

Université de Montréal

Étude des propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous

par

Maxime Couture

Département de chimie

Faculté des arts et des sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales

en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès science (M.Sc.)

En Chimie

[Juin, 2012]

© Maxime Couture, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Étude des propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous

Présenté par :
Maxime Couture

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Professeure Antonella Badia, présidente-rapporteuse
Professeur Jean-François Masson, directeur de recherche
Professeure Karen Waldron, membre du jury

Résumé

Les réseaux de nanotrous sont des structures plasmoniques ayant un énorme potentiel en tant que transducteurs pour la conception de biocapteurs. De telles structures sont prometteuses pour l'élaboration de biocapteurs capable d'effectuer du criblage à haut débit. L'intérêt de travailler avec des réseaux de nanotrous est dû à la simplicité d'excitation des polaritons de plasmons de surface en transmission directe, à la sensibilité et à la facilité de fabrication de ces senseurs. L'architecture de tels réseaux métalliques permet la conception de nanostructures ayant de multiples propriétés plasmoniques. L'intensité, la signature spectrale et la sensibilité du signal plasmonique sont grandement affectées par l'aspect physique du réseau de nanotrous. L'optimisation du signal plasmonique nécessite ainsi un ajustement du diamètre des trous, de la périodicité et de la composition métallique du réseau. L'agencement de l'ensemble de ces paramètres permet d'identifier une structure optimale possédant une périodicité de 1000 nm, un diamètre des nanotrous de 600-650 nm et un film métallique ayant une épaisseur de 125 nm d'or. Ce type de transducteur a une sensibilité en solution de 500-600 nm/RIU pour des bandes plasmoniques situées entre 600-700 nm. L'intérêt de travailler avec cette structure est la possibilité d'exciter les plasmons de polaritons de surface (SPPs) selon deux modes d'excitation : en transmission exaltée (EOT) ou en réflexion totale interne par résonance des plasmons de surface (SPR). Une comparaison entre les propriétés plasmoniques des senseurs selon les modes d'excitation permet de déterminer expérimentalement que le couplage de la lumière avec les ondes de SPP de Bloch (BW-SPPs) en transmission directe résulte en un champ électromagnétique davantage propagatif que localisé. D'un point de vue analytique, la biodétection de l'IgG en SPR est 6 fois plus sensible par rapport au mode EOT pour une même structure. Une étude du signal plasmonique associé au BW-SPP pour un certain mode de diffraction démontre que la distance de pénétration de ces structures en EOT est d'environ 140 nm. La limite de détection de l'IgG humain pour un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité est d'environ 50 nM en EOT. Ce mémoire démontre la viabilité des réseaux de nanotrous pour effectuer de la biodétection par criblage à haut débit lors de prochaines recherches. L'investigation de l'effet de l'angle d'excitation en

transmission exaltée par rapport au signal plasmonique associé au mode (1,0) d'un réseau de nanotrous de 820 nm d'or démontre que la sensibilité en solution n'est pas proportionnelle à la sensibilité en surface du senseur. En fait, une optimisation de l'angle d'incidence pour le mode (1,0) de diffraction des BW-SPP permet d'amplifier la sensibilité en surface du senseur jusqu'à 3-fois pour un angle de $13,3^\circ$. Ce mémoire démontre ainsi la nécessité d'optimiser l'angle d'excitation et les propriétés physiques du senseur afin de développer un transducteur de grande sensibilité basé sur l'excitation en transmission de réseaux de nanotrous.

Mots-clés : Réseaux de nanotrou, transmission exaltée, résonance des plasmons de surface, transducteur

Abstract

This research aims at developing a multiplexed biosensor for protein detection based on the nanohole array technology. Gold nanohole arrays exhibit distinct plasmonics properties depending on the excitation mode of the surface plasmon polaritons (SPPs). The interest of working with nanohole arrays is related to their high sensitivity, ease of fabrication and simple setup of excitation in transmission. The architecture of nanohole arrays leads to a nanostructure having multiple plasmonics properties. The intensity, the spectral signature and the sensitivity of the plasmonic signal were highly affected by the shape of the nanohole arrays. Varying the diameter of the holes, the periodicity and the metallic composition of the array were used to optimize the plasmonic signal. The optimal structure was found to have a periodicity of 1000 nm, a diameter of 600-650 nm and a metallic film with a thickness of 125 nm of gold. Such a transducer exhibits a bulk refractive index sensitivity of 500-600 nm/RIU for plasmonic bands absorbing around 600-700 nm. Surface plasmon resonance (SPR) in the Kretschmann configuration and enhanced optical transmission (EOT) mode were compared using large gold nanohole arrays (1000 nm periodicity, 600 nm diameter and 125 nm depth) in order to assess their relative analytical performance. Biodetection of IgG was found to be 6 times more sensitive with SPR in the Kretschmann configuration than in EOT mode for the same structure. The decay length of the electromagnetic field in EOT mode was determined experimentally to be around 140 nm with a layer-by-layer polyelectrolyte deposition. This results suggests that the plasmonic properties of EOT for nanohole arrays is much more associated to a Bloch wave SPPs mode rather than a localized SPR. Variation of the incident angle of excitation of the BW-SPPs in transmission leads to a higher surface sensitivity for the (1,0) diffraction mode for gold nanohole arrays of 820 nm periodicity. Optimization of the physical properties and the excitation angle of the nanohole arrays is essential in order to develop a transducer having a potential towards multiplexed biosensors.

Keywords : Nanohole arrays, enhanced optical transmission, surface plasmon resonance, transducer

Table des matières

Chapitre 1	Introduction	1
1.1	La résonance des plasmons de surface	2
1.1.1	Historique	2
1.2	Théorie des plasmons de surface	3
1.2.1	Instrumentation SPR	6
1.3	Biocapteurs	9
1.3.1	Fonctionnement d'un biocapteur	9
1.3.2	Applications des biocapteurs	10
1.3.3	Avantages et désavantages de la SPR pour la biodétection	12
1.4	Résonance des plasmons de surface localisés	15
1.4.1	Théorie	15
1.5	Les réseaux de nanotrous	18
1.5.1	Historique	18
1.5.2	Théorie de la transmission exaltée	19
1.6	Couplage SPR et LSPR	23
1.7	Applications des réseaux de nanotrous	25
1.7.1	Applications futures des réseaux de nanotrous	26
1.8	Méthodes de fabrication des réseaux de nanotrous	27
1.8.1	Fabrication par source ionique focalisé, lithographie à faisceaux d'électrons et lithographie par nanoimpression	28
1.8.2	Fabrication par lithographie de nanosphères	30
1.9	Caractérisation physique des réseaux de nanotrous	32
1.9.1	Microscopie à force atomique	32
1.9.2	Microscopie à balayage électronique	34
1.10	Détermination de la distance de pénétration du champ plasmonique	35
1.10.1	Déposition couche par couche de polymères	35
1.11	Objectifs de recherche	38
Chapitre 2	Signal plasmonique des réseaux de nanotrous	39

2.1	Introduction	39
2.2	Partie expérimentale	40
2.2.1	Fabrication des capteurs	40
2.2.2	Mesure des propriétés optiques des senseurs	41
2.2.3	Sensibilité en solution des capteurs	42
2.3	Résultats et discussion	43
2.3.1	Effet de la périodicité sur le signal plasmonique	43
2.3.2	Optimisation du diamètre et de la composition métallique des réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm de périodicité	49
2.4	Conclusion	54
Chapitre 3 EOT or Kretschmann configuration? Comparative study of the plasmonic modes in gold nanohole arrays		56
3.1	Introduction	57
3.2	Materials and Methods	59
3.2.1	Gold nanohole arrays fabrication and characterization	59
3.2.2	SPR and EOT measurements	60
3.2.3	Sensitivity to bulk refractive index and IgG sensing	60
3.2.4	Polyelectrolyte layer-by-layer preparation	61
3.2.5	FDTD and RCWA simulations	62
3.3	Results and Discussion	64
3.3.1	Optical properties of nanohole arrays in transmission and Kretschmann SPR modes	64
3.3.2	Comparison of the sensitivity, resolution and penetration depth of nanohole arrays with thin film SPR	68
3.3.3	IgG biosensing	74
3.4	Conclusions	75
Chapitre 4 Effet de l'angle d'excitation en transmission exaltée pour des réseaux de nanotrous		76
4.1	Introduction et problématique	76
4.2	Partie expérimentale	79

	vi
4.2.1 Fabrication des senseurs.....	79
4.2.2 Analyse des senseurs.....	79
4.2.3 Sensibilité en solution et en surface	80
4.3 Résultats et discussion	81
4.3.1 Effet de l'angle d'incidence sur le signal EOT	81
4.3.2 Variation de la sensibilité en solution et en surface des senseurs	84
4.4 Conclusion	87
Chapitre 5 Conclusion	88
5.1 Perspectives.....	90
Bibliographie.....	92

Liste des tableaux

Table 3.1 : Analytical parameters for nanohole arrays and thin gold film	68
--	----

Liste des figures

Figure 1.1 : Représentation du phénomène de résonance des plasmons de surface.	3
Figure 1.2 : Schéma simplifié de la dispersion des vecteurs d'ondes des photons (k_x) et des plasmons de surface (k_{sp}). Les lignes rouge et bleue représentent respectivement k_x et k_{sp} . .	4
Figure 1.3 : Plasmon propagatif en SPR d'un film d'or de 50 nm d'épaisseur selon l'angle d'excitation en réflexion totale interne.	5
Figure 1.4 : Signal d'absorption du plasmon de surface à un angle fixe de 72,6 ° dans l'eau (courbe bleu, RI = 1,33) et dans une solution d'eau sucrée (courbe rouge, RI = 1,34) à l'aide d'un film d'or de 50 nm d'épaisseur.	5
Figure 1.5 : Configuration de la méthode d'excitation du SPP. a) Géométrie de type Kretschmann b) diffraction sur réseau métallique.	7
Figure 1.6 : Schéma du montage SPR à angle fixe de 72,8° à l'aide d'un prisme dove.	7
Figure 1.7 : Schéma du montage SPR spectro angulaire.	8
Figure 1.8 : Diagramme du principe de fonctionnement d'un biocapteur.	10
Figure 1.9 : Exemple de biodétection en SPR de l'IgG avec l'anti-IgG immobilisé sur la surface.	13
Figure 1.10 : Schéma de l'excitation des plasmons de surface localisés.	15
Figure 1.11 : Diffraction de la lumière à travers un trou et spectre de transmission selon la relation $T(\lambda)$ et (r/λ) de Bethe.	18
Figure 1.13 : Images Raman de réseaux de nanotrous pour différents ratios d/p de : A) 1,0, B) 0,69, C) 0,57, D) 0,56 et E) 0,43.	22
Figure 1.14 : Facteur d'amplification de la sensibilité en solution de réseau de microtrous par rapport à un film d'or selon l'angle d'excitation pour différentes variations d'indice de réfraction.	24
Figure 1.15 : Prototype de plaques multi puits pour des réseaux de nanotrous.	27
Figure 1.16 : Image SEM d'une nanostructure fabriqué par un FIB.	28
Figure 1.17 : Schéma du principe de fabrication de réseaux de nanotrous par NIL.	29

Figure 1.18 : Principe de formation d'un réseau de nanotrous par lithographie de nanosphère.....	30
Figure 1.19 : Images AFM exposant la variation du ratio d/p de réseaux de nanotrous d'or de 1000 nm de périodicité. De gauche à droite, les ratios d/p sont de 0,76, 0,61 et 0,43. ...	31
Figure 1.20 : Illustration schématique d'une analyse AFM.....	33
Figure 1.21 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité et 600-650 nm de diamètre (gauche) et profondeur du réseau de nanotrous d'environ 100-125 nm d'or (droite).....	34
Figure 1.22 : Image SEM d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité.....	35
Figure 1.23 : Concept de la déposition successive de polymère cationique et anionique sur un senseur d'or et schéma du déplacement de la position de la bande plasmonique selon le nombre de bicouches.....	36
Figure 1.24 : Schéma du fonctionnement de l'ellipsométrie.....	37
Figure 2.1 : Montage optique et cellule fluïdique permettant l'analyse en transmission de réseaux de nanotrous (gauche). Plan de la cellule fluïdique (droite).	42
Figure 2.2 : Image SEM d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité et 600 nm de diamètre.....	43
Figure 2.3 : Spectre en transmission d'un réseau de nanotrous en or de 650 nm de périodicités dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu) pour le mode (1,0) ($d/p = 0,52$).	44
Figure 2.4 : Bande plasmonique associé au mode (1,0) d'un réseau de nanotrous en or de 820 nm de périodicité dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu) ($d/p = 0,55$).	46
Figure 2.5 : Bandes d'absorption du mode (1,0) de réseaux de nanotrous (0,6 d/P) en or dans l'eau de périodicités de 520 nm (rouge), 650 nm (vert) et 820 nm (bleu). L'intensité des spectres est ajustée pour simplifier la compréhension.....	46
Figure 2.6 : Spectre brute en transmission d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu).	47
.....	48
Figure 2.7 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous en argent de 820 nm de périodicité ($d/p = 0,51$).	48

Figure 2.8 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous en argent de 1000 nm de périodicité ($d/p = 0,60$).	49
Figure 2.9 : Données cinétiques du déplacement de la longueur d'onde d'une bande plasmonique d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité associé à des concentrations croissantes de solutions d'eau sucrée. Encadré : Courbe d'étalonnage associée aux mesures cinétiques ; la sensibilité en solution est de 556 ± 11 nm/RIU.	50
Figure 2.10 : Spectres en transmission d'un réseau de nanotrous d'argent de 820 nm de périodicité ($d/p = 0,51$) pour des d'indices de réfraction de 1,33 (bleu), 1,34 (magenta), 1,35 (bleu pâle), 1,36 (vert), 1,37 (rouge), 1,38 (jaune).	51
Figure 2.11 : Sensibilités en solution de réseaux de nanotrous d'argent de 1000 nm de périodicité (gauche) et 820 nm (droite) par rapport au diamètre des nanotrous.	52
Tableau 2.1 : Sensibilité en solution de réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm de périodicité selon la composition métallique. ($d/p = 0,43$ pour 820 nm et 0,60 pour 1000 nm)	53
Figure 3.1 : SEM image at 35k magnification of gold nanohole arrays (periodicity of 1000 nm, a diameter of 600 nm and a thickness of 125 nm of gold).	65
Figure 3.2 : Top row) Experimental data and Bottom row) simulated spectrum. Left) Transmission spectrum of gold nanohole arrays of 1000 nm of periodicity and 600 nm of diameter at normal incidence. The most sensitive plasmonic band is at 710 nm on the spectrum. Right) SPR spectrum of gold nanohole arrays with a periodicity of 1000 nm and 600 nm of diameter at an excitation angle of 72.6° .	66
Figure 3.3 : Surface plasmon dispersion curve for nanohole arrays of 1000 nm periodicity and 600 nm diameter. The white and black lines guide the eye on the propagating SP and localized SP respectively.	67
Figure 3.4 : Refractive index calibration curves for the Kretschmann configuration of SPR ($R^2 = 0,963$) and EOT mode ($R^2 = 0,991$) for the gold nanohole arrays substrate.	69
Figure 3.5 : FDTD simulations of the field distribution for nanohole arrays excited in EOT (Left) and the Kretschmann configuration of SPR (Right). The penetration depth is approximately 125 nm for EOT and 200 – 300 nm for the Kretschmann configuration.	70

Figure 3.6 : Left) Scheme of formation of PAH-PSS bilayers on the gold nanohole arrays substrate. Right) Wavelength shift of the plasmonic band for a gold film in SPR (green; circles), a gold nanohole arrays in SPR (red; dots) and transmission mode (blue; crosses) for different thickness of bilayers.	71
Figure 3.7 : Left) Comparison of kinetic measurements for IgG detection in the Kretschmann configuration of SPR (red line) and in EOT – 1000 nM only for EOT (blue line). Right) Calibration curves for the Kretschmann configuration of SPR for gold nanohole arrays (red dot), EOT (green circle) and for SPR on a thin gold film (blue cross).	74
Figure 4.1 : Sensibilité en solution d'un film d'or excité en SPR par rapport à l'angle d'excitation.	76
Figure 4.2 : Schéma du montage utilisé pour l'analyse de réseau de nanotrous par variation de l'angle d'incidence.	79
Figure 4.3 : Déplacement en longueur d'onde associé à l'adhésion d'une bicouche de polyélectrolytes PAH-PSS pour un réseau de nanotrous d'or.	80
Figure 4.4 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité et 500 nm de diamètre. Bande plasmonique associé au mode (1,0) situé vers 940 nm.....	82
Figure 4.5 : Relation linéaire entre la longueur d'onde de la bande plasmonique et l'angle d'incidence (θ) de la lumière excitant un réseau de nanotrous en or de 820 nm de périodicité dans l'eau. $\lambda = -16,2(\text{nm}/^\circ)*\theta + 944 \text{ nm}$ ($R^2 = 0,9996$).....	83
Figure 4.6 : Variation de la sensibilité en solution (nm/RIU) pour des solutions d'eau sucrée (1,33 à 1,36 RIU) d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité par rapport à l'angle d'excitation du senseur ($n=3$, $R^2 = 0,1036$).	85
Figure 4.7 : Déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité associé à la fixation d'une bicouche de polyélectrolytes PAH-PSS pour des angles de 0° , $6,6^\circ$ et $13,3^\circ$ ($n=3$).	86

Liste des sigles et abréviations

$\Delta\lambda$: déplacement en longueur d'onde

16-MHA : Acide 16-mercaptohexadécanoïque

AFM : microscopie à force atomique, *atomic force microscopy*

BW : onde de Bloch, *Bloch wave*.

d/p : ratio diamètre sur périodicité.

