.* **51**, 61–99 (2007).
8. Kanisawa, M., Suzuki, S., Kozuka, Y. & Yamazaki, M. Histopathological studies on the toxicity of ochratoxin A in rats. I. Acute oral toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **42**, 55–64 (1977).
9. Bama-Vetro, I. *et al.* Sensitive ELISA test for determination of ochratoxin A. *J. Agric. Food Chem.* **44**, 4071–4074 (1996).
10. Watson, J. D. & Crick, F. H. C. The Structure of Dna. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **18**, 123–131 (1953).

11. Galarreta, B. C., Tabatabaei, M., Guieu, V., Peyrin, E. & Laguné-Labarthet, F. Microfluidic channel with embedded SERS 2D platform for the aptamer detection of ochratoxin A. *Anal. Bioanal. Chem.* **405**, 1613–1621 (2013).
12. Cruz-Aguado, J. A. & Penner, G. Determination of Ochratoxin A with a DNA Aptamer. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 10456–10461 (2008).
13. Cottat, M. *et al.* High Sensitivity, High Selectivity SERS Detection of MnSOD Using Optical Nanoantennas Functionalized with Aptamers. *J Phys Chem C* **119**, 15532–15540 (2015).
14. Waybrant, B., Pearce, T. R. & Kokkoli, E. Effect of polyethylene glycol, alkyl, and oligonucleotide spacers on the binding, secondary structure, and self-assembly of fractalkine binding FKN-S2 aptamer-amphiphiles. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* **30**, 7465–7474 (2014).
15. Otto, C., Tweel, T. J. J. van den, Mul, F. F. M. de & Greve, J. Surface-enhanced Raman spectroscopy of DNA bases. *J. Raman Spectrosc.* **17**, 289–298 (1986).
16. Prescott, B., Steinmetz, W. & Thomas, G. J. Characterization of DNA structures by laser Raman spectroscopy. *Biopolymers* **23**, 235–256 (1984).
17. Mandelkern, M., Elias, J. G., Eden, D. & Crothers, D. M. The dimensions of DNA in solution. *J. Mol. Biol.* **152**, 153–161 (1981).



## Conclusion et perspectives

Un grand nombre d'études dans différents domaines qui sont la plasmonique, la spectroscopie exaltée et la détection a pu être menée durant cette thèse. Ainsi un substrat hybride constitué d'un réseau de nanocylindres d'or déposés sur un film mince d'or et permettant le couplage SPRi/SERS a été développé. Afin d'optimiser ses propriétés plasmoniques, une caractérisation complète a été effectuée en champ proche via le SERS ainsi qu'en champ lointain via la spectroscopie d'extinction, tout en comparant les résultats obtenus pour les mêmes structures déposées sur un substrat diélectrique. Nous avons constaté, dans le cas des échantillons hybrides, la présence d'un nouveau mode plasmonique appelé le mode de Bragg qui permet une exaltation importante du signal SERS. Nous avons vu que l'émission du signal SERS se trouvait ainsi être fortement directionnelle, et nous avons également prouvé que l'exaltation du champ électromagnétique était localisée sur les bords des nanostructures lorsque celles-ci étaient déposées sur un film mince d'or. La compréhension de l'ensemble de ces phénomènes nous a menés à l'optimisation de la nano-structuration finale utilisée pour le projet.

De plus, nous avons effectué un certain nombre de tests afin de sonder le potentiel en SERS de l'aluminium, matériau plasmonique qui a suscité un vif intérêt dernièrement. L'exaltation observée pour une utilisation en SERS dans la gamme spectrale au delà de 600 nm s'est avérée trop faible pour des applications en détection malgré la présence de bandes d'extinction fines qui présentaient un haut facteur de qualité. Nous avons également vérifié la stabilité chimique des nanostructures, prouvant que la couche d'alumine ne dépasse pas quelques nanomètres même longtemps après la fabrication de l'échantillon. Enfin comme l'aluminium a des propriétés optiques très différentes de celles de l'or nous avons fabriqué les mêmes substrats hybrides : nanostructures d'aluminium sur un film d'aluminium. Nous avons pu observer des modes plasmoniques localisés associés aux nanoparticules individuelles. Les expériences ont prouvé que ces modes se couplent au mode de Bragg également présent sur ces échantillons. Le facteur de couplage fut ainsi mesuré.

