



Université de Montréal

Propriétés optiques et analytiques des nanotrous : vers la conception de biocapteurs  
en résonance des plasmons de surface localisés

Par  
Marie-Pier Murray Méthot

Département de Chimie  
Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Arts et des Sciences  
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise  
en Chimie

Décembre, 2010

©, Marie-Pier Murray Méthot, 2010

Université de Montréal  
Faculté des Arts et des Sciences

Ce mémoire intitulé :

Propriétés optiques et analytiques des nanotrous : vers la conception de biocapteurs  
en résonance des plasmons de surface localisés

présenté par :

Marie-Pier Murray Méthot

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dominic Rochefort  
président-rapporteur

Jean-François Masson  
directeur de recherche

Matthias Ernzerhoff  
membre du jury

## Résumé

Les biocapteurs sont utilisés quotidiennement pour déterminer la présence de molécules biologiques dans une matrice complexe, comme l'urine pour les tests de grossesses ou le sang pour les glucomètres. Les techniques courantes pour la détection des autres maladies nécessitent fréquemment le marquage de l'analyte avec une autre molécule, ce qui est à éviter pour fin de simplicité d'analyse. Ces travaux ont pour but la maximisation de la sensibilité d'une surface d'or ou d'argent nanotrouée, afin de permettre la détection de la liaison de molécules biologiques par résonance des plasmons de surface localisés (LSPR), en utilisant la spectroscopie de transmission. Un biocapteur portable, rapide et sans marquage pour quantifier des analytes d'intérêt médical ou environnemental pourrait être construit à partir de ces travaux. Dans l'objectif d'étudier de nombreuses configurations pour maximiser la sensibilité, le temps et le coût des méthodes de fabrication de nanostructures habituelles auraient limité le nombre de surfaces nanotrouées pouvant être étudiées. Un autre objectif du projet consiste donc au développement d'une technique de fabrication rapide de réseaux de nanotrous, et à moindres coûts, basée sur la lithographie de nanosphères (NSL) et sur la gravure au plasma à l'oxygène (RIE). La sensibilité à la variation d'indice de réfraction associée aux liaisons de molécules sur la surface du métal noble et la longueur d'onde d'excitation du plasmon de surface sont influencées par les caractéristiques des réseaux de nanotrous. Dans les travaux rapportés ici, la nature du métal utilisé, le diamètre ainsi que la périodicité des trous sont variés pour étudier leur influence sur les bandes LSPR du spectre en transmission pour maximiser cette sensibilité, visant la fabrication d'un biocapteur. Les surfaces d'argent, ayant un diamètre de nanotrous inférieur à 200 nm pour une périodicité de 450 nm et les nanotrous d'une périodicité de 650 nm démontre un potentiel de sensibilité supérieur.

**Mots-clés :** lithographie de nanosphère, gravure au plasma d'ions d'oxygène réactifs, or, argent, sensibilité à l'indice de réfraction, diamètre, périodicité.

## Abstract

Biosensors are used daily to determine the presence of biomolecules in a complex matrix, like urine for pregnancy test or blood with a glucometer. The usual biodetection methods require the addition of a tag on the analyte, which is to be avoided to design a simple analytical method. The objective of this work is to maximize the sensitivity of a gold or silver nanohole arrays to detect the biomolecules liaisons close to the metal surface by localized surface plasmon resonance (LSPR) in transmission spectroscopy. A portable and effective biosensor to quantify analytes could be built based on this work, without a tagging step. To achieve the objective of evaluating numerous configurations for maximal sensitivity, the time and cost of the usual nanostructures fabrication methods would have limited the number of nanohole arrays in metal surface that could have been studied in this project. This fact motivated another objective of this project, the development of a fast and low cost fabrication method for nanohole arrays using nanospheres lithography (NSL) followed by reactive ions etching (RIE). The plasmon sensitivity and wavelength excitation are influenced by the nanohole arrays characteristics. In the work presented here, the chemical composition of the metal surface, the diameter and the periodicity of the nanohole arrays are shown to influence the LSPR bands. The transmission maximum and minimum position of some LSPR bands are sensitive to refractive index change, which can be exploited in a biosensor format to detect biomolecules. The optimization of these nanohole arrays characteristics allows the maximization of this sensitivity to build a biosensor. The best index refraction sensitive results were with silver surfaces, with nanohole diameters smaller than 200 nm for a periodicity of 450 nm and the nanoholes with a periodicity of 650 nm show a potential for an increased sensitivity.

**Keywords** : nanosphere lithography, oxygen plasma etching, gold, silver, sensibility to refractive index, diameter, periodicity.

## Table des matières

Chapitre 1 : Introduction .....	1
1.1 Découverte du phénomène de transmission accrue dans les films métalliques nanotroués .....	1
1.1.1 Contributions du mémoire à l'avancement des connaissances en spectroscopie de résonance des plasmons de surface localisés basés sur les nanotrous.....	4
1.2 Biocapteurs.....	5
1.2.1 Description d'un biocapteur.....	5
1.2.2 L'importance des biocapteurs : Le diabète et le glucomètre.....	8
1.2.3 Les défis à surmonter pour l'application générale d'un biocapteur à d'autres maladies .....	10
1.3 Différentes techniques de biodétection .....	12
1.3.1 ELISA .....	13
1.3.2 Fluorescence.....	16
1.3.2.1 Fluorescence de molécules.....	16
1.3.2.2 Points quantiques .....	17
1.3.3 Raman .....	19
1.3.4 SERS .....	21
1.3.5 SPR et LSPR .....	22
1.3.6 Comparaison des techniques de détection .....	24
1.4 Phénomènes optiques reliés à la résonance des plasmon de surface .....	27
1.4.1 Constante diélectrique.....	27
1.4.2 Résonance des plasmons de surface.....	28
1.4.3 Principe de résonance des plasmons de surface en réflexion totale interne.....	32
1.4.4 Résonance des plasmons de surface localisés.....	35
1.4.4.1. Nanotrous .....	38
1.5 Détection de molécules et biomolécules par LSPR ou SPR .....	42
1.5.1 Les étapes pour permettre la biodétection.....	42

1.5.2 Travaux antérieurs publiés dans la littérature .....	44
1.6 Objectifs de recherche.....	44
Chapitre 2 : Fabrication de réseau de nanotrous .....	46
2.1 Méthodes de fabrication de nanostructures fréquemment utilisées .....	46
2.1.1 Photolithographie .....	47
2.1.2 Lithographie par faisceau d'électrons .....	48
2.1.3 Faisceau d'ions focalisés.....	48
2.1.4 Lithographie par nanosphère de polystyrène .....	49
2.2 Dépôt du métal .....	52
2.3 Gravure par ions réactifs, RIE.....	53
2.4 Travaux accomplis dans le cadre de ce mémoire pour l'optimisation et l'adaptation de la méthode de fabrication de nanotrous par NSL.....	57
2.4.1 Nettoyage des lamelles de verre.....	57
2.4.2 Méthode par évaporation, <i>Drop Coating</i> .....	58
2.4.3 Méthode d'interface Langmuir-Blodgett .....	60
2.4.4 Gravure par ions réactifs, <i>reactive ion etching</i> , RIE.....	61
2.4.5 Dépôt du métal .....	65
2.4.6 Enlèvement des sphères de polystyrène.....	65
2.5 Fabrication rapide de réseau de nanotrous variés .....	67
2.6 Caractérisation des réseaux de nanotrous .....	68
2.7 Spectroscopie en transmission .....	68
Chapitre 3 : Optical Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays	70
3.1 Abstract .....	71
3.2 Introduction.....	71
3.3 Experimental .....	76
3.3.1 Nanosphere mask .....	76
3.3.2 Control of the nanosphere diameter .....	76
3.3.3 Optical properties measurement.....	77
3.4 Results and Discussion.....	78

3.4.1 Optical properties of Ag and Au nanohole arrays.....	78
3.4.2 Sensitivity for Ag and Au nanohole arrays.....	84
3.4.3 FH/FWHM for Ag and Au nanohole arrays.....	87
3.4.4 Bimetallic Au on Ag nanohole arrays.....	89
3.5 Conclusions.....	94
3.6 Acknowledgements.....	95
Chapitre 4 : Influence de la périodicité sur les spectres LSPR.....	96
4.1 Périodicité de 220 nm.....	96
4.2 Périodicité de 360 nm.....	98
4.3 Périodicité de 650 nm.....	101
4.4 Comparaison des périodicités.....	103
Chapitre 5. Conclusions et perspectives.....	107
5.1 Mise en contexte du projet.....	108
5.2 Perspectives du projet.....	109
5.2.1 Biocapteur LSPR.....	109
5.2.2 SERS sur un réseau de nanotrous dans un film de métal.....	110
Annexe 1 : Surfaces bimétalliques en SPR en RTI.....	i
A.1 Méthodologie pour SPR en RTI.....	i
A.2 Spectres SPR en RTI expérimentaux et modélisés de surfaces bimétalliques.....	ii



## Liste des tableaux

Tableau 1.1: Comparaison des techniques de détection pour un biocapteur .....	26
Table 3.1: Sensitivity of nanohole arrays with different geometries .....	74
Table 3.2: Analytical parameters for bimetallic Au on Ag nanoholes.....	92
Tableau 4.1 : Comparaison des paramètres analytiques de réseaux de différentes périodicités et métaux.....	106

## Liste des figures

Figure 1.1 : Exemples des paramètres d'un biocapteur. ....	6
Figure 1.2 : Schéma des principales configurations de détection ELISA.....	15
Figure 1.3 : Schéma de la structure d'un point quantique.....	18
Figure 1.4 : Schéma de l'excitation de la résonance des plasmons de surface pour un mince film d'or.....	29
Figure 1.5 : Détermination de la sensibilité d'une surface.....	31
Figure 1.6 : Schéma illustrant les deux différentes configurations SPR en RTI.....	34
Figure 1.7 : Schéma du phénomène LSPR .....	36
Figure 1.8 : Comparaison de la lumière transmise par un trou de 200 nm de diamètre selon la théorie de Bethe .....	39
Figure 1.9 : Schéma de l'arrangement de trous.....	41
Figure 1.10 : Schéma des étapes nécessaires à la liaison d'un analyte spécifique à la surface de métal.....	43
Figure 1.11 : Déplacement attendu de la position de la bande plasmonique lors de la liaison de l'analyte sur l'agent de reconnaissance lié à la surface métallique .....	43
Figure 2.1 : Vue macroscopique de nanosphères de polystyrène de 450 nm de diamètre organisées .....	50
Figure 2.2 : Image SEM de nanosphères de 450 nm de diamètre organisées en arrangement hexagonal compact.....	51

Figure 2.3 : Effet de la gravure par ions réactifs d'oxygène.....	54
Figure 2.4 : Image AFM 3 dimensions d'un réseau de nanotrous en forme de bol .....	55
Figure 2.5 : Schéma représentant les interstices entre les sphères en arrangement hexagonal compact.....	59
Figure 2.6 : Image microscopique de multicouches de sphères de diamètre de 360 nm	60
Figure 2.7 : Image SEM de réseaux de nanotrous ou de nanosphères.....	64
Figure 2.8 : Image AFM des îlots de métal produits par un recuit à 600 °C.....	66
Figure 2.9 : Figure du montage maison de spectroscopie à transmission. A) Pièces optiques B) Réseau de nanotrous dans un film d'argent dans la cuvette. ..	69
Figure 3.1: (Left) AFM image of a nanohole arrays with a periodicity of 450 nm with a diameter of $195 \pm 19$ nm. (Right) SEM image of a nanohole arrays demonstrating the (i,j) nomenclature and the irregular edges of each nanohole .....	79
Figure 3.2: Transmission spectra for Au (lines) and Ag (dash) nanohole arrays of different nanohole diameters.....	82
Figure 3.3: Resonant wavelength for each plasmonic band for Au (filled) and Ag (open) nanohole arrays. ....	83
Figure 3.4: (Top) Transmission spectra of a Ag nanohole array with a periodicity of 450 nm.....	85
Figure 3.5: Sensitivity of nanohole arrays with different diameter .....	86
Figure 3.6: Variation of the FH / FWHM ratio.....	88

Figure 3.7: Transmission spectra of nanohole arrays with different thickness of Ag and Au .....	90
Figure 4.1 : Image AFM d'un réseau de nanotriangles de périodicité de 220 nm.....	97
Figure 4.2 : Spectres LSPR de réseaux de nanotriangles de périodicité de 220 nm dans un film d'or.....	98
Figure 4.3 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de périodicité de 360 nm dans un film d'or. ....	99
Figure 4.4 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de périodicité de 360 nm dans un film d'or.....	100
Figure 4.5 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de périodicité de 650 nm dans un film d'argent.....	101
Figure 4.6 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de différents diamètres de périodicité de 650 nm dans un film d'argent.....	102
Figure 4.7 : Graphique de la position et de la sensibilité des bandes de transmission LSPR de nanotrous de périodicité de 650 nm dans un film d'argent.....	103
Figure 4.8 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de périodicité de 220, 360, 450 et 650 nm dans un film d'or ou d'argent.....	104
Figure A.2 : Modélisation de la position du minimum de transmission associé au SPR en RTI .....	iii
Figure A.3 : Spectres de SPR en RTI mesurés pour des films de 50 nm d'épaisseur de différentes proportions d'argent recouvert d'or. ....	iv
Figure A.4 : Positions de la longueur d'onde d'absorption maximale en SPR en RTI.....	v

Figure A.5 : Sensibilités à la variation d'indice de réfraction mesurées en SPR en RTI. vi

## Liste des sigles et des abréviations

Note : Pour simplifier la consultation des références, les abréviations en anglais sont utilisées dans ce mémoire. La description en français est donnée, puis celle en anglais est inscrite en *italique*.

$\epsilon$  : Constante diélectrique

$\epsilon_m$  : Constante diélectrique du métal « m »

$\epsilon_s$  : Constante diélectrique de la solution « s »

$\lambda$  : Longueur d'onde de la lumière (nm)

$\Delta\lambda$  : Variation longueur d'onde de la position d'une bande plasmonique (nm)

$\Delta\lambda/\text{RIU}$  : Unité de la sensibilité d'une bande plasmonique en SPR et LSPR

$\eta$  : Indice de réfraction (RIU)

$\Delta\eta$  : Variation d'indice de réfraction (RIU)

$\Gamma$  : Concentration de surface (ng / cm<sup>2</sup>)

$\sigma_{\text{libre}}^{\text{R}}$  : section Raman transversale d'une molécule libre

AFM : Microscopie de force atomique, *atomic force microscopy*

°C : Température en degré Celsius

CCD : Dispositif de couplage de charges, *charge-coupled device*

D : Diamètre

DNA : Acide désoxyribonucléique, *deoxyribonucleic acid*

EBL : Lithographie par faisceau d'électrons, *electron beam lithography*

EDC : N-éthyle-N'-(3-diméthylaminopropylcarbodiimide hydrochloride

FIB : Faisceau d'ions focalisés, *focused ions beam*

I : Intensité de la lumière

$I_0$  : Intensité de la lumière initiale

$I(\nu_L)$  : Intensité du laser à la fréquence L

IR : Région spectrale de l'infrarouge

k : Paramètre de la constante diélectrique

$l_d$  : Distance de pénétration du champ électromagnétique

LSPR : Résonance des plasmons de surface localisés, *localized surface plasmon resonance*

m : Sensibilité de la bande plasmonique à l'indice de réfraction (nm / RIU)

M : Molaire, concentration de molécule en mole par litre (mol / L)

Mol : Mole, unité de mesure d'une quantité de molécules. (1 mol =  $N_A$  molécules)

n : Paramètre de la constante diélectrique

$N_A$  : Nombre d'Avogadro ( $6.02214179 \times 10^{23}$ )

NA : Ouverture numérique

NHS : N-hydroxysuccinimide

NSL : Lithographie par nanosphères, *nanospheres lithography*

P : Périodicité

PEG : Poly-(éthylène-glycol)

PEO : Poly-(éthylène-oxide)

PMMA : Poly-(méthyle méthacrylate)

$P^{RS}(\nu_s)$  : Signal Raman de Stokes à la fréquence S

Q : Rendement quantique de fluorescence

QCM : Microbalance de cristal de quartz, *quartz crystal microbalance*

R : Résolution

RIE : Gravure par ions réactifs, *reactive ions etching*

RIU : Unité d'indice de réfraction, *refractive index unit*

SAM : Monocouche auto-assemblée, *self-assembled monolayer*

SEM : Microscopie à balayage d'électrons, *scanning electron microscopy*

SDS : Dodécylsulfate de sodium

SPR : Résonance des plasmons de surface, *surface plasmon resonance*

Tg : Température de transition vitreuse d'un polymère

TWEEN 20 : polyoxyéthylène (20) sorbitane monolaurate

UV : Région spectrale de l'ultra-violet

Vis : Région spectrale du visible



*La science est une ressource inépuisable  
de questionnements et de remise en doute  
de ce qui a déjà été répondu.*

## Remerciements

À la fin de mon baccalauréat, je regardais les possibilités, maîtrise ou volley-ball. Faire une maîtrise était une idée très tentante, mais de l'autre côté, j'avais aussi la possibilité de faire une carrière en volley-ball. J'avais déjà joué 3 années avec les Carabins, sur une possibilité de 5. Mon entraîneur a fait des études graduées et a exposé la grande importance d'une maîtrise ou d'un doctorat dans les différentes sphères de vie. Bien sûr, il était content aussi que je continue à jouer pour lui. Donc j'ai regardé les différents professeurs de l'université et leurs projets. Je suis allé rencontrer Jean-François Masson. Nouvellement arrivé à l'université, il m'a expliqué les différents projets qu'il désirait entamer. Il était si motivé. J'ai eu envie de travailler avec lui. Il est toujours à la recherche de nouveaux projets, qui se diversifient à une telle vitesse. Toujours d'un calme rassurant, il m'a appuyé dans ma décision de poursuivre la maîtrise en même temps que de jouer pour les Carabins, et même ensuite pour l'équipe canadienne. J'ai essayé de diviser mon temps de façon logique et optimale. Cette tâche n'a pas été facile... Mais finalement, grâce à toutes les personnes qui m'entourent et m'encouragent, j'ai pu concilier les deux.

Donc voilà, j'aimerais remercier Jean-François Masson pour m'avoir dirigée et soutenue. Merci aussi à Sandy, Ludovic et Olivier, avec qui il y a eu des moments mémorables au lab, avec mes nombreuses questions, et durant les congrès, comme la fois où nous sommes allés dans le bar *Howling to the Moon*, avec les joueurs de piano. Aussi, merci à Julien et Audrey qui se sont joints au groupe vers la fin de ma maîtrise. J'aimerais aussi remercier Mathieu et Maxime, qui ont été stagiaires d'été travaillant sur mon projet, alors que j'étais à Winnipeg à m'entraîner. Ils ont ensuite poursuivi leur maîtrise dans le groupe. Ils m'ont grandement aidé. Merci.

Donc un autre groupe de personnes, j'aimerais remercier Olivier Trudel, qui a été beaucoup plus qu'un entraîneur. Cette personne formidable possède une écoute extraordinaire, et une façon de faire voir les problèmes ou les dilemmes d'une tout autre façon. Ses conseils permettaient de comparer et de mieux évaluer les situations. À bien des moments, il m'a donné la lumière pour éclairer ma route. Merci. J'aimerais aussi remercier les autres entraîneurs qui ont marqué mon passage, Sophie Gadoury, Anne-Marie Lemieux, Andrew Lissade, et sans oublier Manu Loeb. J'aimerais aussi dire merci à Sylvain Noël, mon entraîneur au Collège Bois-de-Boulogne, une autre personne formidable que je n'oublierai jamais. Aussi, merci à toutes mes coéquipières. Nous avons passé des moments magiques, où toutes les émotions ont été vécues. Nous avons souvent étudié, ou essayé d'étudier durant les voyages en autobus et les tournois. Le fameux tournoi Mc Gill à la mi-session d'automne nous menait à bout chaque année. Merci à vous toutes.

Finalement, merci à mes coloc, Annick et Val. Vos amitiés me sont si chères. Merci à mes parents, qui m'ont toujours supportée et aimée. Tous mes plans, mes idées, mes buts, ils les ont tous désirés comme si c'était les leurs. Mon père, qui m'a conduite maintes fois Baie-Comeau/Montréal pour le volley-ball. Merci. Ma mère, sur qui je peux toujours compter pour répondre au téléphone et me dire ce qu'il faut. Merci. Et Seb, mon amoureux, tu m'as épaulé à tous les moments de ma carrière universitaire, et je veux que ça continue. Ta confiance en moi est inébranlable, et tu sais me remonter le moral et me remettre le sourire en quelques mots. Merci.

# Chapitre 1 : Introduction

Les travaux exposés dans ce mémoire portent sur la fabrication et la caractérisation de matériaux nanostructurés et la détermination des paramètres analytiques de ces matériaux. Le mémoire est divisé en trois sections, un bref survol du domaine d'application, incluant les explications sur les fondements théoriques de ce mémoire (Chapitre 1), une section démontrant la méthode de fabrication qui a été mise au point et optimisée, en relation avec les autres méthodes courantes de fabrication de structures similaires (Chapitre 2), et en dernier lieu, la caractérisation analytique des nanomatériaux (Chapitre 3 et 4). Une conclusion et les perspectives futures seront présentées au chapitre 5.

## 1.1 Découverte du phénomène de transmission accrue dans les films métalliques nanotroués

En 1998, Ebbesen a découvert que la lumière passant au travers d'un film mince de métal nanostructuré avec des trous plus petits que la longueur d'onde de la lumière est transmise, et même avec une intensité augmentée par rapport à un film plat, sans nanostructures, et par rapport à un faisceau lumineux passant au travers un trou d'un matériau non métallique.<sup>1,2</sup> Ces films nanotroués métalliques supportent un plasmon de surface, si le métal est noble, comme l'argent ou l'or. Ce principe est expliqué plus loin dans cette section. Ce résultat n'était pas prévu par la théorie de Bethe, selon laquelle la lumière transmise ( $I$ ) serait seulement de l'ordre de  $10^{-2}$  pour une longueur d'onde ( $\lambda$ ) de  $\lambda = 600$  nm incidente sur une ouverture (trou) d'un diamètre ( $D$ ) de 250 nm, selon l'équation 1.1.<sup>1,2</sup>

Équation 1.1

$$I = \left( \frac{D}{2\lambda} \right)^4$$

Cette observation est d'autant plus importante que la longueur d'onde à laquelle le phénomène de transmission accrue se produit est influencée par l'indice de réfraction

de la solution en contact avec la matrice de trous. Entres autres, cette découverte a influencé le développement de biocapteurs basés sur cette influence de l'indice de réfraction sur le spectre de transmission de nanostructures.

Le principe des biocapteurs basés sur les nanotrous repose sur la liaison d'une molécule à un agent de reconnaissance immobilisé à la surface du métal nanotroué. Ce phénomène déplace une quantité de solvant d'indice de réfraction  $\eta_s$ , par une molécule d'indice de réfraction  $\eta_a$ , créant le changement d'indice de réfraction nécessaire pour causer le changement de longueur d'onde transmise par les nanotrous. Les agents de reconnaissance peuvent être des protéines, de l'acide désoxyribonucléique (DNA) ou des anticorps, offrant aux techniques basées sur le SPR la possibilité de détecter des analytes se liant à ces biomolécules. Cette technique est avantageuse, car elle permet la mesure de molécules n'ayant pas de signature spectroscopique sensible et spécifique. En plus d'être sensible pour un grand nombre d'analytes (détecteur quasi universel), le plasmon de surface qui peut être excité à angle droit par l'utilisation d'un film perforé permet les mesures en transmission, telle qu'avec un simple instrument de spectroscopie UV-Vis. De plus, puisque le plasmon de surface est dans la région spectrale entre  $\lambda = 500$  et  $\lambda = 900$  nm, le spectre en transmission peut être fait dans des milieux complexes qui limitent habituellement les mesures en transmission, dû à l'absorption de la lumière par les fluides biologiques à des longueurs d'onde inférieures à  $\lambda = 500$  nm. Malgré que ces avantages soient intéressants, il n'existe toujours pas de consensus sur le type de nanostructures à employer. Il est donc intéressant de faire des recherches pouvant utiliser tous ces avantages et contribuer aux connaissances concernant le choix de nanostructures à employer dans la conception de biocapteurs. C'est dans cette approche que ce projet a été élaboré.

Pour bâtir un biocapteur quasi universel basé sur la transmission accrue à travers un film d'argent ou d'or troué, l'étude de l'influence des nanostructures sur le spectre de

transmission et de la sensibilité à l'indice de réfraction est importante pour obtenir les conditions optimales de détection. Tout d'abord, il a été remarqué que l'aspect du spectre de la lumière transmise varie grandement avec plusieurs facteurs, comme la nature du métal, l'épaisseur du film, l'angle d'incidence de la lumière, ainsi que la forme, la taille et la périodicité des nanostructures.<sup>1</sup> Depuis ces observations, plusieurs travaux expérimentaux et théoriques ont porté sur l'explication de ce phénomène de transmission.

Après la découverte d'Ebbesen, plusieurs types de trous ont été caractérisés en transmission. Des trous carrés ou ronds, ordonnés ou désordonnés, ainsi que des îlots de métal, comme des triangles et des sphères.<sup>3-6</sup> Des simulations mathématiques ont aussi permis d'établir les nouvelles équations et les théories pour prévoir l'emplacement et l'intensité des bandes de transmission accrue ou d'absorption de la lumière. Il demeure encore plusieurs incompréhensions dans le domaine quant au phénomène, et plusieurs autres expériences et simulations doivent être faites pour répondre à ces questions afin de mieux comprendre et de pouvoir utiliser à son plein potentiel cette technique de spectroscopie.

La majorité des travaux publiés dans la littérature rapportent des avancements en chimie théorique, physique, et physico-chimie, alors que les propriétés analytiques ne sont pas nécessairement étudiées en détail. La plupart des travaux publiés rapportant les paramètres analytiques sont seulement pour des cas uniques, et il n'y a pas de connaissance sur le meilleur type de nanostructure qui soit reconnue comme étant optimale. Ce mémoire vise à accroître les connaissances analytiques des propriétés des nanotrous. La publication *Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays* reproduite dans le chapitre 3, présente un tableau comparatif des différentes structures et de leurs propriétés analytiques (Tableau 3.1). De plus, le mémoire met l'emphase sur la détermination de la sensibilité, de la résolution et sur la fabrication

simple de ces nanostructures. Ces propriétés sont importantes pour la détermination d'une structure optimale des réseaux de nanotrous.

### **1.1.1 Contributions du mémoire à l'avancement des connaissances en spectroscopie de résonance des plasmons de surface localisés basés sur les nanotrous.**

Dans cet objectif de comparer les propriétés analytiques des nanostructures, le travail présenté ici porte sur des réseaux de nanotrous ayant des caractéristiques physiques différentes. Plusieurs réseaux ont été fabriqués pour observer la présence, la position, la sensibilité à l'indice de réfraction ainsi que la largeur des bandes de transmission ou d'absorption provoquées par la résonance des plasmons de surface localisés (LSPR). Ce mémoire rapporte l'influence de la taille, de la nature du métal et de la périodicité de trous de diamètre inférieur à 1  $\mu\text{m}$ . L'article publié *Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays*, le chapitre 3, rapporte l'influence du diamètre des trous d'une périodicité de 450 nm dans un film d'or et dans un film d'argent. L'effet d'un film bimétallique d'argent recouvert d'or est aussi rapporté, où les proportions d'argent et d'or sont variées. Le chapitre 4 présente les résultats récents de l'effet de la périodicité sur les bandes plasmoniques en transmission. Aussi, l'annexe 1 rapporte l'effet d'un film bimétallique, similaires à ceux du chapitre 3, mais pour la résonance des plasmons de surface (SPR), en réflexion totale interne (RTI), pour permettre la comparaison des deux systèmes. Ces résultats permettent de mieux connaître les propriétés analytiques de différents nanotrous pour utiliser ceux-ci comme biocapteur.

De plus, une partie du travail effectué a porté sur l'optimisation de la lithographie de nanosphères de polystyrène et de la gravure par ions réactifs pour permettre la fabrication facile et peu coûteuse d'une grande variété de taille et de

périodicité de nanotrous. Le chapitre 2 explique les différentes méthodes de fabrication de nanostructures, et il est indiqué, pourquoi la méthodologie de la lithographie par nanosphères suivie de la gravure par ions réactifs a été préférée à d'autres techniques de fabrication. Pour permettre la compréhension de tous les concepts de spectroscopie et de détection utilisés dans les chapitres 3 et 4, le présent chapitre explique l'essentiel des aspects théoriques. Premièrement, la description d'un biocapteur et un exemple commercial seront présentés, pour démontrer la nécessité du développement de nouvelles méthodes pour la fabrication de biocapteurs appliqués à la détection de maladies courantes. Ensuite, une section explique pourquoi la spectroscopie en transmission excitant le LSPR a été privilégiée en comparaison à d'autres méthodes usuelles comme la fluorescence, le Raman, la spectroscopie Raman exaltée par les surfaces (SERS) et les essais d'immunoabsorption de liaison d'enzyme (ELISA). Ensuite, la théorie du SPR permet de différencier les avantages et les inconvénients de l'excitation en réflexion totale interne et celle en transmission. Finalement, une description de ce qui a déjà été fait pour permettre la détection de biomolécules avec les systèmes SPR et LSPR est présentée.

## **1.2 Biocapteurs**

### **1.2.1 Description d'un biocapteur**

Brièvement, un biocapteur permet la détection d'une molécule biologique.<sup>7</sup> Pour ce faire, il est nécessaire d'utiliser un agent de reconnaissance très spécifique à l'analyte. Un signal détectable doit être présent pour signifier que la liaison a eu lieu. Il est aussi nécessaire d'utiliser une instrumentation capable de mesurer le signal, puis de le transformer en intensité mesurable par un ordinateur. Ensuite, un traitement adéquat des résultats permet des détections de faibles concentrations de l'analyte. La figure 1.1



présente des exemples des paramètres d'un biocapteur, ainsi qu'un schéma d'un biocapteur LSPR basé sur un réseau de nanotrous dans un film d'or.

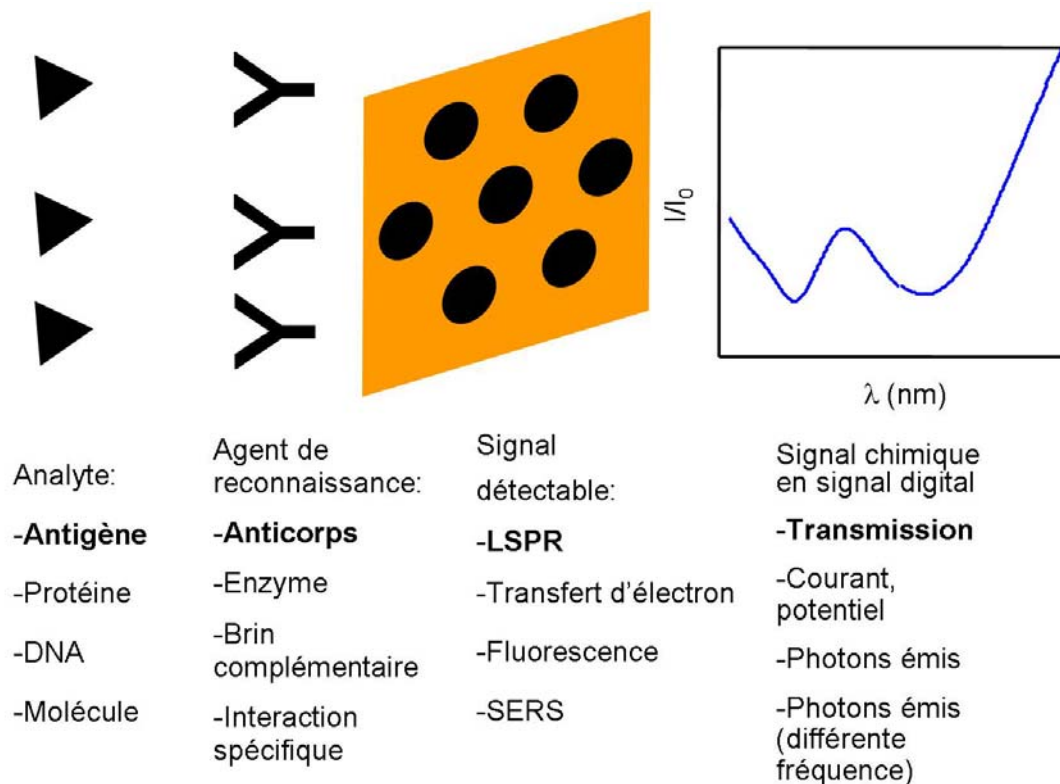


Figure 1.1 : Exemples des paramètres d'un biocapteur. Le schéma et le texte en gras correspondent à un biocapteur LSPR.

Plus en détail, un biocapteur doit permettre la quantification d'un analyte dans une solution complexe avec l'utilisation d'un agent de reconnaissance sélectif pour cet analyte. L'analyte est issu d'un système biologique ciblé, dont la présence ou la concentration sont typiques d'une maladie donnée. L'analyte à détecter peut être, par exemple, un anticorps,<sup>8-10</sup> une protéine,<sup>11-13</sup> des brins de DNA<sup>14-16</sup> ou une enzyme.<sup>13</sup> Le principal critère pour le bon fonctionnement du biocapteur est la spécificité de l'analyte avec la molécule de reconnaissance qui est utilisée pour la quantification. Certains exemples courants sont les interactions antigène-anticorps, brins

complémentaires de DNA ou encore avec un aptamère,<sup>14,17</sup> ou molécule-enzyme. Il est nécessaire que le signal obtenu soit majoritairement dû à l'analyte. Les interactions non spécifiques doivent être minimisées et sont présentement un des facteurs limitant l'utilisation des biocapteurs.

Il est également nécessaire d'avoir une technique et/ou un matériau sensible pour convertir la présence de l'analyte en un signal analytique intense. Des exemples usuels incluent l'ampérométrie avec des électrodes,<sup>18</sup> l'intensité de fluorescence avec un fluorimètre,<sup>14,17</sup> ou encore un changement d'indice de réfraction à la surface de l'échantillon avec le SPR.<sup>19</sup> Le couplage de techniques peut aussi augmenter le potentiel de détection, comme une microbalance de cristal de quartz (QCM) qui détecte le changement de masse et des propriétés mécaniques d'un composé par changement de fréquence du cristal, couplée avec l'ellipsométrie, qui détecte les variations de réflexion de la lumière polarisée d'une surface. Ces deux techniques permettent la détection de petites interactions, telle que démontrée par Carton *et al.* qui ont étudié l'agglomération de protéines membranaires reliées au choléra.<sup>20</sup>

Ensuite, un ordinateur est nécessaire pour convertir le signal physique perçu en signal digital d'intensité suffisante, tout en limitant le bruit. Par exemple, un dispositif de couplage de charges, CCD, *charge-coupled device*, est souvent utilisé pour la détection des photons. Celui-ci est basé sur des photodiodes à base de silicium, un semi-conducteur, qui transforment le signal optique en électrons accumulés dans des puits, et en voltage lors du transfert des électrons vers le lecteur de potentiel. Ensuite, le traitement des données par ordinateur s'effectue avec un signal de référence, avec la mesure du bruit de fond pour un même système sans l'analyte, pour comparer l'intensité du signal analytique. Également, l'étalonnage est nécessaire pour déterminer le domaine linéaire pour la quantification de l'analyte avec le biocapteur. Ensuite, pour un biocapteur commercial, il serait nécessaire d'ajouter des composantes d'affichage

numérique ou des lumières pour les options possibles, de façon à permettre la lecture claire des résultats et éviter les prises de décisions de l'utilisateur.

### **1.2.2 L'importance des biocapteurs : Le diabète et le glucomètre**

Les biocapteurs donnent des informations quantitatives sur la concentration d'une biomolécule dans un système biologique. Par contre, plusieurs défis doivent être surmontés pour permettre son utilisation efficace et fiable. Encore plus de défis s'ajoutent lorsque l'objectif est la miniaturisation et la portabilité du biocapteur. Lorsque la lecture de la réponse est faite par une personne peu formée et que l'action prise par l'information donnée par le biocapteur influence la santé d'une personne, l'importance de la simplicité et de l'exactitude du biocapteur est évidente. Peu de biocapteurs sont disponibles commercialement pour les particuliers ou pour les hôpitaux pour ces raisons. Deux biocapteurs sont très utilisés actuellement par une grande clientèle, les tests de grossesse, un biocapteur immunochromatographique basé sur la présence de l'hormone choriogonadotrophique humaine (hCG), et le glucomètre, un biocapteur ampérométrique, basé sur la mesure du courant de l'oxydation du peroxyde d'hydrogène. L'exemple de ce dernier est décrit plus en détail pour mieux expliquer l'importance quotidienne de ce biocapteur qui améliore la vie de millions de personnes. Ce succès doit être reproduit pour d'autres maladies. Pour ce faire, le développement de nouvelles méthodes analytiques et de nouveaux matériaux pour supporter l'optimisation de ces méthodes est nécessaire pour l'utilisation efficace de biocapteurs pour des applications médicales.