EBL : lithographie à faisceau d'électrons, *electron beam lithography*.

EDC : *N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide*.

EOT : transmission optique extraordinaire, *extraordinary optical transmission*.

FDTD : *finite difference time domain*.

FIB : source ionique focalisée, *focused ion beam*.

IgG : Immunoglobuline G, *Immunoglobulin G*.

k_{SPP} : vecteur d'onde des polaritons de plasmons de surface

k_x : vecteur d'onde de la lumière.

LBL : couche par couche, *layer-by-layer*.

l_d : distance de pénétration, *penetration depth*.

LSPR : plasmons de surface localisé, *localized surface plasmon resonance*.

NHS : *N-hydroxysuccinimide*

NIL : lithographie par nanoimpression, *nanoimprint lithography*.

NSL : lithographie par nanosphères, *nanosphere lithography*.

P : périodicité

PBS : *phosphate buffered saline*

RCWA : *rigorous coupled wave analysis*.

RIE : gravure d'ions réactifs, *reactive ion etching*.

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

RTI : réflexion totale interne

SAM : monocouches auto-assemblées, *self-assembled monolayer*.

SEM : microscopie à balayage électronique, *scanning electron microscopy*.

SERS : diffusion Raman exaltée en surface, *surface enhanced Raman scattering*.

SPFS : spectroscopie de fluorescence des plasmons de surface, *surface plasmon fluorescence spectroscopy*

SP : plasmons de surface, *surface plasmons*.

SPPs : polaritons de plasmons de surface, *surface plasmon polaritons*.

SPR : résonance des plasmons de surface, *surface plasmon resonance*.

THF : *tetrahydrofuran*

ω : fréquence angulaire

ϵ_m : constante diélectrique du métal

ϵ_d : constante diélectrique du milieu

λ : longueur d'onde

θ : angle

Nous piétièrons éternellement aux frontières de l'inconnu, cherchant à comprendre ce qui restera toujours incompréhensible. Et c'est précisément cela qui fait de nous des hommes.

Isaac Asimov

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier mes parents, Pierre Couture et Angela Fronteddu, qui ont toujours été là pour moi. Ils m'ont appris à profiter pleinement de tous les bonheurs de la vie. Je les remercie sincèrement pour l'amour et le soutien qu'ils m'ont apporté depuis ma naissance. J'ai été élevé dans un cadre familial excessivement propice aux succès scolaires. Sans eux je ne serai pas rendu où j'en suis présentement. Je vous aime profondément ! Je remercie mon grand frère, Mathieu-Olivier Couture, tu es mon ange gardien, mon idole qui as toujours été là pour m'aider. J'estime que le monde à davantage besoin de gens comme toi qui risquent leur vie chaque jour pour maintenir la paix sur terre. Toi et ta famille, Faye Trahan, Livia Couture, Juliette Couture et les prochains bébés êtes des personnes exceptionnelles qui me motivent à progresser dans la vie. Je veux absolument remercier ma copine, Stéphanie Cormier, pour tous les moments passés ensemble depuis les 4 dernières années. Tu m'as toujours supporté, dans mes beaux moments, comme dans les moments les plus sombres de ma vie. Je dédie aussi cet ouvrage à ma famille et mes amis proches ; Jean-Michel Bertrand, Michel Scultéty-Ouellet, Maxime Leduc et Sébastien Simard. J'espère que nos liens d'amitié resteront intacts pour de nombreuses années.

Je tiens à remercier Mathieu Ratel et Julien Breault-Turcot qui ont toujours été aimables avec moi et m'ont pris sous leurs ailes alors que j'étais un jeune stagiaire. Je remercie le talentueux Jean-François Myre de l'atelier mécanique pour la fabrication des pièces fluidiques. Je dédie cet ouvrage à d'anciens collègues, Olivier R. Bolduc et Ludovic S. Live qui sont pour moi de grands scientifiques et un modèle à suivre (à part pour Ludo). J'espère que nos chemins se recroiseront. Je dédie cet ouvrage aux membres actuels du groupe de recherche ; Rita, Audrey, Debby, Natalia, Pomf et Thud, Sandy et sans oublier le panda roux (Hugo Pierre).

Finalement, je dédie mon mémoire à un grand de ce monde, mon professeur Jean-François Masson. Je pense que je ne le remercierais jamais assez d'avoir cru en moi. J'ai rarement vu un professeur autant dévoué à la pédagogie, à la recherche et à son groupe.

C'est le cœur rempli de joie et de fierté que j'ai effectué mes recherches avec toi !

Chapitre 1 Introduction

Le but de ce mémoire est l'étude des phénomènes plasmoniques reliés aux réseaux de nanotrous. Ces recherches ont été effectuées afin d'obtenir une meilleure compréhension des propriétés optiques de ce type de structure selon la méthode d'excitation des plasmons. En effet, très peu d'études ont été effectuées afin de caractériser complètement les réseaux de nanotrous. Dans la littérature, la majorité des recherches sont basées sur des simulations 3D permettant d'évaluer la dispersion du champ plasmonique. Ce mémoire présente une étude expérimentale complète des réseaux de nanotrous en or afin d'obtenir une meilleure compréhension du phénomène de transmission exaltée. Une maîtrise du comportement du champ plasmonique des réseaux de nanotrous est essentielle pour le développement de capteurs.

En premier lieu, le chapitre 1 portera sur la théorie et le fonctionnement de la résonance des plasmons de surface, des biocapteurs, de la résonance des plasmons de surface localisés, des réseaux de nanotrous et de toutes autres techniques analytiques utilisées dans le cadre de ces recherches. Le chapitre 2 discutera des méthodes utilisées pour l'optimisation des structures de nanotrous. Puis, au chapitre 3, une comparaison spectrale et analytique entre deux modes d'excitations des plasmons de surface sera effectuée pour le même type de structure. Les phénomènes plasmoniques comparés sont la résonance des plasmons de surface en réflexion totale interne et la transmission exaltée. Le chapitre 4 portera sur l'effet de l'angle d'incidence d'excitation en transmission par rapport à la sensibilité et la position du signal plasmonique. Le dernier chapitre consiste en une conclusion et une perspective d'avenir dans le domaine des réseaux de nanotrous. L'intérêt de ces expériences est de parvenir un jour à concevoir un transducteur de réseaux de nanotrous permettant d'effectuer de la biodétection avec un criblage à haut débit.

1.1 La résonance des plasmons de surface

La théorie des plasmons de surface est à la base du concept d'excitation des réseaux de nanotrous. Il est donc primordial de bien comprendre les concepts théoriques du domaine de la plasmonique avant d'entamer la lecture des prochains chapitres de ce mémoire. Les prochaines sections donneront les outils nécessaires aux lecteurs pour la compréhension de la théorie reliée au mémoire.

1.1.1 Historique

Pour commencer, bien que le domaine de la résonance des plasmons de surface (*surface plasmon resonance, SPR*) soit très populaire depuis 20 ans¹, la découverte du phénomène se fit bien plus tôt, soit en 1902 par Wood². Ce dernier observa un patron de bandes sombres et lumineuses lorsqu'il dirigea de la lumière polarisée sur un réseau de diffraction³. À l'époque, le phénomène ne pouvait être expliqué par les théories modernes. Wood décida de les qualifier d'anomalies. Il remarqua que la polarisation, l'angle et la longueur d'onde du faisceau incident avaient un impact sur les bandes lumineuses générées. Quelques années plus tard, en 1907, Lord Rayleigh⁴ tenta d'expliquer le phénomène et constata que les longueurs d'onde émises coïncidaient avec les mêmes anomalies que Wood observait. Par contre, il fallut attendre jusqu'en 1968 avant d'avoir une explication complète du phénomène SPR par Otto⁵ tandis qu'au même moment Kretschmann et Raether⁶ rapportèrent les mécanismes d'excitation des plasmons de surface. La première application utilisant un senseur basé sur la SPR pour l'étude d'interactions biomoléculaires fut démontrée en 1983 par Liedberg⁷ et al*. Ces progrès scientifiques ont mené la SPR vers une éventuelle commercialisation du procédé, notamment par la compagnie Biacore^{8,9} en 1990, maintenant propriété de General Electric. Présentement, il y a des milliers d'articles publiés chaque année sur la SPR depuis près de 10 ans. En effet, la SPR est en constante effervescence et évolution puisqu'elle couvre un large domaine d'applications¹⁰ que ce soit en pharmaceutique, physique, chimie physique, biologie ou en chimie analytique.

1.2 Théorie des plasmons de surface

Pour simplifier la compréhension, les plasmons de surface (*surface plasmon, SP*) sont des oscillations de charges à la surface d'un métal noble, généralement de l'or ou de l'argent, impliquant les électrons libres conducteurs¹¹. Lorsque les SP sont excités par une onde électromagnétique (la lumière), ils génèrent des polaritons de plasmons de surface (*surface plasmon polaritons, SPPs*) qui se propagent de façon longitudinale à l'interface métal-diélectrique tout en ayant un champ électrique évanescent (E_{spp}) exponentiellement décroissant (figure 1.1). Il faut se représenter les SPPs comme un champ électromagnétique étant sensible à la constante diélectrique du milieu (ϵ_d) avoisinant le métal (le diélectrique), donc à l'indice de réfraction (η) de celui-ci.

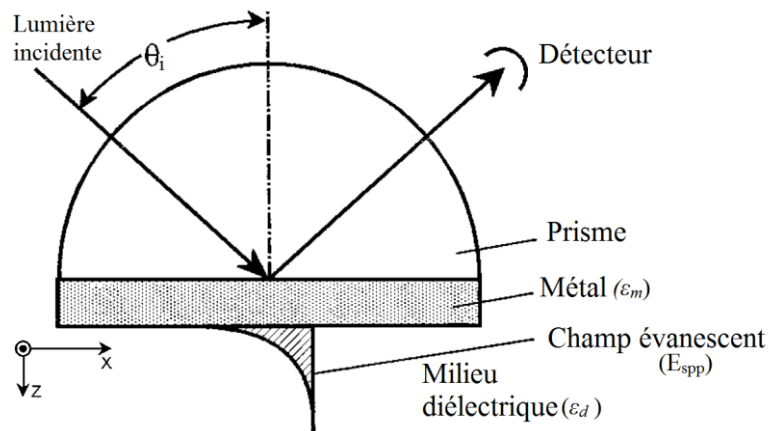


Figure 1.1 : Représentation du phénomène de résonance des plasmons de surface¹².

L'onde du plasmon de surface est dite transverse magnétique (TM), elle se propage dans l'axe $x-z$ du milieu diélectrique (figure 1.1). Les photons qui excitent les PS possèdent aussi une composante TM. Pour ce faire, une lumière incidente polarisée p, donc TM, est utilisée pour interagir avec les plasmons de surface. Certaines conditions doivent être respectées pour qu'un métal puisse supporter un PS. Ce dernier doit avoir une constante diélectrique réelle négative¹¹ et la partie imaginaire doit être positive. De plus, il faut que la lumière incidente qui excite le métal ait un vecteur d'onde (k_x) équivalent à celui du PS (k_{SPP}) pour qu'ils entrent en résonance. Le problème, étant que le vecteur d'onde de la

lumière sera toujours supérieur à celui du PS dans l'air (voir figure 1.2). La dispersion du vecteur d'onde de la lumière est linéaire tandis que celle du PS est une courbe ayant une limite asymptotique. Pour obtenir un couplage entre k_x et k_{spp} , il faut augmenter le momentum du vecteur d'onde du photon (voir figure 1.2). Pour ce faire, la lumière est dirigée à travers un prisme ayant un indice de réfraction (η , où $\varepsilon = \eta^2$) élevé (e.g : verre BK7) et le faisceau lumineux est envoyé de façon à ce qu'il soit en réflexion totale interne avec la surface du métal. D'un point de vue mathématique, cela correspond à une égalité entre les équations 1.1 et 1.2. La dispersion du vecteur d'onde du PS est représentée selon l'équation 1.1 où ω correspond à la fréquence angulaire, c à la vitesse de la lumière, ε_m et ε_d respectivement aux constantes diélectriques du métal et du milieu. De l'équation 1.2, il faut constater que la longueur d'onde (λ) et l'angle d'incidence du photon par rapport à la normale (θ_i) vont avoir un impact sur le couplage entre la lumière et les SPP.

$$k_{SPP} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_d}{\varepsilon_m + \varepsilon_d}} \quad (1.1)$$

$$k_x = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\varepsilon} (\sin\theta_i) \quad (1.2)$$

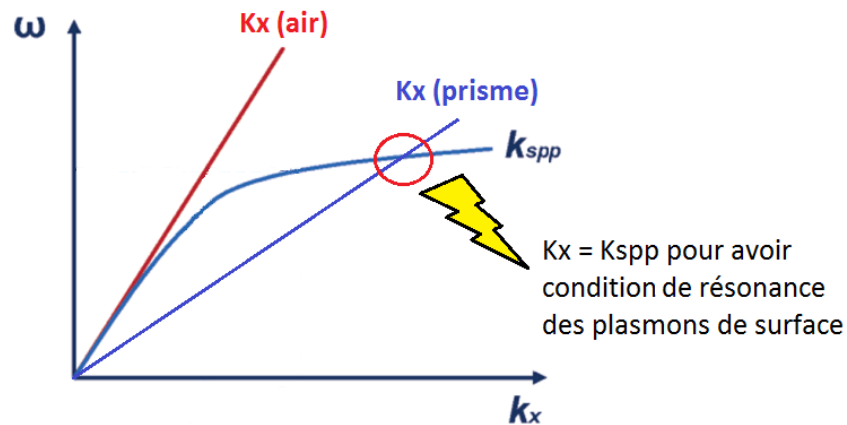


Figure 1.2 : Schéma simplifié¹³ de la dispersion des vecteurs d'ondes des photons (k_x) dans l'air et dans un prisme et des plasmons de surface (k_{spp}).