Enfin nous avons démontré la détection de l'ochratoxine par méthode SERS pour des concentrations se situant largement en dessous des limites légales autorisées par les organismes de régulation européens et canadiens. Pour cela nous avons utilisé une surface nanostructurée métallique fonctionnalisée avec un aptamer thiolé. Nous avons pu montrer que la détection se faisait par l'observation de la modification du spectre Raman de l'aptamer et non par l'observation de nouvelles bandes associées à l'ochratoxine.

L'utilisation des échantillons hybrides développés dans le cadre de cette thèse pourrait se faire en tant que simple substrat SERS. Pour cela il serait intéressant d'étudier en profondeur l'effet de la forme des nanoparticules ainsi que l'effet d'un éventuel couplage plasmonique entre des nanostructures afin d'optimiser au mieux les propriétés SERS, sans se soucier de la SPRi. À

l'issue de cette thèse nous espérons également approfondir l'utilisation de l'aluminium comme matériau plasmonique pour le SERS.

Dans l'avenir, nous désirons valider les protocoles de détection par SPRi et SERS à l'aide du nouvel appareil bimodal développé dans le cadre du projet Piranex, permettant de quantifier et d'analyser nos cibles de manière simultanée. De nombreuses autres biomolécules et polluants pourraient être détectés par cet appareil. Il est évident que de nouveaux protocoles ciblant d'autres molécules seront développés à la suite de cette thèse. Enfin, après une phase de test de la machine, qui est en cours de préparation, Horiba compte pouvoir vendre l'appareil commercialement.





## Résumé

Dans cette thèse, nous décrivons sommairement les techniques utilisées qui sont l'imagerie par résonance plasmon de surface (SPRi) et la diffusion Raman exaltée de surface (SERS). Le but principal du projet Piranex dans lequel la thèse s'inscrit consiste au développement d'une biopuce nanostructurée bimodale permettant le couplage des deux techniques SPRi et SERS. Cette biopuce est constituée d'un film d'or par-dessus lequel nous avons déposé un réseau carré de nanocylindres en or. Un ensemble d'études ont été effectuées pour caractériser ses propriétés plasmoniques du biocapteur afin d'en optimiser le signal SERS. Nous avons ainsi constaté que l'émission du signal était fortement anisotrope, dus à l'excitation du Mode de Bragg et que le champ proche était principalement exalté sur les bords de la nanostructure. Les propriétés furent également comparées avec celles de réseaux identiques déposés directement sur un substrat diélectrique. Par la suite un ensemble d'études plasmoniques et SERS ont été effectuées pour l'aluminium, autre matériaux plasmonique d'intérêt. Enfin, un protocole de détection par SERS de l'ochratoxine basé sur un aptamère fut développé et a permis la détection de l'ochratoxine dès 10 pM, bien en dessous de la limite autorisée par les organismes de régulation en agro-alimentaire.

**Mots Clefs :** Nanocapteur, Nanostructures d'Or, Nanostructures d'aluminium, Or, Aluminium, Raman, SERS, LSPR, SPRi, Ochratoxine A, Aptamère, Functionalization de surface, Thiol.

## Abstract

In this thesis, we briefly describe the techniques used, which are surface plasmon resonance imaging (SPRi) and surface enhanced Raman scattering (SERS). The main goal of the Piranex project in which the thesis is based is the development of a bimodal nanostructured biochip allowing the coupling of the two techniques SPRi and SERS. This bio-chip consists of a gold film over which we have deposited a square array of gold nanocylinders. A set of studies has been carried out to characterize plasmonic properties of the biosensor in order to optimize the SERS signal. We have thus found that the emission of the signal was strongly anisotropic, due to the excitation of the Bragg Mode and that the near field was mainly enhanced on the edges of the nanostructure. The properties were also compared with those of identical gratings deposited directly on a dielectric substrate. Subsequently a set of plasmonic and SERS studies were carried out for aluminum, other plasmonic materials of interest. Finally, a detection protocol by SERS of ochratoxin based on an aptamer was developed and allowed the detection of ochratoxin with a detection threshold of 10 pM, well below the limit allowed by food regulatory agencies.

**Keywords:** Nanosensor, Gold nanostructures, Anuminium nanostructures, Gold, Aluminium, Raman, SERS, LSPR, SPRi, Ochratoxin A, Aptamer, Surface functionalization, Thiol.