En 2006-2007, Santé Canada a relevé que 6.2% des Canadiens ont été diagnostiqués diabétiques, soit 2 086 212 personnes.<sup>21</sup> Les personnes souffrant de diabète ont soit une grande déficience en insuline (diabète de type 1) ou une incapacité à

utiliser celle qu'ils produisent (diabète de type 2). Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune, et il n'existe aucun moyen de la prévenir, alors que celui de type 2 résulte du mode de vie et peut être contrôlé par une bonne alimentation et de l'activité physique fréquente.<sup>22</sup> L'insuline provoque l'activation de plusieurs enzymes, dont l'enzyme glycogène synthétase, qui transforme le glucose en glycogène, une réserve d'énergie majoritairement présente dans le foie, qui prend la forme d'une chaîne de glucose.<sup>23</sup> Une personne diabétique peut donc avoir un taux de glucose dans le sang (glycémie) supérieur à 1.26 g/L à jeun. Lorsque la glycémie est supérieure à 1.8 g/L, le glucose passe directement dans les urines. Les premiers symptômes d'un haut taux glycémique (hyperglycémie) sont une grande quantité d'urine produite et une grande soif. Les autres symptômes des diabétiques sont la fatigue, le manque d'énergie, la vision trouble, les picotements aux extrémités, la guérison lente des blessures cutanées et la dysfonction érectile.<sup>22</sup> Ils doivent gérer leur alimentation et s'injecter de l'insuline en quantité nécessaire pour maintenir une glycémie assez haute pour avoir de l'énergie et vivre, sans faire de l'hyperglycémie. Il est donc primordial que les diabétiques connaissent leur taux de glucose dans le sang plusieurs fois dans la journée pour savoir la bonne quantité d'insuline à s'injecter.

Cette problématique a motivé la création du glucomètre, qui est maintenant un outil indispensable dans la vie de millions de personnes. Ce biocapteur portable, discret et efficace leur permet de connaître le taux de glycémie à n'importe quel moment et endroit, et ce, en quelques secondes. Ils peuvent donc s'injecter la quantité d'insuline prescrite pour le taux de glucose mesuré.

Plusieurs compagnies produisent des glucomètres. La majorité utilise des bandelettes à usage unique. Une goutte de sang est déposée sur la bandelette et qui est ensuite insérée dans le glucomètre. Donc, pour connaître le taux de glucose, il faut piquer un doigt pour avoir une petite goutte de sang qui est absorbée par la bandelette. Il

suffit que de 0.6 à 1.5  $\mu\text{L}$  de sang pour faire une mesure. En 5 secondes, le résultat est affiché numériquement sur l'écran du glucomètre. L'intervalle d'analyse est de 0.6 à 33.3 mmol/L, soit de 11 à 608 mg/L.<sup>24</sup> Il est possible de quantifier le glucose avec plusieurs techniques fréquemment utilisées, par mesure du courant, par réflectance ou par impédancemétrie.<sup>25,26</sup> Dans tous les cas, le principe de fonctionnement du glucomètre est basé sur une enzyme spécifique au glucose, la glucose-oxydase, liée sur les bandelettes. Lorsque le glucose se lie à l'enzyme en présence d'oxygène, le glucose est transformé en acide gluconique et en peroxyde. Ensuite, il est possible d'utiliser le peroxyde pour produire des protons par un médiateur rédox, permettant les mesures de courant. Le médiateur redox est un intermédiaire qui catalyse l'oxydation du peroxyde par l'enzyme et permet le transfert d'électron entre le peroxyde et l'électrode sans avoir de contact direct avec le sang.<sup>26</sup> Plusieurs types de médiateurs redox sont utilisés.<sup>26</sup> Il est aussi possible d'utiliser un intermédiaire qui réagit avec le peroxyde, mais qui produit un chromophore, permettant les mesures de réflectance pour quantifier le glucose.<sup>25</sup> Il est aussi possible de mesurer directement l'impédancemétrie du milieu en mesurant la résistance entre deux électrodes où un courant circule. Lorsque l'oxydation du glucose a lieu, le courant créé modifie celui entre les électrodes et le glucose peut être quantifié.<sup>25</sup> Dans tous les cas, la quantité de glucose dans le sang peut être mesurée et tous nécessitent un étalonnage rigoureux.

### **1.2.3 Les défis à surmonter pour l'application générale d'un biocapteur à d'autres maladies**

Il est certain que glucose est en grande quantité dans le sang et qu'il n'y a donc pas une basse limite de détection à atteindre pour l'utiliser efficacement. Analytiquement, la mesure du glucose est un défi moindre que la détection de protéines, par exemple, présentes à des concentrations de l'ordre du nM et pM. La grande réussite du glucomètre est d'être capable de mesurer directement, rapidement et n'importe où,

l'analyte sans avoir d'étapes de préparation de l'échantillon ou de personnel qualifié. Le succès du glucomètre est aussi lié à la présence d'une enzyme spécifique et très stable, qui transforme l'analyte en un produit secondaire donnant un courant détectable par les électrodes de l'appareil. Ceci n'est pas applicable à tous les systèmes biologiques et d'autres systèmes de reconnaissance ou transducteur doivent être utilisés pour la détection de l'analyte.

Des maladies ont été liées à la présence de certaines molécules ou protéines. Il serait appréciable de détecter leur présence ou de les quantifier sans extraction et rapidement, comme dans le cas du glucomètre. Pour ce faire, il faut d'abord bien connaître le système biologique et l'analyte à mesurer. Dans le cas où l'analyte se lie fortement à une protéine, comme avec une liaison antigène-anticorps, le but serait de déterminer rapidement si la liaison a bien eu lieu et même de déterminer la quantité d'éléments liés. Plusieurs conditions doivent être respectées pour pouvoir quantifier adéquatement cette liaison. Premièrement, il faut s'assurer que la liaison peut se produire comme en milieu biologique, qu'il n'y a pas de dénaturation ou de problème d'orientation lorsque le récepteur moléculaire est immobilisé sur la surface du biocapteur. Il faut aussi vérifier la spécificité de l'interaction pour limiter les interférences. Il est aussi possible d'utiliser des essais sandwichs pour la détection secondaire de l'analyte, ce qui permet un plus grand niveau de confiance dans l'analyse et peut également augmenter le signal analytique. Cette technique utilise un agent de reconnaissance pour lier initialement l'analyte à la surface du biocapteur, puis un deuxième agent de reconnaissance qui produit un signal mesurable. Finalement, il est aussi nécessaire d'utiliser une méthode capable de transmettre le signal (bio)chimique induit lors la liaison, d'où l'optimisation de nouvelles méthodes analytiques et de nouveaux matériaux pour ouvrir la porte à de nouvelles interactions détectables facilement.

### 1.3 Différentes techniques de biodétection

La détection de biomolécules s'effectue présentement par plusieurs techniques analytiques. Les techniques les plus courantes sont présentées ici pour comparer leurs avantages et inconvénients, ainsi que les domaines applicables. Une description détaillée suit ensuite, puis un tableau comparatif est présenté à la section 1.3.6. La fluorescence est déjà une méthode bien implantée et son utilisation est favorisée puisque peu d'analytes fluorescent naturellement, limitant ainsi le signal non spécifique. Cependant, des techniques de marquage de l'analyte doivent être employées pour rendre l'analyte fluorescent. Les points quantiques sont des nanostructures fluorescentes de haute stabilité, mais ils ont une utilisation limitée en raison de leur toxicité. Les points quantiques sont tout de même intéressants, car ils ont comme avantage de pouvoir quantifier plusieurs analytes simultanément en raison de la faible largeur de bande de fluorescence. La spectroscopie Raman est une technique peu utilisée due à sa faible intensité, mais la spectroscopie Raman exaltée par une surface métallique (SERS) permet d'obtenir un spectre Raman d'intensité  $10^6$  à  $10^{11}$  fois supérieur. Finalement, une technique de biodétection est utilisée quotidiennement dans la majorité des laboratoires d'analyses médicales, les essais d'immunoabsorption de liaison d'enzyme, appelés ELISA. L'ELISA permet déjà de déterminer la présence d'une multitude d'analytes biologiques dans une matrice complexe. Par contre, le temps d'une analyse est très long et les coûts élevés en raison des nombreuses étapes. Ces techniques seront discutées en détail. Il est important de noter que l'ELISA est la technique à concurrencer dans la mise au point d'un biocapteur. Les différents modes de détection peuvent aussi être utilisés avec d'autres techniques de détection, sans avoir recours à un marqueur, simplifiant alors le processus. C'est pourquoi cette technique et ces variantes sont bien expliquées.

### 1.3.1 ELISA

Les essais d'immunoabsorption de liaison d'enzyme, ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assays*, sont très utilisés en raison de la grande flexibilité de combinaisons des réactifs qu'ils offrent.<sup>7,27</sup> La détection est basée sur les interactions spécifiques, comme la plus fréquemment utilisée, soit l'interaction antigène-anticorps. Pour ce faire par ELISA, plusieurs étapes sont nécessaires. Il doit être noté qu'à chaque étape, une période d'incubation pour permettre les interactions est nécessaire. La figure 1.2 illustre les différentes configurations de détection par ELISA.

La détection par ELISA directe comporte le moins d'étapes. Elle est rarement utilisée puisque la surface doit être fonctionnalisée pour permettre une bonne activité des enzymes et des anticorps.<sup>28</sup> La première étape détermine le succès de la détection, celle de la liaison de l'antigène à quantifier (AG1) sur une surface de plastique. Généralement, la surface de plastique possède 96 puits de 8 mm de diamètre et de 5 mm de profondeur dans lesquels l'antigène dans une solution tampon est déposé mécaniquement. L'adsorption des protéines sur le plastique se fait lentement, suivi d'un lavage des antigènes libres. Ensuite, un complexe (AC1-EN) comprenant l'anticorps (AC1) lié à une enzyme (EN) est déposé dans les puits. La liaison antigène-anticorps a lieu, puis le lavage permet d'enlever les complexes anticorps-enzyme qui ne sont pas liés par l'antigène à la surface. Ensuite, un substrat spécifique à l'enzyme sans coloration (S1) est ajouté en solution. L'enzyme catalyse la réaction du substrat qui est transformé en produit coloré (S2). L'activité enzymatique est arrêtée par l'ajout d'une solution qui dénature l'enzyme, comme une solution 1 M d'acide sulfurique. L'intensité de la coloration obtenue est proportionnelle à la concentration d'antigène spécifique à l'anticorps utilisé. Il est possible de déterminer visuellement l'intensité de la coloration, mais généralement, un spectrophotomètre à multiples canaux analyse les 96 puits de la surface, en mesurant l'absorbance à la longueur d'onde prévue selon le substrat de l'enzyme utilisé.<sup>7</sup> La détection par ELISA indirecte nécessite une étape supplémentaire,



puisque l'anticorps spécifique (AC1) à l'antigène (AG1) utilisé n'est pas lié à l'enzyme. Un autre complexe anticorps-enzyme (AC2-EN) doit pouvoir se lier à l'anticorps spécifique. La détection ELISA sandwich est limitée pour la détection d'antigène qui possède au moins deux sites de liaison pour des anticorps spécifiques.

La détection sandwich est la plus utilisée pour les analyses en solutions complexes et lorsque l'antigène est en faible concentration.<sup>13</sup> La détection ELISA sandwich directe implique qu'un anticorps est lié à la surface, puis l'antigène s'y lie. Ensuite, le complexe anticorps-enzyme se lie à l'antigène, qui est alors pris en sandwich. Le substrat est ajouté, puis la lecture de la coloration peut être faite. L'ELISA sandwich indirecte requiert plusieurs anticorps, mais permet d'utiliser un complexe anticorps-enzyme qui est non-spécifique aux éléments de reconnaissance du système étudié, comme Cho *et al.* qui utilisent l'enzyme non-spécifique peroxidase de raifort pour transformer le luminol en aminophthalate, une molécule fluorescente qui émet à  $\lambda = 425$  nm. De plus, ils utilisent une cellule fluïdique pour augmenter l'efficacité de leur système<sup>27</sup> Le même complexe peut donc être utilisé pour plusieurs systèmes sans avoir à marquer l'anticorps spécifique. Les étapes de l'ELISA sandwich indirecte débutent aussi avec l'adsorption de l'anticorps spécifique (AC1) puis de la liaison de l'antigène. Ensuite, un anticorps (ACX1) d'une autre espèce X est ajouté, pouvant lier l'antigène, mais pas l'anticorps AC1. Ensuite, le complexe ACX2-EN est ajouté, aussi un anticorps de l'autre espèce X, qui ne se lie pas à AC1. Enfin, le substrat est ajouté pour permettre la formation du produit coloré.<sup>7</sup> Cette dernière variante offre le plus grand degré de sélectivité, mais requière également une grande quantité d'anticorps et le temps d'analyse est très long (heures).

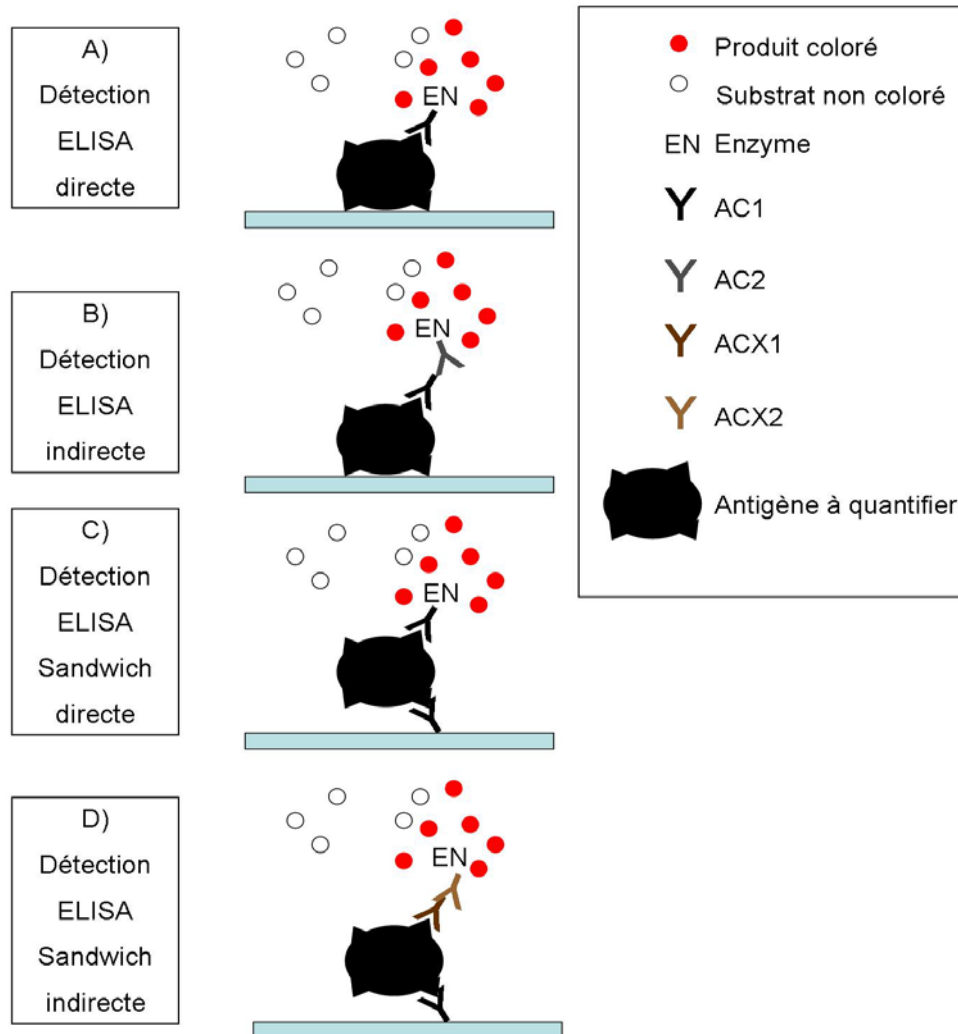


Figure 1.2 : Schéma des principales configurations de détection ELISA, où AC1 est spécifique à l'antigène et AC2 de la même espèce qu'AC1. ACX1 est spécifique à l'antigène, et comme ACX2, il est d'une autre espèce, donc ne se lie pas à AC1.

L'avantage de l'ELISA est que la présence de nombreuses protéines ou enzymes peut être détectées.<sup>13,29,30</sup> Par exemple, Fukami *et al.* utilisent l'ELISA pour quantifier un facteur dérivé d'un pigment d'épithélium, dont la présence prévient les complications vasculaires,<sup>30</sup> et Taylor *et al.* expliquent la problématique des allergènes dans la

nourriture et l'efficacité des tests ELISA, qui sont les tests principalement utilisés.<sup>13</sup> Un des désavantages de cette technique est la longueur d'analyse en raison des temps d'incubations nécessaires. L'autre désavantage est le coût élevé des anticorps marqués à utiliser. De plus, pour la majorité des tests, de la main-d'œuvre qualifiée doit être utilisée pour manipuler les échantillons et pour analyser les résultats.

## 1.3.2 Fluorescence

### 1.3.2.1 Fluorescence de molécules

La fluorescence peut être utilisée, si la protéine d'intérêt ou l'anticorps fluoresce. Si ce phénomène a lieu, il est avantageux de l'exploiter due à la grande sensibilité de la fluorescence. Par contre, peu de systèmes biologiques possèdent une fluorescence intrinsèque. Seulement trois acides aminés aromatiques, le tryptophane ( $\lambda_{\text{émission}} = 350 \text{ nm}$ ,  $Q = 0,14$ ), la tyrosine ( $\lambda_{\text{émission}} = 303 \text{ nm}$ ,  $Q = 0,13$ ) et la phénylalanine ( $\lambda_{\text{émission}} = 282 \text{ nm}$ ,  $Q = 0,03$ ), peuvent fluorescer.<sup>31</sup> La longueur d'onde d'émission,  $\lambda_{\text{émission}}$ , est la longueur d'onde à laquelle l'intensité de la fluorescence est maximale. Le rendement quantique,  $Q$ , est la proportion entre le nombre de photons émis par l'analyte et celui de la source qui excite l'analyte. Le rendement quantique doit être grand pour mesurer facilement la fluorescence d'une molécule. Une molécule rigide et conjuguée, comme le tryptophane avec deux cycles aromatiques fusionnés, peut avoir un rendement quantique suffisant. Pour mesurer la fluorescence d'une protéine, généralement, la longueur d'onde d'excitation utilisée est supérieure à  $\lambda = 280 \text{ nm}$ , ne permettant pas de mesurer la fluorescence de la phénylalanine, qui a un rendement quantique très faible. Une longueur d'onde d'excitation entre  $\lambda = 295$  et  $\lambda = 305 \text{ nm}$  permet de n'exciter que le tryptophane, pour éliminer la fluorescence de la tyrosine.<sup>31</sup> Des informations sur le repliement de la protéine peuvent être tirées de cette fluorescence et la fluorescence de ces acides aminés peut être utilisée pour la quantification d'une protéine isolée. Par contre, une protéine parmi plusieurs autres,

comme en milieu complexe, est difficile à détecter en raison des similitudes de structures. Bien sûr, il est possible de marquer l'anticorps ou une protéine de façon à ce qu'il y ait fluorescence.<sup>31</sup> Cependant, ces réactions de marquage ne fonctionnent pas pour toutes les molécules et elles sont souvent complexes et longues à réaliser.

Dans plusieurs cas, l'analyse de multiples biomolécules est désirée. Une bonne résolution entre les bandes de fluorescence est nécessaire pour bien distinguer ces biomolécules. Cependant, les bandes de fluorescence sont larges en raison des différentes relaxations par vibration et de conversion interne, résultant en une grande gamme d'énergie possible. Dans un cas où deux espèces fluorescent à des énergies similaires, les bandes de fluorescence se superposent et sont difficilement distinguables. Donc, le nombre d'analyses en parallèle est relativement limité. Il est toutefois possible de quantifier entre 2 et 4 espèces en utilisant un bon étalonnage et un bon traitement mathématique.<sup>31</sup>

### 1.3.2.2 Points quantiques

Les points quantiques (*quantum dots*) sont des nanosphères de semi-conducteurs qui fluorescent à des longueurs d'onde différentes selon leur taille, la nature du métal et l'indice de réfraction à leur surface.<sup>31,32</sup> Le schéma de la figure 1.3 est la structure d'un point quantique de CdSe. Il s'agit principalement d'une sphère de cadmium-sélénium, CdSe, active optiquement. Ce métal semi-conducteur peut être excité par la lumière, et fluorescer. Le CdSe est entouré d'une enveloppe de sulfure de zinc, ZnS, aussi un semi-conducteur avec une bande passante plus grande, à une longueur d'onde plus petite que le CdSe. Un semi-conducteur est caractérisé par une grande différence d'énergie entre la bande de valence et la bande de conduction (où les électrons se déplacent librement), résultant en une région où le matériau n'absorbe pas la lumière. La longueur d'onde de la bande passante indique donc la lumière qui est transmise par le matériau.<sup>31</sup>

L'utilisation du ZnS agit comme un filtre pour la lumière à des longueurs d'onde inférieures pour le CdSe. Cela permet de limiter la largeur de bande qui excite les électrons du CdSe, diminuant ainsi la largeur de la bande d'émission. L'utilisation d'un deuxième semi-conducteur permet donc d'optimiser les paramètres de stabilité photochimiques.<sup>31,32</sup> Un polymère recouvre ensuite le ZnS, permettant principalement la solubilisation dans l'eau et la fonctionnalisation du point quantique. Il est donc possible d'y lier des agents de reconnaissance. Le diamètre de la sphère de CdSe et la proportion de l'épaisseur de ZnS permettent de déterminer la longueur d'onde d'émission du point quantique. Ce sont les électrons de valence du CdSe qui peuvent être excités, créant un duo électron-trou, où la recombinaison produit l'émission d'un photon. Une plus grosse nanoparticule stabilise l'état excité, résultant en de plus faibles énergies, en raison des propriétés de semi-conducteur du CdSe.<sup>31</sup> Pour cette raison, une nanosphère de CdSe de 12 nm émet une lumière rouge, alors qu'une nanosphère de 2 nm émet une lumière bleue plus énergétique. Il est aussi possible d'utiliser d'autres métaux semi-conducteurs, comme le cadmium-tellure, CdTe, le phosphore d'indium, InP et l'arséniure d'indium, InAs, qui transmettent la lumière dans des régions spectrales différentes permettant de choisir le type de point quantique selon le milieu d'analyse.<sup>31,32</sup> Un laser avec la bonne énergie d'excitation est nécessaire.<sup>31</sup>

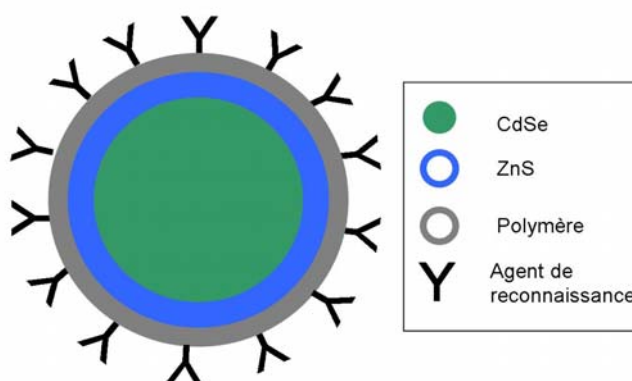


Figure 1.3 : Schéma de la structure d'un point quantique (coupe transversale).

Les points quantiques ont deux avantages majeurs. Le premier est le fait qu'il n'y a pas de phénomène de photodégradation avec l'exposition à la lumière. Plusieurs fluorophores s'oxydent lors de l'interaction avec la lumière, limitant le temps pendant lequel ils émettent des photons. Le deuxième avantage des points quantiques est la petite largeur de bandes de fluorescence par rapport à un fluorophore moléculaire, puisqu'il y a moins de vibrations et de conversions internes dans un métal que pour une molécule. De cette façon, il est possible d'avoir plusieurs points quantiques sans avoir de chevauchement de bandes de fluorescence. Il serait donc possible d'avoir plusieurs points quantiques de tailles différentes avec des agents de reconnaissance différents.<sup>33</sup> Cela permettrait de mesurer plusieurs analytes simultanément. De plus, lorsque l'indice de réfraction varie à la surface d'un point quantique, cela fait varier l'énergie des électrons excités, et la longueur d'onde de la fluorescence change aussi. Cela permettrait de suivre en direct la liaison de molécules biologiques qui sont de taille suffisante pour créer un changement d'indice de réfraction détectable.<sup>33,34</sup> L'utilisation principale des points quantiques est la liaison avec la molécule complémentaire puis la détection de l'intensité de fluorescence à cet endroit, permettant le développement de technique d'imagerie. Il serait donc possible de déterminer par exemple la position d'une tumeur dans des cellules vivantes.<sup>33</sup> Un autre avantage est leur petite taille, ce qui permet de ne pas influencer le fonctionnement des cellules. Par contre, les points quantiques sont très toxiques et il y a de grands risques de bioaccumulation. Leur usage *in vivo* est donc proscrit.

### 1.3.3 Raman

La spectroscopie Raman est généralement un phénomène de faible intensité. Un photon Raman est émis lorsqu'un photon incident d'énergie  $h\nu_0$ , où  $h$  est la constante de Planck et  $\nu_0$  est la fréquence du laser, excite une molécule à un niveau virtuel plus élevé, et que lors de la relaxation, la molécule ne revient pas au même niveau vibrationnel

initial. Si le niveau vibrationnel final est plus élevé, l'énergie du photon Raman est inférieure à celle du laser,  $h\nu_0 - E_{\text{vib}}$ , nommé Stokes. Si le niveau vibrationnel initial était déjà excité, la relaxation se fait au niveau vibrationnel inférieur, donnant un photon Raman d'énergie plus grande que le laser  $h\nu_0 + E_{\text{vib}}$ , nommé anti-Stokes, où  $E_{\text{vib}}$  est la différence d'énergie entre les niveaux vibrationnels initial et final. Le photon Raman n'a donc pas la même énergie que le photon incident. On mesure donc le déplacement Raman,  $\Delta\nu$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) soit la différence de fréquence entre le laser et le photon mesuré. Une bande Raman est donc très fine puisqu'il s'agit de la différence d'énergie entre des niveaux vibrationnels. Cela permet la superposition de plusieurs rapporteurs Raman dans un même spectre en limitant les chevauchements de bande. Plusieurs analytes peuvent donc être quantifiés simultanément. De plus, l'eau ne donne pas de signal Raman, facilitant les mesures d'analytes en matrices complexes. Certaines molécules donnent un fort signal Raman, mais dans le cas de protéine, il faut utiliser un marqueur Raman attaché à l'analyte pour déterminer sa présence.

L'équation 1.2 représente le signal Raman de Stokes à la fréquence S ( $P^{\text{RS}}(\nu_s)$ ), qui est proportionnel au nombre de molécule dans le volume N, à la section Raman transversale d'une molécule libre ( $\sigma^{\text{R}}_{\text{libre}}$ ), ainsi que de l'intensité du laser à la fréquence L ( $I(\nu_L)$ ).<sup>35</sup> Il est important de mentionner qu'un seul photon Raman est émis sur un million, ou même un milliard de photons incidents, dans le meilleur scénario. Il est donc nécessaire de maximiser l'intensité Raman ( $P^{\text{RS}}(\nu_s)$ ) dans l'équation 1.2. Cette faible intensité limite l'utilisation du Raman pour la quantification. Il est très important d'utiliser un laser très puissant pour augmenter le champ électrique, augmentant ainsi la quantité de photons Raman. Presque la totalité des photons, environ 99.9 %, est transmise directement sans interaction avec l'analyte. Il y a donc 0.1 % des photons incidents qui interagissent avec les molécules de l'échantillon, et sont ensuite diffusés (diffusion de Rayleigh). La majorité des photons diffusés, 0.1 % à 0.001 % sont des photons qui excitent un électron à un niveau virtuel, mais la relaxation se fait au même

niveau vibrationnel initial. Il n'y a donc pas de changement d'énergie, c'est donc un photon de Rayleigh. Pour mesurer les photons Raman seulement, il est donc essentiel de limiter l'arrivée des photons incidents du laser et de bloquer les photons de Rayleigh qui sont émis par l'échantillon. Le montage est donc très similaire à celui de fluorescence, puisque la source et le détecteur sont placés à 90°. De plus, il faut utiliser un filtre pour bloquer la longueur d'onde associée au laser.<sup>35</sup>

Équation 1.2

$$P^{RS}(\nu_s) = N \sigma_{\text{Raman}}^R I(\nu_L)$$

Il est possible d'augmenter la proportion de photons Raman émis en excitant un niveau électronique au lieu d'un niveau virtuel. Cela se nomme la spectroscopie Raman de résonance. Par contre, le phénomène beaucoup plus intense de fluorescence peut aussi avoir lieu. Dans le spectre, les bandes Raman sont très fines, alors que celles de la fluorescence très larges. Il est alors très difficile de faire de la quantification par Raman lorsque la fluorescence a lieu.

### 1.3.4 SERS

La spectroscopie de Raman exaltée par les surfaces, (*Surface-Enhanced Raman Resonance*, SERS), permet d'augmenter significativement le signal Raman tout en maintenant toutes les mêmes avantages du Raman.<sup>36,37</sup> Cette technique utilise l'oscillation des électrons du métal excitée par la lumière pour augmenter le champ électrique à la surface de métal, qui a le même effet que d'avoir un laser plus puissant, et du même coup augmente le signal Raman prévu par l'équation 1.2. Il faut utiliser des nanoparticules de métal ou une surface rugueuse recouverte de métal, le plus souvent d'argent ou d'or. Le choix du matériel est expliqué à la section 1.4.1. Le champ électrique du laser à la bonne énergie produit une oscillation des électrons du métal.



Cette oscillation des électrons produit un champ électrique d'une plus grande intensité. Donc si les rapporteurs Raman, des molécules avec une plus grande section Raman transversale ( $\sigma^R$ ), paramètre dans l'équation 1.2, se situent près du métal où le champ électrique est augmenté, il y aura plus de photons Raman mesurés. Des amplifications de  $10^6$ - $10^7$  sont souvent mentionnées, par rapport au signal Raman de la même molécule sans amplification par plasmon.<sup>36</sup> Il est également possible d'obtenir une amplification d'un facteur de  $10^{11}$  dans des conditions optimales et en optimisant la forme des nanoparticules.

Pour que l'amplification soit grande, la molécule à analyser doit être attachée au métal. Il faut donc utiliser de la chimie du thiol pour lier un groupement sur le métal.<sup>37</sup> Ensuite il faut lier un agent de reconnaissance sur le groupement thiol. Puisque peu d'analytes donnent un signal Raman, il est nécessaire de marquer l'analyte avec un rapporteur Raman. Le spectre Raman peut être pris, et les signaux Raman Stokes amplifiés sont mesurés. Il est possible de placer le rapporteur Raman sur des nanoparticules pour faire de l'imagerie Raman avec un microscope Raman.<sup>37-40</sup>

### 1.3.5 SPR et LSPR

Le plasmon de surface est une oscillation collective des électrons dans un métal, comme pour le SERS, qui peut être excitée par la lumière. Deux cas relatifs à la surface de métal sont possibles. Le premier cas a lieu lorsque la taille du métal est beaucoup plus grande que la distance de propagation de l'onde (de l'ordre du  $\mu\text{m}$ ), c'est le SPR. Le deuxième cas est lorsque la région métallique où l'oscillation des électrons a lieu est beaucoup plus petite que la longueur d'onde, c'est le LSPR qui est exploité dans ce mémoire.

Le SPR et le LSPR possèdent un grand avantage sur celles décrites plus haut. Elles ne nécessitent que rarement le marquage de l'analyte. Donc, une grande gamme de molécules biologiques peut être détectée par SPR ou LSPR, à condition que la molécule possède un indice de réfraction différent de la solution aqueuse (si l'analyse se fait dans l'eau) et cause un changement d'indice de réfraction suffisamment grand pour être détectée.<sup>19</sup> En effet, ces techniques sont très sensibles au changement d'indice de réfraction qui s'effectue à proximité de la surface de métal. Plus la molécule est grosse, plus le changement sera grand. Par contre, cette technique est non spécifique, donc le changement d'indice de réfraction aura lieu, peu importe quelle molécule s'adsorbe à la surface. Il faut s'assurer de la grande spécificité de l'agent de reconnaissance lié à la surface de métal et éviter l'adsorption des d'autres molécules. Aussi, il est difficile de quantifier de petites molécules avec ces techniques, car le changement d'indice de réfraction est relativement petit. Dans ce cas, il serait possible d'utiliser des essais sandwichs.

Il serait aussi possible de combiner le principe du LSPR en transmission avec celui de languettes, comme pour le glucomètre. Une languette avec les nanostructures dans la surface de métal avec les agents de reconnaissance nécessaires liés serait placée dans une cuvette dans un appareil à transmission. La solution à analyser pourrait être ajoutée, et si la liaison a lieu, le changement de longueur d'onde de la bande LSPR indiquera la concentration de l'analyte. Ces avantages et ces possibilités font du LSPR une technique analytique à développer. De plus, cette technique est nouvelle et n'est pas mature. Seulement quelques groupes rapportent des détections de biomolécules, ce qui démontre la nécessité d'obtenir plus d'informations quant au potentiel de biodétection du LSPR et à l'optimisation des nanostructures employées.<sup>41,42</sup>

### 1.3.6 Comparaison des techniques de détection

Les caractéristiques de ces différentes méthodes de détection sont résumées par le tableau 1.1. Le signal détecté est soit l'intensité des photons émis, nécessitant un détecteur peu bruyant pour permettre la détection de faibles concentrations pour la majorité des techniques ou la mesure de la variation de la longueur d'onde d'adsorption. L'intensité réfère au signal obtenu en fonction du bruit, en lien avec la limite de détection, qui varie par contre aussi beaucoup avec l'analyte et la spécificité de l'agent de reconnaissance. Un des plus grands avantages du SPR et du LSPR est qu'elles sont les seules techniques à détecter une variation de longueur d'onde, et pas une variation d'intensité. Cela est particulièrement pertinent lorsque le détecteur utilisé n'est pas très sensible et que le signal sur bruit est élevé. Le temps de détection influence l'utilité de la méthode. Certaines méthodes sont limitées par le temps de la réaction de liaison de l'analyte à l'élément de reconnaissance, une réaction prenant habituellement de quelques minutes à moins de 30 minutes. Cependant, d'autres techniques, comme l'ELISA, requièrent plusieurs étapes qui rendent l'analyse plus longue. En plus d'augmenter le temps d'analyse, le marquage de l'analyte est à éviter, puisqu'il requiert la manipulation de l'échantillon, et donc une possibilité de dénaturation, de contamination ou d'erreurs de concentration. Également, les réactions de marquage ne sont pas très spécifiques, et peuvent se produire sur l'analyte tout comme sur des interférents, limitant la portée de cette approche. La détection directe implique que la liaison de l'analyte avec la surface ou la molécule de reconnaissance crée un signal mesurable. Ainsi, il n'est pas nécessaire d'utiliser un essai immunologique ou une détection secondaire, qui allonge le temps d'analyse. C'est en effet, un désavantage majeur de l'ELISA, qui nécessite dans sa définition un marqueur. En comparaison, le SPR et le LSPR mesure un déplacement de solvant lié à la liaison d'une molécule près de la surface, peu importe la nature de la molécule. Un autre avantage du SPR et du LSPR est donc que tous les types de molécules peuvent être détectés sans marquage, que ce soit une petite molécule ou des brins de DNA, voire une plus grosse molécule,

comme une protéine, une enzyme ou un anticorps. Ces avantages motivent le développement de nouveaux matériaux pour augmenter la sensibilité de ces techniques plasmoniques pour en étendre l'utilisation. Enfin, pour ce qui est des coûts d'instrumentation, il est possible d'utiliser le SPR et le LSPR à très faibles coûts en utilisant la configuration à interrogation par longueur d'onde, comme il sera expliqué dans le chapitre 2. De plus en raison de la diminution du nombre de réactions chimiques, donc la réduction de produits et du temps nécessaires à la détection en comparaison avec l'ELISA, la détection par SPR ou LSPR est moins coûteuse.

Tableau 1.1: Comparaison des techniques de détection pour un biocapteur

	Fluorescence et FRET	Points quantiques	Raman	SERS	ELISA	SPR et LSPR
Signal détecté	intensité des photons émis					déplacement de longueur d'onde
Intensité du signal	haute		faible	moyenne à haute	haute	selon taille de l'analyte
Temps de détection	selon la réaction				long, plusieurs étapes	selon la réaction
Marquage de l'analyte	oui, pour la majorité	oui	non	dépend de l'analyte	non	non
Coût de l'instrumentation	moyen				élevé	SPR élevé LSPR faible
Détection directe de plusieurs types d'analytes *	non, possible dans de rares cas	non	non, possible dans de rares cas	possible	non	oui

\* La détection directe implique qu'aucune modification de marquage ne doit être apportée à aucune des composantes du système et que la méthode pourrait théoriquement être utilisée pour n'importe quel analyte ayant un agent de reconnaissance connu.

## 1.4 Phénomènes optiques reliés à la résonance des plasmon de surface

### 1.4.1 Constante diélectrique

Pour générer un plasmon de surface (PS), la constante diélectrique réelle ( $\epsilon'$ ) du matériel doit être négative, comme l'indique l'équation 1.7. La constante diélectrique ( $\epsilon$ ) est représentée par l'équation 1.3, qui implique aussi la constante diélectrique imaginaire ( $\epsilon''$ ).