Lorsqu'il y a résonance, le photon est absorbé par le plasmon de surface. Ainsi, il est possible de maintenir un de ces paramètres fixe (λ ou θ_i) et de varier l'autre afin

d'interagir avec différents vecteurs d'onde du plasmon. Le signal SPR correspond à l'intensité de la lumière réfléchie (I_R) en fonction de λ (pour θ_i fixe) ou de θ_i (pour λ fixe). Pour les deux cas, un minimum dans le spectre de I_R est observé à une valeur de λ ou θ_i lorsqu'il y a une forte absorption des photons suite à l'excitation des PS. L'augmentation de la constante diélectrique du milieu (ϵ_d) génère un déplacement bathochromique de la position de la bande plasmonique en termes de λ lorsque l'angle d'excitation est constant. (voir figure 1.3). La référence en SPR correspond au signal de l'échantillon lorsqu'illuminé par une lumière polarisée-s. L'intensité du signal SPR est donc rapportée comme un ratio de la lumière polarisée-p sur la lumière polarisée-s (I_p/I_s).

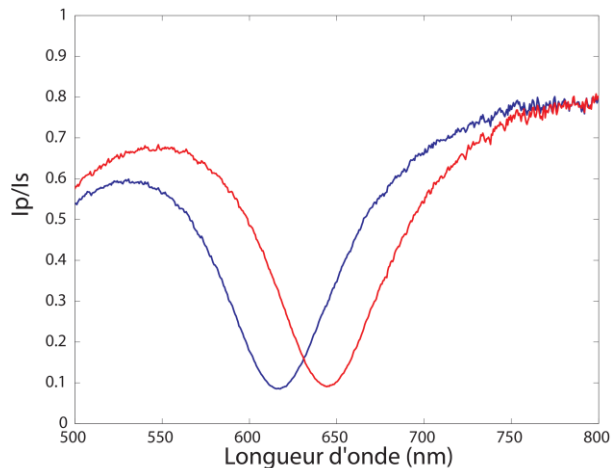


Figure 1.3 : Signal d'absorption du plasmon de surface à un angle fixe de $72,6^\circ$ dans l'eau (courbe bleue, RI = 1,33) et dans une solution aqueuse de sucrose (courbe rouge, RI = 1,34) à l'aide d'un film d'or de 50 nm d'épaisseur.

Le SPR classique, dit de configuration Kretschmann, consiste à mesurer le déplacement bathochromique de la bande plasmonique ($\Delta\lambda_{\text{SPR}}$) (e.g : adsorption de biomolécules) pour un angle d'excitation fixe. L'intérêt de travailler avec des métaux comme l'or ou l'argent est notamment le fait que ces derniers génèrent des bandes plasmoniques dans le visible¹⁴. L'argent produit une bande plasmonique plus étroite que l'or

ce qui offre une meilleure résolution. Par contre, contrairement à l'or, l'argent s'oxyde facilement au contact de l'air et réagit mal avec les thiols utilisés comme ligand pour récepteur moléculaire. L'épaisseur du film a un impact sur la résolution¹⁵ de la bande plasmonique, donc sur la sensibilité¹⁶ du senseur. Les substrats de films d'or ont été optimisés pour une épaisseur de 50 nm¹⁴. Ces derniers sont considérés comme le standard de référence aux fins de comparaison analytique lors d'une étude d'optimisation de structures en SPR.

L'excitation des plasmons de surface ne nécessite pas l'utilisation d'une source de grande puissance telle qu'en spectroscopie Raman ou de fluorescence puisque l'influence de l'intensité lumineuse du spectre est négligeable sur la précision de la mesure. C'est le déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique qui est d'intérêt. Le champ électrique sondant la surface est sensible aux variations d'indice de réfraction de la solution en contact avec le film d'or. Ce champ plasmonique possède une distance de pénétration¹⁷ d'environ 200 nm (film d'or) rendant possible la détection de grandes biomolécules. Cette distance de pénétration est calculé à l'aide de l'équation de Jung (équation 1.3).

$$\Delta\lambda = m\Delta n \left[1 - \exp\left(\frac{-2d}{l_d}\right) \right] \quad (1.3)$$

Dans cette équation, $\Delta\lambda$ correspond au déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique, m est la sensibilité en solution, Δn est la différence d'indice de réfraction entre la solution et la couche d'adhésion (e.g: récepteur ou analyte), d est l'épaisseur de cette couche et l_d est la distance de pénétration. Ce faisant, il est possible de sonder en temps réel toute sorte d'interactions biologiques à proximité du senseur SPR pour des concentrations allant jusqu'à 10^{-12} M. C'est la grande résolution du signal, de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-7} unité d'indice de réfraction (RIU), qui fait de la SPR une puissante technique d'analyse de surface.

1.2.1 Instrumentation SPR

Il existe plusieurs méthodes pour exciter les plasmons de surface. Les plus utilisées¹⁴ sont celles basées sur un montage proposé par Krestchmann ou par diffraction sur un réseau métallique (figure 1.4).

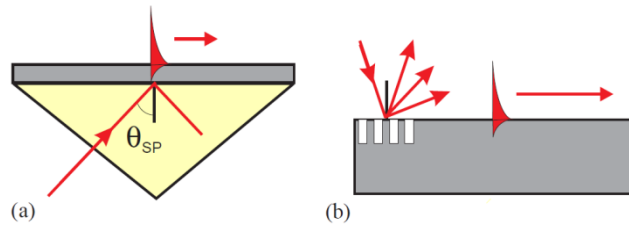


Figure 1.4 : Configuration de la méthode d'excitation du SPP¹¹. a) Géométrie de type Kretschmann b) diffraction sur réseau métallique.

Les montages optiques de type Kretschmann sont reconnus pour être plus sensibles aux variations d'indice de réfraction que les montages par réseau de diffraction. La majorité des études effectuées en SPR sont basées sur ce type de configuration¹⁴. D'ailleurs, la recherche dans le groupe de recherche Masson repose principalement sur la technique SPR en mode Kretschmann par interrogation de longueur d'onde à l'aide d'un prisme dove (figure 1.5).

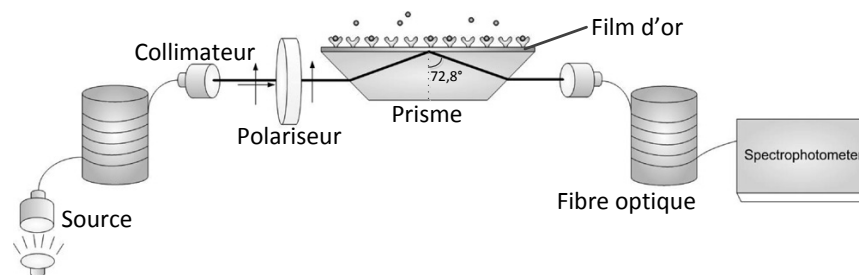


Figure 1.5 : Schéma du montage SPR à angle fixe de $72,8^\circ$ à l'aide d'un prisme dove.¹⁸

Ce type de montage bénéficie d'un alignement optique et d'une instrumentation beaucoup plus simple qu'un mode par interrogation d'angle tout en offrant une résolution similaire à l'interrogation des angles¹⁸. La lumière incidente est collimatée et transmise par des fibres optiques, ayant des diamètres internes de $200\ \mu\text{m}$, vers un spectrophotomètre. La source est une lampe halogène permettant de générer une gamme spectrale dans le visible.

Il est possible de combiner deux modes d'analyse en un instrument correspondant à un montage SPR spectro angulaire. Cet appareil permet d'obtenir des résultats riches en informations sur la dispersion plasmonique du signal SPR en longueur d'onde pour différents angles d'excitation allant de 70° à 77° (Figure 1.6). C'est d'ailleurs ce montage optique qui fut utilisé au chapitre 3 lors de l'étude des réseaux de nanotrous en SPR.

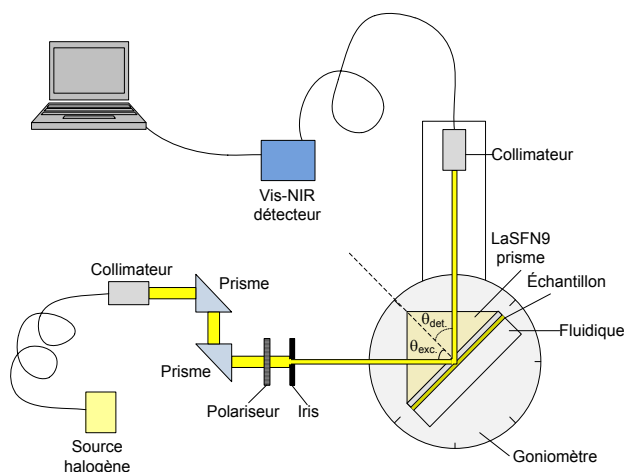


Figure 1.6 : Schéma du montage SPR spectro angulaire¹⁹.

L'information ainsi recueillie permet l'optimisation des conditions expérimentales pour l'excitation des plasmons de surface sur les nanostructures et la caractérisation du mode d'excitation des plasmons de surface. L'image 1.7 expose le type d'information qui peut être recueilli par le montage de la figure 1.6. Cette image 3D démontre le déplacement hipsochromique et l'augmentation de la résolution de la bande plasmonique lorsque l'angle d'excitation en RTI augmente pour un film d'or.

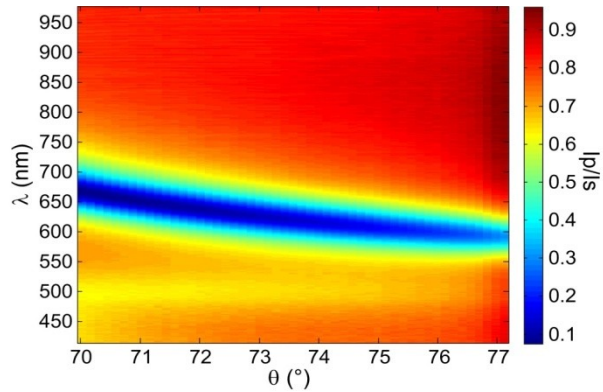


Figure 1.7 : Image 3D de la propagation du plasmon en SPR pour un film d'or de 50 nm d'épaisseur selon l'angle d'excitation en réflexion totale interne. Le code de couleur est associé à l'intensité relative (I_p/I_s) des spectres.

1.3 Biocapteurs

1.3.1 Fonctionnement d'un biocapteur

Les biocapteurs sont des dispositifs pouvant détecter la présence de biomolécules. Ils sont composés d'un élément de reconnaissance biologique capable de capter spécifiquement un analyte générant une interaction biochimique qu'un capteur traduit en signal analytique²⁰. L'élément de reconnaissance est généralement constitué²¹ d'un anticorps, d'un enzyme, de l'ADN ou de cellules. Le signal peut être mesuré par le transducteur sous forme optique, électrochimique ou de masse. Le concept global du fonctionnement d'un biocapteur est présenté à la figure 1.8.

Le capteur (*transducer*) permet la conversion de la réponse chimique (ou biologique) en signal mesurable par des techniques analytiques tel que : la fluorescence, la spectroscopie d'absorption, l'électrochimie, la balance de quartz (QCM), l'infrarouge et le SPR. Le signal digital est ensuite amplifié et traité par un ordinateur qui le converti en concentration mesurée. Au niveau médical, les biomarqueurs peuvent être indicateurs de la présence de certaines pathologies (cancers ou maladies), de processus physiologiques normaux ou de l'action de médicaments, donc des analytes couramment étudié lors du

développement de biocapteurs. Par exemple, afin de déterminer si un patient sera atteint du cancer de la prostate, il faut déterminer le niveau de concentration de la PSA²² (*prostate-specific antigen*) dans le serum de ce dernier. Les biocapteurs permettent de simplifier l'instrumentation associée à ces mesures, tout en augmentant la rapidité et la simplicité de mesure.

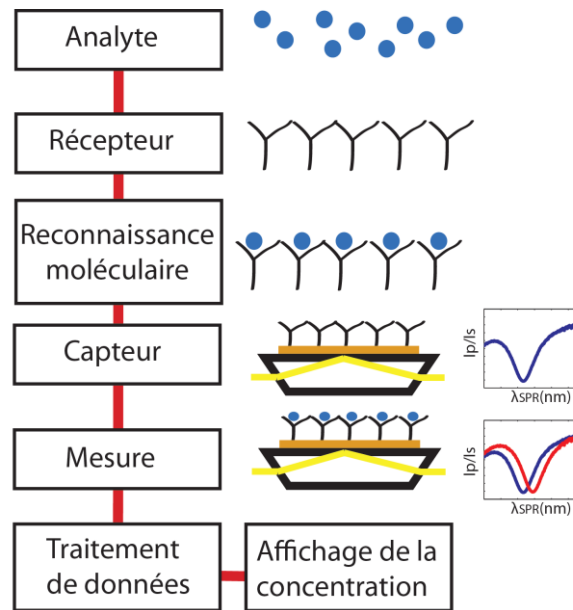


Figure 1.8 : Diagramme du principe de fonctionnement d'un biocapteur.

1.3.2 Applications des biocapteurs

Les biocapteurs sont utilisés dans de nombreux domaines ; analyse cliniques, contrôle environnemental, design de drogues, ingénierie biomoléculaire, recherche spatiale et militaire, industrie automobile et industrie alimentaire. Présentement, en 2012, le marché économique des biocapteurs est chiffré à 6,1 milliards US\$²³. Une projection permet d'estimer à environ 12 milliards US\$ le marché d'ici 2015. Environ 70% des parts de marché sont séparées entre l'Europe et l'Amérique du Nord. La progression économique de ces appareils est due à une commercialisation de ces derniers pour qu'ils soient accessibles aux consommateurs. Le soin des patients requière un instrument simple d'utilisation, efficace, portable, à prix abordable lui permettant d'effectuer idéalement un diagnostic

complet de son bilan de santé (e.g : gaz du sang, électrolytes, métabolites et glucose). C'est donc relié à tout cet intérêt économique et sociologique que des milliers de scientifiques travaillent tant au niveau académique ou industriel afin de développer des biocapteurs à la fine pointe de la technologie.

L'exemple phare des biocapteurs est le glucomètre. Le glucomètre sert à mesurer les concentrations de glucose dans le sang ; un instrument essentiel aux personnes atteintes du diabète. Ce type d'instrument est basé sur une réaction²⁴ entre une enzyme (l'oxydase de glucose) et le glucose produisant du peroxyde d'hydrogène qui est ensuite oxydé par une électrode. La quantité de peroxyde d'hydrogène oxydé est proportionnelle à la quantité de glucose, ce qui permet d'effectuer un dosage. Le glucomètre est commercialisé par des dizaines de compagnies et représente à lui seul 1,3 milliard des revenus générés²⁵ aux États-Unis par les biocapteurs en 2012.

Un autre biocapteur très populaire est celui permettant d'effectuer des tests de grossesse. Lorsqu'une femme est enceinte, son urine contient une grande concentration d'hormone gonadotrophine chorionique (*HcG*). Pour ce test, le HcG est reconnu spécifiquement à l'aide d'une séquence complémentaire de paire de brins d'ADN. Le HcG est ensuite capté par un autre récepteur d'ADN qui lui est spécifique auxquels des nanostructures²⁰ d'or lui sont attachés (essai sandwich). Si la femme est enceinte, la détection du HcG par les bases complémentaires d'ADN présent sur les nanoparticules d'or produira un changement d'indice de réfraction générant une réflexion de la lumière rouge, les NP d'or agiront ainsi comme un miroir. Si cette dernière n'est pas enceinte, la lumière réfléchi sera bleue ou d'un motif quelconque puisque les NP d'or ne sont pas adsorbé à la surface du senseur. Ce biocapteur est basé sur le principe des plasmons de surface localisé (*localized surface plasmon resonance, LSPR*), qui sera discuté à la prochaine section.

1.3.3 Avantages et désavantages de la SPR pour la biodétection

Pour continuer, il existe une multitude de méthodes analytiques permettant d'effectuer de la biodétection. La SPR est une de ces techniques qui est en pleine effervescence grâce à ses nombreux avantages¹. Premièrement, la SPR est une méthode versatile permettant l'analyse d'une grande gamme de composés biologiques, l'important est d'avoir l'élément de reconnaissance associé aux analytes. Tel que mentionné précédemment, le signal analytique en SPR (λ_{SPR}) correspond au déplacement bathochromique de la bande plasmonique lorsqu'il y a une augmentation de l'indice de réfraction à l'interface entre le film d'or et le diélectrique (figure 1.9). Ainsi, il n'est pas nécessaire que l'analyte possède des propriétés optiques caractéristiques tel que d'émettre de la fluorescence ou d'absorber fortement la lumière à certaines longueur d'onde pour qu'il soit détecté. La SPR est donc une technique ne nécessitant aucun marquage de molécule ; ce qui simplifie énormément les étapes de manipulations et évite la modification de l'analyte. Une biodétection en SPR se fait donc rapidement, en temps réel et possiblement plusieurs fois pour un même capteur si celui-ci est régénérable.

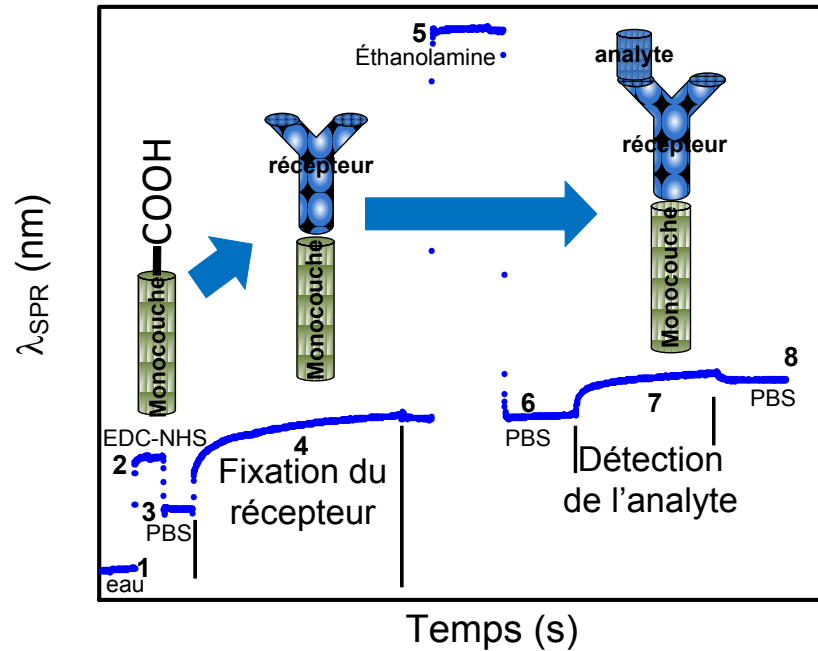


Figure 1.9 : Exemple de biodétection en SPR d'un analyte par un récepteur immobilisé sur la surface d'un film d'or. Les étapes 1 à 3 servent à fonctionnaliser le capteur par une chimie d'EDC-NHS avant la fixation du récepteur (étape 4) sur la monocouche auto-assemblés (e.g: 16-MHA) du capteur. L'étape 5 sert à défonctionnaliser les molécules de la monocouche auto-assemblés n'ayant pas réagi avec un récepteur avec de l'éthanolamine. L'étape 6 est un rinçage avec une solution de PBS afin de déloger l'éthanolamine de la fluidique. La détection de l'analyte est effectué (étape 7) et le détachement de ce dernier par un rinçage final avec du PBS (étape 8). Ce type de mesure cinétique est davantage détaillé au chapitre 3.

Une chimie de surface adaptée pour la reconnaissance spécifique d'analyte permettrait de détecter directement dans une matrice complexe (e.g: du sang) le biomarqueur désiré. Cependant, une des limitations actuelles de la SPR provient de l'adsorption non spécifique de composés interférents à la surface du capteur. En effet, la SPR est une technique qui mesure uniquement les propriétés extrinsèques des biomolécules. Le déplacement en longueur d'onde associé à l'adhésion d'une biomolécule

n'est pas une information qualitative. Ce faisant, il est impossible de distinguer la présence d'un analyte ou d'un interférent dans le signal SPR. Ainsi, cette adsorption non spécifique²⁶ peut générer la présence de signaux faux positifs; ce qui peut donc avoir un impact négatif sur la spécificité du récepteur pour la détection de l'analyte. Ainsi, de nombreux groupes de recherche travaillent afin de synthétiser des monocouches auto-assemblées (*self-assembled monolayer, SAM*) permettant de diminuer cette adsorption d'interférents. Plusieurs études ont été effectuées sur ce sujet dans le groupe de recherche Masson. En effet, des recherches menés par O.R. Bolduc²⁷ ont permis de déterminer que des peptides immobilisés sur la surface réduisent énormément l'adsorption non spécifique par rapport aux SAM (Polyéthylène glycol (PEG) ou l'acide 16-mercaptohexadécanoïque (16-MHA)) disponible commercialement. D'autres SAMs, tels que des liquides ioniques²⁸, ont aussi beaucoup de potentiel afin d'améliorer l'activité des protéines lors d'une biodétection ; ce qui augmenterait la sensibilité de la méthode. Les polymères zwitterioniques de carboxybétaines²⁹ permettent aussi de diminuer l'adsorption non spécifique d'interférents tout en étant résistant à long terme à des contaminations bactériologiques.

Une des grandes limitations actuelles de la SPR est la difficulté³⁰ d'effectuer du *multiplexing* ; c'est à dire la capacité de détecter plusieurs analytes en simultanée. En effet, l'adaptation d'une biodétection en SPR par criblage à haut débit est nécessaire pour transférer cette technique dans le secteur biomédical. Une autre limite de la SPR proviendrait de sa faible efficacité à détecter des biomolécules ayant de petites masses molaires (< 1 kDa). La résonance des plasmons de surface localisés (*localized surface plasmons resonance, LSPR*) est une méthode qui pourrait répondre à certains défis exposés précédemment. Par exemple, il est possible de multiplexer les biocapteurs LSPR pour effectuer l'analyse de plusieurs biomolécules simultanément³¹.

1.4 Résonance des plasmons de surface localisés

1.4.1 Théorie

La résonance des plasmons de surface localisés est un phénomène localisé d'oscillation collective³² d'électrons à la surface d'une nanoparticule d'or ou d'argent.

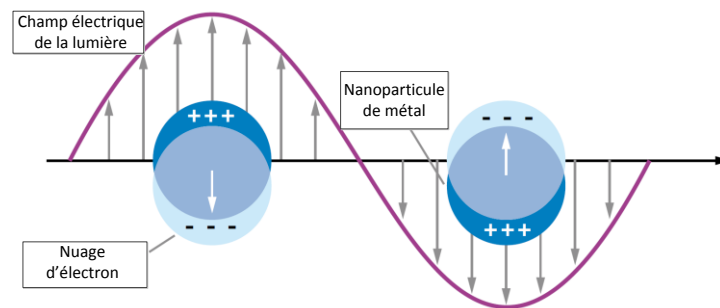


Figure 1.10 : Schéma de l'excitation des plasmons de surface localisés par les photons³².

Si la lumière de la source d'excitation interagit avec la nanoparticule (figure 1.10) il y aura absorption et diffusion des photons à certaines longueurs d'onde. Pour ce faire, la longueur d'onde de la lumière doit être plus grande que la taille de la nanoparticule. Ainsi, le plasmon oscillera localement autour de la nanoparticule à une fréquence appelée le LSPR. Tout comme en SPR, les plasmons de surface localisés (*localized surface plasmons, LSP*) sont sensibles à des variations locales d'indice de réfraction du milieu permettant d'effectuer de la biodétection. Un avantage de la LSPR par rapport à la SPR est qu'il suffit de diriger le faisceau lumineux en transmission pour exciter les LSP, donc ne nécessite pas de prisme. Un montage en transmission UV-Vis est donc adapté pour effectuer ces mesures. Par contre, la sensibilité en solution des capteurs LSPR est beaucoup plus faible qu'en SPR. Mais, lorsqu'il s'agit d'adsorber des biomolécules à la surface des capteurs, les deux techniques offriraient la même sensibilité³³. Ce qui s'explique par le fait que le champ électrique généré par les LSP est très intense et confiné dans un petit champ de détection. La distance de pénétration des plasmons (SPR ou LSPR) correspond à la distance latérale

depuis la surface du capteur (e.g: film d'or, NP d'or) que le champ électrique plasmonique est capable de sonder. En SPR, en utilisant la configuration de Kretschmann, cette distance de pénétration est évaluée à environ 200-300 nm, dépendamment du métal et de l'angle d'excitation. En LSPR, la distance de pénétration de nanostructures est estimée à 5-15 nm. C'est un concept qui est important à considérer lorsqu'il s'agit de choisir une interaction biologique à analyser en plasmonique. En SPR, les analytes occupent qu'une toute petite fraction du grand champ plasmonique rendant difficile leur détection. C'est le principe inverse en LSPR, lors d'une biodétection, si le récepteur occupe toute la distance pénétration; la détection de l'analyte sera faiblement perçue par le transducteur. Ainsi, de plus en plus de groupes de recherche optimisent leurs nanostructures selon la distance de pénétration³⁴⁻³⁶ du champ plasmonique. La majorité des études effectuées utilisent le modèle mathématique (voir équation 1.3) de Jung¹⁷ afin de déterminer ce volume de pénétration. De ce fait, plus la taille de la molécule (e.g: récepteur ou analyte) adsorbé à la surface augmente, plus $\Delta\lambda$ augmentera de façon logarithmique pour finalement plafonner lorsque d est plus grand ou égal à l_d . D'un point de vue expérimental, ceci peut être effectué en fixant des couches d'une épaisseur connue d'un composé s'attachant à la surface du capteur (Section 1.9). En somme, une biomolécule comblera davantage d'espace à l'intérieur d'un champ plasmonique localisé ayant une petite distance de pénétration. Ainsi, la technique LSPR sera plus sensible aux processus d'adsorption que la technique SPR.

La fréquence de résonance de la nanostructure dépend de la forme, de la grosseur, du type de métal et de l'indice de réfraction du milieu diélectrique. Il existe une multitude de nanostructures, en voici quelques exemples : nanosphères, nanotriangles, nanofils, nanobâtonnets, etc. Une optimisation³⁷ de la géométrie de ces structures permet de générer des LSP de forte intensité offrant une sensibilité à la surface optimale.

Il est possible de profiter du phénomène LSP des nanostructures en les couplant avec des techniques d'analyses de surface tel que la SPR et le Raman. Par exemple, le déplacement en longueur d'onde associé à une biodétection en SPR par un film d'or peut être amplifié³⁸ en fixant une nanoparticule d'or sur l'analyte à détecter lorsque ce dernier à une faible concentration ou une basse masse. Cette amplification proviendrait d'un

couplage entre les LSP de la nanoparticule d'or et les SP du film d'or. L'amplification peut aussi provenir du fait que la nanoparticule d'or occupe un grand volume du champ de détection du senseur SPR. Par exemple, le marquage d'un analyte avec des nanoparticules d'or permet d'améliorer de 1000 fois la sensibilité³⁹ de ce dernier en SPR par rapport au même analyte non marqué.

Le phénomène de LSPR est à la base du concept de diffusion Raman exaltée en surface (*SERS, surface enhanced Raman scattering*). Le SERS est une technique d'analyse de surface très sensible étant capable de détecter et d'identifier de faibles concentrations d'analytes⁴⁰. Le SERS a de nombreux avantages ; possibilité d'analyser des solutions aqueuses, ne nécessite presque aucune préparation d'échantillons, est robuste, peut être utilisé dans différents environnements et génère d'étroites bandes spectrales uniques aux vibrations moléculaires de l'analyte. Le phénomène SERS est généré par des structures plasmoniques⁴¹ rugueuses améliorant la dispersion Raman via leurs champ électromagnétique. Par exemple, les nanoparticules permettent d'amplifier le signal local Raman par le biais de "*hot spot*"; des régions où le champ plasmonique de grande intensité est confiné. Il y a énormément de recherches qui s'effectuent afin de générer des structures qui offrent des facteurs d'amplifications de plus en plus grand via l'optimisation de ces "*hot spot*". Le SERS est d'ailleurs une méthode analytique en plein essor depuis la dernière décennie⁴². Cette technique possède le potentiel d'être utilisée pour faire le dépistage rapide de composés toxiques ou explosifs. Les limitations actuelles du SERS proviennent de la difficulté à créer des structures de grande sensibilité qui sont à la fois reproductibles d'un point de vue spectral et physique. Ce faisant, la majorité des substrats SERS génèrent des erreurs relatives⁴³ d'environ 15% dans le meilleur des cas. Ainsi, des structures périodiques de grande sensibilité étant reproductible à grande échelle pour une production de masse sont de plus en plus étudiées pour pallier à ces problèmes.

1.5 Les réseaux de nanotrous

Les prochaines sections sont axées sur le coeur du mémoire ; c'est-à-dire la compréhension théorique reliée aux réseaux de nanotrous ainsi que les applications et les méthodes de fabrication de ces senseurs.

1.5.1 Historique

En 1998, Thomas Ebbesen⁴⁴ découvrit un phénomène optique se nommant la *transmission optique extraordinaire* de la lumière à travers un mince film d'argent perforé de nanotrous. À l'époque, cette observation bouleversa une branche de la physique optique classique. En effet, la théorie de Bethe⁴⁵ stipulait que l'intensité d'un faisceau lumineux diffracté traversant un trou soit faiblement transmise.