Équation 1.3 
$$\epsilon(\lambda) = \epsilon' + i\epsilon''$$

La constante diélectrique indique l'influence d'un champ électrique sur les électrons d'un matériau. Elle est aussi directement en lien avec l'indice de réfraction ( $\eta$ ), selon l'équation 1.4, et aux paramètres  $n$  et  $k$ , valables pour une longueur d'onde et à une température donnée, selon l'équation 1.5. Ces paramètres diffèrent selon la composition des matériaux. En appliquant l'équation 1.5 dans l'équation 1.4, il est ensuite simple de séparer les termes réels et imaginaires de la constante diélectrique, comme dans l'équation 1.6. <sup>43</sup> Des métaux nobles comme l'argent (à  $\lambda = 539,1$  nm et  $\theta_i = 0^\circ$ ,  $k = 3.25$ ;  $n = 0.129$ ), l'or (à  $\lambda = 539,1$  nm et  $\theta_i = 0^\circ$ ,  $k = 2.540$ ;  $n = 0.402$ ), le cuivre (à  $\lambda = 539,0$  nm et  $\theta_i = 0^\circ$ ,  $k = 2.59$ ;  $n = 1.04$ ), et l'aluminium (à  $\lambda = 539,1$  nm et  $\theta_i = 0^\circ$ ,  $k = 6.55$ ;  $n = 0.912$ ) supportent les plasmons de surface puisqu'ils permettent à l'équation 1.7 d'être respectée. <sup>43</sup>

Équation 1.4 
$$\epsilon = \eta^2$$

$$\text{Équation 1.5} \quad \eta = n(\lambda) + ik(\lambda)$$

$$\text{Équation 1.6} \quad \varepsilon = ((n(\lambda))^2 - (k(\lambda))^2) + 2i(n(\lambda))(k(\lambda))$$

$$\text{Équation 1.7} \quad \varepsilon' = (n(\lambda))^2 - (k(\lambda))^2 < 0$$

### 1.4.2 Résonance des plasmons de surface

Un plasmon de surface est créé lorsque les électrons d'un matériau entrent en résonance avec un champ électrique. Le schéma de la figure 1.4 représente l'excitation de SPR pour un film mince de métal. Le SPR est un phénomène où les électrons libres d'un métal ou d'un semi-conducteur peuvent osciller avec le champ électrique environnant. Ce plasmon de surface crée un champ électromagnétique perpendiculaire à la surface de métal. Ce champ pénètre alors dans le milieu au-dessus de la surface de métal, pouvant alors sonder ce milieu. Cette sonde plasmonique permet donc de mesurer des changements à la surface de la couche de métal. La distance sensible à ces changements est la distance de pénétration ( $l_d$ ), qui varie selon la configuration et l'épaisseur de métal. Plus la distance de pénétration est petite, plus les changements près de la surface influencent le signal détecté, puisque les molécules au-delà de cette distance n'auront aucune influence sur le signal. Cet avantage est important, puisque cela signifie que peu importe la complexité de la matrice, le signal détecté est seulement dû à la liaison de l'analyte près de la surface.

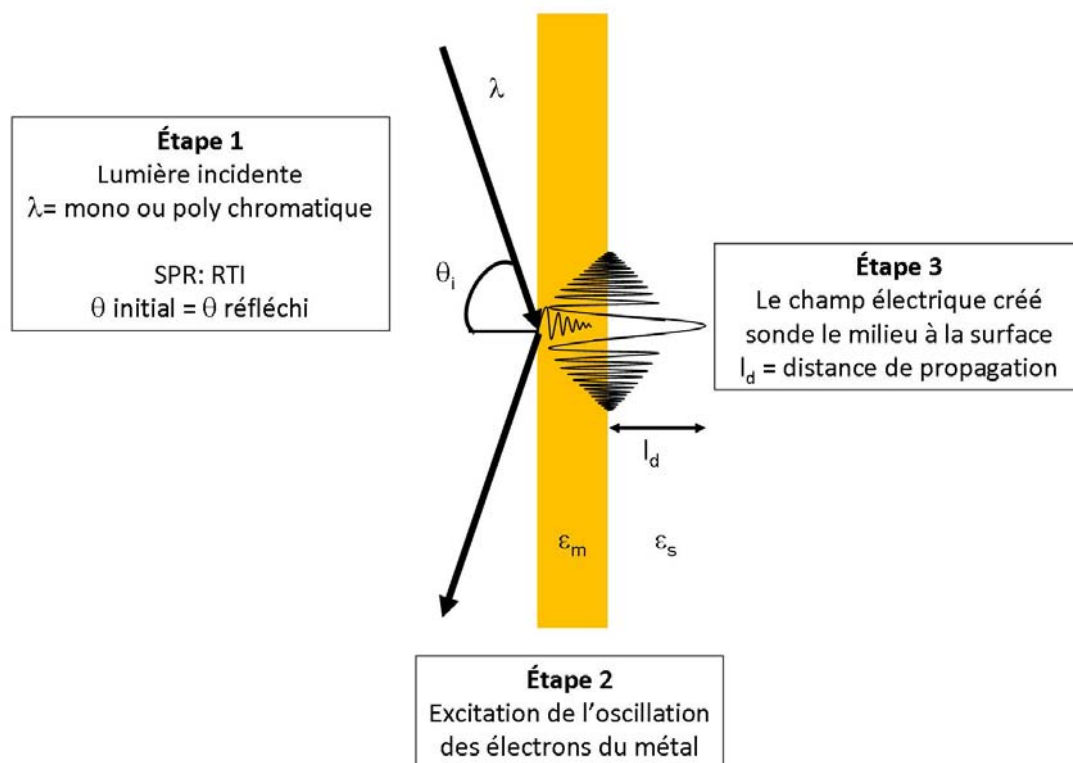


Figure 1.4 : Schéma de l'excitation de la résonance des plasmons de surface pour un mince film d'or.

Pour exciter le plasmon de surface, il est nécessaire que le vecteur d'onde de la lumière incidente ( $k_x$ ) concorde avec celui du plasmon de surface ( $k_{sp}$ ). Les équations 1.8 et 1.9 sont pour un angle ( $\theta$ ), une longueur d'onde ( $\lambda$ ) et un prisme d'indice de réfraction ( $\eta_D$ ) donnés. Le vecteur d'onde de la lumière ( $k_o$ ) est décrit par l'équation 1.10. Ensuite, l'onde électromagnétique créée par l'oscillation des électrons du métal peut sonder le milieu à l'interface métal-solution pour déterminer  $\epsilon_s$ . L'approximation  $\epsilon_s \approx (\eta_s)^2$  peut être faite pour une solution d'indice de réfraction ( $\eta_s$ ), selon l'équation 1.4. De ces équations, il est important de comprendre que la variation de l'angle et la longueur d'onde influencent le vecteur d'onde de la lumière incident.



Équation 1.8 
$$k_{sp}(\theta, \lambda) = k_0 \left( \frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Équation 1.9 
$$k_x(\lambda) = k_0 \eta_D \sin \theta_i$$

Équation 1.10 
$$k_0 = \frac{2\pi}{\lambda}$$

La variation d'une de ces variables produit un changement dans l'énergie nécessaire pour produire l'oscillation des électrons. Aussi, l'indice de réfraction à la surface du métal joue un rôle, puisqu'il est relié à la constante diélectrique de la solution,  $\epsilon_s$ . Donc, la longueur d'onde produisant un maximum de résonance est différente pour des milieux aux indices de réfraction différents. Ces changements sont mesurables par spectroscopie. Lorsque le SPR est excité par un rayon incident, la lumière est absorbée. La position de la bande, qui correspond à la longueur d'onde d'absorption maximale, indique l'énergie associée au SPR. Lorsque les indices de réfraction varient, la position de la bande plasmonique est déplacée comme à la figure 1.5 A. On parle alors de  $\Delta\lambda$ , qu'on peut mettre en lien avec la différence d'indice de réfraction  $\Delta\eta$ . Le rapport donne la sensibilité de la bande  $\Delta\lambda / \Delta\eta$  en nm / RIU, qui est la pente du graphique présenté à la figure 1.5 B. La sensibilité est à maximiser pour obtenir un dispositif capable de détecter un faible changement d'indice de réfraction à la surface du métal. <sup>44</sup>

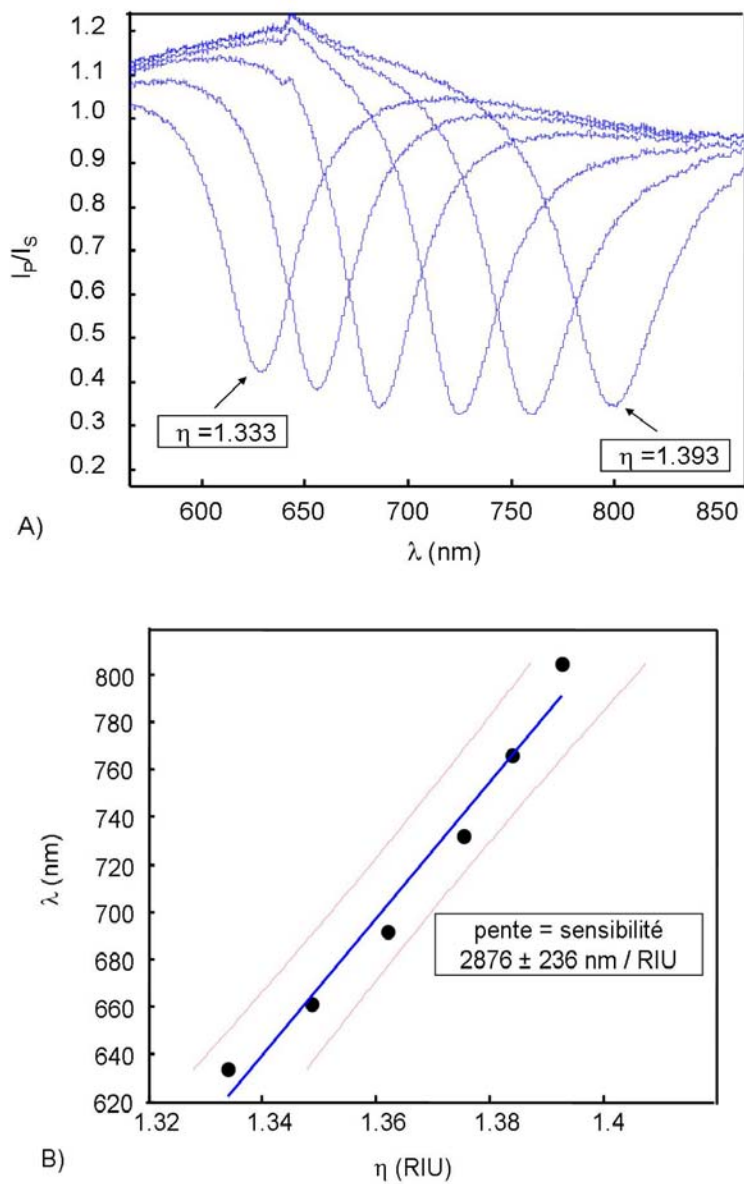


Figure 1.5 : Détermination de la sensibilité d'une surface d'or d'une épaisseur de 50 nm A) Spectre SPR en RTI par interrogation de longueur d'onde pour différents indices de réfraction B) Graphique de la position en longueur d'onde de la bande plasmonique selon l'indice de réfraction de la solution. La pente correspond à la sensibilité  $\Delta\lambda / \Delta\eta$ .

### 1.4.3 Principe de résonance des plasmons de surface en réflexion totale interne

La principale utilisation du SPR se produit lorsqu'un faisceau en réflexion totale interne (RTI) de lumière polarisée perpendiculaire au plan frappe un film mince continu métallique avec la bonne longueur d'onde,  $\lambda$ , dans un angle incident précis,  $\theta_i$ , afin d'atteindre les critères d'oscillation des électrons (Figure 1.4). L'excitation par RTI par un prisme est nécessaire pour la formation du plasmon de surface sur un mince film de métal. En effet, si une excitation directe est utilisée, le vecteur d'onde de la lumière ne concorde pas avec celui du plasmon de surface, selon les équations 1.8 et 1.9, et il n'y a pas de résonance. Puisque la lumière en réflexion totale interne induit une onde évanescente pénétrant dans le film métallique, c'est le vecteur d'onde de cette onde évanescente qui égalise celui du plasmon de surface. Seulement le vecteur d'onde électrique perpendiculaire à la surface un prisme permet à l'onde évanescente de pénétrer la surface de métal. En d'autres mots, seulement l'utilisation de la lumière polarisée perpendiculaire (P) permet le plasmon de surface. La lumière polarisée parallèlement (S) peut être utilisée comme référence puisqu'elle n'excite pas le plasmon de surface. Donc au lieu d'obtenir un spectre de transmittance ( $I/I_0$ ), en SPR en RTI le rapport  $I_p/I_s$  est utilisé. Aussi, la distance de pénétration du champ électromagnétique créé par RTI est approximée à la moitié de la longueur d'onde de l'excitation du SPR.<sup>44</sup>

Deux configurations sont possibles en utilisant l'excitation par RTI : l'interrogation par angle et l'interrogation par longueur d'onde. Dans chacun des cas, l'autre variable demeure constante. L'interrogation par angle, ou configuration Kretschmann, (Figure 1.6 A) nécessite un laser monochromatique et un prisme de forme hémisphérique afin de pouvoir varier simultanément l'angle du faisceau incident et du détecteur. Des lasers avec une très petite largeur de bande sont disponibles commercialement. De plus, avec la précision de l'alignement, il est possible d'obtenir

une bonne résolution entre les angles incidents, donnant des bandes d'absorption fines et donc une meilleure résolution qu'avec l'interrogation par longueur d'onde (Figure 1.6 B). Cette dernière utilise une lumière blanche et un prisme de Dove, permettant un alignement linéaire avec le détecteur. Avec cette configuration, l'angle est conservé constant, par exemple à  $72.8^\circ$  dans les systèmes SPR du laboratoire du groupe de recherche Masson à l'Université de Montréal.<sup>45-50</sup> Ce montage possède l'avantage d'être plus compact et nécessite moins de pièces mobiles en raison de l'alignement linéaire. Donc la résolution est moindre, mais il est plus facile à manipuler et à transporter sur le terrain. Les paramètres analytiques et le potentiel de ces deux techniques sont bien comparés dans l'article de revue de Homola, Yee et Gauglitz.<sup>51</sup> La figure 1.5 A représente des spectres SPR en RTI pour des solutions de différents indices de réfraction, obtenus avec l'interrogation par longueur d'onde. La figure 1.5 B est un graphe typique pour déterminer la sensibilité d'une bande plasmonique, selon la position de la bande et l'indice de réfraction de la solution à la surface du métal. Dans ce cas, une surface de 50 nm d'or a été utilisée, et des solutions aqueuses de différentes concentrations de sucrose permettent de varier l'indice de réfraction entre 1.333 (eau) et 1.393 (22% de sucrose). La sensibilité typique d'un film d'or de 50 nm d'épaisseur est de 2800 nm / RIU.

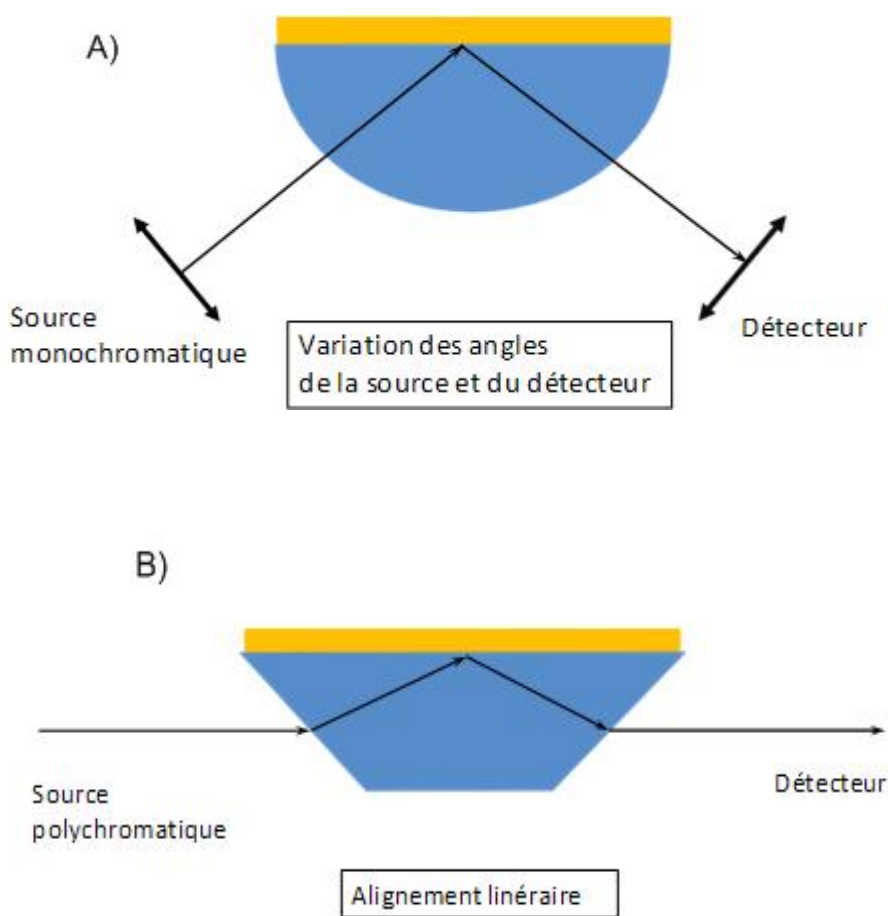


Figure 1.6 : Schéma illustrant les deux différentes configurations SPR en RTI. A) Configuration par interrogation par angle de Kretschmann, où une source monochromatique est dirigée avec un angle variable à travers un prisme hémisphérique à la surface d'un film métallique. B) Configuration par interrogation par longueur d'onde, où une source polychromatique est dirigée par un prisme de Dove à la surface d'un métal, permettant de conserver l'angle constant.

Le système SPR *Biacore* est basé sur la configuration de Kretschmann d'interrogation par angle.<sup>52 52</sup>Le système de Biacore a été le premier disponible commercialement. Il est utilisé principalement pour déterminer la spécificité, l'affinité et les vitesses de liaison et de dissociation des interactions moléculaires. Il est grandement

utilisé pour la découverte de médicaments où une multitude de molécules est créée et il est nécessaire de pouvoir rapidement identifier celles qui interagissent avec l'analyte. Cet appareil utilise le SPR en réflexion totale interne avec une longueur d'onde unique et une interrogation de l'indice de réfraction par variation de l'angle d'incidence du faisceau. Il est utilisé avec un système fluide permettant d'analyser plusieurs interactions à la fois.<sup>52</sup> Le *Biacore* est efficace, mais dispendieux, et requiert un personnel qualifié. De plus, d'autres possibilités existent, et il est possible d'améliorer la sensibilité et la simplicité de la détection avec de nouveaux matériaux qui influencent le plasmon de surface.

#### **1.4.4 Résonance des plasmons de surface localisés**

Le LSPR a lieu lorsque le champ électrique d'un faisceau incident produit un déplacement des électrons dans le métal, comme pour le SPR. Contrairement au SPR décrit ci-dessus, le phénomène LSPR se produit lorsqu'une nanoparticule métallique plus petite que la longueur d'onde ou ayant une taille inférieure à la distance de propagation de l'onde SPR (quelques microns) est placée dans le champ électrique d'un faisceau lumineux incident (figure 1.7). Cela est possible pour une surface métallique finie, comme une particule, où le champ électrique du nuage d'électrons du métal peut entrer en résonance avec celui de la lumière incidente, provoquant l'absorption de la lumière à l'énergie correspondante. L'équation 1.11 représente l'extinction de la lumière pour les différentes longueurs d'onde,  $E(\lambda)$ , qui prend aussi compte des constantes diélectriques du métal,  $\epsilon_m$ , et de la solution à analyser,  $\epsilon_s$ .

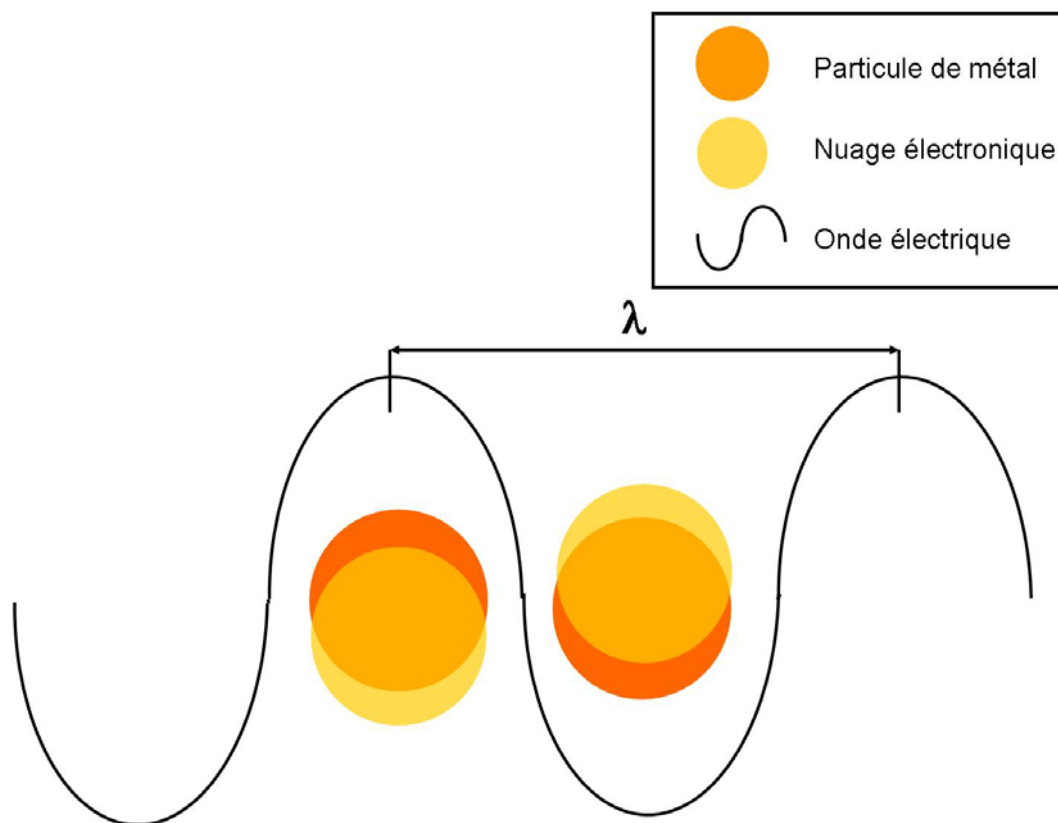


Figure 1.7 : Schéma du phénomène LSPR où le champ électrique de la période  $\lambda$ , excite l'oscillation du nuage électronique d'une particule de métal de diamètre inférieur à  $\lambda$ .

Équation 1.11

$$E(\lambda) \propto \frac{\epsilon_m''}{(\epsilon_m' + \chi\epsilon_s)^2 + \epsilon_m''^2}$$

La spectroscopie LSPR est aussi sensible à l'indice de réfraction et fonctionne de façon très similaire au SPR. La lumière polychromatique est utilisée pour exciter le LSPR, puis la lumière transmise est mesurée. Les bandes plasmoniques sont influencées par l'indice de réfraction à la surface du métal, permettant de suivre des liaisons sur la surface. La différence avec le SPR en RTI est que l'excitation directe est possible.

L'utilisation la plus répandue du LSPR est les nanoparticules en solution. Comme l'équation 1.11 l'indique, la forme et la taille des nanoparticules influencent la position de leur unique bande plasmonique.<sup>53</sup> Le déplacement de cette bande lors d'un changement d'indice de réfraction à la surface des particules permet de suivre des liaisons à leur surface. Par contre, la sensibilité de cette technique est limitée à environ 200 nm / RIU pour des particules sphériques, limitant son utilisation.<sup>15,54</sup> Il existe plusieurs méthodes pour contrôler leur taille,<sup>55,56</sup> ce qui permet de définir la longueur d'onde d'absorption maximale de la bande plasmonique et augmente un peu la sensibilité, mais elle demeure inférieure à 250 nm / RIU pour des particules d'or et inférieure à 350 nm / RIU pour des particules d'argent.<sup>57</sup> Dans le but d'obtenir des spectres LSPR en spectroscopie en transmission de sensibilité supérieure, des nanostructures de métal en solution de formes différentes ont été étudiées.<sup>58</sup> Par exemple, le rapport du diamètre et de la longueur de cylindres métalliques nanoscopiques influence grandement le spectre LSPR.<sup>10,15,59-61</sup> Chen et al. ont comparé plusieurs structures en solution, des sphères, des cubes, des cylindres, des bipyramides et des branches. Cette dernière géométrie, où chaque structure compte plusieurs petits pics, montre la meilleure sensibilité à 703 nm / RIU à  $\lambda = 1141$  nm. Les bipyramides ont montré une sensibilité croissante lorsque leur taille augmente, allant jusqu'à 540 nm / RIU à  $\lambda = 1096$  nm.<sup>62</sup> Aussi, des nanostructures de métal ont été fabriquées sur une surface plane, comme des carrés, des triangles ou encore des nanocroissants.<sup>63,64</sup> Bukasov *et al.* ont observé que la distance entre les deux pointes d'un croissant influence la position des bandes. Ils ont aussi rapporté que pour un croissant de 365 nm de diamètre, deux bandes plasmoniques sont présentes, à  $\lambda = 2470$  nm et à  $\lambda = 1450$  nm, respectivement pour la lumière polarisée parallèle et perpendiculaire à la ligne rejoignant les deux pointes. La sensibilité à l'indice de réfraction de ces nanocroissants peut être jusqu'à 880 nm / RIU pour des bandes entre  $\lambda = 1000$  et  $\lambda = 2500$  nm.<sup>63</sup> Il est donc possible d'obtenir une sensibilité supérieure, mais la région spectrale est dans



l'infrarouge. Le LSPR de nanoparticules en solution utilisé seul en spectroscopie de transmission est donc limité par la faible sensibilité au changement d'indice de réfraction dans le domaine du visible.

#### **1.4.4.1. Nanotrous**

Dans le cas de trous dans une surface métallique, le LSPR a aussi lieu, puisque même si la surface métallique est continue, elle possède des perforations limitant la propagation du plasmon. Le plasmon de surface d'un film mince continu ne peut pas être excité avec un faisceau incident perpendiculaire au plan du film, mais comme Ebbesen l'a observé, lorsque des trous de diamètre inférieurs à la longueur d'onde incidente sont présents dans un film mince, un rayon incident perpendiculaire peut résulter en une transmission accrue à certaines longueurs d'ondes de résonance. Cette transmission est due à l'oscillation des électrons, puisqu'elle est absente pour des matériaux ne pouvant pas supporter un plasmon de surface.<sup>2,65</sup> La lumière transmise par un trou de diamètre de 200 nm selon la théorie de Bethe et l'équation 1.1, peut être observée sur la figure 1.8 (noir pointillé). Cette théorie est applicable pour un métal conducteur infiniment mince. La figure 1.8 montre aussi un spectre LSPR obtenu pour un réseau de nanotrous, aussi de 200 nm de diamètre, dans un film d'or de 50 nm d'épaisseur (bleu continu). La différence évidente entre les deux spectres est due au plasmon de surface qui est excité, et qui permet à la lumière de longueur d'onde supérieure à celle du diamètre du trou d'être transmise à une intensité près de 40 fois supérieure à celle prévue par Bethe.<sup>2,65</sup>

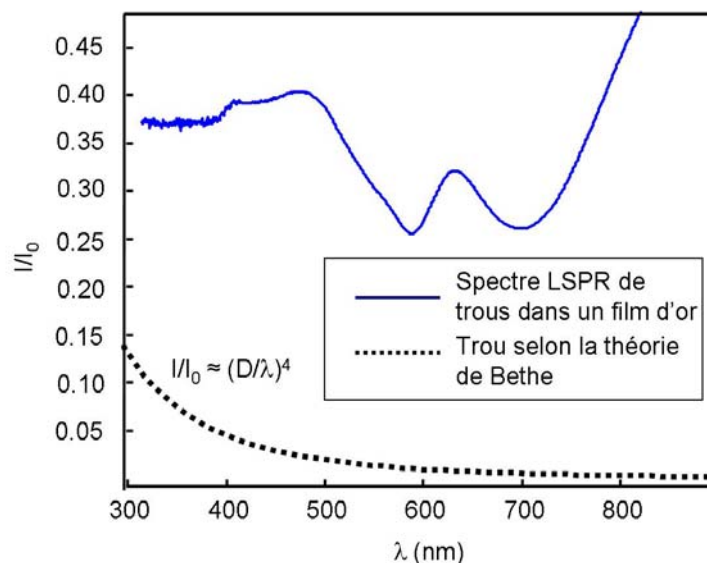


Figure 1.8 : Comparaison de la lumière transmise par un trou de 200 nm de diamètre selon la théorie de Bethe (noir pointillé), selon laquelle la lumière transmise est à moins de 10 % pour une longueur d'onde ( $\lambda$ ) du double du diamètre du trou ( $D$ ), avec le spectre LSPR (bleu continu) d'un réseau de nanotrous en arrangement hexagonal de diamètre de 200 nm de périodicité de 450 nm.

Certains facteurs influencent la longueur d'onde de transmission accrue et la sensibilité à l'indice de réfraction. Les équations 1.12 et 1.13, provenant des travaux de Thio et al. sur des surfaces de cuivre, <sup>66</sup> permettent de prendre en compte la périodicité,  $P$ , des structures ordonnées sur la surface métallique pour déterminer la longueur d'onde à laquelle le plasmon de surface est excité,  $\lambda_{\text{SPR}}$ . Par contre, le LSPR est aussi influencé par la forme et la taille, des nanostructures, qui ne sont pas des paramètres inclus dans ces équations. De nombreuses formes sont possibles, comme dans le cas du LSPR de nanoparticules en solution, comme des triangles <sup>67</sup>, des carrés <sup>68</sup> ou des ellipses <sup>67,69</sup>. Le nombre et la position des bandes varient selon la forme géométrique, similairement au LSPR de nanoparticules en solution. Une autre similitude existe, c'est que les trous circulaires sont aussi les plus utilisés. Le tableau 3.1 résume les travaux de détection de

molécules effectués sur des trous circulaires, désordonnés ou ordonnés. Les travaux présentés ici ont été faits sur des structures circulaires ordonnés en raison de la méthode de préparation utilisée, rapide et efficace, mais limitant les formes possibles (description dans le chapitre 2).

Pour les structures ordonnées, plusieurs modes de propagations  $(i,j)$  sont possibles. Les valeurs  $i$  et  $j$  correspondent aux ordres de résonance de Bragg, qui prennent compte de l'organisation des structures. Il faut considérer les distances entre les trous, où  $(i,j)$  entre deux trous voisins est  $(1,0)$  et celle de trous en diagonal est  $(1,1)$ . Ces distances varient aussi selon l'arrangement des trous, généralement carré ou hexagonal, qui sont illustrés à la figure 1.9. Donc deux réseaux de trous de même diamètre, périodicité et profondeur, mais organisés différemment ont des spectres LSPR différents, d'où un réseau de nanotrous carré est relié à l'équation 1.12 et un réseau de nanotrous hexagonal compact est relié à l'équation 1.13.<sup>5,6,70</sup>

$$\text{Équation 1.12} \quad \lambda_{SPR}(i, j) = \left( \frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s} \right)^{\frac{1}{2}} \frac{P}{(i^2 + j^2)^{\frac{1}{2}}}$$

$$\text{Équation 1.13} \quad \lambda_{SPR}(i, j) = \left( \frac{\epsilon_m \epsilon_s}{\epsilon_m + \epsilon_s} \right)^{\frac{1}{2}} \frac{P}{\left( \frac{4}{3}(i^2 + ij + j^2) \right)^{\frac{1}{2}}}$$

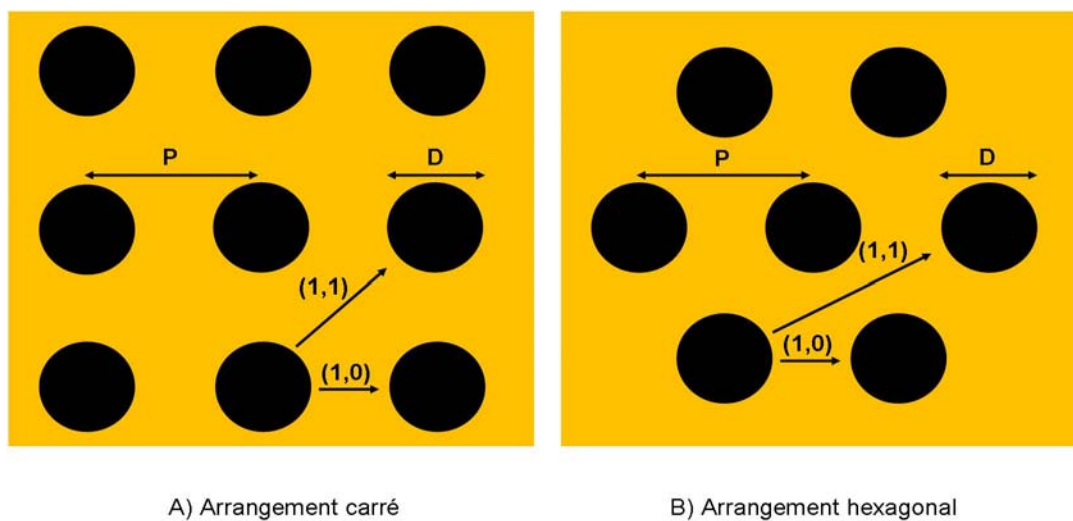


Figure 1.9 : Schéma de l'arrangement de trous, où P est la périodicité des trous, D le diamètre des trous, les valeurs  $(i,j)$  sont les modes de propagation associés aux distances entre les trous.

Plusieurs recherches ont porté sur l'influence des caractéristiques du réseau de nanotrous sur les propriétés optiques. Canpean et Astilean ont rapporté sommairement le déplacement vers des énergies plus basses de la bande de transmission avec l'augmentation de la taille et de la périodicité des nanotrous.<sup>71,72</sup> La sensibilité des nanotrous étant plus grande que pour les nanoparticules, elle procure un avantage important pour l'analyse quantitative de biomolécules. Par contre, aucune recherche ne rapporte la variation des propriétés de détection, comme la sensibilité et la largeur à mi-hauteur (résolution spectrale), en fonction des propriétés physiques des nanotrous. Ces données sont importantes afin de mettre au point un biocapteur avec de bonnes limites de détection et une bonne résolution. Les travaux présentés ici ont pour objectif l'optimisation des réseaux de nanotrous pour la fabrication d'un biodétecteur peu dispendieux, universel et sensible.

## 1.5 Détection de molécules et biomolécules par LSPR ou SPR

### 1.5.1 Les étapes pour permettre la biodétection

Grâce à la sensibilité à l'indice de réfraction à la surface du métal, il est possible de détecter des interactions de biomolécules, mais elles doivent avoir lieu dans la région dont l'indice de réfraction influence le plasmon de surface. Cette région sensible est liée à la distance de pénétration ( $l_d$ ) du champ électromagnétique, entre 25 à 45 nm pour le LSPR<sup>73,74</sup> et d'environ 200 nm pour le SPR.<sup>44</sup> Il est donc nécessaire d'utiliser une surface qui sera très spécifique à l'analyte. Les trois étapes importantes pour la conception d'un biocapteur plasmonique sont illustrées à la figure 1.10. La première étape permet de couvrir la surface d'or pour éviter un signal de molécules interférentes, pouvant s'adsorber non spécifiquement à la surface d'or et causant une fausse réponse en SPR. La molécule utilisée pour cette étape doit avoir un thiol, pour la liaison avec le métal, mais aussi un groupement spécifique qui permet la liaison d'un agent de reconnaissance, l'étape 2. Ensuite, l'analyte peut circuler à la surface de l'échantillon, et en raison de la grande spécificité de l'agent de reconnaissance, le déplacement de la bande des plasmons de surface est attribué à la liaison de l'analyte avec le récepteur moléculaire, qui peut alors être quantifié. Un graphique comme celui présenté à la figure 1.11 permet d'observer le déplacement de la bande plasmonique prévue en fonction du temps. L'équation 1.14<sup>75</sup> peut alors être utilisée pour déterminer la concentration de surface d'une molécule,  $\Gamma$  en ( $\text{mol}/\text{cm}^2$ ), où  $m$  est la sensibilité à l'indice de réfraction de la surface métallique, et  $\Delta\lambda_{\text{SPR}}$  est la différence de position en longueur d'onde entre la bande plasmonique mesurée pour la solution ( $\eta_1$ ) et pour l'analyte ( $\eta_2$ ). La densité  $\rho$  est celle de l'analyte et la distance de pénétration  $l_d$  varie selon le montage.