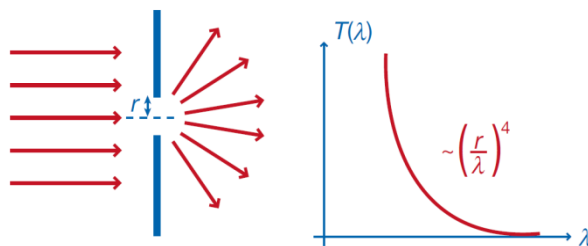


Figure 1.11 : Diffraction de la lumière à travers un trou et spectre de transmission selon la relation $T(\lambda)$ et $(r/\lambda)^4$ de Bethe.⁴⁶

Donc, selon la théorie de Bethe, un photon se dirigeant à une longueur d'onde plus grande que le rayon du trou ($\lambda > r$) générerait un spectre lumineux de faible intensité (figure 1.11). Ainsi, Ebbesen mettra en doute cette théorie suite à l'obtention d'une double amplification du signal transmis à travers un réseau de nanotrous. Ce dernier estima que l'effet de périodicité du réseau devait être grandement responsable de ce nouveau phénomène qu'il nomma la transmission exaltée (*extraordinary optical transmission, EOT*). Cependant, à l'époque, la cause réelle de l'amplification du signal, du rôle des trous et du réseau ne lui était pas complètement connue. Il suggéra que son observation de l'EOT était due à un couplage entre la lumière et les plasmons de surface⁴⁷ (*surface plasmons*,

SPs). Ce couplage fait en sorte que le signal optique de réseaux de nanotrous est sensible aux variations d'indices de réfraction du milieu.

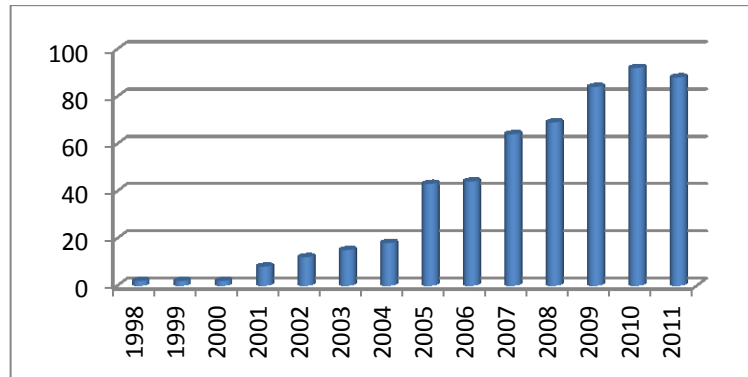


Figure 1.12 : Progression depuis 1998 du nombre de publications portant sur les réseaux de nanotrous (Source Internet : Web of Knowledge, mot clé : Nanohole arrays, janvier 2012).

Seulement quelques groupes de recherches s'intéressent aux réseaux de nanotrous, l'un des plus prolifique est celui d'Alexandre Brolo, de l'Université de Victoria. Ce nombre limité de groupes s'explique par le fait que les nanotrous sont un domaine de recherche pointue de la plasmonique figurant parmi un large éventail de nanostructures et de la difficulté de fabriquer ces réseaux sans utiliser les techniques de nanofabrication. Comme le témoigne la figure 1.12, l'étude des réseaux de nanotrous est en émergence depuis le début des années 2000. Ainsi, Ebbesen a pavé la voie à de nombreuses recherches portant sur les réseaux de nanotrous, tant au niveau de la physique plasmonique, qu'en chimie analytique biomédicale.

1.5.2 Théorie de la transmission exaltée

Cela fait bientôt 14 ans que le phénomène EOT fut découvert et le fonctionnement détaillé du principe est encore débattu. En effet, plusieurs mécanismes¹¹ ont été proposés afin d'élucider le mystère. Par contre, tous conviennent que les plasmons de polaritons de

surface ont un rôle à jouer dans l'EOT. Ce qu'il faut comprendre, c'est qu'un couplage se produit entre les photons incidents et les SPPs à surface du réseau de nanotrous métallique, générant ainsi une amplification de la lumière transmise à travers le senseur.

Comme il fut expliqué à la section 1.2.2, pour avoir une résonance, le vecteur d'onde de la lumière incidente doit être égal à celui du SPP. Ainsi, il faut augmenter le "momentum" du vecteur d'onde des photons; ce qui peut être fait par le biais d'un réseau⁴⁶.

$$k_{SP} = k_0 \sin \theta + i \left(\frac{2\pi}{P} \right) \quad (1.4)$$

La fréquence du couplage du PS (k_{sp}) avec la lumière (k_0) dépendra donc de la périodicité (P) du réseau, de l'angle d'incidence de la lumière (θ) et de l'ordre de propagation (i) du plasmon. Lorsque la lumière incidente atteint la surface du réseau, cette dernière est diffractée par le réseau de trous générant un champ électrique stationnaire intense de SPP s'appelant les ondes SPP de Bloch (*Bloch wave surface plasmon polaritons, BW SPP*). Les BW SPP sont des ondes électromagnétiques correspondant à une superposition des SPP propagatifs⁴⁸. Ce type de plasmon est d'ailleurs exclusif aux structures périodiques. C'est grâce au BW SPP que la lumière peut être transmise et amplifiée à travers un réseau métallique. Le physicien Anatoly Zayats⁴⁹ explique ce phénomène comme une diffraction des SPP en lumière par les réseaux de nanotrous. Ce dernier propose quelques mécanismes plausibles responsables de l'EOT. Le premier implique le "*tunnelling*" de la lumière résonante à travers un côté du réseau jusqu'à l'autre extrémité via différents états de BW SPP. Il est aussi possible d'obtenir un couplage entre des BW SPP présents sur les 2 interfaces donnant lieu au "*tunnelling*" des photons à travers les trous, générant une amplification de la lumière aux fréquences de couplage des BW SPP. Une autre hypothèse pour l'EOT, serait l'excitation de BW SPP et de plasmons de surface localisés. D'ailleurs, il est plausible qu'un couplage de LSP entre les interfaces contribue à la transmission exaltée de la lumière. La contribution de chaque mécanisme dépend de la structure du réseau, de la composition métallique, de l'angle d'incidence de la lumière et de l'épaisseur du métal. Ainsi, dû à la complexité du signal EOT, il est possible que ce dernier soit dû à de multiples couplages entre plusieurs modes plasmoniques⁴⁸ de BW SPP et de LSP.

En somme, les mécanismes sont tous en accord avec le fait que les BW SPP excités par la lumière soient grandement responsables du EOT. Il est possible d'estimer la longueur d'onde des photons ayant été couplés avec les BW SPP à l'aide de l'équation 1.5 pour des réseaux de nanotrous avec un arrangement carré des trous.

$$\lambda = \frac{P}{\sqrt{i^2 + ij + j^2}} \sqrt{\frac{\varepsilon_{Au}(\lambda)\varepsilon_d}{\varepsilon_{Au} + \varepsilon_d}} \quad (1.5)$$

La périodicité (P) correspond à la distance entre 2 trous, ε_{Au} et ε_d sont respectivement les constantes diélectriques de l'or et du milieu, i et j sont des constantes de résonance de Bragg. Les constantes de résonance de Bragg (i et j) correspondent à l'orientation (x,y) d'une rangée de nanotrous par rapport à la réflexion ou à la diffraction du BW-SPPs qui s'est propagé dans leur direction⁴⁹. Chaque mode d'orientation est associé à un différent couplage avec le réseau générant de multiples bandes plasmonique ayant chacune une efficacité (signal et sensibilité) variable. De l'équation 1.4, il faut constater que plus P augmente, plus la longueur d'onde (λ) des bandes plasmoniques augmentent ; ce qui sera exposé au prochain chapitre. Puisque λ est relié à ε_d , l'EOT des réseaux de nanotrous peut être utilisé comme technique d'analyse de surface similaire à la SPR ou la LSPR.

Le ratio diamètre/périodicité (d/p) permet de caractériser physiquement les réseaux de nanotrous pour fins de comparaison structurale. Par exemple, une structure ayant un ratio d/p de "0" correspond à un film continu tandis qu'un ratio d/p de "1" est associé à un réseau de nanotriangles. Ce faisant, plus le ratio d/p diminue, plus le diamètre des trous du réseau diminue.

Une étude Raman⁵⁰, réalisée par le groupe de recherche Masson, a conclu que le champ plasmonique se localisait à l'intérieur des trous lorsque le ratio diamètre/périodicité est petit (<0,5 d/p). Les images Raman (figure 1.13), permettent de déterminer l'intensité et l'emplacement du signal plasmonique pour différents ratios d/p de réseaux de nanotrous. Sur ces images, l'intensité raman des zones est proportionnelle à l'intensité du champ électrique des plasmons qui est représentés par un gradient de couleurs orangés. Ces images raman sont d'une grande utilité afin de caractériser l'intensité du champ plasmonique par rapport à la structure du capteur. Pour des réseaux de nanotrous, le fait de diminuer le ratio

d/p localise le champ plasmonique à l'intérieur des trous ($d/P < 0,5$). Plus le ratio d/P augmente, plus le champ électrique est davantage délocalisé vers l'extérieur des trous. Ceci peut être représenté comme une expansion du champ plasmonique vers le milieu diélectrique. Pour une zone de transition nanotrous-nanotriangle (d/P de 0,74-0,63) l'intensité du signal raman est optimale, ce qui signifie que le champ électrique est grandement confiné sur les bordures des trous et entre ces derniers (voir figure 1.13).

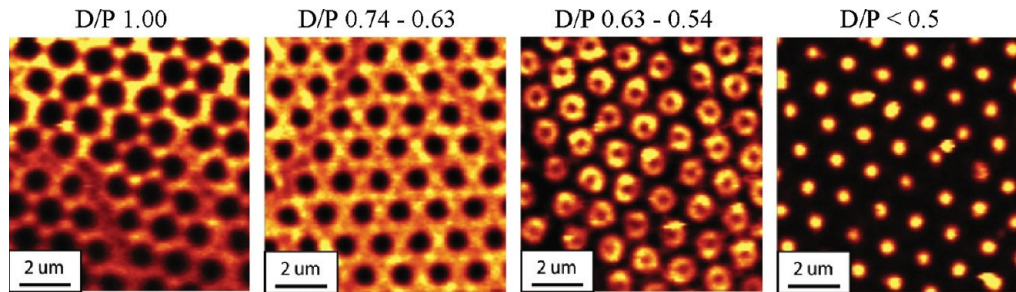


Figure 1.13 : Images Raman de réseaux de nanotrous pour différents ratios d/p décroissant de gauche à droite⁵¹.

Cette dispersion du champ électrique suite à la variation du diamètre des trous a un impact sur la sensibilité des réseaux de nanotrous. En effet, une variation du confinement du champ plasmonique signifie qu'il y a des interactions différentes lors du couplage de la lumière avec le réseau. Donc, si le couplage plasmonique diffère, le signal et la sensibilité du capteur seront affectés. Cette relation entre la sensibilité (S) et les propriétés du capteur de réseaux de nanotrous fut exposé par Pang⁵² (Équation 1.6).

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} = \frac{P}{\sqrt{i^2 + j^2}} \sqrt{\left(\frac{\epsilon_m}{n^2 + \epsilon_m}\right)^3} \quad (1.6)$$

Cette équation démontre que la sensibilité du capteur est dépendante de la périodicité (P), du mode de diffraction de Bloch (i, j) et de la composition métallique (ϵ_m) du réseau. Cependant, en aucun cas la relation indique que la sensibilité du réseau est affectée par la variation du diamètre des trous. La relation de Pang fut contestée par des recherches du groupe Masson qui démontrèrent que la sensibilité des réseaux de nanotrous peut être optimisée en ajustant le diamètre des trous⁵³. La sensibilité des réseaux de

nanotrous, lorsqu'excités dans le visible, est situé entre 200 et 700 nm/RIU dépendamment du ratio d/p. À titre de comparaison, la sensibilité des réseaux de nanotrous est dans le même ordre de grandeur que d'autres structures plasmoniques, par exemple ; les nanotriangles⁵⁴ (190 nm/RIU), les nanocoquilles⁵⁵ (500 nm/RIU), les nanosphères⁵⁶ (90 nm/RIU) et les nanobatônnets⁵⁷ (500 nm/RIU). De ce fait, une optimisation du diamètre et de la périodicité des réseaux de nanotrous permet d'élaborer des structures ayant des sensibilités supérieures ; ce qui sera l'objet du chapitre 2.

Pour ce mémoire, l'intérêt principal lié au EOT, est la possibilité d'exciter les SP en transmission directe puisque ces derniers sont sensibles aux variations d'indice de réfraction du milieu. Il est possible d'exciter⁵⁸ les réseaux de nanotrous en SPR à l'aide d'un prisme par interrogation de longueur d'ondes, ce qui pourrait donner lieu à des conditions de résonance entre un mode localisé et propagatif.

1.6 Couplage SPR et LSPR

Tel que mentionné précédemment, les matériaux plasmoniques ont de nombreuses applications dans divers domaines de recherche (e.g : biocapteurs, spectroscopies d'exaltation de surface). Ce faisant, dû à l'intérêt scientifique croissant envers les matériaux plasmoniques, il est important de bien comprendre et de contrôler aisément les effets plasmoniques. Le contrôle des propriétés plasmoniques s'effectue en modifiant la forme de la structure plasmonique¹. Ainsi, l'excitation d'une nanostructure génère un champ électromagnétique de grande intensité puisqu'il est confiné dans un petit espace. C'est un effet différent qui est observé lorsqu'un film d'or est excité en SPR ; le champ électromagnétique des PS se propage sur une aire de quelques μm^2 . Chaque mode génère des signaux plasmoniques différents ; soit le LSPR pour les nanostructures et la SPR pour les films d'or. La méthode d'excitation de ces structures, soit par transmission directe ou couplé à un prisme, dépend de leurs propriétés plasmoniques. L'incorporation de formes nanométriques sur une surface macroscopique permet l'excitation simultanée⁵⁹ de plasmons propagatifs et localisés². Le couplage entre les deux modes permet d'amplifier la réponse SPR de ces métamatériaux par rapport à un film d'or traditionnel. Ce phénomène fut

d'ailleurs l'objet de la thèse⁶⁰ de Ph.D Ludovic S. Live qui le démontra empiriquement à l'aide de réseaux de microtrous⁶¹ ayant une grande sensibilité aux variations d'indices de réfraction.

Une étude approfondie de ces microstructures via des tests Raman et des simulations ont confirmé que le plasmon localisé proviendrait de l'intérieur des trous et le plasmon propagatif se propagerait entre les microtrous. L'étude de la dispersion plasmonique a démontré que l'angle d'excitation a un énorme impact sur le couplage entre les plasmons localisés et propagatifs en SPR¹⁹. En effet, certains angles d'excitation génèrent des conditions de couplage favorable où la sensibilité en solution du capteur est grandement amplifiée (figure 1.14). De plus, les conditions de couplage SPR-LSPR sont aussi influencées par l'indice de réfraction du milieu diélectrique, ce qui est exposé à la figure 1.13. Pour ce cas, le facteur d'amplification correspond au nombre de fois que la sensibilité en solution du réseau de microtrous est supérieure à celle d'un film d'or.

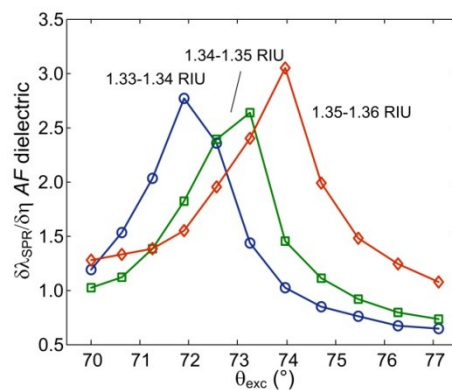


Figure 1.14 : Facteur d'amplification de la sensibilité en solution de réseau de microtrous par rapport à un film d'or selon l'angle d'excitation pour différentes variations d'indice de réfraction.¹⁹

Des tests de biodétection de l'IgG avec les microtrous à un angle de $72,6^\circ$ (proche de celui du prisme dove de $72,8^\circ$) ont démontré le potentiel de ces structures pour être utilisées comme biocapteur. Les réseaux de microtrous permettent de générer un facteur

d'amplification de la sensibilité en surface de trois fois par rapport au film d'or. Ces recherches pavent la voie à une nouvelle génération de matériaux plasmoniques qui seront un jour implantés dans l'instrumentation SPR moderne.