Équation 1.14

$$\Gamma = \rho \left( \frac{-l_d}{2} \right) \ln \left( 1 - \frac{\Delta\lambda_{\text{SPR}}}{m(\eta_2 - \eta_1)} \right)$$

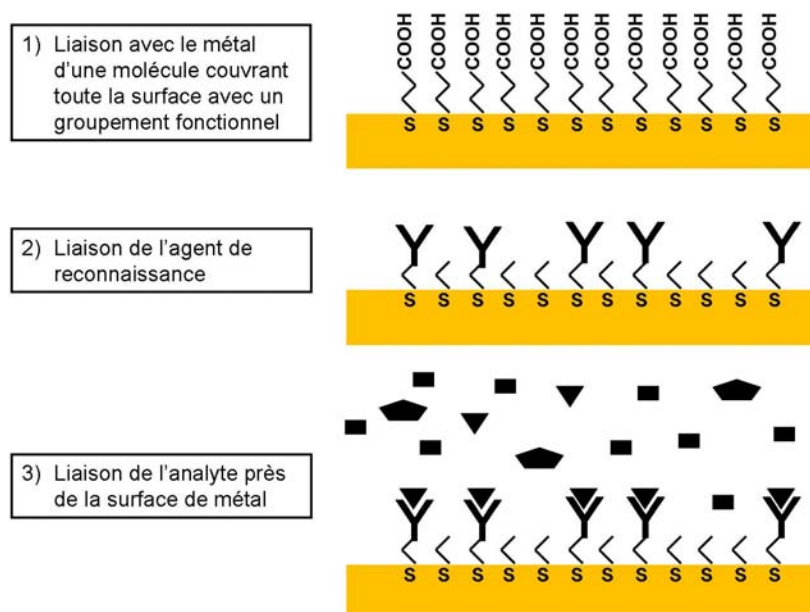


Figure 1.10 : Schéma des étapes nécessaires à la liaison d'un analyte spécifique à la surface de métal.

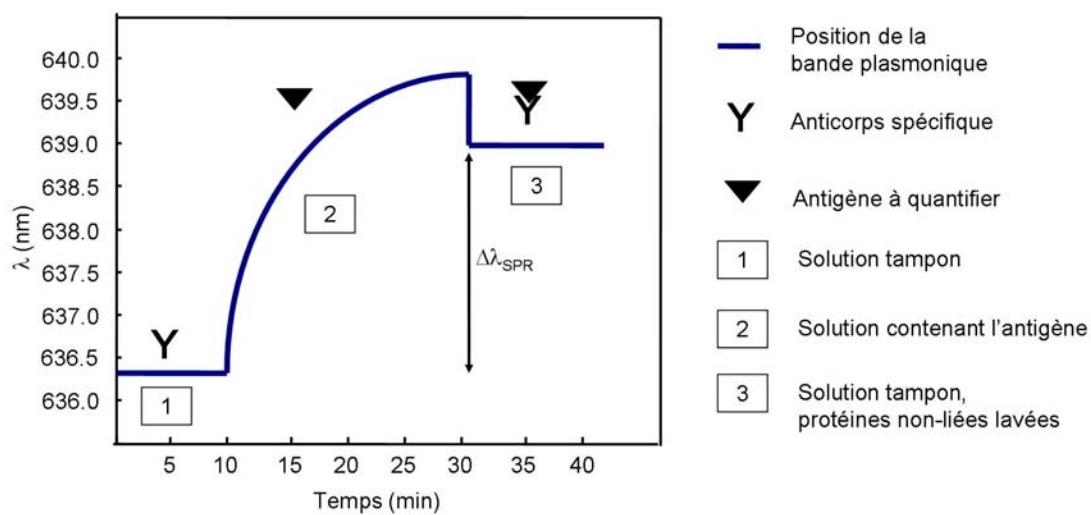


Figure 1.11 : Déplacement attendu de la position de la bande plasmonique lors de la liaison de l'analyte sur l'agent de reconnaissance lié à la surface métallique.

### 1.5.2 Travaux antérieurs publiés dans la littérature

La sensibilité générale des surfaces métalliques nanotrouées est mesurée avec différents solvants ou avec des solutions aqueuses d'indices de réfraction différents, comme différentes concentrations de sucrose. La détection de molécules a déjà été rapportée par quelques groupes, principalement pour des monocouches autoassemblées à la surface du métal, SAM, qui donne un déplacement de la bande plasmonique entre 1 et 2 nm.<sup>6,67,766,7667</sup> Aussi, De Leebeek *et al.* ont rapporté une sensibilité de 333 nm/RIU pour des nanotrous utilisés avec une cellule fluide. Ils ont aussi mesuré la liaison de protéines, la streptavidine sur la biotine immobilisée à la surface. La streptavidine est plus grosse que la biotine, et donc plus facile à détecter. Ils ont observé un déplacement de la bande plasmonique de 3.5 à 4 nm pour 4 mL d'une solution de streptavidine de concentration de 0.25 mg/mL à un débit de 0.02 mL/min.<sup>76</sup> D'autres groupes ont obtenu une limite de détection de 0.83 nM<sup>77</sup> et de 30 nM<sup>78</sup> pour la même interaction streptavidine-biotine. Dans l'introduction de l'article reproduit au chapitre 3, une section ainsi qu'un tableau résumant différents analytes mesurés et sensibilités obtenues par d'autres groupes. Il est donc possible de quantifier des protéines, des anticorps, des enzymes avec le SPR et le LSPR. Puisque la chimie de surface est similaire pour le SPR et le LSPR, il est possible de faire les mêmes bioanalyses. Ces travaux mesurent la sensibilité de films métalliques avec des nanostructures. Parmi ces recherches, il y a peu de liens entre les différents travaux, qui utilisent tous des nanostructures de forme, d'arrangement, de taille et de périodicité différents, ne permettant pas de bien connaître l'influence des caractéristiques des trous sur les propriétés analytiques.

### 1.6 Objectifs de recherche

L'objectif est d'étudier l'effet de différents réseaux de nanotrous sur le spectre LSPR. La maximisation de la sensibilité de la bande LSPR avec un changement d'indice de réfraction à la surface du métal est nécessaire pour pouvoir détecter une molécule

biologique avec une grande sensibilité. Plus le système est sensible, plus la présence de l'analyte influence le plasmon de surface, plus la position de la bande variera, meilleure sera la détection de l'analyte.

L'avantage du LSPR, en comparaison avec le SPR, est que la détection peut se faire en transmission. Donc, ces expériences nécessitent un instrument UV-Vis disponible dans la plupart des laboratoires. Puisque c'est une technique mesurant les changements à la surface du métal, il est possible de fonctionnaliser la surface pour détecter une seule protéine, qui créera un changement d'indice de réfraction, engendrant un déplacement de la bande LSPR. Donc les autres protéines et molécules en solution auront un effet réduit sur le signal, et bien que la mesure s'effectue en transmission, le signal sera spécifique. De plus, selon la matrice utilisée, solution aqueuse, urine, ou sang, il est possible de choisir la bande sensible à utiliser pour éviter d'être limité par l'absorption de la matrice. L'objectif à plus long terme de ce projet serait de réussir à utiliser les nanotrous dans un film de métal comme surface de détection, comme dans le cas des languettes pour le glucomètre. Cela débute par l'étude des effets des différents réseaux de nanotrous qui permet de déterminer le nombre, l'emplacement et la sensibilité des différentes bandes LSPR, qui varient selon la périodicité et le diamètre des trous, ainsi que du métal utilisé. Ces paramètres sont étudiés dans ce mémoire.



## **Chapitre 2 : Fabrication de réseau de nanotrous**

Les nanostructures immobilisées sur un support solide (telle une languette similaire aux glucomètres) sont généralement fabriquées par des techniques comme la photolithographie, la lithographie par faisceau d'électrons ou par faisceau d'ions. Ces techniques sont très précises et permettent d'obtenir des nanostructures de forme régulière et aux emplacements désirés. Elles possèdent cependant deux désavantages majeurs : leur temps requis pour fabriquer les nanostructures et leur coût élevé. Pour étudier les propriétés analytiques de plusieurs réseaux de nanotrous pour les raisons expliquées dans le chapitre 1, il est nécessaire d'utiliser une méthode rapide et peu dispendieuse. L'optimisation de cette méthode est décrite dans ce chapitre.

### **2.1 Méthodes de fabrication de nanostructures fréquemment utilisées**

La lithographie permet d'obtenir un patron et de le répliquer plusieurs fois, comme une étampe, qui est enduite d'encre et qui est apposée répétitivement sur une feuille de papier. Dans l'utilisation faite pour la fabrication de nanostructures, le patron se nomme un masque. Les parties de l'échantillon cachées par le masque donneront un résultat différent de celles découvertes. Afin de fabriquer des nanostructures, des appareils automatisés ont été développés pour permettre la conception de surfaces avec des formes de taille constante et précise. Ces appareils possèdent des faisceaux de lumière, d'électrons ou d'ions, qui modifient la surface atteinte, par rapport à celle non irradiée. Une autre technique implique la lithographie par nanosphères de polystyrène (NSL). La gravure par ions réactifs est utilisée pour varier la taille des structures obtenues par NSL. Ces deux techniques conjointement utilisées augmentent le potentiel du NSL. Ces techniques usuelles sont discutées brièvement dans cette section.

### 2.1.1 Photolithographie

La photolithographie utilise un faisceau de lumière monochromatique pour altérer le matériel photorésistant irradié. Un film polymérique photorésistant est appliqué sur l'ensemble de la surface de l'échantillon. Ce film est composé de molécules qui réagissent sous irradiation, modifiant ainsi le polymère à la surface, le rendant soit soluble et lavable, ou bien résistant alors que celui non irradié demeure facilement lavable. Plusieurs matériaux photorésistants sont utilisés selon les conditions et les besoins du procédé, comme la longueur d'onde utilisée.

Pour obtenir une forme en photolithographie, un masque opaque à la longueur d'onde doit être utilisé et le faisceau irradie simultanément l'ensemble de l'échantillon. La résolution ( $R$ ) de cette technique, proportionnelle à la longueur d'onde ( $\lambda$ ), est limitée par les sources lumineuses, selon l'équation 2.1. L'ouverture numérique ( $NA$ ) est liée aux lentilles de l'objectif et à l'indice de réfraction du milieu, et  $k_1$  est une constante liée aux paramètres du procédé.<sup>79</sup>

Équation 2.1

$$R = \frac{k_1 \lambda}{NA}$$

Donc, avec cette limitation, la résolution est environ la moitié de la longueur d'onde de la lumière utilisée. Par exemple, des structures de tailles supérieures à 80 nm peuvent être créées à partir d'un laser d'ArF de  $\lambda = 193$  nm.<sup>79</sup> Malgré cette limitation, cette technique permet d'obtenir des nanostructures précises. Le principal désavantage est que chaque échantillon doit être fait individuellement à partir d'un masque unique, rendant l'optimisation de nanostructures longue et coûteuse. Un nouveau masque doit être fabriqué pour un changement sur les formes à obtenir, comme la variation de

l'espacement entre les trous et le diamètre des trous, deux paramètres qui seront optimisés dans ce mémoire.

### 2.1.2 Lithographie par faisceau d'électrons

Comme la photolithographie, la lithographie de faisceau d'électrons (EBL) nécessite un matériel électron-résistant. Ces polymères doivent être très peu sensibles à la lumière UV. Par exemple, le poly-(méthyle méthacrylate), PMMA, se dissout rapidement sous une radiation d'électrons. Lorsque les électrons entrent en collision avec le polymère, les électrons peuvent traverser le polymère, être dissipés ou divergés. Des électrons secondaires de plus faible énergie sont aussi générés lors des collisions des électrons du faisceau avec le polymère. Les réactifs intermédiaires désirés sont créés par ces électrons secondaires. Le problème de résolution est encore présent avec cette technique, puisque ces électrons secondaires sont divergents. Le faisceau final d'électrons est alors plus large que celui initial, augmentant la taille des structures fabriquées. Ce phénomène peut être limité, mais pas éliminé en diminuant la puissance du faisceau d'électrons. La résolution de cette technique est similaire à la photolithographie, puisque des structures de 80 nm peuvent être générées.<sup>79</sup>

### 2.1.3 Faisceau d'ions focalisés

Comme pour l'EBL, des particules sont dirigées vers le polymère résistant. Avec la lithographie de faisceau d'ions focalisés, *focused ions beam*, FIB, les particules sont des ions, comme  $H^+$ ,  $He^+$  ou  $Ga^+$ . Ces ions sont envoyés à haute vitesse vers la surface, qui est alors altérée sous l'impact des ions.<sup>80</sup> Ceci est une technique d'écriture directe, où le faisceau d'ions est dirigé selon un patron contrôlé par un logiciel. Il est donc possible de graver directement la surface, comme du métal. La profondeur de gravure dépend du courant et du temps d'exposition du faisceau d'ions.<sup>80</sup> L'impact de ces ions à

haute vitesse crée aussi des électrons secondaires de basse énergie permettant de visualiser la surface, comme pour la microscopie SEM.<sup>80,81</sup> Cette technique est la plus utilisée pour la fabrication de nanostructures en raison de la meilleure résolution spatiale, soit environ 5 nm.<sup>79,80</sup> Par contre, le FIB est très dispendieux et long, comme le EBL.

### 2.1.4 Lithographie par nanosphère de polystyrène

Une méthode d'auto-organisation des nanostructures a été popularisée par Haynes et Van Duyne en 2001, la lithographie par nanosphère, *nanosphere lithography* (NSL).<sup>3</sup> Cette technique utilise des sphères de polymère, comme du polystyrène, de taille uniforme. Une fois mise en solution à une concentration optimisée, une goutte de la solution est déposée sur une surface propre et hydrophile, qui peut être du verre, de la silice ou un film de métal. Les nanosphères s'auto-organisent pendant l'évaporation lente du solvant.<sup>82</sup> Cette méthode est nommée en anglais, *drop coating*.<sup>83</sup> La rotation de l'échantillon pendant l'évaporation du solvant peut permettre une meilleure organisation, une technique nommée en anglais *spin coating*. Une autre façon d'organiser les nanosphères en arrangement hexagonal compact est de les diluer dans l'éthanol, de déposer la solution sur une surface propre et hydrophile, puis de déposer la plaque sur un ménisque positif d'eau. Les nanosphères quittent alors la plaque pour s'organiser à la surface de l'eau. L'ajout de surfactant aide à une meilleure organisation. Ensuite, une nouvelle surface propre et hydrophile sert à recueillir les nanosphères, dont l'arrangement hexagonal serré est conservé. Cette technique utilisant l'interface eau-air et les interactions hydrophiles et hydrophobes du surfactant est nommée Langmuir-Blodgett. Les défauts sont limités par une bonne optimisation de plusieurs paramètres, comme la concentration de nanosphères selon leur taille, la bonne proportion de solvant eau/éthanol, le temps d'évaporation, la quantité de surfactant, et la propreté et l'hydrophilicité du support utilisé. Cette optimisation permet d'obtenir de grandes régions organisées avec cette technique, comme sur la figure 2.1. Ces méthodes

permettent d'obtenir rapidement des nanosphères organisées et à un moindre coût que les autres méthodes lithographiques.

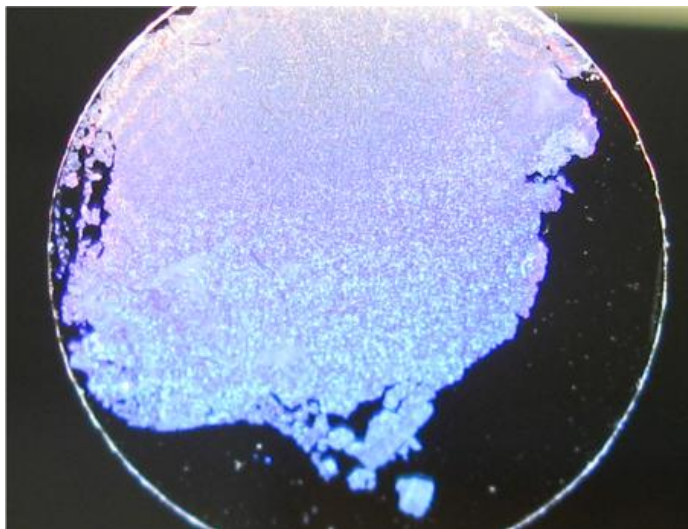
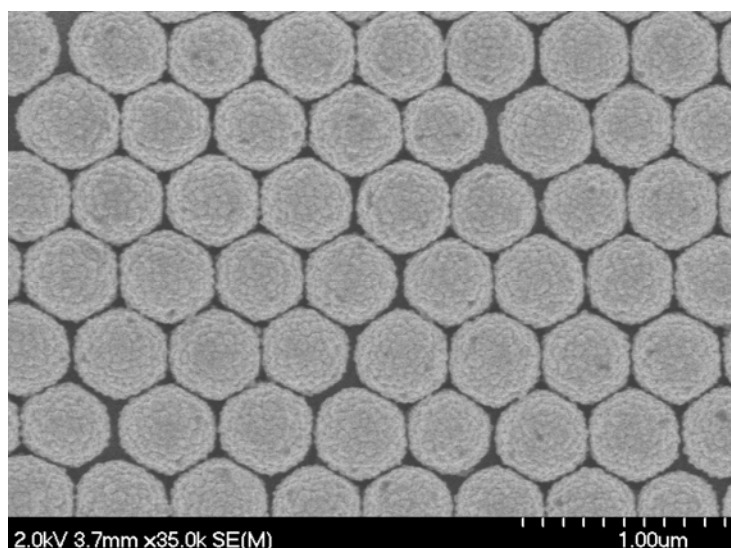
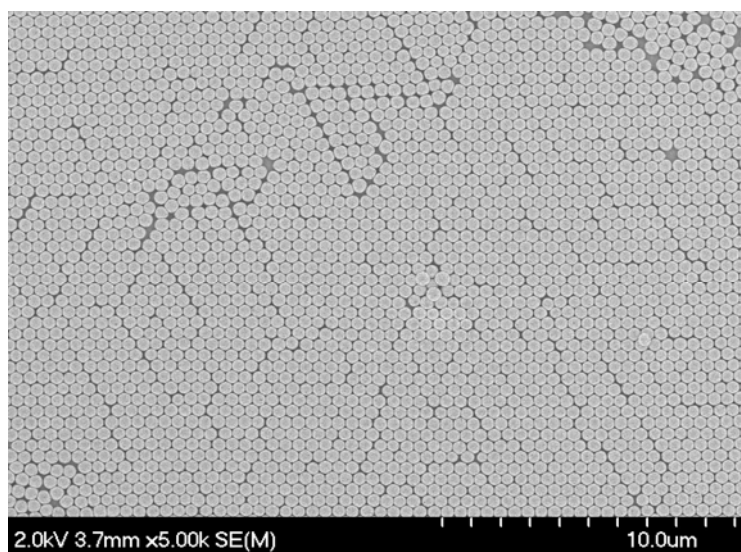


Figure 2.1 : Vue macroscopique de nanosphères de polystyrène de 450 nm de diamètre organisées par la méthode de Langmuir-Blodgett. La lamelle de verre utilisée comme support a un diamètre de 22 mm.

L'auto-organisation des sphères se fait en arrangement serré hexagonal. La figure 2.2 présente deux images de microscopie à balayage d'électron (SEM) d'une monocouche d'un réseau de nanosphères en arrangement hexagonal compact, où chaque sphère est entourée de six autres qui se touchent légèrement en un seul point de contact. L'espacement entre les sphères a donc la forme d'un triangle aux arêtes arrondies. De cette façon, la surface occupée par les sphères est maximisée. L'organisation optimale dépend des interactions électrostatiques entre les sphères pour une stabilisation maximale. Des défauts sont observables sur les figures 2.2 A et B, soit des espacements plus grands entre les sphères ou une sphère manquante. Il est possible d'avoir deux régions voisines bien organisées, mais séparées par une dislocation. Ces défauts peuvent être limités par l'optimisation à moins de 5 %, n'influençant pas les résultats des spectres LSPR de façon significative.



A)



B)

Figure 2.2 : Image SEM de nanosphères de 450 nm de diamètre organisées en arrangement hexagonal compact. Échelle de la figure A) 1  $\mu\text{m}$  et B) 10  $\mu\text{m}$ .

## 2.2 Dépôt du métal

La déposition de métal par pulvérisation nécessite un grand vide pour permettre une grande pureté du métal déposé. Un faible débit d'azote permet ensuite la bonne quantité de gaz pour créer un plasma dans la chambre. Alors, les molécules de gaz ionisées sont dirigées vers la cible cathodique de métal désiré. Cette cible de métal pur a une épaisseur variable d'environ 1 mm et un diamètre de plus de 4 cm. Le gaz ionisé frappe la cible de métal, et des atomes du métal sont pulvérisés. Le plasma est visible par un cylindre lumineux de couleur variable selon le métal pulvérisé. L'échantillon à recouvrir de métal se trouve sous la cible et est alors recouvert d'une couche métallique. Plus la distance est petite entre la cible et l'échantillon, plus la déposition est rapide. Une plus grande distance permet le recouvrement de plusieurs échantillons simultanément. En utilisant le masque fabriqué par NSL, le métal se dépose uniformément à la surface des nanosphères et entre elles. Ensuite, en enlevant les sphères de polystyrène avec un solvant, le métal dans les interstices demeure. Comme il a été mentionné précédemment, l'espace entre les sphères a la forme triangulaire, donc la déposition de métal sans modification des nanosphères et à angle droit au-dessus de l'échantillon donne des nanotriangles. Donc, cette technique doit être modifiée pour fabriquer des nanotrous.

La première modification qui peut être effectuée est le pivotement du porte-échantillon avant la déposition du métal, donnant lieu à des nanotrous ellipsoïdaux.<sup>82</sup> Il est aussi possible de donner un angle au porte-échantillon, créant un effet d'ombrage lors de la déposition. Deux masques similaires peuvent donc donner des structures métalliques différentes, selon l'angle de déposition, comme des nanotriangles de métal à 0°, des nanotrous hexagonaux dans un film à 30° ou encore des fils s'entrecroisant comme des losanges dans un film à 45°.<sup>67 84</sup> Il est aussi possible de modifier l'angle après un certain temps pendant la déposition, résultant en deux triangles qui se chevauchent. Pour cette méthodologie, plus la différence entre les deux angles utilisés

est grande, plus les triangles obtenus se séparent, jusqu'à donner deux triangles distincts se suivant à partir de la même structure du masque.<sup>3</sup> Avec le NSL, il est donc possible d'obtenir une grande variété de structures ordonnées. La vitesse de fabrication est beaucoup plus grande qu'avec des méthodes telles que le FIB et la photolithographie. Par contre, des défauts sont présents avec le NSL, comme des sphères absentes, deux zones adjacentes organisées avec des orientations différentes, ou des multicouches. Ces défauts peuvent être minimisés avec une bonne optimisation des conditions de déposition des nanosphères et l'influence sur les résultats est minimale.

### 2.3 Gravure par ions réactifs, RIE

Une modification des nanosphères de polymère est très populaire depuis quelques années, la gravure par ion réactif, *reactive ion etching* (RIE).<sup>83</sup> Un plasma produit l'ionisation des molécules de gaz dans la chambre où se trouve l'échantillon. Le polystyrène des nanosphères est gravé par les ions générés. La taille de la sphère diminue plus le temps de gravure est grand, permettant de contrôler la taille finale de la sphère, tout en maintenant la position initiale des sphères. L'organisation cristalline hexagonale est donc conservée. Ensuite, le métal est déposé sur l'échantillon. Puisque les sphères ont conservé leur emplacement et leur position sur l'échantillon, mais qu'elles sont plus petites, une plus grande partie de la surface est directement recouverte de métal. Après avoir enlevé les nanosphères, un film de métal avec des trous plus petits que la taille initiale des nanosphères est obtenu. La figure 2.3 présente par les schémas la taille des nanosphères et de l'espace recouvert de métal selon les différents temps de gravure des sphères, qui varient selon plusieurs paramètres expérimentaux, ainsi que des images AFM de réseaux de nanotrous obtenus après la déposition du métal et l'enlèvement du masque de sphères par un lavage à l'éthanol. Cette technique est adéquate pour fabriquer des arrangements de nanotrous, sur des aires relativement grandes ( $\text{mm}^2$ ).



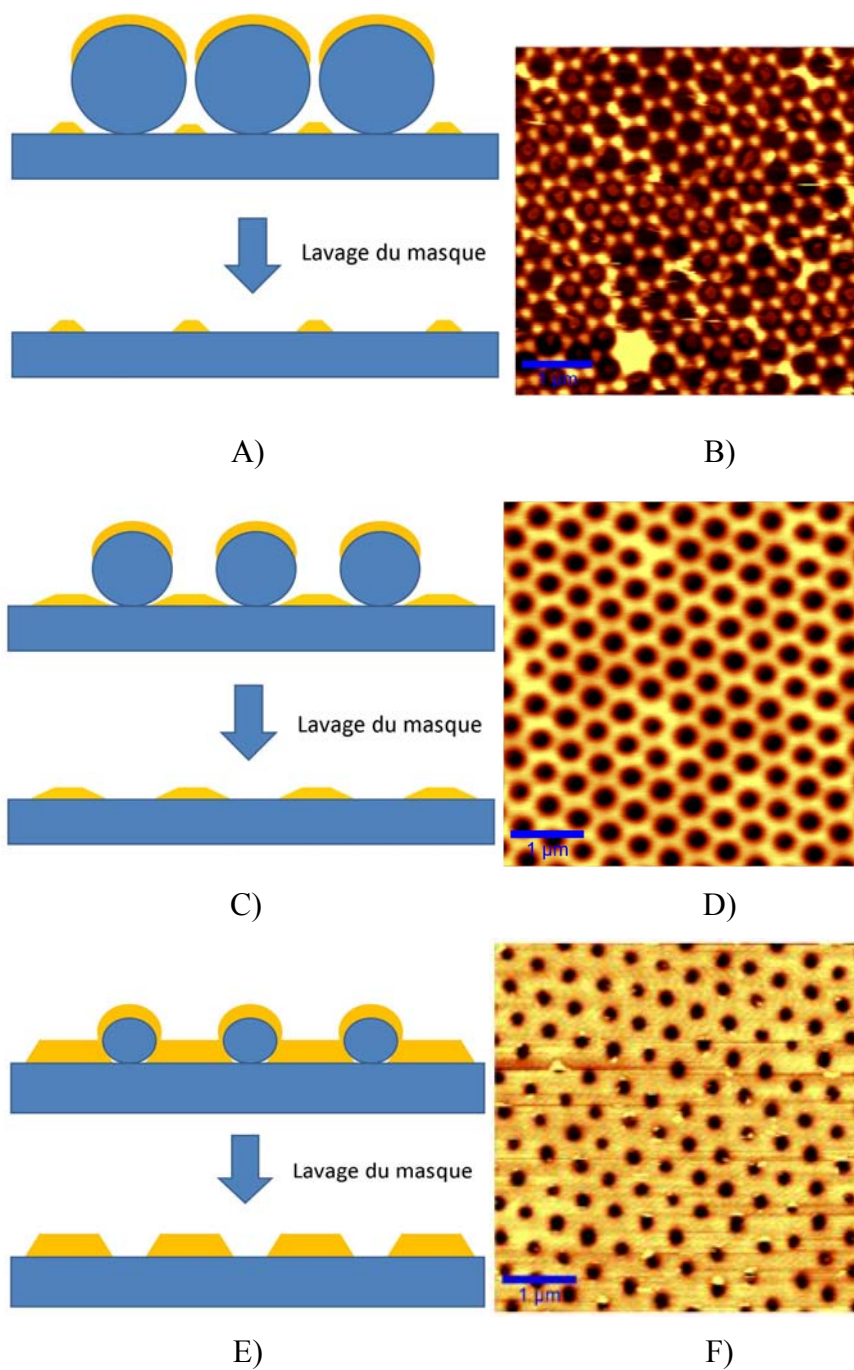


Figure 2.3 : Effet de la gravure par ions réactifs d'oxygène. Les figures A, C et E sont des schémas après le RIE et la déposition du métal (jaune) vus de côté. Les figures B, D et F sont des images AFM vues de haut des réseaux de nanotrusses obtenus.

Un point important à remarquer sur la figure 2.3 est la déposition non uniforme du métal. Les sphères créent un ombrage à la déposition du métal près de leur point de contact avec la surface. Les trous observés sur les images AFM de la figure 2.3 ne sont donc pas parfaitement cylindriques, ils ont la forme de bols. Il est possible d'obtenir des trous cylindriques avec les techniques de photolithographie, EBL et FIB. La figure 2.4 A est une image AFM en 3 dimensions d'un réseau de nanotrous de diamètre de  $255 \pm 16$  nm, de périodicité de 450 nm et de  $50 \pm 11$  nm de profondeur, permettant de mieux voir le résultat final du NSL et du RIE suivis par la déposition du métal. La figure 2.4 B est coupe transversale d'un trou en forme de bol de ce même réseau.

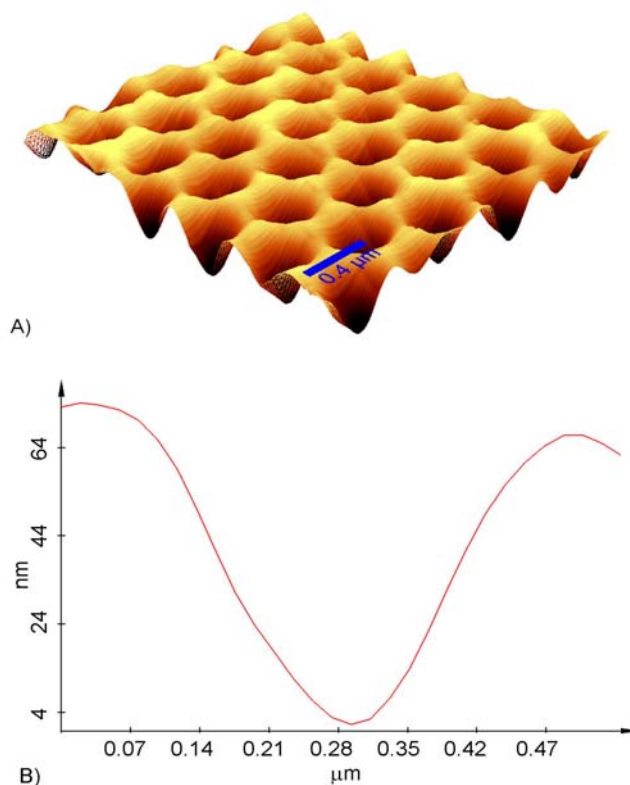


Figure 2.4 : Image AFM 3 dimensions d'un réseau de nanotrous en forme de bol de diamètre de 232 nm et de périodicité de 450 nm. A) image AFM 3 dimensions B) coupe transversale d'un trou pour observer la forme de bol.

La technique de RIE peut être utilisée avec plusieurs gaz, modifiant l'effet de la gravure. Lorsque du tétrafluorométhane ( $\text{CF}_4$ ) est utilisé, c'est la silice qui est gravée, laissant les sphères intactes. Lorsque l'oxygène ou l'argon sont utilisés, ce sont seulement les molécules organiques qui sont gravées. Quelques exemples de l'utilisation de cette technique suivent. Tan *et al.* ont gravé les sphères et la silice en même temps, puis ont déposé de l'or. Ils ont ensuite enlevé les sphères, laissant seulement le métal dans les interstices creusés par le  $\text{CF}_4$  entre les sphères. Un recuit de l'or à  $930^\circ\text{C}$  a ensuite permis d'obtenir des particules plus sphériques de métal dans des puits de silice.<sup>85</sup> Zheng *et al.* ont plutôt gravé les sphères d'abord avec l'argon, déposé de l'or, enlevé les sphères, puis gravé avec un mélange  $\text{CF}_4 : \text{O}_2$ , afin de graver la silice et d'éliminer les résidus de nanosphères. De cette façon, seuls les endroits non recouverts d'or sont gravés, créant des nanotrous plus profonds. Ils ont ensuite enlevé la couche d'or, afin d'obtenir des nanotrous dans un échantillon de silice.<sup>86</sup> Li, Zhao et Sun ont utilisé une technique similaire, en gravant d'abord les sphères avec de l'oxygène, et ensuite en gravant ensuite la silice avec du  $\text{CF}_4$ .<sup>87</sup> De cette façon, le patron de silice gravé est l'inverse de celui de Zheng *et al.*<sup>86</sup>, puisque les sphères protègent le silicone du  $\text{CF}_4$ . Yan *et al.* ont observé que la surface des sphères devient plus rugueuse avec un temps de gravure plus long.<sup>88</sup> En faisant un recuit à  $76^\circ\text{C}$  sur les nanosphères, juste en dessous de la transition vitreuse ( $T_g$ ) du polystyrène, les nanosphères reprennent une structure sphérique plus lisse. (Il faut mentionner que la  $T_g$  peut varier grandement, non seulement par la composition du polymère, mais aussi le nombre de ramifications et la masse molaire. Dans cette recherche, ils mentionnent que le manufacturier a précisé la  $T_g$  des nanosphères à  $80^\circ\text{C}$ .)<sup>88</sup> Yan *et al.* ont aussi évalué l'influence de la rugosité des nanosphères organisées sur une surface sur l'hydrophobicité de la surface. Ils n'ont pas remarqué de variation d'angle de contact de l'eau entre des réseaux de sphères avec différents temps de gravure. Donc l'affinité de l'eau avec la surface demeure la même avec un temps de plasma supérieur. Ils ont aussi fait un recuit des sphères de polystyrène gravées, permettant de mesurer un angle de contact de l'eau similaire entre les sphères rugueuses et celle plus lisse. Ce résultat est dû à la très fine échelle de rugosité, de moins

de 2  $\mu\text{m}$  pour les larges gravures et de quelques nm pour les plus fins, ne permettant pas à l'eau de pénétrer les interstices.<sup>88</sup> En résumé, le RIE est utilisée conjointement avec la NSL, plusieurs réseaux nanotrous ordonnés avec différentes caractéristiques peuvent être obtenus permettant de faire une étude complète sur le comportement de la lumière transmise par ces trous.

## **2.4 Travaux accomplis dans le cadre de ce mémoire pour l'optimisation et l'adaptation de la méthode de fabrication de nanotrous par NSL**

Les techniques utilisées sont récentes et les méthodologies pas encore parfaitement décrites dans la littérature, ni reproductibles, de sorte qu'un travail d'optimisation a été nécessaire. Ce travail est présenté dans les sections suivantes. De plus, le mémoire rapporte les premiers travaux à utiliser conjointement la lithographie par nanosphères, la gravure par ions d'oxygène réactifs et la déposition du métal dans le but d'étudier les spectres LSPR des nanotrous.

### **2.4.1 Nettoyage des lamelles de verre**

Pour permettre l'organisation des nanosphères, il est nécessaire d'utiliser des lamelles de verre très propre et hydrophile. Les lamelles sont placées pour 1 h 30 dans une solution piranha très corrosive de 75 % d'acide sulfurique concentré et 25 % d'une solution de peroxyde d'hydrogène 30 %. Suivant le nettoyage, les lamelles sont rincées à l'eau ultrapure plusieurs fois. Ensuite, les lamelles sont placées dans une solution 5 : 1 : 1 d'eau, de peroxyde d'hydrogène et d'ammoniaque dans un bain ultrasonique pendant 1 h. Les lamelles sont rincées puis conservées 2 à 3 semaines dans l'eau ultrapure. Une lamelle propre réfère à une lamelle qui a subi ce traitement. Une lamelle

utilisée plus d'un mois suivant le traitement ne permet pas un bon étalement des sphères. Ses propriétés hydrophiles ne sont pas aussi bonnes.

### **2.4.2 Méthode par évaporation, *Drop Coating***

Cette méthode de déposition des nanosphères est très simple et très rapide. Cependant, pour s'assurer de la bonne organisation des nanosphères à la surface, une optimisation des quantités de solvant et de sphères fut nécessaire en amorçant le projet. Il suffit de faire une solution de sphères, d'eau et d'éthanol, comme Ludovic S. Live a fait (groupe Masson).<sup>49</sup> Un volume d'environ 40  $\mu\text{L}$  du mélange de sphères, d'eau et d'éthanol, selon l'optimisation, est déposé sur une lamelle propre et sèche. Lorsque la lamelle est propre, la solution s'étale rapidement et uniformément. L'éthanol s'évapore très rapidement et permet un bon étalement des sphères. Ensuite, l'évaporation lente de l'eau permet l'organisation efficace des sphères en arrangement hexagonal compact, tout en limitant les défauts. Cette méthode fonctionne bien avec des diamètres de nanosphères de 650 nm et plus.

Pour les diamètres de sphères plus petits, cette méthode par évaporation de solvant donne des régions de multicouches. Dans ce cas, une multicouche est un arrangement hexagonal compact de deux couches ou plus de sphères. Pour une multicouche, il y a trois interstices autour d'une sphère. L'organisation est différente pour une monocouche, où il y a six interstices autour d'une sphère. La figure 2.5 illustre les différences entre une monocouche et une multicouche. Il faut noter que pour une multicouche, il est possible que la troisième couche de sphère sur le schéma se positionne au dessus des interstices illustrés sur la bicouche. Dans ce cas, aucun interstice n'est obtenu, donc aucun patron pour la formation de nanostructure de métal n'est présent. De plus, la gravure sera efficace sur la couche externe de nanosphères,

sans toucher aux sphères des couches internes. Ceci ne créera pas le patron désiré pour la formation de nanotrous.

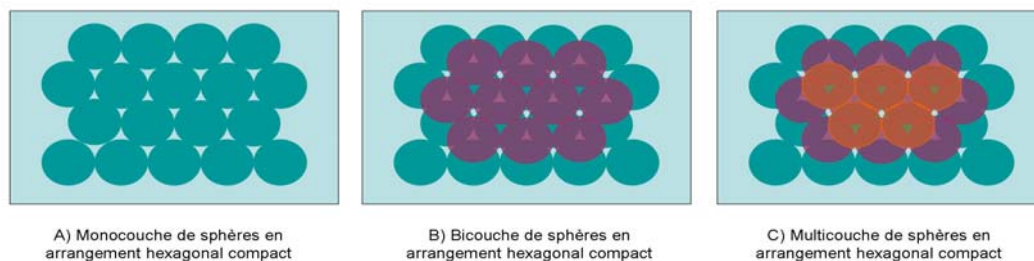


Figure 2.5 : Schéma représentant les interstices entre les sphères en arrangement hexagonal compact. A) Une monocouche résulte en six interstices autour d'une sphère alors B) qu'une bicouche et C) qu'une multicouche résultent en trois interstices autour d'une sphère.

La présence de multicouches avec la technique *drop coating* peut être limitée par une bonne optimisation. Par contre, comme il a été mentionné, pour des diamètres inférieurs à 650 nm, cette méthode n'a pas été utilisée parce qu'il y a trop de multicouches. La figure 2.6 a été prise au microscope à transmission avec le microscope optique, Witec alpha300A avec une lentille d'un grossissement de 10X, après l'organisation par la méthode d'évaporation de sphère de polystyrène de 360 nm de diamètre. La variation de l'opacité entre les régions démontre la présence des multicouches de différentes épaisseurs. Les cercles concentriques proviennent de l'évaporation de la solution alors que trop de sphères étaient présentes à cet endroit.

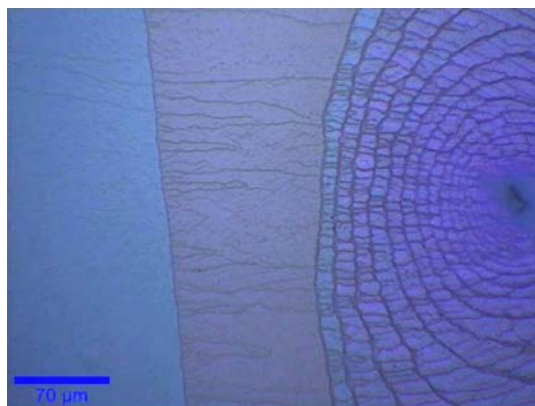


Figure 2.6 : Image microscopique de multicouches de sphères de diamètre de 360 nm obtenues par la méthode lithographique d'évaporation, grossissement 10X.

### 2.4.3 Méthode d'interface Langmuir-Blodgett

Il faut préalablement remplir d'eau un couvercle d'un pétri en verre. L'eau doit dépasser le rebord et presque déborder. Le but est de former un ménisque positif. Une goutte de 10  $\mu\text{L}$  d'un mélange 1 : 1 de nanosphères de polystyrène (10% en solution aqueuse, *Thermo Fisher particle technology*) et d'éthanol est déposée sur une lamelle propre et sèche. La solution s'étale et l'éthanol s'évapore rapidement. Cette lamelle est ensuite déposée délicatement à la surface du ménisque positif de l'eau. Spontanément, lorsque les sphères entrent en contact avec l'eau, elles flottent et s'organisent à la surface. Après 1 à 2 minutes, la lamelle déposée sur l'eau coule. De grandes régions de nanosphères organisées sont présentes à la surface de l'eau. Selon les patrons de diffraction, il est facile pour un œil expérimenté de discerner les régions bien organisées. L'ajout de quelques gouttes d'un surfactant, le sulfate de dodécyle sodium, SDS, 1% en solution aqueuse, peut augmenter l'aire et la qualité des régions organisées de nanosphères. Ensuite, il faut prendre une lamelle propre et mouillée, la placer en angle à proximité d'une zone. Les nanosphères se déplacent alors sur la lamelle mouillée en conservant l'organisation. Il faut ensuite laisser sécher les sphères avant l'utilisation. Cette technique fonctionne bien avec la plupart des tailles. Les conditions dans

lesquelles la manipulation est faite font varier la qualité des zones récupérées. La température ambiante, le pourcentage d'humidité, la température de l'eau dans le pétri en verre. De plus, l'utilisation d'eau ultrapure donne des résultats différents de l'eau distillée. La présence de surfactant dans l'eau avant la déposition peut permettre une meilleure organisation. Cette technique a été utilisée pour la formation de réseaux de nanosphères de diamètre initial de 450 nm et moins, puisque les zones sans multicouches bien organisées étaient plus grandes que pour la méthode par évaporation du solvant.

#### **2.4.4 Gravure par ions réactifs, *reactive ion etching*, RIE**

Plusieurs paramètres peuvent être variés. Tout d'abord, comme discuté dans l'introduction, plusieurs gaz peuvent être utilisés selon les besoins. L'oxygène grave le polystyrène alors que le  $\text{CF}_4$  grave le verre. Les réseaux de nanotrous utilisés ici ont tous été gravés par oxygène. Un nettoyeur par plasma Harrick Plasma Cleaner PDC-32G a été utilisé. Les échantillons sont placés dans la chambre qui a un diamètre de 7.62 cm et une profondeur de 16.51 cm. Le couvercle est ensuite fermé et la pompe à vide est mise en fonction pour réduire la pression afin qu'elle soit propice à la formation du plasma. Après un temps déterminé (typiquement 20 minutes), la source est allumée pour créer le plasma qui grave les sphères. Plus le temps de plasma est grand, plus le diamètre des sphères diminuera, tout en conservant leur position initiale.

La quantité de gaz dans la chambre est cruciale pour la création du plasma. Le débit du gaz a été optimisé plusieurs fois. Si le débit de gaz est trop faible, le plasma n'est pas généré, alors que s'il est trop grand, la gravure est trop rapide et pas uniforme. Le débit utilisé pour les réseaux de nanotrous menant aux résultats de la publication *Optical Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays*, présentée dans le chapitre 3 est de 15 mL/min, constant pendant tout le cycle de gravure, autant pendant



la préparation de la chambre sous-vide que durant la gravure au plasma. Le diamètre des sphères diminue à un rythme d'environ 0.7 nm / seconde pour cette méthodologie. Par contre, au début de ces travaux, il n'y avait pas d'appareil pour déterminer le débit. Il fallait donc placer les échantillons, refermer le couvercle de l'appareil, démarrer la pompe à vide, comme pour un débit contrôlé. Ensuite, l'entrée d'oxygène était ouverte à un débit assez faible, mais inconnu, pour ne pas déplacer les échantillons. Après 20 minutes, l'entrée d'oxygène était coupée, mais avec la pompe à vide encore en marche, le plasma était ouvert. Le temps de gravure est environ le double de cette façon. Il est également possible de graver les sphères alors qu'aucun débit de gaz ne circule dans la chambre. Donc la chambre est remplie d'air ambiant, mais dans cette configuration, une chaleur trop grande était générée, ce qui faisait fondre les nanosphères.

La puissance de plasma utilisée est 18 W, celle maximale de l'instrument. Il faut aussi noter que la puissance du plasma n'est pas uniforme dans la chambre. Il faut être minutieux pendant l'optimisation et la préparation des réseaux de sphères pour obtenir des résultats reproductibles. Il faut toujours placer les échantillons aux mêmes endroits. Aussi, il faut éviter que la température de la chambre du plasma augmente. Le plasma génère rapidement de la chaleur. La température de transition vitreuse des sphères de polystyrène utilisées est autour de 40 °C. La chaleur du plasma peut atteindre cette température après 10 minutes. Un ventilateur externe dirigé vers la chambre a donc été ajouté pour déplacer l'air chaud qui demeure autour de la chambre, et ainsi éviter la déformation et le mouvement des sphères. Si ces phénomènes ont lieu, l'espacement entre les sphères ne sera pas conservé, ce qui est inacceptable dans cette étude.

La gravure par ions des nanosphères ne se produit pas en des proportions égales autour d'une sphère. Cela produit des nanostructures avec des contours non uniformes. Les nanosphères utilisées pour le NSL ne sont pas lisses, même avant le RIE, comme il

est possible de voir sur la figure 2.2 A. Après le RIE, il est possible d'observer sur la figure 2.7 A que les sphères ont effectivement plus de relief que sur la figure 2.2 A. Sur cette figure, des nanosphères ainsi que des nanotrous sont observables. Cela est dû à un problème d'interactions entre les nanosphères et le métal, rendant plus difficile leur lavage. Sur la figure 2.7 B, toutes les nanosphères ont été enlevées, mais il est possible de voir la forme en « dentelle » des nanotrous. Cette forme est due à la rugosité des nanosphères, qui ne permet pas une déposition uniforme du métal. Cette rugosité du contour participe aux difficultés du lavage des sphères de polymère. Sur la figure 2.7 C, il a été impossible d'enlever les nanosphères. Sur cette dernière image, la périodicité est de 220 nm et le diamètre des sphères recouvertes d'or est de  $89 \pm 5$  nm. Les sphères sont donc très petites et recouvertes de 50 nm d'or. Les interactions du métal sur les sphères et de celui sur la surface sont donc très grandes. Le temps de plasma est plutôt court pour graver 150 nm par RIE à l' $O_2$ , soit environ 3 minutes, donc la rugosité n'est pas grandement augmentée, comparée à la figure 2.7 B, d'une périodicité de 650 nm et de diamètre des trous  $287 \pm 13$  nm où il a fallu environ 8 minutes. Aussi, il a été observé que les interactions retenant les sphères à la surface sont plus fortes pour l'or que pour l'argent. Il a donc été possible d'obtenir des réseaux de nanotrous de diamètre inférieur avec l'argent.

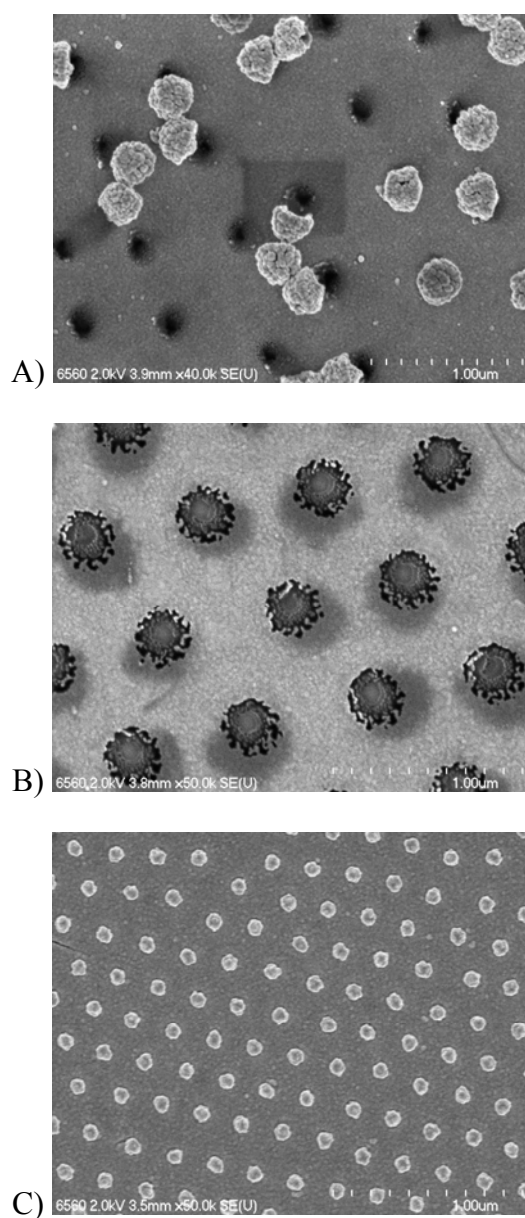


Figure 2.7 : Image SEM de réseaux de nanotrous ou de nanosphères. A) Périodicité de 650 nm, diamètre des trous  $159 \pm 11$  nm et diamètre des sphères  $288 \pm 13$  nm. B) Périodicité de 650 nm, diamètre des trous  $287 \pm 13$  nm. C) Périodicité de 220 nm, diamètre des trous  $89 \pm 5$  nm.

### 2.4.5 Dépôt du métal

La déposition du métal a été faite avec le système d'enduction par pulvérisation Cressington 308R, un appareil pour contrôler l'épaisseur relié à une microbalance de quartz et une source d'énergie de 100 W pour créer le plasma. Le gaz pour créer le plasma est l'azote. Les différents métaux, Cr, Ti, Au et Ag, ont été achetés de la compagnie ESPI Metals, et sont d'une pureté plus grande que 99.95%. Plusieurs combinaisons de métaux et d'épaisseurs ont été utilisées. Le chrome et le titane ont été utilisés à des épaisseurs entre 1 et 5 nm, pour permettre l'adhésion de l'or, puisque directement sur le verre, l'or se décolle et ne permettait pas de manipulations des échantillons. Les épaisseurs déposées d'or et d'argent varient entre 20 et 125 nm. La déposition s'est faite à angle droit pour tous les échantillons de cette étude.

### 2.4.6 Enlèvement des sphères de polystyrène

Pour enlever les sphères de polystyrène de la surface pour obtenir un réseau de nanotrous dans un film de métal, il faut faire un lavage à l'éthanol dans un bain ultrasonique. Si le métal utilisé est l'or, il est possible d'utiliser le chloroforme. Lorsqu'utilisé avec l'argent un changement de coloration est rapidement observable (d'argenté vers brunâtre). Si le diamètre des sphères après le RIE est inférieur à 200 nm, le lavage n'est pas efficace à 100 %. Des lavages plus longs peuvent être nécessaires, ce qui peut faire décoller le métal. L'or décolle plus facilement que l'argent. Plusieurs essais ont été faits pour tenter d'enlever les sphères plus petites que 200 nm pour une surface d'or et de titane. Aucun des composés ajoutés n'a été efficace. Les solvants tels que le dichloroforme et l'acide trifluoro-acétique ont aussi été essayés. Le TWEEN 20, polyoxyéthylène (20) sorbitane monolaurate a surfactant utilisé pour éviter l'agglomération des particules d'or et permettre leur recouvrement complet d'alcanethiol.<sup>89</sup> Il a été ajouté à plusieurs concentrations dans les différents solvants, l'eau, l'éthanol, le chloroforme ou à des mélanges des ces trois solvants, et ensuite passé

au bain ultrasons, pour réduire les interactions métal-métal. Aucune augmentation du nombre de nanotrous obtenus n'a été remarquée. Le sodium de citrate dihydrate est utilisé pour la réduction spontanée de l'or dans des rapports citrate-or entre 15 % à 25 % en solution aqueuse.<sup>90</sup> Dans des proportions plus grandes, le citrate ne se dissout pas et fait décoller les sphères comme le métal de la surface de l'échantillon. Cette technique n'a pas augmenté la quantité de nanotrous obtenus et altère la surface de métal. En dernière tentative, un recuit au four à 600 °C de 20 minutes suivi d'un rinçage au chloroforme d'un réseau de sphères traitées au plasma et recouvertes de 50 nm d'or a seulement provoqué la fonte des sphères, et le déplacement de métal, résultant en des îlots d'or de formes et de tailles aléatoires, comme le démontre la figure 2.8. Ces interactions fortes empêchant les sphères d'être enlevées de la surface ont limité la taille des trous à environ 200 nm et plus. Cette limitation n'est pas trop problématique, car en utilisant des périodicités supérieures à 360 nm, le phénomène optique est observable même si le diamètre est plus grand que 200 nm, comme il sera observé dans le chapitre 4.

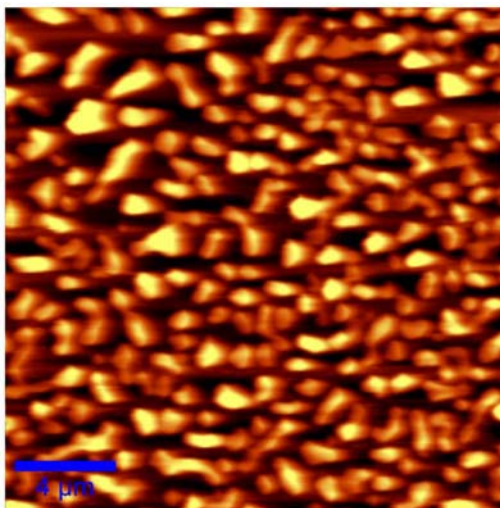


Figure 2.8 : Image AFM des îlots de métal produits par un recuit à 600 °C de nanosphères de diamètre initial de 360 nm qui ont subi un traitement de plasma de 15 minutes. Le métal déposé à la surface est 0.4 nm de Ti et 40 nm d'au. Les îlots ont une hauteur de  $397 \pm 25$  nm.

## 2.5 Fabrication rapide de réseau de nanotrous variés

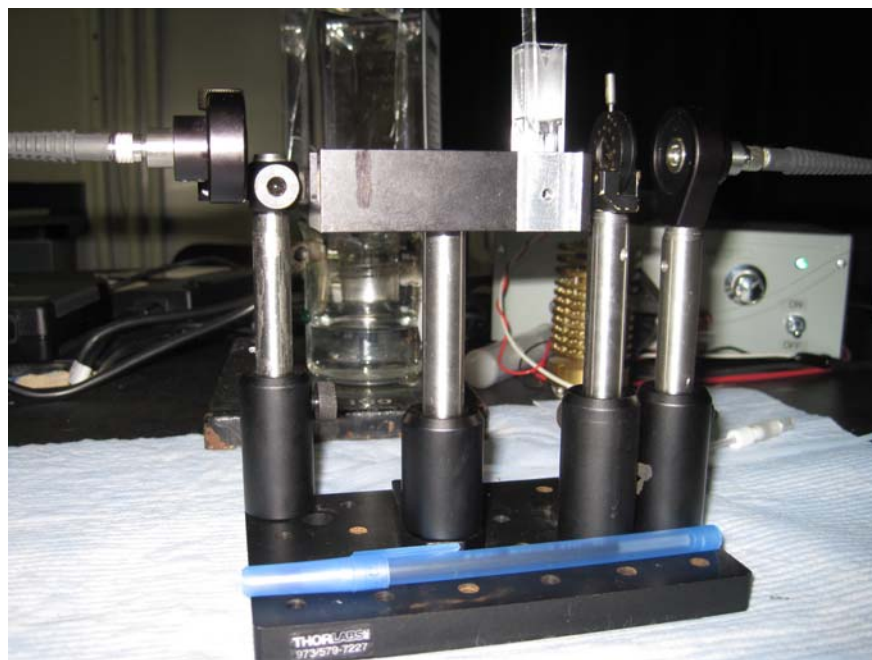
Il est donc important de mesurer le spectre de résonance des plasmons de surface localisés (LSPR) de plusieurs réseaux de nanotrous. Comme il a été expliqué précédemment, la technique par lithographie de nanosphère (NSL) permet une grande gamme de périodicité de nanosphère. De plus, l'utilisation de la gravure par ions réactifs (RIE) permet de modifier en moins de 20 minutes les réseaux obtenus par NSL. Il est donc facile et rapide d'obtenir des réseaux de sphères de périodicité et de diamètre voulus. Ce n'est que depuis deux années que le NSL est utilisé et accepté comme méthode de fabrication de trous, et depuis moins d'un an que des travaux ayant des applications de cette technique sont publiés. Les travaux présentés dans ce travail font partie des premières utilisations analytiques de cette combinaison de techniques, qui est par contre en croissance depuis.<sup>6</sup> Ensuite, la pulvérisation du métal diélectrique désiré ou d'une combinaison, l'argent ou l'or permet la déposition du métal dans les interstices entre les sphères, ainsi que sur les sphères. Le lavage à l'éthanol permet ensuite d'enlever les sphères, et d'obtenir un réseau de nanotrous. Les trous correspondent alors à l'endroit où étaient positionnées les sphères. Cette facilité de fabrication a été priorisée à la précision des autres techniques lithographiques qui auraient nécessité une multitude de masques, du temps et un appareillage coûteux pour l'étude faite ici. Des groupes de recherche ont étudié des réseaux de nanotrous fabriqués par lithographie par faisceau d'ions ou par photolithographie. Les sensibilités des réseaux de nanotrous qu'ils ont mesurées sont similaires à celles qui ont été mesurées dans ce travail.<sup>76,42, 91</sup> Par contre, ce sont majoritairement des réseaux d'arrangement carré qui sont fabriqués par ces techniques d'irradiation.

## 2.6 Caractérisation des réseaux de nanotrous

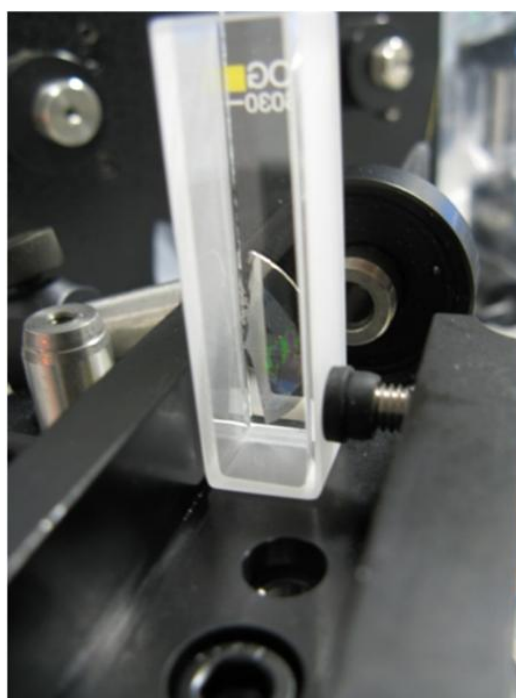
Les réseaux de nanotrous ont tous été caractérisés par microscopie à force atomique AFM (Witec alpha300A) en mode contact, permettant de déterminer la profondeur des trous. Certains échantillons ont aussi été observés par SEM, microscope à balayage d'électrons Hitachi S-4700. La meilleure résolution des images SEM a permis une comparaison avec les diamètres mesurés par AFM. Par contre, il est impossible de déterminer la profondeur des trous par SEM. Le logiciel Image J a permis de mesurer le diamètre des trous des images AFM et SEM.

## 2.7 Spectroscopie en transmission

Les spectres de transmission ont été pris avec un montage maison (figure 2.9). La lumière provenait d'une lampe halogène avec un domaine de longueurs d'onde d'émission entre  $\lambda = 400$  et  $\lambda = 1200$  nm. Un collimateur dirigeait la lumière dans une fibre optique vers l'échantillon qui était placé dans une cuvette en quartz sur un support. Un autre collimateur relié à une fibre optique dirigeait la lumière transmise par l'échantillon vers un spectrophotomètre (Witec, SpectraPro-300i) utilisé conjointement avec une caméra CCD haute résolution refroidit thermoélectriquement (Andor, DV401-BV). Tous les spectres ont été traités par le logiciel Matlab pour déterminer mathématiquement par modélisation d'une parabole la position des minimums ou des maximums de transmission.



A)



B)

Figure 2.9 : Figure du montage maison de spectroscopie à transmission. A) Pièces optiques B) Réseau de nanotrous dans un film d'argent dans la cuvette.



# Chapitre 3 : Optical Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays

Marie-Pier Murray-Méthot<sup>1</sup>, Mathieu Ratel<sup>1</sup> and Jean-Francois Masson<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Département de Chimie, Université de Montréal, C. P. 6128 Succ. Centre-Ville,

Montréal, Qc, Canada, H3C 3J7

<sup>2</sup> Centre for Self-Assembled Chemical Structures (CSACS)

<sup>3</sup> Centre for Biorecognition and Biosensors (CBB)



Article publié le 27 avril 2010, dans *Journal of Physical Chemistry C*

**Contribution de l'auteure, Marie-Pier Murray Méthot et des co-auteurs, Mathieu Ratel et Jean-François Masson**

Marie-Pier Murray Méthot a fait la majorité du travail d'optimisation, de fabrication des nanotrous, de mesure en transmission, d'analyse des données et d'écriture. Mathieu a participé pour les nanotrous d'argent et ceux bimétallique. Le directeur de recherche Jean-François Masson a révisé et corrigé cet article avant la publication.

### 3.1 Abstract

A systematic study of the optical properties and analytical response is reported for gold and silver nanohole arrays of different hole diameters with a fixed periodicity of 450 nm. Nanosphere lithography in combination with oxygen plasma etching has been used to fabricate the nanohole arrays. The plasmonic response of nanohole arrays is characterized in transmission spectroscopy ( $\lambda = 500 - 1000$  nm spectral region), which varied with metal composition and diameter of the nanoholes. The sensitivity to bulk refractive index (in nm/RIU) and the full width at half maximum (FWHM) were measured for each plasmonic modes to compare the biosensing potential of the various nanohole arrays. Sensitivity of nearly 400 nm/RIU was observed and was maximal with the plasmonic band at  $\lambda = 554$  nm for Ag nanohole arrays with the smallest hole diameter of 120 nm. Generally, the ratio of the full height (transmission intensity) and FWHM is constant for various hole diameter with Au nanohole arrays, while it improves for Ag nanohole arrays with smaller hole diameter. Various bimetallic nanohole arrays composed of a Ag underlayer covered with Au were fabricated with a hole diameter of  $254 \pm 20$  nm and a depth of  $50 \pm 12$  nm. Sensitivity and FH/FWHM ratio are improved for Au on Ag nanohole arrays compared to nanohole arrays of pure metal.

### 3.2 Introduction

Biosensors allow rapid and accurate detection of a specific bioanalyte, necessary for the detection of diseases. Recent advances in biosensors produced sensitive transducers such as nanohole arrays.<sup>92</sup> Au and Ag nanohole arrays support a surface plasmon (SP), which can be excited in the visible range of the light spectrum resulting in an enhanced transmission of light through the metallic film with sub-wavelength nanoholes. The wavelength of enhanced transmission at which the metal-solution interface is excited depends on the refractive index of a thin layer of solution near this

interface. Thereby, the binding of biomolecules to the nanohole surface causes a red-shift of the excitation wavelength, due to their high refractive index. Of particular interest, the excitation of the SP in UV-Vis by transmission spectroscopy could result in a miniature bioanalytical instrument due to the simple optical setup. These characteristics are primordial to build a portable biosensor. Moreover, the broad availability of UV-Vis spectrophotometer in most laboratories could also allow the implementation of nanohole array biosensors as a lab-based diagnostic tool. However, the use of nanohole arrays as a biosensor would benefit from higher sensitivity and lower detection limits for biomolecules. To better understand the effect of several physical/geometrical aspects on analytical parameters, a thorough study must be undertaken to develop optimal biosensors.

In recent years, research has been focusing on understanding the principles of enhanced transmission of light through nanohole arrays with a hole diameter smaller than the wavelength of light <sup>1,5,91,93,94</sup>. Others have reported the optical properties at fixed periodicity and diameter of nanoholes <sup>1,2,4,5,72,94</sup>. In one example of systematic study of optical properties/structure relationship, square arrays of nanoholes, concentric circles and nanoslit arrays were characterized, finding similarities in the optical spectrum for wavelength above  $\lambda = 750$  nm for these structures <sup>5</sup>. However, nanohole arrays have evident differences for  $\lambda < 750$  nm compared to concentric circles and nanoslits, as the optical response does not present the same plasmonic bands. The same study also investigated the variation of transmission spectra with several nanohole diameters, with a fixed periodicity of 600 nm. It was shown that strong differences exist in the optical properties of these nanohole arrays <sup>5</sup>. Theoretical simulations provide a tool to predict optical properties of nanohole arrays. Finite difference – time domain (FDTD) simulations of light transmitting through isolated nanohole or arrays provide assignment of the plasmonic bands <sup>93,91</sup>. Parsons *et al.* reported that a good correlation exists between experimental and simulated transmission spectra of Au nanohole arrays

with identical diameter and depth <sup>94</sup>. They also observed a red shift of the (1,0) metal-solution resonance band by increasing the period of the nanohole array <sup>94</sup>. For nanohole arrays, the (i,j) nomenclature refers to an orientation parameter of the array (Figure 3.1). Multiple resonances are excited for the various orientation parameters and for the various interfaces (i.e. metal – glass and metal – solution) present in nanohole arrays. Optical properties of nanohole arrays are therefore highly influenced by the physical and geometrical parameters of the array.

Refractive index sensitivity of plasmonic materials is an important parameter in assessing the analytical potential of the material in a biosensor format. It was reported that the periodicity, the integers of the Bloch modes and the metal composition are factors influencing the sensitivity <sup>70,95</sup>. Other factors such as the hole diameter can also influence sensitivity <sup>5</sup>. A survey of the literature shows that sensitivity for disordered nanohole arrays typically ranges from 40 to 270 nm/RIU, while ordered nanohole arrays exhibits sensitivity from 200 nm/RIU for a periodicity of 400 nm to 1570 nm/RIU for a periodicity of 1.53  $\mu\text{m}$  (Table 3.1). However, these reports are mostly for nanohole arrays of a single geometry, almost exclusively for Au and no complete investigation of the sensitivity of nanohole arrays is available for series of nanoholes. Another important parameter to investigate is the sensitivity to monolayer formation and for the detection of biomolecules. In a biosensing experiment, a wavelength shift of 10 nm was observed for the binding of streptavidin on biotin immobilized on nanohole arrays <sup>92</sup>. The normalized transmission intensity can also be used for biosensing with shifts of 0.2 a.u. for the biotin and streptavidin interaction <sup>78</sup>. A biosensor was developed based on nanohole arrays incorporated in a microfluidic chip and successfully detected the binding of mercaptoundecanoic acid on the nanohole arrays with a shift of 9 nm <sup>41,96</sup>. Several applications of biosensors using nanohole arrays were developed for the detection of BSA <sup>95,97-99</sup>, IgG, <sup>100</sup> and glutathione S-transferase (GST) <sup>101</sup>. These examples show the general analytical properties of nanohole arrays.

Table 3.1: Sensitivity of nanohole arrays with different geometries

Periodicity (nm)	Geometry	Diameter (nm)	Depth (nm)	Metal	Over-layer	Sensitivity (nm/RIU)	Reference
	Disordered	60	20	Au	None	71 to 88	<sup>73</sup>
	Disordered	140	15 to 30	Au or Ag	None or 20 nm SiO <sub>x</sub>	75 to 270	<sup>102,103</sup>
	Disordered	110	55	Au	None	40 to 60	<sup>104</sup>
400	Square array	100	50	Au	None	200	<sup>91</sup>
450	Square array	150	100	Au	None	333	<sup>76</sup>
500	Square array	NA	100	Au	None	324	<sup>105</sup>
500	Square array	170	100	Au	50 nm SiO <sub>x</sub>	650	<sup>92</sup>
600	Square array	90 - 250	110	Au	None	420 and 561	<sup>5</sup>
600	Square array of double holes	200	100	Au	None	270 and 600	<sup>106</sup>
1530	Square array	300	150-200	Au	None	1570 and 1110	<sup>95,97</sup>
450	Hexagonal array	250	7 to 13	Au	None	154 to 487	<sup>67,107</sup>
450	Hexagonal array	320	48	Au	None	226	<sup>67,107</sup>

NA: data not available

Nanohole arrays with sub-wavelength nanoholes can be fabricated with high resolution techniques such as electron beam lithography<sup>5,108</sup> or focused ion beam<sup>94,42</sup>. These techniques allow an excellent control of the size and shape of the nanohole arrays. Soft embossing lithography is an alternative technique for the fabrication of larger areas of well-ordered nanohole arrays<sup>109,110</sup>. However, different masks must be fabricated with significant cost for modifying the physical aspect of the nanohole arrays. The manufacture of series of nanohole arrays with various physical aspects would be beneficial for the investigation of the periodicity and hole diameter effect on the analytical properties. To achieve this objective, nanosphere lithography (NSL) is a rapid and inexpensive technique to fabricate arrays of nanoparticles, where self-assembled polystyrene nanosphere are arranged in close packed hexagonal arrays<sup>3</sup>. Nanohole arrays can be obtained with this NSL mask from the electrochemical deposition of a metal layer in the voids created by the mask<sup>3</sup>. Moreover, nanohole arrays can be obtained from glancing angle deposition (GLAD) of a metal layer at a 27° angle on the NSL mask with a planetary rotation stage<sup>107,67</sup>. However, these techniques do not allow the control of the hole diameter and has limited range for the depth of the nanoholes. Alternatively, reactive ion etching (RIE) with oxygen plasma has been recently used to decrease the diameter of the nanosphere immobilized to a substrate, in order to obtain a hexagonal array of non-closed packed spheres<sup>82,85,87,88,107,111-114 67,82,85,87,88,111-114</sup>. The etching step controls the diameter of the nanosphere without significantly altering the periodicity of the crystalline lattice. Deposition of metal at an angle normal to the surface followed by the removal of the nanospheres results in nanohole arrays. Using this methodology, the periodicity is equal to the initial nanosphere diameter and nanohole diameter is identical to the size of the etched nanosphere, which can be as small as 30 nm<sup>112</sup>. Thereby, NSL in combination with RIE is an excellent tool to fabricate the numerous nanohole arrays necessary to investigate their optical properties.

## 3.3 Experimental

### 3.3.1 Nanosphere mask

The technique to organize the latex nanospheres on a glass slide was based on prior reports<sup>67,107,115-118</sup>. Glass slides were immersed in a piranha solution composed of 75% sulphuric acid and 25% hydrogen peroxide for 90 minutes. **Caution: piranha solution is very corrosive.** The glass slides were then rinsed with plenty of 18 M $\Omega$  water and sonicated in 18 M $\Omega$  water to remove traces of piranha solution. Thereafter, they were immersed in a 5:1:1 solution of 18 M $\Omega$  water: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: ammonium hydroxide and sonicated for 60 min. Finally, they were rinsed with plenty of 18 M $\Omega$  water and sonicated numerous times in 18 M $\Omega$  water. The cleaned glass slides were stored in ultrapure water for weeks, which was replaced three times per week. The nanosphere solution was prepared by mixing 30  $\mu$ L of ethanol with 30  $\mu$ L of a 10% solution of 450  $\pm$  15 nm latex nanospheres (Duke Scientific, now Thermo Fisher particle technology). The latex nanospheres were stored at 4°C, so the diluted nanosphere solution had to be stabilized for 2 h at room temperature before use. A 10  $\mu$ L aliquot of the diluted nanosphere solution was deposited on a dry glass slide which was promptly transferred on the positive meniscus of water in a 6 cm Petri dish. The nanospheres at the water surface were transferred on a clean and wet cover slip by the Langmuir-Blodgett technique. The nanosphere mask was dried under a Petri dish for several hours prior to subsequent preparation steps.

### 3.3.2 Control of the nanosphere diameter

Oxygen plasma treatment was used to control the diameter of the nanospheres. A plasma cleaner (Harrick Plasma Cleaner PDC-32G) was used at high power (18 W) from 0 min (for unetched samples) to 10 min (for smallest nanoholes). Prior to the etching process, a vacuum was performed for 20 min with an oxygen flow of 15 mL/min

in the plasma chamber, which was maintained during the etching process. Thereafter, a Ag or Au film (ESPI metals, purity > 99.95%) was deposited on the etched nanospheres mask using a Cressington 308R sputter coating system, with a thickness controller and a 100 W sputter supply. A 5 nm Ti layer was deposited to increase the adhesion of the 45 nm thick Au layer to the glass slide. Fifty nanometers of Ag were deposited as Ag adheres well to glass. The nanospheres mask was then removed by sonication in ethanol. The nanoholes arrays obtained were physically characterized by AFM contact mode (Witec Atomic Force microscope alpha300A) and by SEM (Hitachi S-4700).

### **3.3.3 Optical properties measurement**

The nanohole arrays were glued with an optical grade UV epoxy on a 1-cm wide microscope glass slide for better handling and insertion into a standard UV-Vis cuvette. The optical characterization was performed in transmission spectroscopy with a custom optical set up using a fiber-optic spectrometer coupled with a CCD-camera within a working range of  $\lambda = 360$  to 1000 nm. A halogen lamp with an emission range of  $\lambda = 400$  to 1200 nm was collimated and impinged on the nanohole arrays at a  $0^\circ$  angle from the surface of the nanoholes. Using this configuration, the light beam impinges perpendicular to the plane of the nanohole film. The sensitivity was measured from 1.33 to 1.41 RIU with aqueous sucrose solutions (0% to 50% w/w) to vary the refractive index of the medium in contact with the nanohole array. The transmission spectra were then analyzed with MatLab. The spectral position of the excitation wavelength for the maximum or minimum of transmission (depending on the spectral band) was obtained using the zero of the first derivative of the peak. The full height / full width at half maximum ratio (FH/FWHM) was measured with the closest inflexion point. It is also important to note that each result reports the average value from at least three independent nanohole arrays, while the error reports two standard deviations about the mean.



## 3.4 Results and Discussion

### 3.4.1 Optical properties of Ag and Au nanohole arrays

Biosensors can be constructed based on the plasmonic properties of metal. Surface plasmons can detect changes of refractive index near the surface, related to the adsorption of biomolecules. In particular, the LSPR properties of nanoparticles have been exploited to detect biomolecules<sup>119</sup>. Nanohole arrays can exhibit greater sensitivity to refractive index (Table 3.1) than nanoparticles (235 nm/RIU)<sup>54</sup>. The interest to develop nanohole arrays is driven by this possibility of sensors with greater sensitivity. Numerous parameters can be tuned to develop nanoholes arrays with optimal analytical properties. Sensitivity to refractive index increases the change of wavelength for a binding event and a sharp and intense plasmonic band maximizes resolution. Although numerous studies report the optical properties of nanohole arrays, it is usually for a fixed periodicity, geometry, hole diameter and unique metal composition. In prior reports, Au was almost exclusively investigated (Table 3.1). Hence, the optical properties of nanoholes arrays are studied here with various hole diameters and metal compositions.