Ces recherches ont motivés l'étude du comportement plasmonique des réseaux de nanotrous par rapport au couplage entre les plasmons propagatif et localisés. Cette étude est d'ailleurs l'objet du chapitre 3 de ce mémoire. Ce sera d'ailleurs le but de comparer les deux méthodes d'excitations des PS en SPR et en EOT pour une même structure de nanotrous afin d'évaluer l'influence du plasmon localisé selon les deux modes. Les recherches de Ludovic Live ont démontré que l'angle d'excitation en SPR a un impact sur le couplage entre les SP et les LSP. Dans un même ordre d'idée, pour des réseaux de nanotrous excités en transmission, l'angle d'incidence peut avoir une influence sur les conditions de résonance entre les BW-SPP et les LSP, ce qui sera démontré au chapitre 4.

1.7 Applications des réseaux de nanotrous

Les réseaux de nanotrous retiennent beaucoup l'attention dans le domaine de la plasmonique dû à leurs nombreuses applications⁶². Ces derniers sont d'ailleurs utilisés dans plusieurs domaines optiques et électriques⁶³ : circuits photoniques, filtres bande-passantes⁶⁴, interrupteur optique⁶⁵, polariseurs de sous-longueur d'onde et en tant que composante de cellules photovoltaïques⁶⁶. En effet, la majorité de ces applications s'appuient sur le phénomène d'amplification de la lumière transmise à certaines longueurs d'onde. Par exemple, les propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous permettent d'améliorer le processus de photo conversion de la lumière dans la région du rouge par rapport aux cellules solaires disponibles commercialement⁶⁶.

Les réseaux de nanotrous sont aussi étudiés pour leur capacité d'exalter le signal Raman par SERS⁶³ jusqu'à un facteur d'amplification⁶⁷ de 10^4 - 10^6 . Les réseaux de nanotrous peuvent être exploités en spectroscopie de fluorescence des plasmons de surface⁶⁸ (SPFS, *surface plasmon fluorescence spectroscopy*). La SPFS est basée sur le principe d'amplifier le signal d'un fluorophore via un couplage avec les plasmons de surface résultant de la transmission exaltée.

1.7.1 Applications futures des réseaux de nanotrous

Un intérêt majeur pour les réseaux de nanotrous est le développement de senseurs effectuant de la biodétection sans marquage par criblage à haut débit⁶⁹. Le développement d'un biocapteur capable d'effectuer du "*multiplexing*" est le but de nombreux groupes de recherches. L'adaptation d'un tel dispositif aurait un énorme impact au niveau biomédical afin de remplacer⁷⁰ les techniques modernes par une méthode davantage sensible, simple, économique et rapide. Ainsi, une plaque multi puits (figure 1.15) contenant la même structure de réseaux de nanotrous à la grandeur du dispositif permettrait d'effectuer du "*multiplexing*". Ce faisant, chaque puits correspondrait à un senseur qui est analysé en transmission à l'aide d'un lecteur à plaque multi puits. La biodétection par criblage à haut débit s'effectuerait à l'aide d'un robot pipetteur qui injecte les solutions selon la séquence de la cinétique. Les spectres en transmission des senseurs de chaque puits seraient enregistrés entre chaque étape et un logiciel informatique permet de suivre en temps réel le déplacement en longueur d'onde des bandes plasmoniques. Donc, en quelques minutes, ce serait possible de générer une courbe d'étalonnage de la protéine à analyser et de quantifier la concentration d'un inconnu. Donc, pour une plaque de 96 puits, des dizaines d'interactions pour différents systèmes biologiques pourraient être analysés en simultanée. Ce type de dispositif plasmonique serait d'une grande utilité en recherche protéomique ou pharmaceutique⁷¹ où des milliers d'interactions cinétiques de protéines doivent être étudiés. Par exemple, en recherche pharmaceutique, il serait possible d'effectuer un dépistage à grande échelle de l'efficacité d'une centaine de récepteurs biologiques pour le même biomarqueur. Dans le futur, avec une chimie de surface adaptée, un tel outil pourrait être employé afin de détecter une multitude de pathologies différentes présentes dans le sang de centaines de patients en quelques minutes.

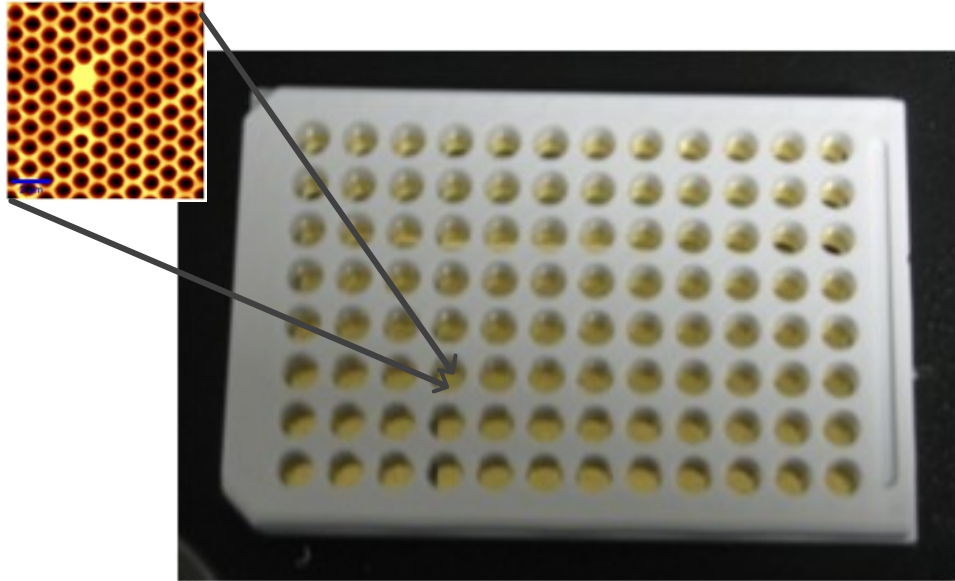


Figure 1.15 : Prototype de plaques multi puits pour des réseaux de nanotrous. Les échantillons de réseaux de nanotrous sont à l'intérieur des puits.

Pour ce faire, les techniques de fabrication des nanotrous doivent être adaptées pour la formation reproductible de ces nanostructures dans chacun des puits de la plaque multipuits. Les prochaines sections de ce chapitre s'intéresseront donc aux méthodes utilisées pour la fabrication des substrats ainsi que la caractérisation physique de ceux-ci. Les techniques ayant un rôle secondaire à travers les divers chapitres seront brièvement discutées pour fins de compréhension générale.

1.8 Méthodes de fabrication des réseaux de nanotrous

Tout d'abord, il existe une multitude de méthodes de fabrications des réseaux de nanotrous. Chaque technique dépend des besoins du groupe de recherche et de la technologie à leur disposition. En fait, il est possible d'obtenir des structures d'une extrême précision nécessitant une longue préparation ou des structures contenant beaucoup de défauts, mais très rapides à produire. Tout résulte de l'objectif global de la recherche, si le

but est d'effectuer de l'optimisation de structure, l'idéal est une technique rapide permettant de comparer un large éventail de possibilités. Si l'intérêt est de vérifier des équations théoriques de dispersion du vecteur d'onde SPP et corroborer des valeurs de simulations, il est préférable de travailler avec des structures à haute précision.

1.8.1 Fabrication par source ionique focalisé, lithographie à faisceaux d'électrons et lithographie par nanoimpression

Une source ionique focalisée (*focused ion beam, FIB*) est un instrument de pointe pour la nanofabrication de structures métalliques (figure 1.16). C'est une technique offrant une très grande précision de l'ordre de 5-10 nm⁷². Le principe est de diriger un faisceau d'ions focalisés, généralement du gallium, sur une surface qui sera pulvérisé par ces derniers⁷³. L'épaisseur et la taille du motif désiré sont contrôlées à l'aide d'un programme qui gère le parcours de la source. Par la suite, il suffit de répéter le patron de façon périodique pour une aire donnée.

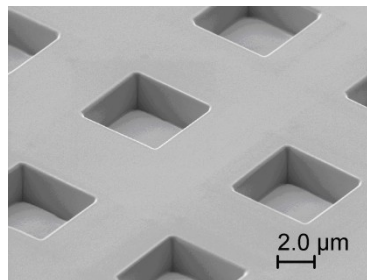


Figure 1.16 : Image SEM d'une microstructure fabriqué par un FIB⁷⁴.

Une technique comme la lithographie à faisceau d'électrons (*electron beam lithography, EBL*) offre aussi les mêmes avantages⁷⁵ que le FIB. La différence est que le faisceau dirigé pour construire les formes est constitué d'électrons. Bien que ces deux méthodes soient excessivement précises, la conception des structures est très lente ; soit plusieurs heures pour obtenir une surface de 100 μm x 100 μm. Ainsi, les mesures spectroscopiques doivent être faites par microscopie, ce qui complique le montage expérimental. De plus, le coût de production d'un échantillon est élevé et les instruments

sont excessivement dispendieux. Ce faisant, ces deux techniques ne sont pas viables⁷⁶ pour effectuer une production de masse de nanostructures.

Une autre méthode de fabrication qui croît en popularité est la lithographie par nanoimpression (*nanoimprint lithography, NIL*). Le principe est d'imprimer une structure périodique dans un polymère à l'aide d'un moule qui agit en tant qu'étampe (figure 1.17). Une fois que l'étampe est retirée, le polymère conserve la forme désirée puis une couche de métal est ensuite déposée (la déposition de métaux sera discutée ultérieurement).

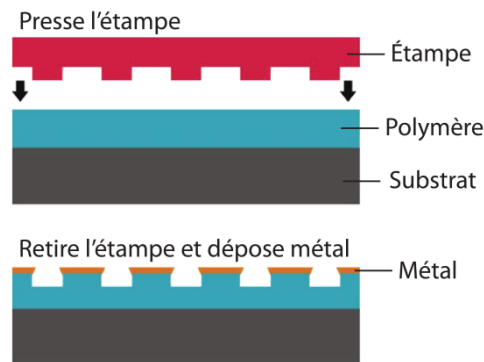


Figure 1.17 : Schéma du principe de fabrication de réseaux de nanotrous par NIL.⁷⁷

Cette méthode permet l'élaboration de structures avec une grande précision tout en permettant d'effectuer du criblage à haut débit⁷⁷. Le coût de fabrication des échantillons en NIL est beaucoup moins élevé qu'en FIB ou EBL. C'est une technique qui semble être le choix idéal pour la production de dispositifs nanostructurés à grande échelle. L'inconvénient principal du NIL est la nécessité d'avoir des moules de silicone adaptés pour chaque motif. Le problème c'est que ces moules coûtent relativement cher et doivent être produits par FIB ou EBL. Ce faisant, si le but est d'élaborer diverses structures ; cela nécessite plusieurs moules, donc beaucoup d'argent. En somme, cette méthode est très efficace lorsqu'il s'agit d'effectuer une production de masse du même type de structure, mais inefficace pour de l'optimisation.

1.8.2 Fabrication par lithographie de nanosphères

La lithographie par nanosphères⁷⁸ (*nanosphere lithography, NSL*) est la technique qui fut utilisée dans le cadre des recherches de ce mémoire pour fabriquer les réseaux de nanotrous. C'est une méthode basée sur la formation d'un masque de billes de polystyrène à la surface d'un substrat (e.g. : lamelle de verre). La géométrie du masque permet de contrôler le diamètre et la périodicité des trous.

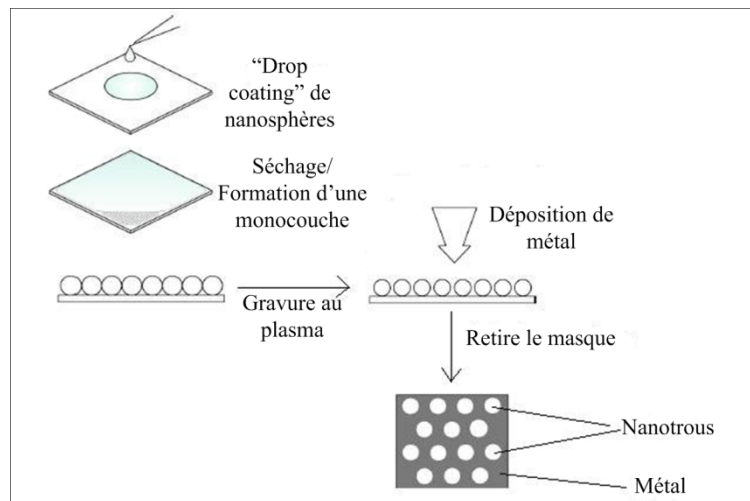


Figure 1.18 : Principe de formation d'un réseau de nanotrous par lithographie de nanosphère.

Pour cette technique, une solution d'eau, d'éthanol et de billes de polystyrène est déposée sur une lamelle de verre propre et sèche (figure 1.18). La lamelle est généralement recouverte d'un pétri afin de permettre un séchage lent générant la formation d'une zone de monocouche auto-assemblée de billes. Le nom de cette méthode est le « *drop coating* »⁷⁹, une technique de lithographie par colloïdes, une sous-classe de la NSL. Le masque de polystyrène est ensuite gravé (voir paragraphe ci-dessous), puis une couche d'or est déposée. Subséquemment, les billes sont retirées par ultra sonification, générant un patron de réseaux de nanotrous en or. L'intérêt de cette méthode est qu'elle est rapide, n'est pas dispendieuse et permet de former de larges zones structurées ($\sim 1 \text{ cm}^2$). L'optimisation de la périodicité du masque s'effectue en utilisant des billes de diamètres différents (360 nm à

3200 nm). Ce faisant il est possible de créer une grande gamme de réseaux de nanotrous ayant différents diamètres et périodicités. Par contre, il faut tenir compte qu'en NSL, les réseaux contiennent souvent beaucoup d'imperfections, ce qui peut avoir un impact sur la qualité du signal plasmonique.

La taille des billes est réduite par gravure d'ions réactifs⁸⁰ (*reactive ion etching, RIE*). Le principe de la RIE est de générer un plasma⁸¹ d'oxygène à l'intérieur d'une chambre sous vide dans laquelle les échantillons sont insérés. Un champ électrique de radio-fréquence (RF) ionise les molécules gazeuses formant ainsi un ensemble de radicaux d'oxygène et d'électrons libres. Les électrons libres vont entrer en collision avec d'autres particules, générant une réaction en chaîne qui résulte en un plasma stable. Le RIE permet d'attaquer physiquement et chimiquement un matériau organique (e.g : polystyrène) en arrachant ses atomes. Le type de gaz utilisé, le débit du gaz, le vide de la chambre et la puissance du champ électrique sont tous des facteurs⁸² ayant un impact sur l'efficacité de la gravure. Il suffit de conserver tous ces paramètres fixes et d'uniquement modifier le temps de gravure pour obtenir des structures de diamètres variables. Conséquemment, pour des réseaux de nanotrous, plus un masque est gravé, plus les trous seront petits. Inversement, s'il n'y a aucune gravure, un patron de réseau de nanotriangles sera formé (figure 1.19).