Nanohole arrays were prepared with a modified nanosphere lithography technique, with the advantage of the simple modification of the nanosphere mask diameter with oxygen plasma. The periodicity was set at 450 nm (the process is not limited to this periodicity) with latex nanospheres of the same size. The oxygen plasma process controls the size of the latex nanospheres from the initial diameter to 120 nm.<sup>a</sup> Figure 3.1 (left panel) shows a nanohole array with a periodicity of 450 nm, a hole diameter of  $195 \pm 19$  nm and a depth of  $53 \pm 8$  nm. AFM images were acquired to determine the depth of the holes, while SEM provided better resolution for the diameter

---

<sup>a</sup> Le plus petit diamètre de nanotrous qui a pu être obtenu à l'aide de la méthode de fabrication utilisée (section 2.4.6)

of the nanoholes. The SEM images had previously demonstrated that etching the nanosphere mask does not alter the periodicity of the nanohole arrays, although roughness of the nanosphere increases with longer etch time<sup>88</sup>. Hence, the nanosphere roughness results in nanoholes with somewhat irregular edges (Figure 3.1 – right), especially for smaller nanohole diameters.

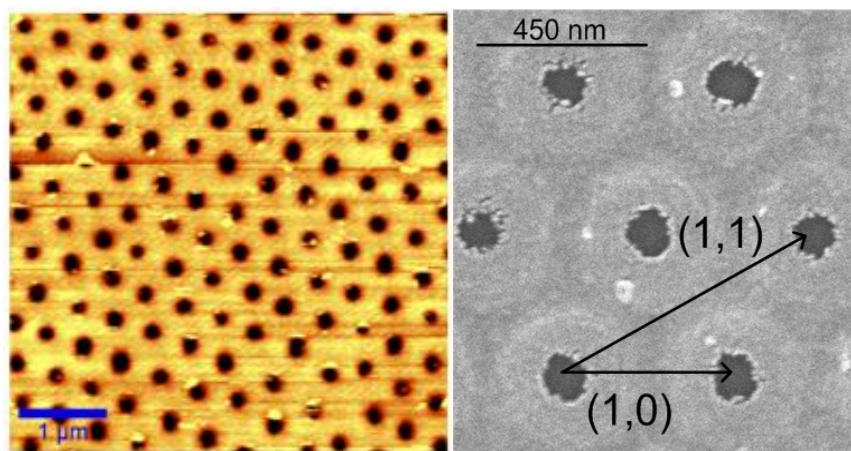


Figure 3.1: (Left) AFM image of a nanohole arrays with a periodicity of 450 nm with a diameter of  $195 \pm 19$  nm. (Right) SEM image of a nanohole arrays demonstrating the (i,j) nomenclature and the irregular edges of each nanohole.<sup>b</sup>

The AFM images showed residues left on the surface of the nanohole arrays. This can be caused by metal fragments from the nanosphere capped with Au or Ag, or from residual polymer of the nanosphere. The residue was also visible on microhole arrays prepared using the same methodology<sup>120</sup>. The residues are covering a very small

---

<sup>b</sup> Sur l'image SEM (à droite), les nanotrous sont noirs et le métal est gris. Il est possible d'observer un contraste de gris plus pâle autour de chaque nanotrou. Cela est dû à l'ombrage lors de la déposition du métal (section 2.2 et 2.3), laissant moins de métal où les sphères étaient. Sur l'image les points blancs sont probablement des résidus de polystyrène qui sont demeurés à la surface lors du lavage. Il est donc aussi possible que le dégradé de gris pâle soit aussi dû à des résidus de polystyrène.<sup>6</sup>

fraction of the surface, such that the plasmonic response should be minimally altered, if it is altered. The small deviation on the optical response (excitation wavelength, see below) suggests that the residue has minimal effect on the plasmonic response. One drawback of NSL followed by RIE is that the latex spheres are not fully removed for longer etching time. This is likely due to a strong contact point between the metal layer on the latex sphere and the metal film deposited on the glass slide. This strong contact point may prohibit the complete removal of the smaller nanospheres using ultrasounds. Numerous unsuccessful attempts were made with mechanical vibrations and wet polishing techniques to remove the nanosphere mask for longer etch times. Polishing with 0.05  $\mu\text{m}$  alumina provided partial removal of the nanosphere mask, but many scratches were observed, which limited this technique. This factor restricted the nanohole diameter range in this study to  $\geq 180$  nm for Au and  $\geq 120$  nm for Ag. Nanospheres mainly remained on the surface with nanohole arrays with hole diameter smaller than these diameters. As an example, nearly 45 % of the spheres remained on the surface with Au nanohole arrays of 180 nm diameter, 35% for holes of 205 nm diameter, 13% for holes of 220 nm diameter and 0% for holes of 250 nm diameter. For Ag nanohole arrays, nanospheres were fully removed for every sample up to 120 nm diameter. For both Ag and Au nanohole arrays for diameter smaller than 180 nm for Au and 120 nm for Ag, 100% of spheres remained on the surface. The samples with partially removed nanospheres still exhibited a plasmonic response. The optical response showed identical plasmonic bands, but of decreased intensity. Samples with hole diameter larger than 180 nm for Au and 120 nm for Ag showed nearly complete removal of the spheres (as demonstrated by the AFM image in Figure 3.1). However, it still provides a broad range of nanohole diameters and does not prohibit the use of modified nanosphere lithography.

The optical characterization of different nanohole diameters was accomplished with various analytical parameters: the excitation wavelength of the plasmonic bands,

the FH/FWHM ratio and the sensitivity to bulk refractive index change. The evolution of the spectra with decreasing Au nanohole diameter is presented in figure 3.2. For Ag arrays, the optical response is similar with the exception that the plasmonic peaks are more intense and blue shifted. The optical spectrum of Au nanohole arrays reveals the presence of a transmission minimum in the near-infrared (NIR) for every hole diameter. The position of this transmission minimum varies significantly depending on the diameter of the hole. The excitation wavelength of the NIR plasmonic band is red shifted for larger nanohole diameters of Au nanohole arrays (Figure 3.3). For smaller hole diameter, the transmission band is excited near  $\lambda = 750$  nm and the plasmonic wavelength increases with diameter to reach a plateau near  $\lambda = 900$  nm for diameters above 250 nm. A transmission maximum appears as the diameter decreases, at an average wavelength of  $641 \pm 20$  nm. The intensity of this plasmonic band generally increases as the diameter decreases.<sup>c</sup> This enhanced transmission band was previously associated to the (1,0) metal-glass plasmon resonance<sup>82,91</sup>. For smaller diameters (diameter < 300 nm), a second transmission minimum is observed at an average wavelength of  $563 \pm 11$  nm, associated to the (1,0) metal-solution interface<sup>82,91</sup>, as well as a second transmission maximum at  $\lambda = 534 \pm 31$  nm, associated to the (1,1) metal-glass interface. The position of these plasmonic bands, (1,0) metal-glass and (1,0) metal-solution do not show any significant changes in excitation wavelength with different diameters (Figure 3.3). The minute variations of the excitation wavelengths for these plasmonic peaks are not significant.

---

<sup>c</sup> Il n'y a pas d'équation ou de modélisation qui explique le phénomène où le spectre LSPR varie selon le diamètre des nanotrous. Les équations prennent seulement compte de la périodicité (section 1.4.4). L'hypothèse est que selon le même principe que lorsque la périodicité augmente, la résonance des plasmons de surface localisés est maximale autour des trous, mais est augmentée lorsqu'il y a continuité de métal entre les trous.<sup>94</sup>

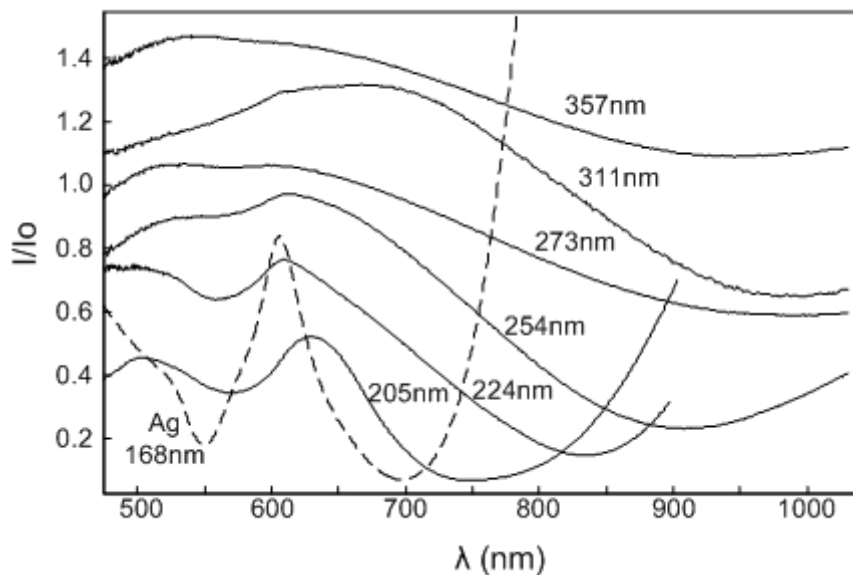


Figure 3.2: Transmission spectra for Au (lines) and Ag (dash) nanohole arrays of different nanohole diameters. For diameter between 300 and 450 nm, there is only one minimum of transmission, characteristic of the LSPR response in triangle arrays. For nanohole diameter below 300 nm, a maximum (near 600 nm) and a minimum (near 550 nm) of transmission appears in the transmission spectra. The curves are offset for ease of representation. The plasmonic band positions for Ag are blue shifted compared to the Au band.

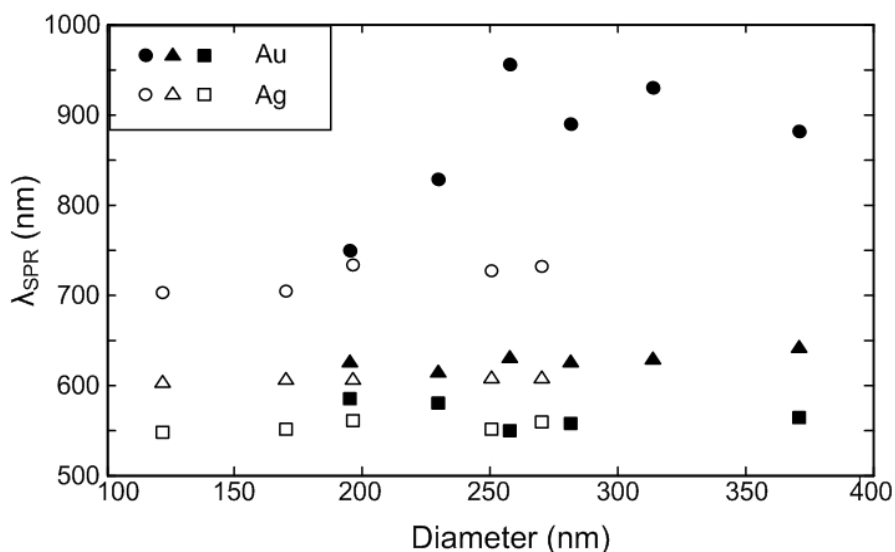


Figure 3.3: Resonant wavelength for each plasmonic band for Au (filled) and Ag (open) nanohole arrays. The squares represents the transmission minimum associated to the (1,0) solution-metal plasmonic band, the diamonds are associated to the enhanced transmission maximum for the (1,0) metal-glass interface, and the circles relates to the minimum of transmission in the near infrared.

Comparison of the different spectra for Ag nanoholes arrays results in similar optical properties than Au nanohole arrays. Two transmission minima were observed, one in the NIR at  $\lambda = 722 \pm 30$  nm and another associated to the (1,0) metal-solution interface at  $\lambda = 554 \pm 9$  nm. A transmission maximum is also present at  $\lambda = 606 \pm 2$  nm in Ag nanohole arrays, related to the (1,0) glass-Ag interface. In all cases, the Ag plasmonic bands are blue shifted compared to the gold plasmonic band, for identical solutions and physical parameters (Figure 3.3). The different complex dielectric constant of Ag results in plasmonic bands active at lower wavelength for SPR.<sup>121</sup> Each plasmonic band for Ag nanohole arrays do not shift significantly with varying hole diameter. However, for both Au and Ag nanohole arrays, it is observed that the intensity of the plasmonic peak is significantly modified by the diameter of the nanoholes.

Generally, the plasmonic peaks become more intense with decreasing the nanohole diameter. This important factor is related to the precision at which the position of the minimum can be determined. Peaks of greater intensity result in more precise tracking of the plasmonic wavelength, which translates into greater resolution.

### 3.4.2 Sensitivity for Ag and Au nanohole arrays

Nanohole arrays could potentially be used into biosensors schemes<sup>42,77</sup>. The sensitivity to refractive index must be maximal for improved biosensing capability. This is measured from the wavelength shift with the variation of the refractive index (nm/RIU) of the solution in contact with the nanohole arrays. Different concentration of aqueous sucrose solutions were used to vary the refractive index at the metal-solution interface from 1.33 to 1.41 RIU. Figure 3.4 reports the transmission spectra of a silver nanohole array for different refractive index solution at the metal interface. For this example, the nanohole array has a periodicity of 450 nm, a nanohole diameter of  $255 \pm 16$  nm and a depth of  $50 \pm 11$  nm. It is possible to observe the minimum of transmission associated to (1,0) metal-solution interface in the spectral range from  $\lambda = 520$  to 590 nm for aqueous solutions of glucose and at  $\lambda = 419$  nm in air. There is a red shift of the minimum position for a refractive index increase of the solution, resulting in sensitivity greater than 200 nm/RIU for every nanohole diameter of Ag arrays. This sensitivity increases with smaller hole diameter to nearly 400 nm/RIU. For Au arrays, the (1,0) metal-solution plasmonic band has a constant sensitivity of  $204 \pm 48$  nm/RIU, regardless of the hole diameter. The sensitivity of the minima associated to (1,0) metal-solution at  $\lambda = 563$  nm for Au and  $\lambda = 554$  nm for Ag is the most sensitive peak for nanohole arrays of 450 nm periodicity. This observation is only valid for nanohole diameters  $< 300$  nm, as the (1,0) metal-solution plasmonic band is inexistent for larger diameters. Thus, the peak of interest in a biosensing scheme is the (1,0) metal-solution band active around  $\lambda = 540$ -570 nm.

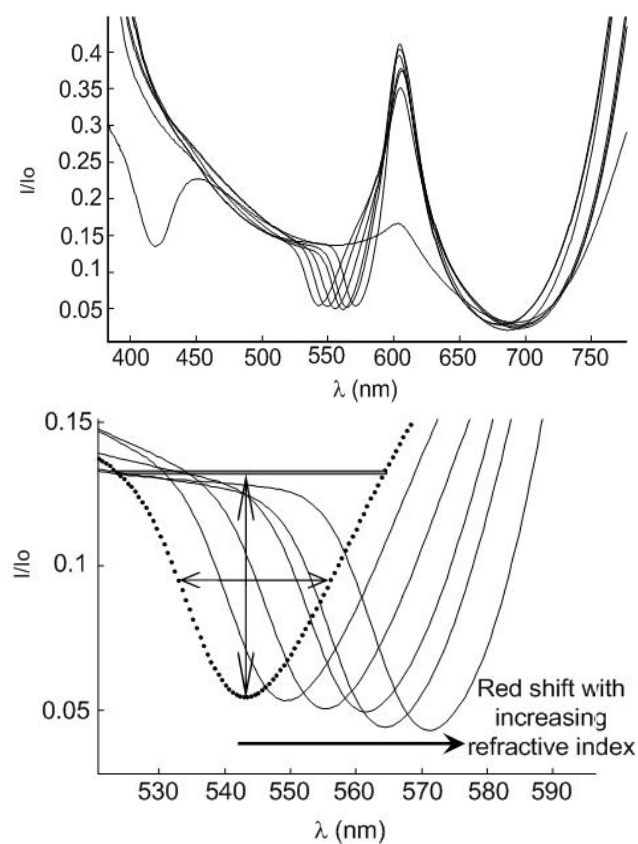


Figure 3.4: (Top) Transmission spectra of a Ag nanohole array with a periodicity of 450 nm, a nanohole diameter of  $255 \pm 16$  and a depth of  $50 \pm 11$  nm. (Bottom) The spectral range from  $\lambda = 520$  nm to 590 nm shows the refractive index sensitivity and the method for calculating the FH/FWHM. The vertical arrow indicates the FH, while the horizontal arrow is for the FWHM.



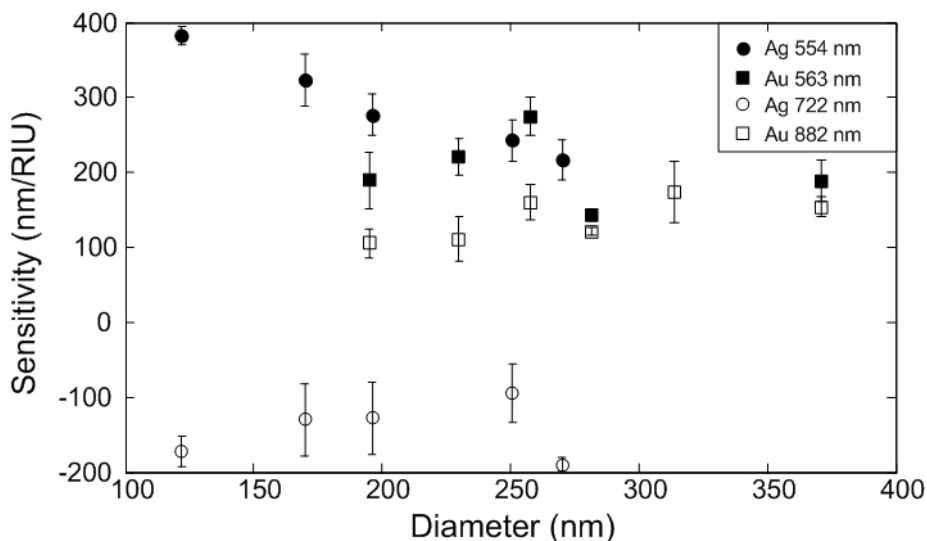


Figure 3.5: Sensitivity of nanohole arrays with different diameter is shown for Ag (circles) and Au (squares) nanohole arrays. Sensitivity is generally higher for the plasmonic bands near  $\lambda = 550$  nm (filled forms) for Ag and Au, while it also increases for Ag nanoholes of decreasing diameters.

A theoretical analysis reported that the sensitivity was proportional to the periodicity, the Bloch modes and the dielectric constant of the metal and solution <sup>95</sup>. This would explain the constant sensitivity for Au, with hole diameter greater than 180 nm. In the case of Ag nanohole arrays, we do observe that the sensitivity increases significantly for smaller hole diameter. However, Lee *et al.* recently reported that the sensitivity increases for Au nanohole from 220 to 90 nm hole diameter, with 600 nm periodicity <sup>5</sup>. Although we could not measure the sensitivity in this region of nanohole sizes with Au, we did observe that the sensitivity increased for Ag nanoholes for smaller hole diameter. However, it suggests that theoretical modeling should be adapted to account the variation of sensitivity with smaller hole diameter.

The other plasmonic bands active in Au or Ag nanohole arrays are significantly less sensitive to refractive index. For the minimum at  $\lambda = 722$  nm in Ag nanohole arrays, the sensitivity measured was negative with an average value of  $-137 \pm 74$  nm/RIU. In that case, an increase of refractive index results in a blue shift of the minimum of transmission. The sensitivity of this plasmonic band does not significantly change for the different hole diameters. Moreover, the error associated with the sensitivity is rather large due to a spectrally broad response decreasing the accuracy of the measurement. The minimum of transmission for Au nanohole arrays at  $\lambda = 882$  nm is less sensitive than for the minimum around  $\lambda = 540$ - $570$  nm, with a sensitivity of  $154 \pm 26$  nm/RIU. In that case, the sensitivity is positive, thus a redshift is observed for increasing refractive index. The sensitivity for Au nanohole arrays is stable with various nanohole diameters. The maximum of transmission near  $\lambda = 600$  nm is relatively insensitive to refractive index. The plasmonic band exhibits only a weak redshift for a refractive index increase. The average sensitivity is  $91 \pm 39$  nm/RIU for Au arrays and  $34 \pm 17$  nm/RIU for Ag arrays. This band was not as sensitive as the other two transmission minima reported above for Au and Ag nanohole arrays. This result is expected since the low sensitivity plasmonic band is associated to the (1,0) glass-metal interface, and should not be sensitive to bulk refractive index.

### **3.4.3 FH/FWHM for Ag and Au nanohole arrays**

The resolution of spectroscopic techniques is improved for narrow and intense absorption or transmission bands. A measure of sharpness and intensity of plasmonic band can be obtained from the ratio of the full height (FH, related to the intensity) divided by the full width at half maximum (FWHM, related to the sharpness of the band or the linewidth). A large FH/FWHM value signifies that the plasmonic peak has better spectral resolution. This figure of merit provides a methodology to compare the sharpness and intensity of the various plasmonic bands observed in nanohole arrays. As

an example, considering only the linewidth does not account for the intensity of a plasmonic band, which greatly varies for nanohole arrays of different geometries and for the various plasmonic bands active in nanohole arrays. The linewidth is an appropriate figure of merit for nanotriangle arrays, as the intensity of the unique plasmonic band is usually normalized. In all cases, the height was measured for the nanohole arrays in water, as described in figure 3.4 (right panel). This method provides a good estimation of the accuracy at which the plasmonic wavelength can be measured. Greater accuracy on the measurement of the plasmonic wavelength provides better RI resolution.

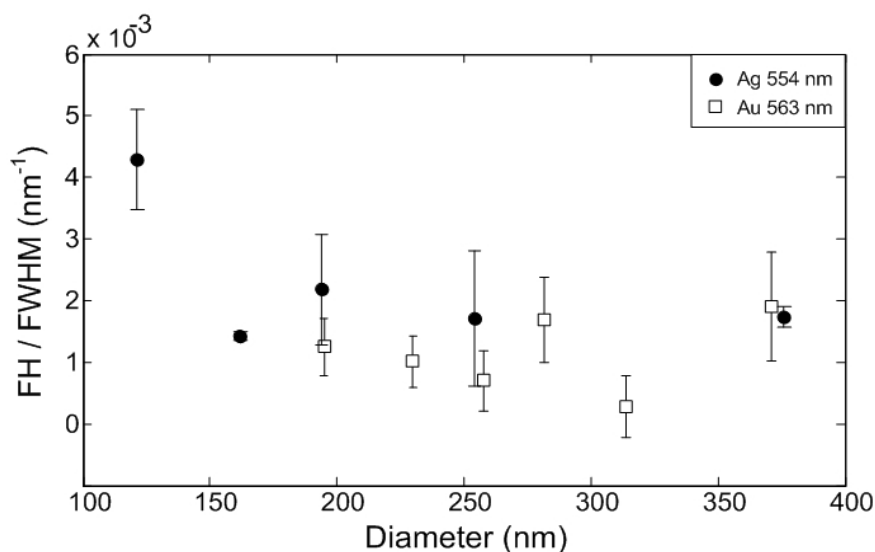


Figure 3.6: Variation of the FH / FWHM ratio of the minimum of transmission (1,0) solution-metal plasmonic band at  $\lambda = 554$  nm for Ag arrays (filled circles) and at  $\lambda = 563$  nm for Au arrays (squares). This value has to be maximal to improve resolution.

With the larger nanoholes, the transmission spectra of Au and Ag nanohole arrays are dominated by the absorption band due to the LSPR similar to individual triangles. As the nanohole diameter decreases, the spectra exhibit new plasmonic peaks. Since the only peak of significant sensitivity for nanohole arrays was for the (1,0) metal-solution interface, only this peak is considered in this section. Figure 3.6 shows the

variation of FH/FWHM with the diameter of the nanoholes for the Ag and Au nanohole arrays. The FH/FWHM ratio is relatively constant for Au arrays, around  $1 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1}$ . However, the FH/FWHM ratio is increasing as the diameter decreases for Ag nanohole arrays from around  $2 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1}$  to  $4 \times 10^{-3} \text{ nm}^{-1}$ . This increase in FH/FWHM ratio is a result of the increase in intensity of the plasmonic peak. The transmission minimum ( $\lambda = 540\text{-}570 \text{ nm}$ ) is of weak intensity for larger diameters, which increases for smaller nanohole diameter. The FH/FWHM ratio is twice better for Ag nanohole with diameter of  $121 \pm 6 \text{ nm}$  than for other Au and Ag nanohole arrays. Thus, smaller hole diameter for Ag nanohole arrays provides better sensitivity and better FH/FWHM ratio.

#### **3.4.4 Bimetallic Au on Ag nanohole arrays**

Ag surfaces can be oxidized, which could limit the shelf-time of Ag nanohole arrays. SPR sensors based on unprotected Ag films are usually stable for less than one month, although depositing a self-assembled monolayer can increase the shelf-life<sup>122</sup>. Ag provides desirable analytical properties for nanohole arrays as described above. Thus, one alternative investigated herein has been the possibility of using Ag as an undercoat with Au protecting the surface. Hence, the nanohole array could have the spectral characteristics of Ag nanohole arrays combined with the stability of Au to oxidation. Moreover, the Au surface is advantageous for the increased stability of thiol chemistry.<sup>123</sup> Bimetallic nanohole arrays were prepared by depositing a Au film on the Ag film prior to the removal of the NSL mask. In this series of nanohole arrays, the depth was maintained constant at  $50 \pm 12 \text{ nm}$ , but with different thicknesses of Ag (5 to 50 nm) and Au (45 to 0 nm). The diameter of the nanoholes was  $254 \pm 20 \text{ nm}$ . Figure 3.7 shows the transmission spectra for these nanohole arrays. It is possible to observe the (1,0) metal-solution band shift towards lower wavelength as the thickness of the silver layer increases (Table 3.1). The nanohole arrays with the thinnest Ag layers are active around  $\lambda = 570 \text{ nm}$ , which decreases to  $\lambda = 551 \text{ nm}$  for pure Ag nanohole

arrays. It was previously demonstrated that the excitation wavelength was a function of the dielectric constant of the metal layer <sup>124</sup>. Ag has a lower dielectric constant than Au in visible spectral region <sup>121</sup> and thus, results in a shorter excitation wavelength for Ag compared to Au. The excitation wavelength for the (1,0) metal-solution interface for the nanohole arrays with 5 nm Ti and 45 nm Au is blue shifted compared to 5 nm Ag and 45 nm Au. Moreover, the transmission minimum in the NIR is significantly redshifted for the 5 nm Ti with 45 nm Au. These shifts of the plasmonic bands are due to the different dielectric constant Ag and Ti, changing the propagation properties of the surface plasmon wave in the nanohole film and the excitation wavelength. Hence, the optical spectrum of bimetallic Au on Ag nanohole arrays is similar to the pure metal nanohole arrays, with differences in the position of the plasmonic bands depending on the metal undercoat.

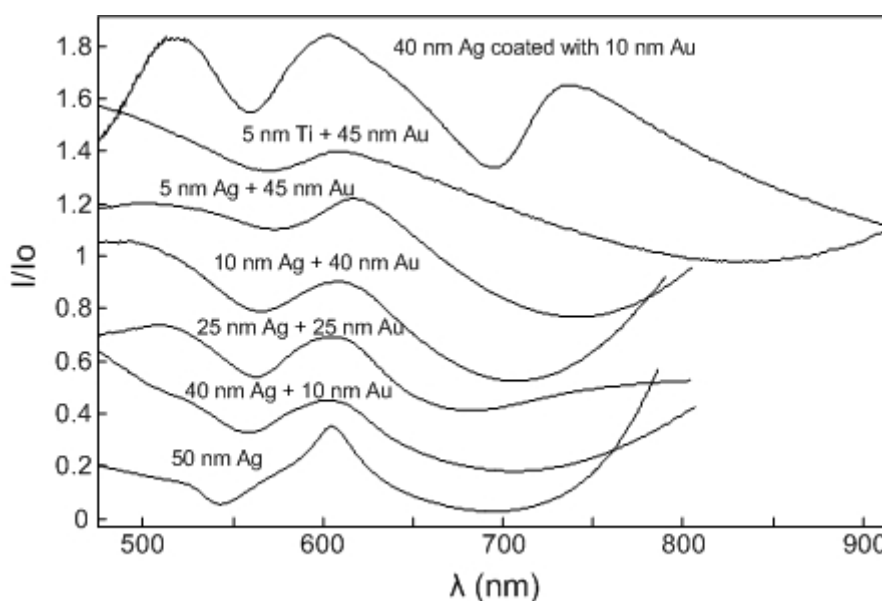


Figure 3.7: Transmission spectra of nanohole arrays with different thickness of Ag and Au. The periodicity is 450 nm and the nanohole diameter is  $254 \pm 20$  nm. The total nanohole depth is  $50 \pm 12$  nm, with various thicknesses of Ag and Au. Ag is used as the underlayer, while Au is exposed to the solution. The 40 nm Ag coated with 10 nm Au refers to a Ag nanohole array fully coated with 10 nm of Au.

The sensitivity of these bimetallic Ag/Au nanohole arrays does not vary significantly for most of the bimetallic materials. The sensitivity ranges from 242 to 303 nm/RIU, which is maximal for 10 nm Ag and 40 nm Au. For other metal composition, it is relatively constant between 242 and 269 nm/RIU. Similarly to the sensitivity, the FH/FWHM ratio is dependant on the metal composition. Despite the band becoming narrower for increased Ag thickness (linewidth around 38 nm for Au and 28 nm for Ag), the nanohole with 50 nm of Ag does not provide the best FH/FWHM ratio, due to the decrease in intensity of the band for thicker Ag layer compared to bimetallic Au on Ag. The FH/FWHM ratio of the plasmonic peaks is optimal with 25 nm of Ag and Au (Table 3.2). For other metal composition, the FH/FWHM ratio decreases.

Table 3.2: Analytical parameters for bimetallic Au on Ag nanoholes

Thickness (nm)	50 Ag	40Ag; 10Au	25Ag; 25Au	10 Ag;40 Au	5 Ag; 45 Au	5 Ti; 45 Au	Au coated Ag arrays	Optimal Ag*	Mean values Au**
$\lambda$ (nm)	551	559	564	567	572	569	565	547	563
Sensitivity (nm/RIU)	242 ± 46	267 ± 71	269 ± 37	303 ± 6	253 ± 48	252 ± 36	210±78	383±23	204±48
FH/FWHM ( $10^{-3} \text{ nm}^{-1}$ )	2 ± 1	2.4 ± 0.6	9 ± 2	4 ± 3	2.0 ± 0.3	1.13 ± 0.04	2.0 ± 0.4	4.3±0.8	1.2±0.8

\* Optimal Ag nanohole diameter of  $122 \pm 10$  nm

\*\* Mean values for all Au nanohole diameters

These results indicate that the excitation wavelength, the sensitivity and the FH/FWHM ratio of bimetallic Au on Ag nanohole arrays are dependant on the metal composition of the nanohole arrays and the optical properties of bimetallic Au on Ag nanoholes are improved compared to the pure metal nanohole arrays. Comparatively, the excitation wavelength for bimetallic Au/Ag nanoparticles has been observed to shift from the excitation wavelength of pure Au to the one of pure Ag. The shift was proportional to the fraction of Au and Ag present in the nanoparticle <sup>125,126</sup>. This result for bimetallic nanoparticle is in accordance with the shift of wavelength observed here for the Au on Ag nanohole arrays from  $\lambda = 570$  nm for Au to  $\lambda = 551$  nm for Ag. It has also been reported that the effective dielectric constant of bimetallic nanoparticles is not a linear combination of the one from pure metals <sup>125</sup>. This effect may be linked to the coupling of the surface plasmons of the two metal layers <sup>127</sup>. Using conventional surface plasmon resonance, it was demonstrated that the linewidth of the SPR resonance decreased from Au to Ag, proportionally to the fraction of each metal composing the thin film. <sup>128</sup> In the case of nanohole arrays, it was observed that the linewidth for Au is indeed larger than for Ag, but no correlation was observed for the intermediate composition of Ag and Au. However, it was observed that the FH/FWHM is better for Ag than for Au, but also improves significantly for bimetallic layers. This may be explained by the increase in intensity of the plasmonic response for nanohole arrays (Au on Ag). A similar effect was observed and predicted using the Mie theory for core-shell Au and Ag nanoparticles. <sup>129</sup> As the number of shells increased, the intensity of the absorption increased dramatically. Thereby, the optical properties of Au on Ag nanohole arrays are similar to bimetallic nanoparticles.

A different configuration of Au on Ag nanohole arrays was also investigated. A series of nanohole array with 40 nm of Ag was prepared. Following the removal of the NSL mask, a 10 nm overlayer of Au was deposited, thus coating not only the Ag layer but also the glass surface of the nanoholes. The result is a Ag nanohole array coated



with 10 nm Au, with nanoholes of 40 nm depth. Two major differences emerge by comparing the optical spectrum of Au-coated Ag nanohole array with the 40 nm Ag + 10 nm Au nanohole array (Figure 3.7). Firstly, an additional lower energy resonance is observed for the Au-coated Ag nanohole array ( $\lambda = 742$  nm). Moreover, the intensity of the plasmonic peaks is increased significantly for every plasmonic band. One example is the maximum at  $\lambda = 519$  nm for the (1,1) metal-glass band, hardly observed for Au and Ag nanoholes with diameter  $< 250$  nm. This band is much stronger for the Au-coated Ag nanohole array. Also, the maximum at  $\lambda = 742$  nm observed for the Au-coated Ag nanoholes is not present in any other nanoholes prepared herein. This is likely to be due to an enhanced transmission created by the thin gold metal layer in the nanoholes, as it was not observed for nanohole array with glass at the bottom of the nanohole. In comparison, this spectrum is very similar to the Au nanohole arrays capped with Au disks prepared by the Nuzzo group, where an increase number of resonance band are present, compared to other nanohole arrays<sup>115130</sup>. The resonance at lower energy was attributed to the plasmon coupling between the upper ring of the nanohole to the metallic surface at the bottom of the nanohole. This could be the case with the Au-coated Ag nanoholes prepared here. However, the sensitivity and the FH/FWHM are not improved with the Au coated Ag nanohole arrays compared to other bimetallic nanohole arrays

### 3.5 Conclusions

The optical and analytical properties of nanohole arrays can be tuned by modifying the diameter of the nanohole and the metal composition. The sensitivity and FH/FWHM ratio are improved for Ag nanohole arrays of smaller hole diameter compared to other Ag nanohole arrays and Au nanohole arrays. This is obtained with the (1,0) metal-solution plasmonic band, excited at  $\lambda = 540$ -570 nm for nanohole arrays of 450 nm periodicity. Other plasmonic peaks exhibited analytical parameters of decreased

performances, such that they could not be used in biosensing. Bimetallic metallic composition using Ag as the adhesion layer and Au as the top layer improves the sensitivity and the FH/FWHM ratio compared to pure Ag or Au nanohole arrays. These bimetallic nanoholes arrays are therefore interesting plasmonic materials for biosensing.

### **3.6 Acknowledgements**

Financial support was provided by NanoQuébec, the Canadian Space Agency, the Canadian Foundation for Innovation (CFI), and the National Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC).

## **Chapitre 4 : Influence de la périodicité sur les spectres LSPR**

La périodicité des trous influence le nombre de bandes LSPR excitées dans la région de longueurs d'onde observée. La position des bandes LSPR, représentée par les équations 1.12 et 1.13, est influencée par les modes de propagation du plasmon de surface ( $i$  et  $j$ ), ainsi que par la périodicité ( $P$ ) des nanotrous dans le film de métal. Les deux principaux modes de propagation des plasmons pour des nanotrous ont été présentés à la figure 1.9. Le travail fait ici n'est pas un travail visant à identifier les modes des bandes, mais vise plutôt à identifier les paramètres généraux ayant un potentiel de biodétection. La position et la sensibilité des bandes LSPR en transmission de réseaux de périodicités de 220 nm, 360 nm, 450 nm et 650 nm sont donc rapportées pour des nanotrous de différents diamètres. Puisque beaucoup de travail a été fait sur la périodicité de 450 nm et que l'influence du diamètre des trous et de la nature du métal sont mieux connues, cette périodicité est utilisée pour comparer les paramètres analytiques dans cette section.

### **4.1 Périodicité de 220 nm**

Les échantillons des périodicités de 220 nm et 360 nm ont été difficiles à manipuler en raison de la très petite taille des sphères après le traitement de gravure au plasma. Comme il a été mentionné, les sphères de tailles inférieures à 200 nm ont été difficiles à réaliser pour des films d'or. Les sphères de 220 nm ont été brièvement traitées au plasma pour obtenir un diamètre supérieur à 175 nm, comme l'image AFM de la figure 4.1. En fait, ces échantillons ne sont pas des trous, mais plutôt des nanotriangles. La résolution de l'image AFM présentée n'est pas très bonne en raison de la petite taille des nanostructures observées et de la différence d'interaction entre l'extrémité de la pointe AFM avec l'or ou le verre. L'épaisseur de métal de ces triangles est très mince, soit entre 10 et 15 nm d'or. La figure 2.3 dans la partie de fabrication de

nanostructures démontre l'effet d'ombrage créé par les sphères peu gravées durant la déposition de métal. Ce phénomène joue un grand rôle dans ce cas, puisqu'un film de 10 à 15 nm a été obtenu avec des conditions de déposition de métaux qui résultent habituellement en un film de 50 nm. Une modification potentielle pour obtenir une plus grande épaisseur de métal est une déposition plus longue de métal pour compenser pour l'ombrage, mais cela rend le lavage des sphères plus difficile. Il est donc impossible avec la méthode de fabrication développée au cours de ce travail de fabriquer des nanotrous de périodicité de 220 nm.

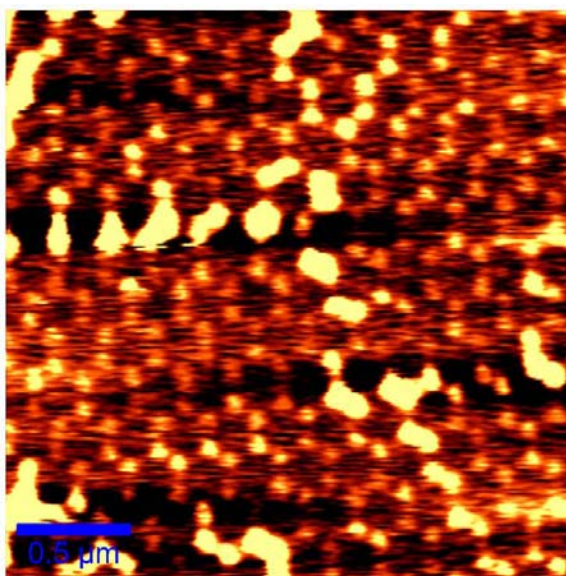


Figure 4.1 : Image AFM d'un réseau de nanotriangles de périodicité de 220 nm. Le diamètre entre les triangles est d'environ 175 nm et l'épaisseur des structures d'or est entre 10 et 15 nm.

Les spectres LSPR des réseaux de nanotriangles de périodicité de 220 nm présentés à la figure 4.2 n'ont pas révélé la présence d'une bande intense. Les spectres en transmission de nanotriangles obtenus précédemment dans le groupe et aussi par d'autres groupes ressemblent à ceux-ci, avec la présence d'un large minimum.<sup>3,67,115,116,131</sup> Par contre, ces groupes de recherches ont remarqué que ce minimum est

sensible à l'indice de réfraction, ce qui n'est pas le cas pour celui sur la figure 4.2 (tirets bleus). La région entre 400 nm et 500 nm est très bruyante en raison de la limite du détecteur et de la faible intensité de la source lumineuse utilisés.

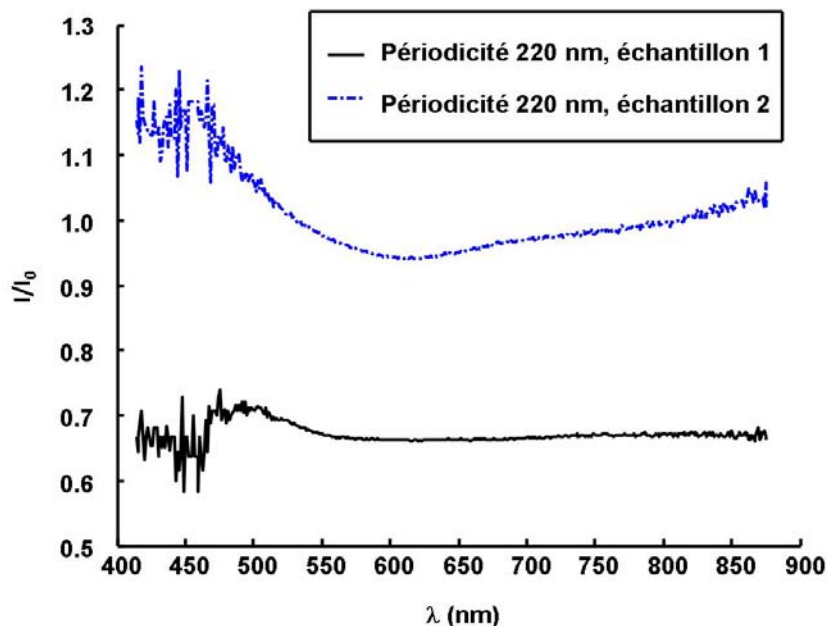


Figure 4.2 : Spectres LSPR de réseaux de nanotriangles de périodicité de 220 nm dans un film d'or.

## 4.2 Périodicité de 360 nm

Contrairement aux réseaux de périodicité de 220 nm, il a été possible d'obtenir des sphères jusqu'à 100 nm plus petites que celles initiales avec le RIE, et de les enlever après la déposition du métal. La figure 4.3 est une image AFM d'un réseau de nanotrous de 250 nm de diamètre et de 25 à 35 nm d'épaisseur. La résolution de l'image n'est pas très bonne, et il est possible d'hésiter avant de se prononcer si c'est un réseau de nanotriangles d'or ou de nanotrous dans un film. En fait, à la taille du trou correspond

approximativement à la région de transition entre les triangles et trous, qui est pour un diamètre/périodicité entre 0,6 et 0,75. Dans ce cas, cela est dû encore à l'effet d'ombrage durant la déposition du métal (figure 2.3), qui augmente la région du trou (noir) observable sur l'image AFM. Lorsque les images AFM ont été comparées à celle SEM, il a été observé que le diamètre des trous était légèrement augmenté avec l'AFM.

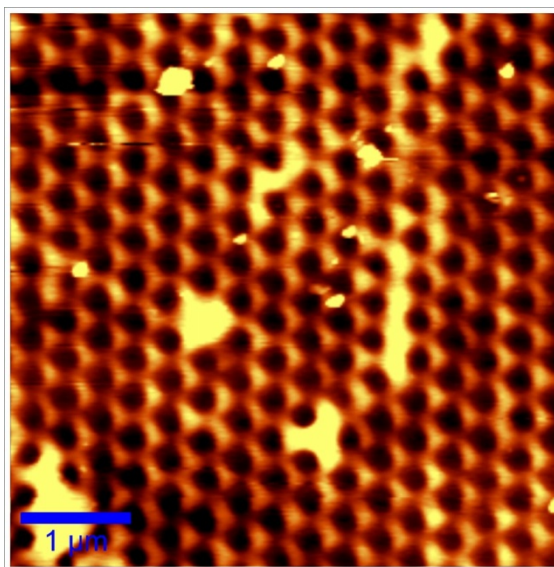


Figure 4.3 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de périodicité de 360 nm dans un film d'or. Le diamètre des trous est d'environ 250 nm.

Plusieurs spectres LSPR ont été pris pour des périodicités de 360 nm. Malgré cela, peu de fois des bandes sensibles ont été observées, et leur sensibilité n'était pas constante. Il est possible que cela soit dû à la transition entre des nanotriangles de métal à celle de nanotrous dans un film de métal. En effet, la méthode de fabrication utilisée permet de réduire la taille des sphères, mais il est difficile de parfaitement contrôler le résultat final. En d'autres mots, des réseaux de sphères qui subissent des traitements similaires peuvent être légèrement différents. Cette différence a une plus grande influence sur le spectre en transmission de structures de périodicité de 360 nm, où la transition triangles-trous se trouve dans les tailles de structures étudiées, entre 250 et

275 nm. Les spectres LSPR présentés à la figure 4.4 sont des spectres de nanotrous dans un film de métal.

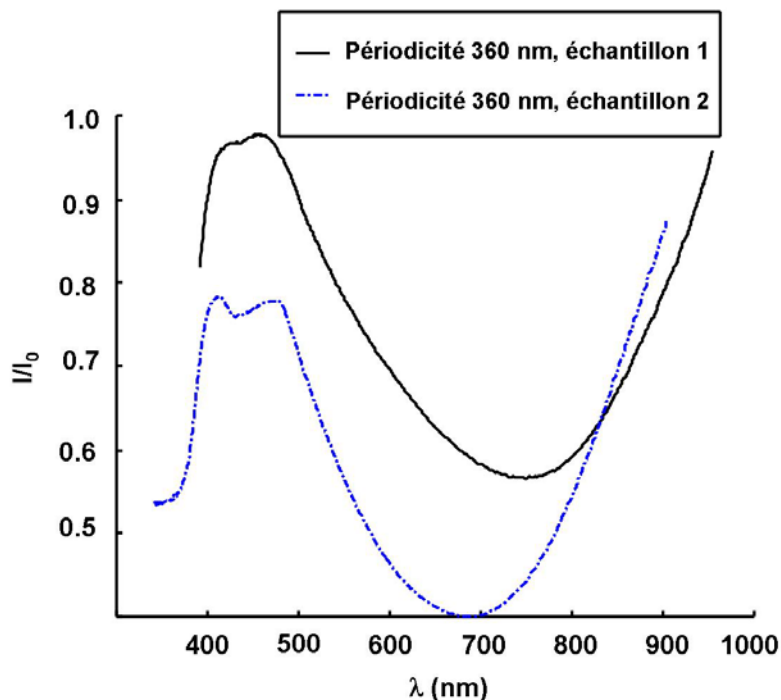


Figure 4.4 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de périodicité de 360 nm dans un film d'or.

Des bandes LSPR sont présentes au sommet du large maximum entre 400 et 500 nm. Les sensibilités mesurées de ces bandes sont difficiles à mesurer en raison de la trop faible intensité pour certains spectres. La sensibilité du maximum à 410 nm est seulement de  $16 \pm 3$  nm / RIU. La sensibilité du minimum ainsi que sa position n'ont pas pu être identifiées en raison de la trop grande variation entre les échantillons. La sensibilité du maximum à 436 nm est de  $471 \pm 74$  nm / RIU. Cette sensibilité est intéressante, mais l'intensité de cette bande limite son utilisation. Selon la théorie de la transmission accrue à travers des trous, elle doit se produire à une lumière de longueur d'onde d'environ le double du diamètre du trou. Dans ce cas, le diamètre des trous est

d'environ 250 nm, et la transmission accrue devrait donc être observable vers 500 nm. Il est donc très probable que ce maximum sensible soit celui prévu par la théorie de la transmission accrue.

### 4.3 Périodicité de 650 nm

Les mesures des nanotrous de périodicité de 650 nm dans un film d'argent sont présentées ici, puisqu'elles ont été majoritairement faites après les analyses de la nature du métal sur les périodicités de 450 nm qui ont indiqué que la sensibilité est meilleure pour des films d'argent. L'image AFM présentée à la figure 4.5 permet d'observer un réseau de nanotrous de périodicité de 650 nm avec un diamètre  $262 \pm 17$  nm.

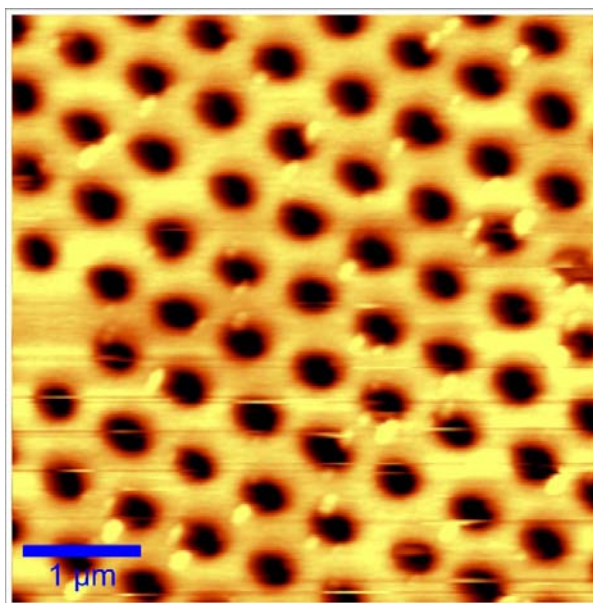


Figure 4.5 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de périodicité de 650 nm dans un film d'argent. Le diamètre des trous est de  $262 \pm 17$  nm.

Les spectres LSPR pour différents diamètres sont présentés à la figure 4.6. Plusieurs bandes sont observées. La sensibilité et la position de ces bandes sont



présentées dans le graphique de la figure 4.7, où la position des bandes est l'abscisse, et la sensibilité est l'ordonnée. Les minimums sont représentés par des carrés noirs, et les maximums par des ronds bleus.

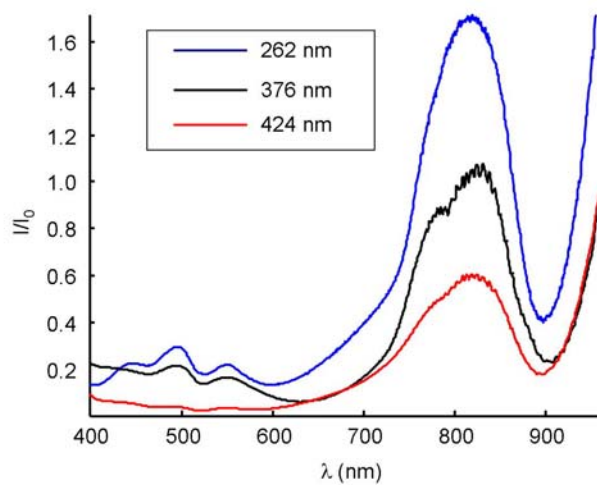


Figure 4.6 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de différents diamètres de périodicité de 650 nm dans un film d'argent.

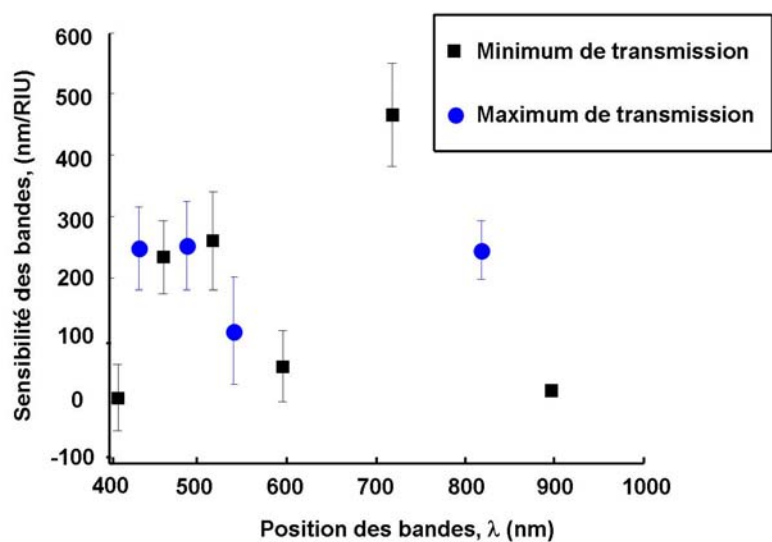


Figure 4.7 : Graphique de la position et de la sensibilité des bandes de transmission LSPR de nanotrous de périodicité de 650 nm dans un film d'argent.

Les figures 4.6 et 4.7 sont complémentaires et permettent d'observer facilement l'allure des spectres et de comparer leur sensibilité. Les barres d'erreurs de la figure 4.7 correspondent à l'écart-type sur la moyenne, où un minimum de 10 sensibilités ont été utilisées. Les quatre bandes entre 430 et 515 nm ont une sensibilité autour de 250 nm / RIU. La bande la plus sensible à 466 nm/RIU est celle du minimum peu intense, qui peut même être seulement qualifiée d'inclinaison, à droite dans le large maximum de transmission vers 800 nm. Cette bande n'est pas utilisable pour la détection en raison de sa résolution. De plus, il n'y a pas de variation de sensibilité observée avec le diamètre, parmi les échantillons étudiés ici.

#### **4.4 Comparaison des périodicités**

Ces informations permettent d'évaluer l'utilisation de réseaux de nanotrous dans un film de métal de différentes périodicités. La méthode de fabrication utilisée, le NSL suivi du RIE puis de la déposition du métal permet la fabrication d'une grande gamme de nanotrous, mais seulement de diamètres supérieurs à 200 nm. Les résultats pour la périodicité de 360 nm permettent d'établir que cette taille de sphères est la limite inférieure de cette méthode de fabrication pour obtenir des nanotrous. En d'autres mots, des sphères de polystyrène de diamètres inférieures résultent en des nanotriangles de métal.

La figure 4.8 présente des spectres de réseaux de nanotrous de différentes périodicités. Il est aussi possible de comparer les spectres de nanotrous dans un film d'argent (bleu) avec celui dans un film d'or (noir). Alors qu'aucune bande plasmonique n'est présente

pour un réseau de nanotriangles de périodicité de 220 nm, le spectre LSPR de nanotrous de périodicité de 360 nm est caractérisé par une large bande spectrale peu sensible. Les spectres de 650 nm de périodicité ont beaucoup plus de bandes que ceux à 450 nm. Il peut donc être conclu qu'un plus grand nombre de bandes LSPR sont excitées dans la région spectrale proche UV-VIS-proche IR pour une plus grande périodicité de nanotrous dans une surface métallique.

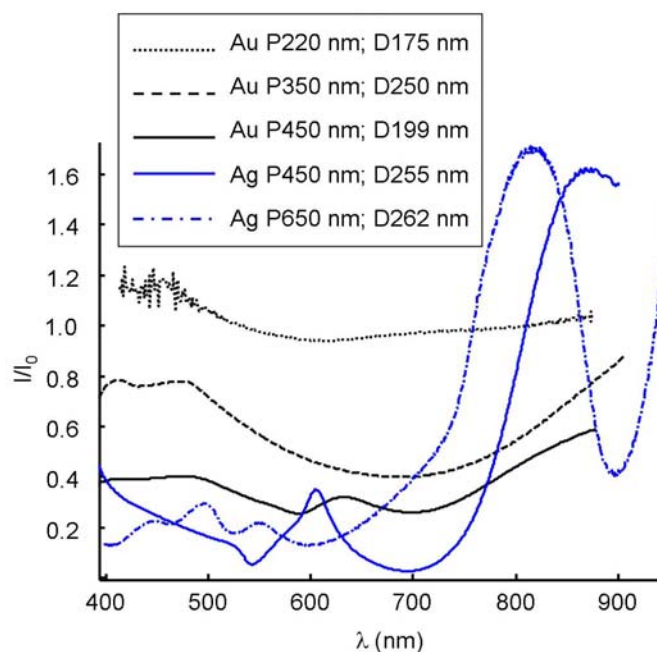


Figure 4.8 : Spectres LSPR de réseaux de nanotrous de périodicité de 220, 360, 450 et 650 nm dans un film d'or ou d'argent. « P » signifie périodicité et « D » diamètre.

Le tableau 4.1 présente la position et la sensibilité de réseaux de nanotrous de périodicités différentes. Les valeurs rapportées sont celles de trous de diamètres entre 175 et 270 nm, pour permettre la comparaison des valeurs. Comme il a déjà été mentionné, plus des bandes sont présentes pour une plus grande périodicité. Par contre, les sensibilités des bandes sont similaires, autour de 250 nm / RIU. Quelques bandes se démarquent, comme celle à 436 nm pour la périodicité de 360 nm, avec une sensibilité

de 471 nm / RIU, où celle à 723 nm pour la périodicité de 650 nm, avec une sensibilité de 530 nm / RIU. Ces bandes sont très peu intenses, et malgré leur plus grande sensibilité, elles ne sont pas utiles pour la biodétection. Les équations 1.12 et 1.13 prévoient la position des bandes plasmoniques selon l'indice de réfraction, respectivement pour des trous en arrangement carré et hexagonal. Les équations 4.1 et 4.2, respectivement pour les mêmes types d'arrangements sont une variante de ces équations, qui prévoit la sensibilité des bandes plasmonique.<sup>5,6,70</sup> Selon cette équation, la sensibilité doit augmenter lorsque la périodicité augmente, ce qui n'est pas observé par les résultats présentés ici. Il est possible que la variation de périodicité ne soit pas suffisamment grande pour observer la variation. L'impact de la variation du diamètre n'est pas évalué par cette équation.

$$\text{Équation 4.1} \quad S_{\text{carré}} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta\eta} = \frac{\lambda\epsilon_m}{n(n^2 + \epsilon_m)} = \sqrt{\left(\frac{\epsilon_m}{n^2 + \epsilon_m}\right)^3} \frac{P}{\sqrt{i^2 + j^2}}$$

$$\text{Équation 4.2} \quad S_{\text{hexagonal}} = \frac{\Delta\lambda}{\Delta\eta} = \frac{\lambda\epsilon_m}{n(n^2 + \epsilon_m)} = \sqrt{\left(\frac{\epsilon_m}{n^2 + \epsilon_m}\right)^3} \frac{P}{\sqrt{\frac{4}{3}(i^2 + j^2)}}$$

Tableau 4.1 : Comparaison des paramètres analytiques de réseaux de différentes périodicités et métaux

Périodicité (nm)	Métal	Diamètre (nm)	Profondeur (nm)	Minimums de transmission		Maximums de transmission	
				Position (nm)	Sensibilité (nm/RIU)	Position (nm)	Sensibilité (nm/RIU)
220	or	175	10 à 15	633	-	-	-
360	or	250 ± 20	25 à 35	450 ± 33	-	410	16 ± 3
				726 ± 64	142 ± 58	436 ± 2	471 ± 74
450	or	195 ± 7	55 ± 8	585 ± 17	189 ± 75	505 ± 1	-
				750 ± 26	106 ± 40	625 ± 8	125 ± 35
450	argent	253 ± 6	50 ± 4	550 ± 6	228 ± 47	608 ± 3	29 ± 11
				715 ± 31	-139 ± 72	-	-
650	argent	263 ± 19	223 ± 50	458 ± 12	260 ± 34	441 ± 9	206 ± 24
				514 ± 15	243 ± 112	489 ± 7	245 ± 37
				592 ± 19	44 ± 54	541 ± 12	110 ± 111
				723 ± 16	530 ± 61	820 ± 5	259 ± 68
				895 ± 4	16 ± 6	-	-

## Chapitre 5. Conclusions et perspectives

Les nanotrous permettent l'excitation de la résonance de plasmon de surface localisé, permettant les mesures d'interactions près de la surface du métal en spectroscopie de transmission, sans avoir les désavantages des limitations quant à l'absorbance des autres molécules de la solution. Ces structures pourront être utilisées dans le futur pour la détection de biomolécules. L'agent de reconnaissance spécifique à l'analyte est lié au métal, puis la solution contenant l'analyte à quantifier circule à la surface, permettant les liaisons spécifiques. L'analyte alors immobilisé à la surface a déplacé du solvant, modifiant ainsi l'indice de réfraction près du métal, ce qui influence le plasmon de surface. Il est donc possible d'observer le déplacement de la bande plasmonique qui est relié à la concentration de l'analyte. Un biocapteur peut être bâti à partir de ce concept.

Le travail rapporté dans ce mémoire permet de mieux connaître les propriétés analytiques des nanotrous de différentes caractéristiques, comme leur diamètre, leur périodicité, et la nature du métal. L'article publié dans *Journal of Physical Chemistry C Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays*, reproduit dans le chapitre 3, a permis de déterminer que les nanotrous de périodicité de 450 nm de plus petit diamètre, vers 200 nm, ont une meilleure sensibilité à un changement d'indice de réfraction. De plus, pour des nanotrous de mêmes tailles, ceux dans un film d'argent sont plus sensibles que ceux dans un film d'or. Par contre, les nanotrous dans un film de différentes proportions d'or et d'argent n'ont pas montré de variation de sensibilités. De plus, les nanotrous remplis de métal ont des bandes plasmoniques supplémentaires que ceux vides. Par contre, ces bandes ne sont pas aussi sensibles que celle observée aussi pour ceux vides. Pour comparer les sensibilités avec les surfaces d'or et d'argent, les sensibilités de la bande plasmonique excitée en réflexion totale interne ont aussi été mesurées. Les résultats de ces travaux, placés en annexe, montrent que les surfaces de

métal pur sont plus sensibles que celles bimétalliques, et celles d'argent sont plus sensibles que celles d'or, comme pour les spectres en transmission. S'il est nécessaire d'utiliser l'or à la surface exposée, la meilleure sensibilité a été obtenue avec une surface de 40 nm d'argent et de 10 nm d'or.

Les spectres LSPR de différentes périodicités de nanotrous ont aussi été mesurés. Les nanotrous de périodicités de 220 nm et de 360 nm n'ont pas montré de bandes sensibles à l'indice de réfraction dans la région spectrale observée. Ceux de périodicité de 650 nm ont montré plusieurs bandes LSPR sensibles à l'indice de réfraction. Les sensibilités des bandes qui pourraient être utilisées analytiquement sont similaires à celle obtenue pour des nanotrous de périodicité de 450 nm, soit autour de 250 nm. Une bande d'une sensibilité de 466 nm / RIU, mais très peu intense a aussi été observée. Un point important mis en évidence par ces travaux est la facilité de fabrication de différentes nanostructures dans un film de métal à partir de la lithographie de nanosphères suivie par la gravure par ions réactifs d'oxygène. Plusieurs réseaux de caractéristiques différentes sont obtenus à moindres coûts, tout en maintenant une qualité qui n'influence pas les spectres LSPR.

## 5.1 Mise en contexte du projet

Les informations obtenues à partir des travaux de ce mémoire permettent de mieux comprendre l'influence sur le spectre LSPR de la taille et de l'espace entre les nanostructures dans un film de métal. Des nanotrous avaient déjà été étudiés, et certains groupes les utilisent déjà dans un appareil avec une cellule fluïdique pour détecter des biomolécules.<sup>41,42,76,92 42,76,132</sup> Ces groupes de recherches montrent qu'il est possible de faire de la détection de protéines avec une sensibilité entre 300 et 500 nm / RIU. Par contre, les détections sont toujours limitées par la sensibilité à l'indice de réfraction. Une sensibilité supérieure à 500 nm / RIU en LSPR serait acceptable pour faire des

analyses quantitatives ayant une plus faible marge d'erreur lors de l'analyse, puisque la différence de longueur d'onde des bandes plasmoniques sont de l'ordre de  $10^{-1}$  à 10 nm. La sensibilité est donc à maximiser dans la région spectrale de l'UV-Vis. Les travaux faits ici n'ont pas démontré des nanostructures plus sensibles que celles qui ont déjà été utilisées, mais est vraiment une étude pour évaluer les performances analytiques avec des structures similaires en variant un seul paramètre. Les autres groupes ne pouvaient pas faire une étude de si grande envergure puisque leurs méthodes de fabrication, basées sur les irradiations de lumière, d'électrons ou d'ions, sont très lentes et très dispendieuses. La méthodologie proposée ici est très simple, permettant une étude de plusieurs réseaux de nanotrous. Bien que des défauts sont observables, ceux-ci peuvent être limités avec une optimisation des conditions expérimentales.

## 5.2 Perspectives du projet

### 5.2.1 Biocapteur LSPR

Les bandes plasmoniques sensibles à l'indice de réfraction peuvent être utilisées pour la construction d'un biocapteur, comme il a été mentionné précédemment. La continuité de ce projet est d'utiliser les réseaux les plus sensibles pour la détection de biomolécules. Des travaux ont été rapportés concernant la fabrication d'un biocapteur en transmission. Ils ont quantifié la liaison de la streptavidine avec la biotine.<sup>37,92</sup> <sup>41,132</sup>L'approche qui pourrait être utilisée avec la méthode de fabrication de nanostructures développée dans le cadre de ce projet ne permet pas de faire passer la solution à travers les trous, mais la détection directe sur les réseaux de nanotrous. Aussi, le principe d'une languette déjà fonctionnalisée par un agent de reconnaissance sur un film de métal nanotroué est très intéressant. Il serait aussi possible d'utiliser une languette avec plusieurs puits, où des agents de reconnaissance différents seraient immobilisés. Un échantillon biologique, comme quelques gouttes de sang ou d'urine, pourrait être utilisé en une seule étape pour quantifier plusieurs analytes. L'idée est



qu'une languette ayant un réseau de nanotrous dans un film de métal peut être divisé en plusieurs puits, où différentes molécules spécifiques ont été attachées dans chacun des puits. La lecture optique de chacun des puits avant et après l'interaction avec l'échantillon biologique permettrait de déterminer la présence et la quantité de plusieurs analytes à la fois, facilitant un diagnostic plus complet, rapide et précis. Il est aussi possible qu'un spectrophotomètre à multiples canaux soit utilisé pour suivre en temps direct les liaisons dans les différents puits.

### **5.2.2 SERS sur un réseau de nanotrous dans un film de métal**

La spectroscopie Raman exaltée par les surfaces permet d'augmenter le nombre de photons Raman émis par une molécule. Le signal Raman est propre à chaque molécule, permettant de déterminer leur présence parmi d'autres. Puisque le SERS est dû au plasmon de surface, il est aussi possible d'augmenter l'intensité de photons Raman par un film de métal qui peut supporter un plasmon de surface, comme des particules de métal sur une surface, ou encore, des nanotrous dans un film d'or. Les travaux de Bahns *et al.* ont démontré que l'exaltation de l'intensité Raman était similaire ou supérieure pour des nanotrous dans un film que pour des particules de métal sur une surface.<sup>36</sup> Cela concorde avec les résultats de Parsons *et al.*, qui ont calculé par simulation que le champ électrique est augmenté sur une plus grande région dans le cas de nanotrous.<sup>94</sup> Il y a donc un potentiel de détection avec les réseaux de nanotrous dans un film métallique. Cela peut être exploité pour développer d'autres types de capteurs. Une étude similaire à celle de ce mémoire est en cours, qui observe la variation de l'augmentation de l'intensité Raman selon la taille des trous. Il est nécessaire d'utiliser un réseau de nanotrous de diamètre et de périodicité qui produit des bandes plasmoniques intenses pour le SERS. Les résultats présentés dans ce mémoire seront donc également utiles à cette étude.

## Bibliographie

- (1) Ebbesen, T. W.; Lezec, H. J.; Ghaemi, H. F.; Thio, T.; Wolff, P. A. Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays, *Nature* **1998**, *391*, 667.
- (2) Genet, C.; Ebbesen, T. W. Light in tiny holes, *Nature* **2007**, *445*, 39.
- (3) Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P. Nanosphere lithography: A versatile nanofabrication tool for studies of size-dependent nanoparticle optics, *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, *105*, 5599.
- (4) Jensen, T. R.; Malinsky, M. D.; Haynes, C. L.; Van Duyne, R. P. Nanosphere lithography: Tunable localized surface plasmon resonance spectra of silver nanoparticles, *Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 10549.
- (5) Lee, K. L.; Wang, W. S.; Wei, P. K. Comparisons of Surface Plasmon Sensitivities in Periodic Gold Nanostructures, *Plasmonics* **2008**, *3*, 119.
- (6) Masson, J. F.; Murray-Methot, M. P.; Live, L. S. Nanohole arrays in chemical analysis: manufacturing methods and applications, *Analyst* **2010**, *135*, 1483.
- (7) *Molecular biomethods handbook*; 2e éd.; édité par Walker, J. M., Rapley, Ralph.; Humana Press: Totowa, NJ, 2008, 1124 p.
- (8) Byrne, B.; Stack, E.; Gilmartin, N.; O'Kennedy, R. Antibody-Based Sensors: Principles, Problems and Potential for Detection of Pathogens and Associated Toxins, *Sensors* **2009**, *9*, 4407.
- (9) Dover, J. E.; Hwang, G. M.; Mullen, E. H.; Prorok, B. C.; Suh, S.-J. Recent advances in peptide probe-based biosensors for detection of infectious agents, *Journal of Microbiological Methods* **2009**, *78*, 10.
- (10) Mayer, K. M.; Lee, S.; Liao, H.; Rostro, B. C.; Fuentes, A.; Scully, P. T.; Nehl, C. L.; Hafner, J. H. A label-free immunoassay based upon localized surface plasmon resonance of gold nanorods, *Acs Nano* **2008**, *2*, 687.
- (11) Masson, J.-F.; Battaglia, T. M.; Davidson, M. J.; Kim, Y.-C.; Prakash, A. M. C.; Beaudoin, S.; Booksh, K. S. Biocompatible polymers for antibody support on gold surfaces, *Talanta* **2005**, *67*, 918.

- (12) Silin, V.; Weetall, H.; Vanderah, D. J. SPR Studies of the Nonspecific Adsorption Kinetics of Human IgG and BSA on Gold Surfaces Modified by Self-Assembled Monolayers (SAMs), *Journal of Colloid and Interface Science* **1997**, *185*, 94.
- (13) Taylor, S. L.; Nordlee, J. A.; Niemann, L. M.; Lambrecht, D. M. Allergen immunoassays-considerations for use of naturally incurred standards, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2009**, *395*, 83.
- (14) Hohlbein, J.; Gryte, K.; Heilemann, M.; Kapanidis, A. N. Surfing on a new wave of single-molecule fluorescence methods, *Physical Biology* **2010**, *7*.
- (15) Mannelli, I.; Marco, M. P. Recent advances in analytical and bioanalysis applications of noble metal nanorods, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, *398*, 2451.
- (16) Mirkin, C. A.; Letsinger, R. L.; Mucic, R. C.; Storhoff, J. J. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials, *Nature* **1996**, *382*, 607.
- (17) Zhou, J.; Battig, M. R.; Wang, Y. Aptamer-based molecular recognition for biosensor development, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2010**, *398*, 2471.
- (18) Bonanni, A.; del Valle, M. Use of nanomaterials for impedimetric DNA sensors: A review, *Analytica Chimica Acta* **2010**, *678*, 7.
- (19) Habauzit, D.; Chopineau, J.; Roig, B. SPR-based biosensors: a tool for biodetection of hormonal compounds, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *387*, 1215.
- (20) Carton, I.; Brisson, A. R.; Richter, R. P. Label-free detection of clustering of membrane-bound proteins, *Anal Chem* **2010**, *82*, 9275.
- (21) Canada, A. d. l. s. p. d. *Le diabète au Canada : Rapport du Système national de surveillance du diabète, 2009*, <http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/2009/ndssdic-snsddac-09/2-fra.php>, page internet, mise à jour le 4 février 2009, dernier accès le 22 novembre 2010.

- (22) Canada, A. d. l. s. p. d. *Qu'est-ce que le diabète*, <http://www.phac-aspc.gc.ca/cd-mc/diabetes-diabete/index-fra.php>, page internet, mise à jour le 6 août 2009, dernier accès le 22 novembre 2010.
- (23) Campbell, N. A., Reece, Jane B. *Biologie*, 2e ed.; ERPI: St-Laurent, Québec, 2004.
- (24) Diagnostics, R. *ACCU-CHEK*, <http://www.accu-chek.ca/ca/>, page internet, mise à jour le 19 novembre 2010, dernier accès le 22 novembre 2010.
- (25) Montagnana, M.; Caputo, M.; Giavarina, D.; Lippi, G. Overview on self-monitoring of blood glucose, *Clinica Chimica Acta* **2009**, *402*, 7.
- (26) Pandey, P. C.; Upadhyay, S.; Shukla, N. K.; Sharma, S. Studies on the electrochemical performance of glucose biosensor based on ferrocene encapsulated ORMOSIL and glucose oxidase modified graphite paste electrode, *Biosensors and Bioelectronics* **2003**, *18*, 1257.
- (27) Cho, I.-H.; Paek, E.-H.; Kim, Y.-K.; Kim, J.-H.; Paek, S.-H. Chemiluminometric enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)-on-a-chip biosensor based on cross-flow chromatography, *Analytica Chimica Acta* **2009**, *632*, 247.
- (28) Lu, B.; Smyth, M. R.; O'Kennedy, R. Tutorial review. Oriented immobilization of antibodies and its applications in immunoassays and immunosensors, *Analyst* **1996**, *121*, 29R.
- (29) Kabir, S. Review article: clinic-based testing for *Helicobacter pylori* infection by enzyme immunoassay of faeces, urine and saliva, *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* **2003**, *17*, 1345.
- (30) Fukami, K.; Yamagishi, S. I.; Okuda, S. Development of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay System for PEDF and its Clinical Utility, *Current Molecular Medicine* **2010**, *10*, 317.
- (31) Lakowicz, J. R. *Principles of fluorescence spectroscopy*, 3rd ed.; Springer: New York, 2006.
- (32) Algar, W. R.; Tavares, A. J.; Krull, U. J. Beyond labels: A review of the application of quantum dots as integrated components of assays, bioprobes, and biosensors utilizing optical transduction, *Analytica Chimica Acta* **2010**, *673*, 1.

- (33) Wang, Y.; Deng, Y. L.; Qing, H.; Xie, H. Y. Advance in real-time and dynamic biotracking and bioimaging based on quantum dots, *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese* **2008**, *29*, 661.
- (34) Algar, W. R.; Krull, U. J. Towards multi-colour strategies for the detection of oligonucleotide hybridization using quantum dots as energy donors in fluorescence resonance energy transfer (FRET), *Analytica Chimica Acta* **2007**, *581*, 193.
- (35) Kneipp, K.; Kneipp, H.; Itzkan, I.; Dasari, R. R.; Feld, M. S. Surface-enhanced Raman scattering and biophysics, *Journal of Physics-Condensed Matter* **2002**, *14*, R597.
- (36) Bahns, J. T.; Yan, F. N.; Qiu, D. L.; Wang, R.; Chen, L. H. Hole-enhanced Raman scattering, *Applied Spectroscopy* **2006**, *60*, 989.
- (37) Schlucker, S. SERS Microscopy: Nanoparticle Probes and Biomedical Applications, *Chemphyschem* **2009**, *10*, 1344.
- (38) Kennedy, D. C.; Duguay, D. R.; Tay, L. L.; Richeson, D. S.; Pezacki, J. P. SERS detection and boron delivery to cancer cells using carborane labelled nanoparticles, *Chemical Communications* **2009**, 6750.
- (39) Lin, J.; Chen, R.; Feng, S.; Li, Y.; Huang, Z.; Xie, S.; Yu, Y.; Cheng, M.; Zeng, H. Rapid delivery of silver nanoparticles into living cells by electroporation for surface-enhanced Raman spectroscopy, *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, *25*, 388.
- (40) Zavaleta, C. L.; Smith, B. R.; Walton, I.; Doering, W.; Davis, G.; Shojaei, B.; Natan, M. J.; Gambhir, S. S. Multiplexed imaging of surface enhanced Raman scattering nanotags in living mice using noninvasive Raman spectroscopy, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2009**, *106*, 13511.
- (41) Brolo, A. G.; Gordon, R.; Leathem, B.; Kavanagh, K. L. Surface plasmon sensor based on the enhanced light transmission through arrays of nanoholes in gold films, *Langmuir* **2004**, *20*, 4813.
- (42) Sinton, D.; Gordon, R.; Brolo, A. G. Nanohole arrays in metal films as optofluidic elements: progress and potential, *Microfluidics and Nanofluidics* **2008**, *4*, 107.