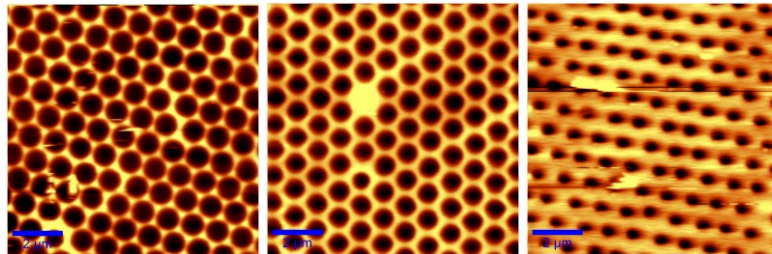


Figure 1.19 : Images AFM exposant la variation du ratio d/p de réseaux de nanotrous d'or de 1000 nm de périodicité. De gauche à droite, les ratios d/p sont de 0,76, 0,61 et 0,43.

Par la suite, une fois le masque gravé, de minces couches de métaux y sont déposées à l'aide d'un « *sputter coater* », une technique de pulvérisation cathodique (*sputter coating*).

Ce type d'instrument permet la déposition⁸³ de métaux tels l'or, l'argent, le chrome et le titane. Le principe de base est d'appliquer un champ électrique sur une cible métallique située sous vide dans une atmosphère riche en argon. Lorsqu'un potentiel électrique est appliqué sur la cible, l'argon ionisé est attiré par cette dernière et entre en collision avec le métal noble et le pulvérise. Cette pulvérisation de la cible métallique génèrera une condensation des ions neutres du métal sur la surface de l'échantillon.

Pour l'ensemble des structures étudiées dans ce mémoire, une mince couche de 1 nm de chrome est déposée en premier afin d'améliorer l'adhésion subséquente de l'or ou de l'argent sur le verre. Le contrôle de l'épaisseur des métaux déposés s'effectue à l'aide d'une balance de quartz intégrée à l'appareil. Pour un réseau de nanotrous, il faut déposer au moins 100-125 nm d'or pour obtenir un signal intense en transmission. Par la suite, les billes de polymères sont retirées des échantillons par sonification dans l'éthanol pour être ensuite caractérisées physiquement. La combinaison de la NSL, la RIE et la pulvérisation cathodique permet de créer rapidement une multitude d'échantillons de réseaux de nanotrous ; ce qui est l'idéal pour une étude d'optimisation de matériaux plasmoniques.

1.9 Caractérisation physique des réseaux de nanotrous

Lorsqu'il s'agit d'effectuer une étude de matériaux plasmoniques, c'est important d'avoir en sa possession des instruments afin de caractériser physiquement les structures. En tout temps, après chaque série d'échantillons, il faut contrôler le diamètre, l'épaisseur et la périodicité des trous. Ce type de mesure peut être effectué à l'aide d'un microscope à force atomique (*Atomic Force Microscopy, AFM*) ou d'un microscope à balayage électronique (*Scanning Electron Microscopy, SEM*).

1.9.1 Microscopie à force atomique

Un appareil AFM est un instrument de haute résolution capable de sonder l'épaisseur et la grosseur de micro ou de nanostructures. L'AFM permet l'étude topographique⁸⁴ de substrats via un levier (*cantilever*) auxquels une pointe (*tip*) détecte les variations topographiques d'une surface (figure 1.20).

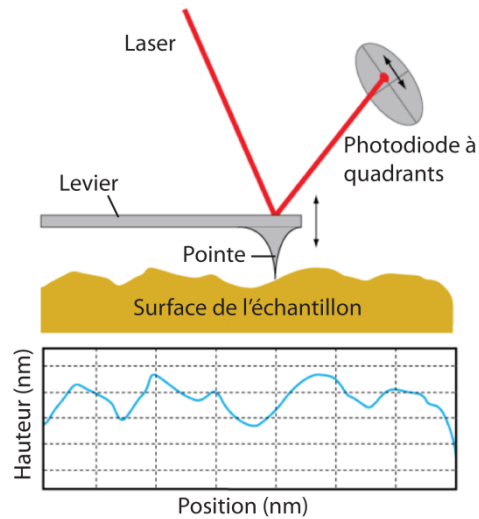


Figure 1.20 : Illustration schématique d'une analyse AFM.⁸⁵

Pour mesurer la topographie, un laser incident est dirigé sur la face opposée à la pointe et réfléchi sur une photodiode à quadrant qui mesure les variations d'intensité du laser au fur et à mesure que le levier balaie la surface. Les variations d'intensité du laser sont corrélées aux déplacements latéraux et verticaux de la pointe. La résolution latérale de l'appareil (~ 10 nm) est limitée par la taille de la pointe qui est généralement composée de silicium ou de diamant. Il est donc possible d'effectuer des images AFM correspondant à une cartographie tridimensionnelle de la surface d'une structure. L'AFM est donc essentielle dans le cadre de ces recherches pour évaluer l'épaisseur et le diamètre des nanotrous (Figure 1.21).

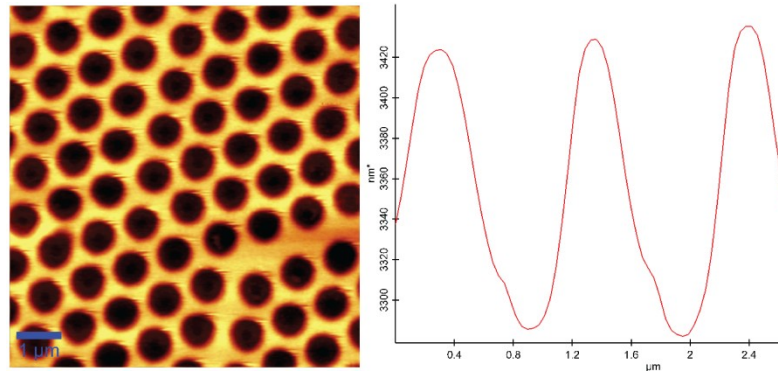


Figure 1.21 : Image AFM d'un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité et 600-650 nm de diamètre (gauche) et profondeur du réseau de nanotrous d'environ 100-125 nm d'or (droite).

1.9.2 Microscopie à balayage électronique

Un microscope à balayage électronique (*scanning electron microscopy – SEM*) permet d'effectuer une analyse bidimensionnelle de haute résolution de la surface d'un substrat (e.g : métaux, tissus biologiques⁸⁶). Le principe⁸⁷ de la SEM est de bombarder la surface de l'échantillon avec des électrons pour que ces derniers interagissent avec la matière. L'interaction électrons-matière génère des électrons secondaires qui sont réémis à de plus faible énergie (50 eV) et accélérés vers un détecteur qui capte et amplifie leur signal. Chaque zone topographique de l'échantillon sera associée à la quantité d'électrons secondaires réémis, donc du signal électrique au point d'impact. La SEM, aux conditions optimales, offre une résolution pouvant aller jusqu'à 0,1 nm. De plus, l'acquisition des images est très rapide comparativement à l'AFM. Par contre, un SEM nécessite de travailler sous vide avec un échantillon métallisé et ne permet pas d'effectuer des analyses tridimensionnelles. Pour cette étude, le SEM fut utilisé afin d'obtenir des images 2D de haute qualité des réseaux de nanotrous (figure 1.22).

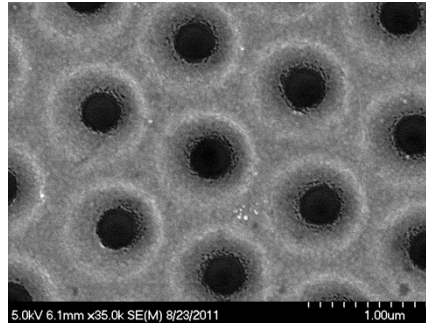


Figure 1.22 : Image SEM d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité.

1.10 Détermination de la distance de pénétration du champ plasmonique

1.10.1 Déposition couche par couche de polymères

Des polyélectrolytes, basés sur le principe de la déposition couche par couche⁸⁸ (*layer-by-layer, LBL*), peuvent être utilisés pour estimer la distance de pénétration (l_d). Le concept du LBL sera présenté en plus amples détails au chapitre 3 du mémoire. Brièvement, le principe en LBL consiste à adsorber un polymère chargé positivement sur le senseur (e.g. : film d'or), pour ensuite adsorber un polymère chargé négativement. Ces derniers interagissent de manière électrostatique pour former une bicouche polymérique. Les bicouches s'empilent les unes sur les autres. Ainsi, il est possible de mesurer le signal SPR jusqu'au moment où le champ de pénétration est saturé et que la position de la bande plasmonique plafonne (figure 1.23).

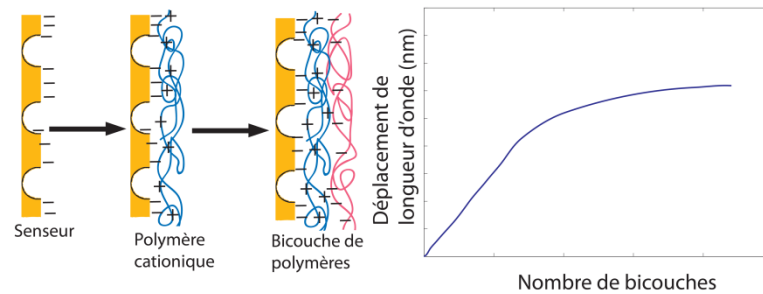


Figure 1.23 : Concept de la déposition successive de polymère cationique et anionique sur un senseur d'or et schéma du déplacement de la position de la bande plasmonique selon le nombre de bicouches.

Tous les paramètres de l'équation 1.3 reliés aux senseurs sont contrôlés, excepté l'épaisseur du film de polymère déposé. Ce faisant, si d est connue, il est possible d'estimer l_d par rapport au point de saturation de $\Delta\lambda$ à l'aide de l'équation 1.3. La l_d est calculé avec l'équation 1.3 pour les valeurs de $\Delta\lambda$ qui ont plafonné suite à l'adsorption de multiples bicouches. Il est donc essentiel de déterminer avec précision l'épaisseur d'une bicouche de polymères, car cette valeur influence grandement l'estimation de la distance de pénétration avec l'équation 1.3. De nombreuses méthodes⁸⁹ analytiques peuvent être utilisées pour estimer l'épaisseur de la couche de polymère ; microbalance à quartz (*quartz crystal microbalance, QCM*), spectrométrie photoélectronique X (*X-Ray photoelectron spectrometry, XPS*) et ellipsométrie.

Dans le cadre de ces recherches, la détermination de l'épaisseur de la bicouche de polyélectrolytes fut effectuée par ellipsométrie. La technique d'ellipsométrie spectroscopique est grandement utilisée pour le suivi de la croissance d'une couche de substrat. L'ellipsométrie est une méthode d'analyse optique basée sur le changement d'état de polarisation de la lumière réfléchi sur le plan d'une surface. La théorie reliée à l'ellipsométrie est amplement détaillée dans la littérature^{90,91}. Le principe de l'ellipsométrie consiste à diriger un faisceau polarisé linéairement sur la surface de l'échantillon, la

réflexion du faisceau sur la surface varie son état de polarisation qui aura une forme elliptique (figure 1.24).

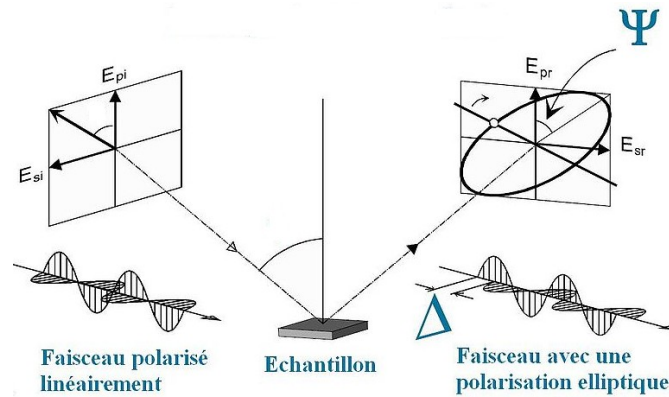


Figure 1.24 : Schéma du fonctionnement de l'ellipsométrie.

Une polarisation elliptique de la lumière combine des ondes orthogonales ayant une amplitude et un déphasage arbitraire. Un analyseur rotatif permet de déterminer le changement de polarisation de la lumière qu'induit la surface. Le but est de déterminer la variation des angles de polarisation ellipsométriques (Ψ) qui sont caractéristiques de la surface étudiée (équation 1.7).

$$\frac{r_p}{r_s} = \tan(\Psi)e^{i\Delta} \quad (1.7)$$

De cette équation, r_s et r_p correspondent respectivement au coefficient de réflexion complexe perpendiculaire et parallèle, Δ correspond à la différence de phase générée par la réflexion. L'épaisseur d'un constituant (pour un η fixe) sur la surface de l'échantillon est déterminés à l'aide des valeurs de Δ et Ψ pour différents angles de réflexion en solutionnant les équations de Fresnel via l'application d'un modèle mathématique. Brièvement, l'ellipsométrie est une technique permettant de déterminer les propriétés physiques et morphologiques d'un substrat. C'est une méthode qui a l'avantage d'être rapide, simple, versatile, non destructive et permet des analyses in situ.

En somme, la détermination de la distance de pénétration, à l'aide des techniques exposées précédemment, est un résultat clé ayant aidé à trouver l'origine des propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous détaillés dans ces recherches.

1.11 Objectifs de recherche

En somme, le but de ce mémoire est d'étudier les phénomènes plasmoniques des réseaux de nanotrous afin d'évaluer leur potentiel en tant que biocapteur. Ainsi, une interprétation empirique du comportement plasmonique des différents types de réseaux de nanotrous permet d'orienter le choix du capteur idéal. De telles études vont énormément agrémenter les connaissances actuelles des propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous. Une compréhension approfondie du comportement plasmonique des réseaux de nanotrous simplifie l'amélioration de ces applications. Ce mémoire répond à de nombreuses questions quant aux propriétés du signal plasmonique de différents types de réseaux de nanotrous.

De ce fait, le prochain chapitre discutera de l'optimisation des structures des réseaux de nanotrous par rapport à leurs propriétés plasmoniques. Cette optimisation des réseaux de nanotrous permet l'identification d'un réseau aux propriétés analytiques optimales. De plus, l'intérêt est qu'un tel matériau plasmonique peut être à la fois excité selon divers modes plasmoniques. Ainsi, le troisième chapitre se veut une étude des interactions entre le champ localisé et les SPPs selon un mode d'excitation en réflexion totale interne (SPR) et en transmission (EOT) pour le même réseau de nanotrous. Ces recherches permettent de déterminer si le couplage entre les LSP et les SP est aussi efficace pour des réseaux de microstructures que pour des nanostructures. Le quatrième chapitre démontrera l'effet de variation de l'angle d'incidence d'excitation sur les conditions de couplage des BW-SPP en transmission exaltée. En effet, il y a presque aucune information sur l'effet de l'angle d'excitation en transmission pour des réseaux de nanotrous. De telles recherches sont primordiales pour l'élaboration de réseaux de nanostructures ayant une sensibilité optimale. Finalement, l'ensemble de l'ouvrage se veut une réflexion sur l'avenir de ces transducteurs en chimie analytique dans le but d'effectuer du criblage à haut débit. Le but final est de parvenir à trouver une structure optimale qui servira au développement d'un biocapteur œuvrant en transmission exaltée.