- (43) *Handbook of optical constants of solids*; édité par Palik, E. D.; Academic Press: Orlando, 1985, 804 p.
- (44) *Handbook of surface plasmon resonance* édité par Schasfoort, R. B. M., Tudos, A. J.; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, 2008, 403 p.
- (45) Bolduc, O. R.; Clouthier, C. M.; Pelletier, J. N.; Masson, J. F. Peptide Self-Assembled Monolayers for Label-Free and Unamplified Surface Plasmon Resonance Biosensing in Crude Cell Lysate, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 6779.
- (46) Bolduc, O. R.; Live, L. S.; Masson, J.-F. High-resolution surface plasmon resonance sensors based on a dove prism, *Talanta* **2009**, *77*, 1680.
- (47) Bolduc, O. R.; Masson, J. F. Monolayers of 3-Mercaptopropyl-amino Acid to Reduce the Nonspecific Adsorption of Serum Proteins on the Surface of Biosensors, *Langmuir* **2008**, *24*, 12085.
- (48) Bolduc, O. R.; Pelletier, J. N.; Masson, J. F. SPR Biosensing in Crude Serum Using Ultralow Fouling Binary Patterned Peptide SAM, *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 3699.
- (49) Live, L. S.; Bolduc, O. R.; Masson, J. F. Propagating Surface Plasmon Resonance on Microhole Arrays, *Analytical Chemistry* **2010**, *82*, 3780.
- (50) Live, L. S.; Murray-Methot, M. P.; Masson, J. F. Localized and Propagating Surface Plasmons in Gold Particles of Near-Micron Size, *Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*, 40.
- (51) Homola, J.; Yee, S. S.; Gauglitz, G. Surface plasmon resonance sensors: review, *Sensors and Actuators B-Chemical* **1999**, *54*, 3.
- (52) Company, G. E. *Biacore*, <http://www.biacore.com/lifesciences/index.html>, page internet, mise à, dernier accès le 8 novembre 2010.
- (53) Jin, R.; Charles Cao, Y.; Hao, E.; Metraux, G. S.; Schatz, G. C.; Mirkin, C. A. Controlling anisotropic nanoparticle growth through plasmon excitation, *Nature* **2003**, *425*, 487.
- (54) McFarland, A. D.; Van Duyne, R. P. Single silver nanoparticles as real-time optical sensors with zeptomole sensitivity, *Nano Letters* **2003**, *3*, 1057.

- (55) Cobley, C.; Skrabalak, S.; Campbell, D.; Xia, Y. Shape-Controlled Synthesis of Silver Nanoparticles for Plasmonic and Sensing Applications, *Plasmonics* **2009**, *4*, 171.
- (56) Zhang, Q.; Tan, Y.; Xie, J.; Lee, J. Colloidal Synthesis of Plasmonic Metallic Nanoparticles, *Plasmonics* **2009**, *4*, 9.
- (57) Singh Sekhon, J.; S Verma, S. Refractive Index Sensitivity Analysis of Ag, Au, and Cu Nanoparticles, *Plasmonics* **2011**, *6*, 311.
- (58) Miller, M. M.; Lazarides, A. A. Sensitivity of Metal Nanoparticle Surface Plasmon Resonance to the Dielectric Environment, *The Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*, 21556.
- (59) Huang, H.; Huang, S.; Liu, X.; Zeng, Y.; Yu, X.; Liao, B.; Chen, Y. Label-free optical biosensors based on Au<sub>2</sub>S-coated gold nanorods, *Biosensors and Bioelectronics* **2009**, *24*, 3025.
- (60) Nusz, G. J.; Curry, A. C.; Marinakos, S. M.; Wax, A.; Chilkoti, A. Rational Selection of Gold Nanorod Geometry for Label-Free Plasmonic Biosensors, *Acs Nano* **2009**, *3*, 795.
- (61) Yang, Y.; Matsubara, S.; Nogami, M.; Shi, J. L.; Huang, W. M. One-dimensional self-assembly of gold nanoparticles for tunable surface plasmon resonance properties, *Nanotechnology* **2006**, *17*, 2821.
- (62) Chen, H.; Kou, X.; Yang, Z.; Ni, W.; Wang, J. Shape- and Size-Dependent Refractive Index Sensitivity of Gold Nanoparticles, *Langmuir* **2008**, *24*, 5233.
- (63) Bukasov, R.; Shumaker-Parry, J. S. Highly tunable infrared extinction properties of gold nanocrescents, *Nano Letters* **2007**, *7*, 1113.
- (64) Bukasov, R.; Shumaker-Parry, J. S. Silver Nanocrescents with Infrared Plasmonic Properties As Tunable Substrates for Surface Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 4531.
- (65) Genet, C.; Ebbesen, T. W. Light in tiny holes, *Nature* **2007**, *445*, 39.
- (66) Thio, T.; Ghaemi, H. F.; Lezec, H. J.; Wolff, P. A.; Ebbesen, T. W. Surface-plasmon-enhanced transmission through hole arrays in Cr films, *J. Opt. Soc. Am. B* **1999**, *16*, 1743.

- (67) Murray-Methot, M. P.; Menegazzo, N.; Masson, J. F. Analytical and physical optimization of nanohole-array sensors prepared by modified nanosphere lithography, *Analyst* **2008**, *133*, 1714.
- (68) Coe, J. V.; Heer, J. M.; Teeters-Kennedy, S.; Tian, H.; Rodriguez, K. R. Extraordinary transmission of metal films with arrays of subwavelength holes, *Annual Review of Physical Chemistry* **2008**, *59*, 179.
- (69) Fredriksson, H.; Alaverdyan, Y.; Dmitriev, A.; Langhammer, C.; Sutherland, D. S.; Zaech, M.; Kasemo, B. Hole-mask colloidal lithography, *Advanced Materials* **2007**, *19*, 4297.
- (70) Pang, L.; Hwang, G. M.; Slutsky, B.; Fainman, Y. Spectral sensitivity of two-dimensional nanohole array surface plasmon polariton resonance sensor, *Applied Physics Letters* **2007**, *91*.
- (71) Canpean, V.; Astilean, S. Interaction of light with metallic nanohole arrays, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* **2009**, *267*, 397.
- (72) Canpean, V.; Astilean, S. Extending nanosphere lithography for the fabrication of periodic arrays of subwavelength metallic nanoholes, *Materials Letters* **2009**, *63*, 2520.
- (73) Rindzevicius, T.; Alaverdyan, Y.; Dahlin, A.; Hook, F.; Sutherland, D. S.; Kall, M. Plasmonic Sensing Characteristics of Single Nanometric Holes, *Nano Letters* **2005**, *5*, 2335.
- (74) Rindzevicius, T.; Alaverdyan, Y.; Kall, M.; Murray, W. A.; Barnes, W. L. Long-range refractive index sensing using plasmonic nanostructures, *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 11806.
- (75) Bolduc, O. R.; Masson, J.-F. o. Monolayers of 3-Mercaptopropyl-amino Acid to Reduce the Nonspecific Adsorption of Serum Proteins on the Surface of Biosensors, *Langmuir* **2008**, *24*, 12085.
- (76) De Leebeek, A.; Kumar, L. K. S.; de Lange, V.; Sinton, D.; Gordon, R.; Brolo, A. G. On-chip surface-based detection with nanohole arrays, *Analytical Chemistry* **2007**, *79*, 4094.



- (77) Sepúlveda, B.; Angelomé, P. C.; Lechuga, L. M.; Liz-Marzán, L. M. LSPR-based nanobiosensors, *Nano Today* **2009**, *4*, 244.
- (78) Im, H.; Lesuffleur, A.; Lindquist, N. C.; Oh, S. H. Plasmonic Nanoholes in a Multichannel Microarray Format for Parallel Kinetic Assays and Differential Sensing, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 2854.
- (79) Wallraff, G.; Hinsberg, W. Lithographic imaging techniques for the formation of nanoscopic features, *Chemical Reviews* **1999**, *99*, 1801.
- (80) Orloff, J., Utlaut, Mark. , Swanson, Lynwood. *Hign Resolution Focused Ion Beams, FIB and Its Applications*; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2003.
- (81) Orloff, J.; Swanson, L. W.; Utlaut, M. Fundamental limits to imaging resolution for focused ion beams, *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures* **1996**, *14*, 3759.
- (82) Lee, S. H.; Bantz, K. C.; Lindquist, N. C.; Oh, S. H.; Haynes, C. L. Self-Assembled Plasmonic Nanohole Arrays, *Langmuir* **2009**, *25*, 13685.
- (83) Murray, W. A.; Astilean, S.; Barnes, W. L. Transition from localized surface plasmon resonance to extended surface plasmon-polariton as metallic nanoparticles merge to form a periodic hole array, *Physical Review B* **2004**, *69*, 165407.
- (84) Murray-Methot, M. Analytical and physical optimization of nanohole-array sensors prepared by modified nanosphere lithography, *The Analyst* **2008**, *133*, 1714.
- (85) Tan, B. J. Y.; Sow, C. H.; Koh, T. S.; Chin, K. C.; Wee, A. T. S.; Ong, C. K. Fabrication of size-tunable gold nanoparticles array with nanosphere lithography, reactive ion etching, and thermal annealing, *Journal of Physical Chemistry B* **2005**, *109*, 11100.
- (86) Zheng, Y. B.; Wang, S. J.; Huan, A. C. H.; Wang, Y. H. Fabrication of tunable nanostructure arrays using ion-polishing-assisted nanosphere lithography, *Journal of Applied Physics* **2006**, *99*.
- (87) Li, W.; Zhao, W.; Sun, P. Fabrication of highly ordered metallic arrays and silicon pillars with controllable size using nanosphere lithography, *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures* **2009**, *41*, 1600.

- (88) Yan, L. L.; Wang, K.; Wu, J. S.; Ye, L. Hydrophobicity of model surfaces with loosely packed polystyrene spheres after plasma etching, *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 11241.
- (89) Aslan, K.; Pérez-Luna, V. H. Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant, *Langmuir* **2002**, *18*, 6059.
- (90) Kimling, J.; Maier, M.; Okenve, B.; Kotaidis, V.; Ballot, H.; Plech, A. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited, *Journal of Physical Chemistry B* **2006**, *110*, 15700.
- (91) McMahon, J. M.; Henzie, J.; Odom, T. W.; Schatz, G. C.; Gray, S. K. Tailoring the sensing capabilities of nanohole arrays in gold films with Rayleigh anomaly-surface plasmon polaritons, *Optics Express* **2007**, *15*, 18119.
- (92) Ferreira, J.; Santos, M. J. L.; Rahman, M. M.; Brolo, A. G.; Gordon, R.; Sinton, D.; Girotto, E. M. Attomolar Protein Detection Using in-Hole Surface Plasmon Resonance, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 436.
- (93) Chang, S. H.; Gray, S. K.; Schatz, G. C. Surface plasmon generation and light transmission by isolated nanoholes and arrays of nanoholes in thin metal films, *Optics Express* **2005**, *13*, 3150.
- (94) Parsons, J.; Hendry, E.; Burrows, C. P.; Auguie, B.; Sambles, J. R.; Barnes, W. L. Localized surface-plasmon resonances in periodic nondiffracting metallic nanoparticle and nanohole arrays, *Physical Review B (Condensed Matter and Materials Physics)* **2009**, *79*, 073412.
- (95) Pang, L.; Hwang, G. M.; Slutsky, B.; Fainman, Y. Spectral sensitivity of two-dimensional nanohole array surface plasmon polariton resonance sensor, *Applied Physics Letters* **2007**, *91*, 123112.
- (96) Gordon, R.; Sinton, D.; Kavanagh, K. L.; Brolo, A. G. A new generation of sensors based on extraordinary optical transmission, *Accounts of Chemical Research* **2008**, *41*, 1049.
- (97) Hwang, G. M.; Pang, L.; Mullen, E. H.; Fainman, Y. Plasmonic Sensing of Biological Analytes Through Nanoholes, *Ieee Sensors Journal* **2008**, *8*, 2074.

- (98) Malyarchuk, V.; Stewart, M. E.; Nuzzo, R. G.; Rogers, J. A. Spatially resolved biosensing with a molded plasmonic crystal, *Applied Physics Letters* **2007**, *90*, 203113.
- (99) Stewart, M. E.; Mack, N. H.; Malyarchuk, V.; Soares, J.; Lee, T. W.; Gray, S. K.; Nuzzo, R. G.; Rogers, J. A. Quantitative multispectral biosensing and 1D imaging using quasi-3D plasmonic crystals, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **2006**, *103*, 17143.
- (100) Stewart, M. E.; Yao, J. M.; Maria, J.; Gray, S. K.; Rogers, J. A.; Nuzzo, R. G. Multispectral Thin Film Biosensing and Quantitative Imaging Using 3D Plasmonic Crystals, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 5980.
- (101) Ji, J.; O'Connell, J. G.; Carter, D. J. D.; Larson, D. N. High-throughput nanohole array based system to monitor multiple binding events in real time, *Analytical Chemistry* **2008**, *80*, 2491.
- (102) Dahlin, A. B.; Tegenfeldt, J. O.; Hook, F. Improving the instrumental resolution of sensors based on localized surface plasmon resonance, *Analytical Chemistry* **2006**, *78*, 4416.
- (103) Jonsson, M. P.; Jonsson, P.; Dahlin, A. B.; Hook, F. Supported lipid bilayer formation and lipid-membrane-mediated biorecognition reactions studied with a new nanoplasmonic sensor template, *Nano Letters* **2007**, *7*, 3462.
- (104) Dahlin, A. B.; Jonsson, P.; Jonsson, M. P.; Schmid, E.; Zhou, Y.; Hook, F. Synchronized Quartz Crystal Microbalance and Nanoplasmonic Sensing of Biomolecular Recognition Reactions, *Acs Nano* **2008**, *2*, 2174.
- (105) Eftekhari, F.; Escobedo, C.; Ferreira, J.; Duan, X. B.; Girotto, E. M.; Brolo, A. G.; Gordon, R.; Sinton, D. Nanoholes As Nanochannels: Flow-through Plasmonic Sensing, *Analytical Chemistry* **2009**, *81*, 4308.
- (106) Lesuffleur, A.; Im, H.; Lindquist, N. C.; Oh, S. H. Periodic nanohole arrays with shape-enhanced plasmon resonance as real-time biosensors, *Applied Physics Letters* **2007**, *90*.
- (107) Murray-Methot, M. P.; Menegazzo, N.; Masson, J. F. Analytical and physical optimization of nanohole-array sensors prepared by modified nanosphere lithography *Analyst* **2008**, *133*, 1714.

- (108) Hajiaboli, A. R.; Cui, B.; Kahrizi, M.; Truong, V. V. Optical properties of thick metal nanohole arrays fabricated by electron-beam and nanosphere lithography, *Physica Status Solidi a-Applications and Materials Science* **2009**, *206*, 976.
- (109) Chen, J.; Shi, J.; Decanini, D.; Cambil, E.; Chen, Y.; Haghiri-Gosnet, A. M. Gold nanohole arrays for biochemical sensing fabricated by soft UV nanoimprint lithography, *Microelectronic Engineering* **2009**, *86*, 632.
- (110) Matsushita, T.; Nishikawa, T.; Yamashita, H.; Hasui, R.; Fujjita, S.; Okuno, Y. Localized surface plasmon resonance sensor based on fabricating nano-period structure for high throughput by polymer, *Japanese Journal of Applied Physics* **2008**, *47*, 7420.
- (111) Cong, C. X.; Junus, W. C.; Shen, Z. X.; Yu, T. New Colloidal Lithographic Nanopatterns Fabricated by Combining Pre-Heating and Reactive Ion Etching, *Nanoscale Research Letters* **2009**, *4*, 1324.
- (112) Li, H. Q.; Low, J.; Brown, K. S.; Wu, N. Q. Large-area well-ordered nanodot array pattern fabricated with self-assembled nanosphere template, *Ieee Sensors Journal* **2008**, *8*, 880.
- (113) Zhang, Y.; Wang, X.; Wang, Y.; Liu, H.; Yang, J. Ordered nanostructures array fabricated by nanosphere lithography, *Journal of Alloys and Compounds* **2008**, *452*, 473.
- (114) Zhang, Y. J.; Li, W.; Chen, K. J. Application of two-dimensional polystyrene arrays in the fabrication of ordered silicon pillars, *Journal of Alloys and Compounds* **2008**, *450*, 512.
- (115) Huang, W.; Qian, W.; El-Sayed, M. A. Coherent Vibrational Oscillation in Gold Prismatic Monolayer Periodic Nanoparticle Arrays, *Nano Letters* **2004**, *4*, 1741.
- (116) Huang, W. H.; Sun, C. H.; Min, W. L.; Jiang, P.; Jiang, B. Templated Fabrication of Periodic Binary Nanostructures, *Journal of Physical Chemistry C* **2008**, *112*, 17586.
- (117) Huang, W. Y.; Qian, W.; El-Sayed, M. A. Coherent vibrational oscillation in gold prismatic monolayer periodic nanoparticle arrays, *Nano Letters* **2004**, *4*, 1741.

- (118) Huang, W. Y.; Qian, W.; El-Sayed, M. A.; Ding, Y.; Wang, Z. L. Effect of the lattice crystallinity on the electron-phonon relaxation rates in gold nanoparticles, *Journal of Physical Chemistry C* **2007**, *111*, 10751.
- (119) Willets, K. A.; Van Duyne, R. P. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing, *Annual Review of Physical Chemistry* **2007**, *58*, 267.
- (120) Live, L. S.; Masson, J. F. High Sensitivity of Plasmonic Microstructures near the Transition from Short-Range to Propagating Surface Plasmon, *Journal of Physical Chemistry C* **2009**, *113*, 10052.
- (121) Debruijn, H. E.; Altenburg, B. S. F.; Kooyman, R. P. H.; Greve, J. Determination of Thickness and Dielectric-Constant of Thin Transparent Dielectric Layers Using Surface-Plasmon Resonance, *Optics Communications* **1991**, *82*, 425.
- (122) Abdelghani, A.; Chovelon, J. M.; Krafft, J. M.; JaffrezicRenault, N.; Trouillet, A.; Veillas, C.; RonotTrioli, C.; Gagnaire, H. Study of self-assembled monolayers of n-alkanethiol on a surface plasmon resonance fibre optic sensor, *Thin Solid Films* **1996**, *284*, 157.
- (123) Ulman, A. Formation and structure of self-assembled monolayers, *Chemical Reviews* **1996**, *96*, 1533.
- (124) Thio, T.; Ghaemi, H. F.; Lezec, H. J.; Wolff, P. A.; Ebbesen, T. W. Surface-plasmon-enhanced transmission through hole arrays in Cr films, *Journal of the Optical Society of America B-Optical Physics* **1999**, *16*, 1743.
- (125) Link, S.; Wang, Z. L.; El-Sayed, M. A. Alloy formation of gold-silver nanoparticles and the dependence of the plasmon absorption on their composition, *Journal of Physical Chemistry B* **1999**, *103*, 3529.
- (126) Mallin, M. P.; Murphy, C. J. Solution-phase synthesis of sub-10 nm Au-Ag alloy nanoparticles, *Nano Letters* **2002**, *2*, 1235.
- (127) Major, K. J.; De, C.; Obare, S. O. Recent Advances in the Synthesis of Plasmonic Bimetallic Nanoparticles, *Plasmonics* **2009**, *4*, 61.
- (128) Ehler, T. T.; Noe, L. J. Surface-Plasmon Studies of Thin Silver/Gold Bimetallic Films, *Langmuir* **1995**, *11*, 4177.

(129) Rodriguez-Gonzalez, B.; Burrows, A.; Watanabe, M.; Kiely, C. J.; Liz-Marzan, L. M. Multishell bimetallic AuAg nanoparticles: synthesis, structure and optical properties, *Journal of Materials Chemistry* **2005**, *15*, 1755.

(130) Stewart, M. E.; Anderton, C. R.; Thompson, L. B.; Maria, J.; Gray, S. K.; Rogers, J. A.; Nuzzo, R. G. Nanostructured plasmonic sensors, *Chemical Reviews* **2008**, *108*, 494.

(131) Haes, A. J.; Hall, W. P.; Chang, L.; Klein, W. L.; Van Duyne, R. P. A localized surface plasmon resonance biosensor: First steps toward an assay for Alzheimer's disease, *Nano Letters* **2004**, *4*, 1029.

(132) Ferreira, J.; Santos, M. J. L.; Rahman, M. M.; Brolo, A. G.; Gordon, R.; Sinton, D.; Girotto, E. M. Attomolar Protein Detection Using in-Hole Surface Plasmon Resonance, *Journal of the American Chemical Society* **2009**, *131*, 436.

## **Annexe 1 : Surfaces bimétalliques en SPR en RTI**

Cette annexe est un complément pour l'article *Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays* publié dans *Journal of Physical Chemistry C*, reproduit dans le chapitre 3. Les résultats présentés ici permettent la comparaison des effets des différentes épaisseurs de métaux sur les spectres de LSPR et ceux de SPR en RTI. Différents films bimétalliques continus ont donc aussi été analysés en résonance des plasmons de surface, SPR, en réflexion totale interne, RTI. Le SPR en RTI est différent du LSPR. Il n'y a aucun plasmon de surface créée lorsqu'un film de métal est irradié à angle droit par un faisceau lumineux. Par contre, en utilisant la RTI et un prisme de Dove permettant l'excitation à un angle de  $72.8^\circ$ , une résonance des plasmons de surface est créée pour un film continu. Dans ce cas, une seule bande est observée, un minimum de transmission qui représente l'énergie correspondant à l'oscillation des électrons libre du métal. Des trous de diamètre de 1 à  $3.5 \mu\text{m}$  ont été analysés par Ludovic S. Live du groupe de Jean-François Masson, qui a observé la présence de plusieurs bandes, associées à la propagation des plasmons de surface entre les trous.<sup>49,50</sup>

### **A.1 Méthodologie pour SPR en RTI**

Les films continus étudiés ici ont tous 50 nm d'épaisseur. De plus, l'analyse expérimentale est complétée par une analyse des calculs pour résoudre les équations de Fresnel avec le logiciel Matlab, qui prévoit la position et la largeur des bandes selon les épaisseurs et la nature des métaux utilisés. Les spectres SPR en RTI ont été mesurés, puis traités pour obtenir  $I_p/I_s$ , et non  $I/I_0$ , où  $I$  est l'intensité lumineuse mesurée,  $I_0$  correspond au blanc, ou en d'autres mots, le système lorsque l'échantillon à analyser n'influence pas le spectre. En transmission, il s'agit de la cellule remplie de solvant. En SPR en RTI, il est nécessaire d'avoir une surface opaque à la surface du prisme pour que le blanc soit comparable au spectre de l'échantillon. De plus, puisque la de la lumière

influence l'excitation de SPR, le blanc est le spectre acquis lorsque la lumière n'excite pas le SPR, lorsqu'elle est polarisée parallèlement à la surface métallique, nommée S. Un autre spectre dans les mêmes conditions avec la lumière polarisée P, perpendiculairement à la surface métallique, permet l'excitation du SPR.

## **A.2 Spectres SPR en RTI expérimentaux et modélisés de surfaces bimétalliques**

La modélisation utilise les équations de Fresnel et les propriétés des métaux pour calculer l'intensité de la lumière absorbée pour chacune des longueurs d'onde. La figure A.2 rapporte les spectres calculés par le logiciel pour des films minces de 50 nm dans les mêmes conditions que celles utilisées expérimentalement. Comme prévu, les films avec la plus grande proportion d'argent ont une bande d'absorption à des longueurs d'onde de plus en plus basse, jusqu'à 552.69 nm pour un film continu d'argent. Les bandes associées aux films 2 nm d'argent et 5 nm se positionnent respectivement à 637.02 nm et 637.15 nm. La tendance est inversée. La bande d'or se trouve à 638.1 nm.



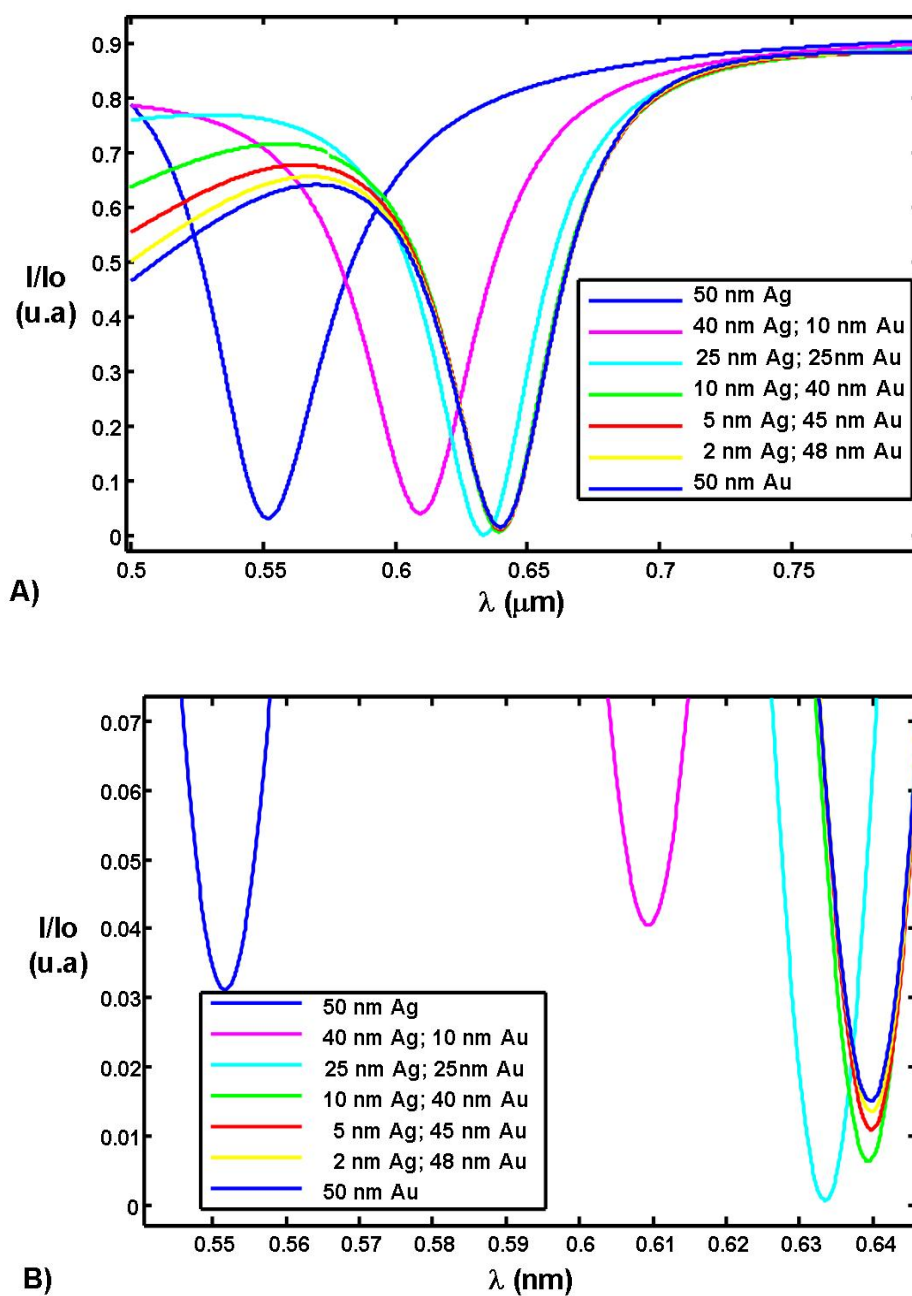


Figure A.2 : Modélisation de la position du minimum de transmission associé au SPR en RTI et de la forme du spectre prévue pour des films de 50 nm d'épaisseur de différentes proportions d'argent recouvert d'or. A) Spectre complet, B) Spectre agrandi pour mieux observer la position des bandes.

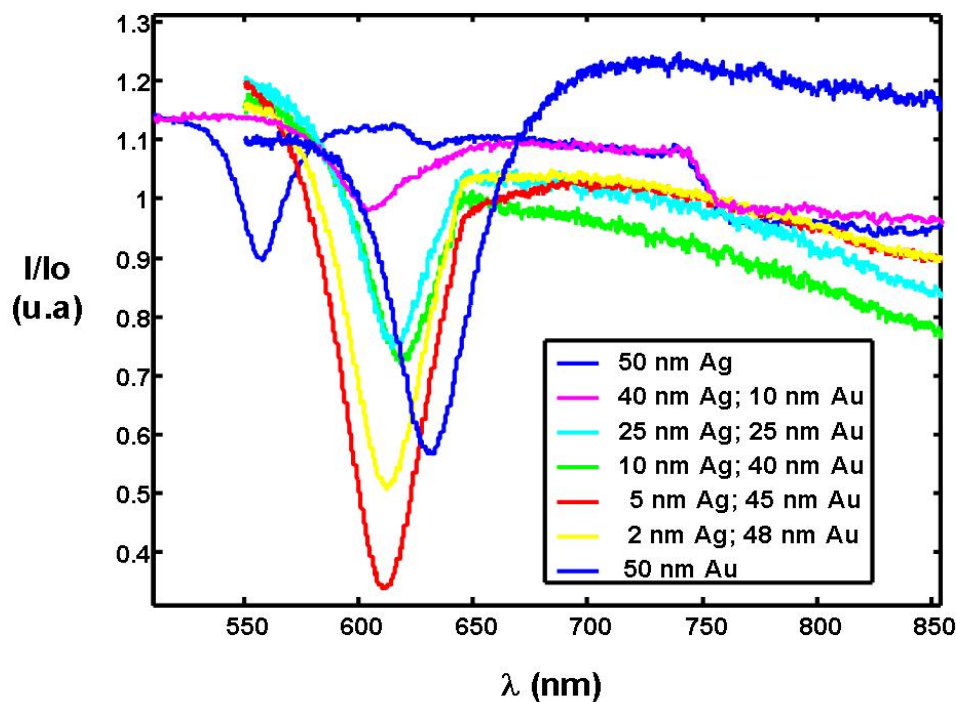


Figure A.3 : Spectres de SPR en RTI mesurés pour des films de 50 nm d'épaisseur de différentes proportions d'argent recouvert d'or.

Les spectres expérimentaux  $I_p/I_s$  sont rapportés dans la figure A.3, où les bandes des films d'argent et d'or sont respectivement aux longueurs d'onde  $562 \pm 4$  nm et  $634 \pm 2$  nm. Il est prédit par la nature de ces métaux que le SPR de l'argent est excité à des énergies supérieures. La figure A.3 présente la position de ces bandes modélisées, en rouge, par rapport à la quantité d'argent pour voir la relation. Il est observable sur la figure A.4, que la position des bandes mesurées, en bleue, ne suit pas la tendance prévue par la modélisation, en rouge. Toutes les bandes expérimentales pour les différents films bimétalliques sont situées entre 619 et 626 nm.

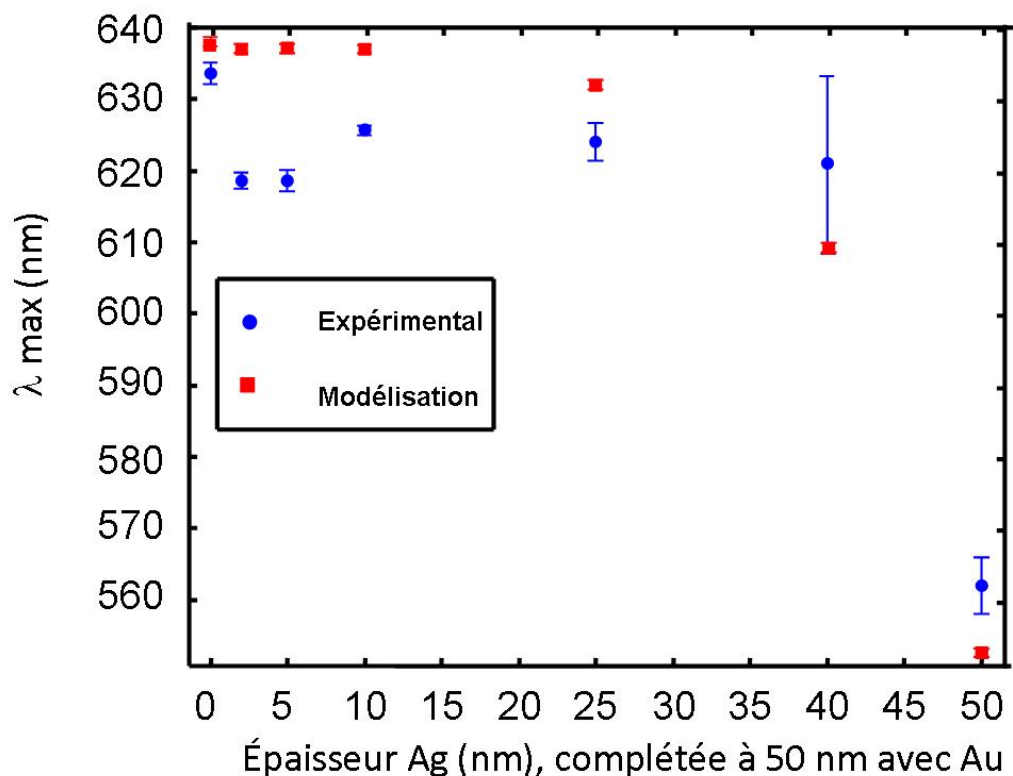


Figure A.4 : Positions de la longueur d'onde d'absorption maximale en SPR en RTI pour des films de 50 nm d'épaisseur de différentes proportions d'argent recouvert d'or.

Il doit être noté que les bandes de 2 nm et de 5 nm d'argent sont situées à la même énergie à 619 nm, comme pour la modélisation qui les positionne par contre à 637 nm. La modélisation prévoit un écart plus grand entre les positions des bandes pour les films purs.

La sensibilité à l'indice de réfraction a été mesurée pour les différents films aux différentes proportions de métaux. Ces valeurs sont rapportées sur la figure A.5. Il est évident que le film pur d'argent est le plus sensible avec  $3187 \pm 71$  nm / RIU. Par contre, celui d'or, avec une sensibilité de  $2850 \pm 33$  nm / RIU, n'est pas le moins

sensible. En effet, la figure A.5 illustre la diminution de sensibilité lorsque la proportion d'argent est moins que 40 nm. C'est la bande SPR du film de 5 nm d'argent et de 45 nm d'or qui est la moins sensible avec  $2546 \pm 174$  nm / RIU. La sensibilité à l'indice de réfraction des différentes proportions de métaux n'a pas été calculée avec le logiciel.

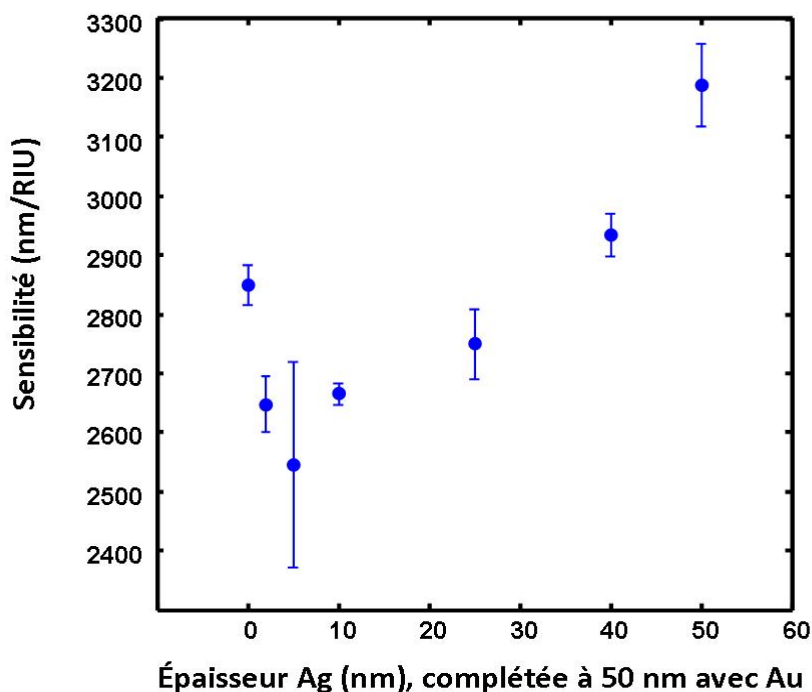


Figure A.5 : Sensibilités à la variation d'indice de réfraction mesurées en SPR en RTI pour des films de 50 nm d'épaisseur de différentes proportions d'argent recouvert d'or.

Il est donc recommandé d'utiliser un film d'argent pour utiliser le film le plus sensible. Par contre, il est possible que le domaine spectral d'un film d'argent ne soit pas accessible ou qu'il soit nécessaire de travailler avec un film d'or en surface. Alors, le film de 40 nm d'argent recouvert de 10 nm d'or est une solution, puisque la sensibilité est similaire, bien que plus faible, mais la position de la bande est environ 60 nm vers des longueurs d'onde plus grandes.