Chapitre 2 Signal plasmonique des réseaux de nanotrous

2.1 Introduction

Les réseaux de nanotrous sont des structures générant un signal plasmonique complexe lorsqu'excité en transmission directe par la lumière. Ce phénomène optique correspond à la transmission exaltée (EOT). Les photons incidents qui excitent les réseaux de nanotrous se couplent avec les polaritons de plasmon de surface de Bloch Wave (BW-SPP). Les BW-SPP sont une superposition d'ondes électromagnétiques se propageant à l'interface d'un réseau métallique et d'un diélectrique. Ce couplage entre la lumière et les BW-SPP génère des bandes de transmission intense à des longueurs d'onde associées aux paramètres des réseaux de nanotrous. De ce fait, le signal des bandes plasmoniques est influencé par la composition métallique du réseau, l'angle d'excitation, l'épaisseur et la périodicité des nanotrous. Les bandes plasmoniques issues des réseaux de nanotrous sont associées aux ordres de diffraction de résonance de Bragg (i et j) (voir équation 1.5).

La relation entre la position de la bande EOT (λ) et les conditions de couplage est exposée par l'équation 1.5 où P correspond à la périodicité du réseau, ϵ_M à la constante diélectrique du métal et ϵ_d à la constante diélectrique du milieu. Ainsi, la position de la bande plasmonique est affectée par l'indice de réfraction de la solution environnant le capteur. Ce faisant, les caractéristiques physiques du réseau de nanotrous (diamètre, périodicité et épaisseur) vont avoir un impact sur la sensibilité en solution (nm/RIU). Cette sensibilité du capteur peut être un élément indicatif du potentiel de la structure pour effectuer de la biodétection.

Les structures ont été fabriquées par NSL (figure 1.18) à l'aide d'une solution de billes de polystyrènes. Le masque de billes est ajusté par gravure ionique au plasma afin d'obtenir le diamètre de nanotrous désiré. Un *sputter coater* permet de déposer une couche

métallique de 125 nm d'or, d'argent ou même d'une bicouche d'argent/or sur les nanostructures.

L'objectif de ce chapitre est d'exposer les propriétés plasmoniques de réseaux de nanotrous de différentes périodicités : 520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm. Le signal plasmonique de chacune de ces structures est comparé afin d'interpréter l'impact de la périodicité. Le diamètre des réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm a été optimisé selon la sensibilité en solution et la composition métallique (Ag, Au ou Ag/Au) des structures. L'intérêt de cette partie des recherches est de trouver les paramètres idéaux pour le développement d'un réseau de nanotrous offrant à la fois un signal intense et une grande sensibilité. C'est important de noter que la majorité des résultats exposés dans cette section ont été obtenus en début de maîtrise. Ce faisant, la démarche scientifique reliée au développement d'un biocapteur était basée sur l'optimisation de la sensibilité en solution. À ce moment, l'hypothèse était que la sensibilité en solution soit proportionnelle à la sensibilité en surface. Or, cette supposition sera démentie au chapitre 3 et 4 du mémoire. Somme toute, les travaux effectués dans le cadre de ce chapitre ont permis de trouver une structure qui est à la base de l'ensemble de ces recherches.

2.2 Partie expérimentale

2.2.1 Fabrication des capteurs

Les échantillons sont créés sur des lamelles de verre (22x22 mm², BK7, Fisher Scientific) préalablement nettoyés à l'aide d'une solution piranha pendant 90 minutes puis sonifiés dans un mélange d'eau, d'ammoniaque et de peroxyde d'hydrogène (5:1:1) pendant 60 minutes. Les lamelles sont rincées abondamment avec de l'eau après chaque traitement et conservées dans l'eau ultrapure (18 MΩ). Les réseaux de nanotrous ont été conçus par lithographie colloïdale à l'aide de billes de polystyrène de 520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm de diamètre (Thermo Scientific). La solution colloïdale à déposer est respectivement composée d'un ratio 8:2:1 d'eau ultrapure, de billes et d'éthanol. Un volume d'environ 35 µL de ce mélange est déposé sur une lamelle de verre propre et sèche puis recouverte d'un verre de pétri. De grandes zones (~1-2 cm²) de monocouche auto-assemblée de billes ayant

un arrangement hexagonal sont ainsi générées. Ces échantillons sont gravés l'aide d'un nettoyeur à plasma par gravure d'ions réactifs (Harrick Plasma Cleaner PDC-32G) à 18 W entre 6 et 9 minutes (dépendamment de la périodicité des réseaux). Les conditions du plasma ont été optimisées afin d'obtenir respectivement des diamètres de trous d'environ 260 nm, 340 nm, 450 nm et 600 nm pour des périodicités de 520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm. Le diamètre des nanotrous de périodicité de 820 nm et 1000 nm est optimisé pour différent temps de gravure allant de 5 à 15 minutes. Une pulvérisation cathodique via un *sputter coater* (Cressington 308R sputter) est effectué pour déposer les couches de métaux désirés de 1 nm de Cr et 125 nm d'au (ESPI metals) dans la majorité des cas. Pour certains échantillons de 820 nm et 1000 nm de périodicités, 125 nm d'Ag ou 125 nm d'une bicouche Ag/Au (1:1) ont été déposés. Les échantillons sont sonifiés dans l'éthanol afin de retirer le masque de billes de polystyrènes. Les senseurs sont caractérisés physiquement (diamètre et épaisseur) à l'aide d'un AFM.

2.2.2 Mesure des propriétés optiques des senseurs

Les échantillons sont analysés en transmission directe (angle d'incidence de 0°) à l'aide d'un spectrophotomètre (Ocean Optics) couvrant une gamme spectrale de 550 nm à 1100 nm. Quelques spectres d'échantillons de 820 nm et 1000 nm de périodicités ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre couplé avec une caméra CCD couvrant une gamme spectrale de 400 nm à 950 nm. Les capteurs sont illuminés à l'aide d'une source à lampe halogène couvrant une gamme d'émission de 400-1200 nm. La lumière est collimatée et recueillie à l'aide de fibres optiques (figure 2.1). Si nécessaire, un iris permet de cibler la zone d'intérêt de l'échantillon. Les capteurs sont analysés dans une cellule fluide élaborée par Olivier R.Bolduc et fabriquée par Jean-François Myre (atelier mécanique).

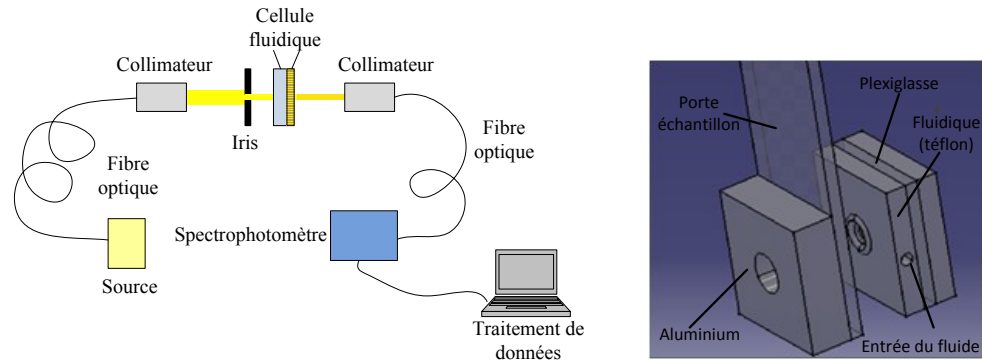


Figure 2.1 : Schéma du montage optique permettant l'analyse en transmission de réseaux de nanotrous (gauche). Plan de la cellule fluidique (droite).

Cette cellule fluidique peut contenir un volume total de 50 μL de solution et permet l'analyse d'une aire totale de 1 cm^2 de l'échantillon. L'échantillon est installé sur le porte échantillon et est compressé par des visser sur la pièce fluidique de téflon. Les données informatiques des spectres de transmission sont recueillies à l'aide du programme Spectra Suite (Ocean Optics) par le biais d'un ordinateur. Les spectres sont collectés avec un temps d'intégration de 100 ms pour une moyenne de 10 spectres, donc 1 spectre est enregistré par seconde. La référence correspond au signal en transmission d'un film d'or (50 nm d'épaisseur) dans l'eau (forte bande d'absorption vers 500 nm). Les résultats sont traités à l'aide du programme Matlab via un algorithme d'intégration des maximums-minimums.

2.2.3 Sensibilité en solution des capteurs

La sensibilité en solution des réseaux de nanotrous est déterminée à l'aide de solutions aqueuses de sucrose d'indice de réfraction allant de 1,33 à 1,36 RIU. L'indice de réfraction des solutions est vérifiée à l'aide d'un réfractomètre de haute résolution. Les mesures optiques sont effectuées en mode cinétique à l'aide d'une cellule fluidique. Les spectres sont enregistrés pendant 1 à 2 minutes (environ 100 spectres) pour chacune des solutions insérées dans la cellule. Une moyenne d'au moins 50 spectres est effectuée pour déterminer la longueur d'onde du signal plasmonique par plateau de solutions d'eau sucrée.

Les sensibilités sont déterminées à l'aide de courbe d'étalonnage d'au moins 4 points pour un écart-type sur trois échantillons et plus.

2.3 Résultats et discussion

2.3.1 Effet de la périodicité sur le signal plasmonique

Le signal des réseaux de nanotrous est grandement affecté par la périodicité du réseau, soit la distance entre 2 trous (figure 2.2). En effet, l'équation 2.1 prédit que la position des bandes plasmoniques effectue un déplacement bathochromique lorsque la périodicité augmente⁹². Il est possible de prévoir la position des bandes plasmoniques à partir de l'équation 2.1, selon le mode de diffraction, pour différentes périodicités. De façon empirique, ceci est effectué en comparant le signal plasmonique de différentes périodicités de réseaux de nanotrous de 520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm.

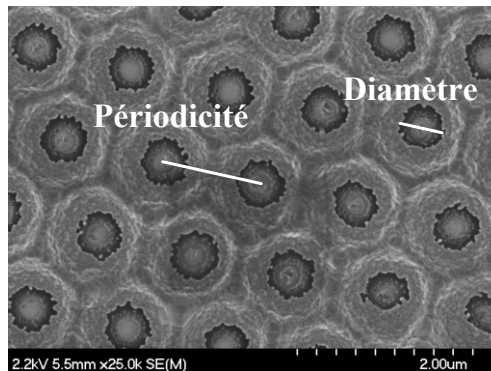


Figure 2.2 : Image SEM d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité et 600 nm de diamètre.

Ce faisant, le but de cette étude est d'évaluer l'impact de la périodicité sur le signal plasmonique relié au couplage entre la lumière et les BW-SPP. C'est important de souligner que le mode de diffraction des constantes de Bragg (i et j , équation 2.1) a beaucoup d'influence sur la position des bandes plasmoniques. En effet, chaque mode de diffraction

(i,j) est associé à différentes bandes, ce qui peut générer un spectre d'une grande complexité⁴⁹. Pour l'ensemble de ces structures, le diamètre des trous a été ajusté de façon à ce que le ratio diamètre/périodicité (d/P) soit d'environ 0,5. L'optimisation du diamètre des échantillons garantit que la structure n'est pas composée d'une sorte de transition triangles/nanotrous. La présence de triangles favorise un mode plasmonique localisé⁵⁸, tandis que le réseau de nanotrous est associé à un mode davantage propagatif de BW-SPP⁴⁸. Pour la prochaine section du chapitre, le mode (1,0) est celui excité⁵³ et responsable de l'intense bande plasmonique observé.

2.3.1.1 Étude du signal plasmonique du mode (1,0) pour des périodicités de 520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm.

Pour un réseau de périodicité de 650 nm (figure 2.3), la position de la bande plasmonique dans l'air et dans l'eau est respectivement située à 570 nm et 740 nm. La sensibilité en solution de cette bande est de 569 ± 30 nm/RIU. Cette sensibilité est d'ailleurs plus élevée que celle obtenue dans les travaux antérieurs du groupe pour des périodicités de 450 nm (~ 200 -300 nm/RIU)⁵³.

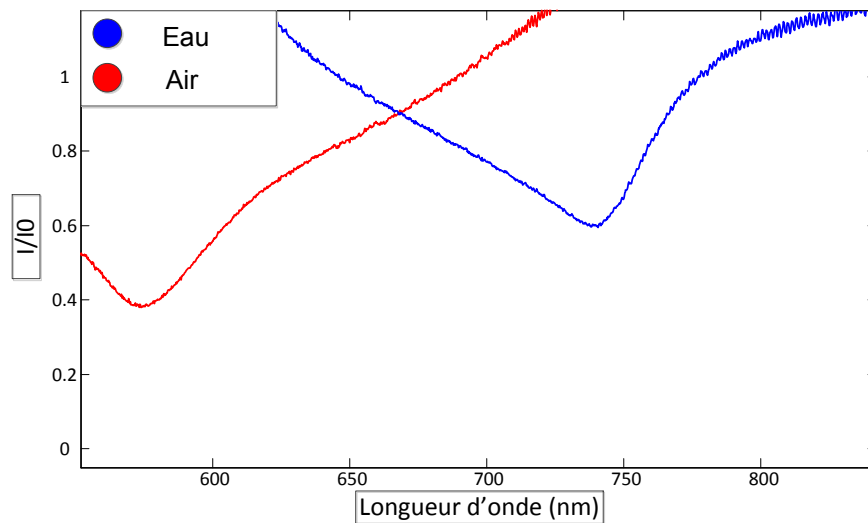


Figure 2.3 : Spectre en transmission d'un réseau de nanotrous en or de 650 nm de périodicité dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu) pour le mode (1,0) ($d/p = 0,52$, $d = 340$ nm).

Ainsi, l'augmentation de la périodicité résulte en une augmentation de la position et de la sensibilité en solution⁵² de la bande plasmonique. C'est d'ailleurs ce qui est observé pour des périodicités de 820 nm (figure 2.4) où la bande plasmonique dans l'air et dans l'eau est respectivement située à 704 nm et 940 nm, en comparaison avec celles observées pour une périodicité de 650 nm (figure 2.3). La sensibilité en solution de ce type de capteurs par rapport à la bande (1,0) est de 674 ± 17 nm/RIU pour le réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité, donc supérieure aux périodicités de 650 nm (500-600 nm/RIU) et 450 nm (200-300 nm/RIU)⁵³.

En effet, la figure 2.5 expose l'effet du déplacement bathochromique de la bande d'absorption plasmonique (λ_{SPP}) du mode (1,0) lorsque la périodicité augmente. Cette observation concorde donc avec ce qui était exprimé précédemment dans la théorie, tel que le démontre l'équation 2.1. Une simple relation entre la position de la bande plasmonique et la périodicité permet de prédire le signal d'un quelconque réseau de nanotrous. Ainsi, en se fiant à la logique, une périodicité de 1000 nm devrait donner une sensibilité en solution supérieure à celle de 820 nm. Il est d'ailleurs possible d'estimer mathématiquement la position de la bande plasmonique associée à une périodicité de 1000 nm. Ainsi, le ratio λ_{SPP}/P dans l'eau est constant pour les périodicités de 520 nm (1,16), de 650 nm (1,14) et de 820 nm (1,15), pour des conditions expérimentales identiques. Ainsi, pour une périodicité de 1000 nm, la position de cette bande dans l'eau peut être estimée à environ 1150 nm. Donc, des réseaux ayant des périodicités élevées (supérieur à 820 nm) génèrent des bandes d'absorption vers l'infrarouge. Ce faisant, ce n'est pas souhaitable de travailler avec des structures dont leur signal ne peut qu'être traité à l'aide d'un détecteur œuvrant dans l'infrarouge. En effet, ce type de détecteur coûte relativement cher, en comparaison des spectrophotomètres visibles et serait difficilement applicable pour le développement d'une plateforme de criblage à haut débit.

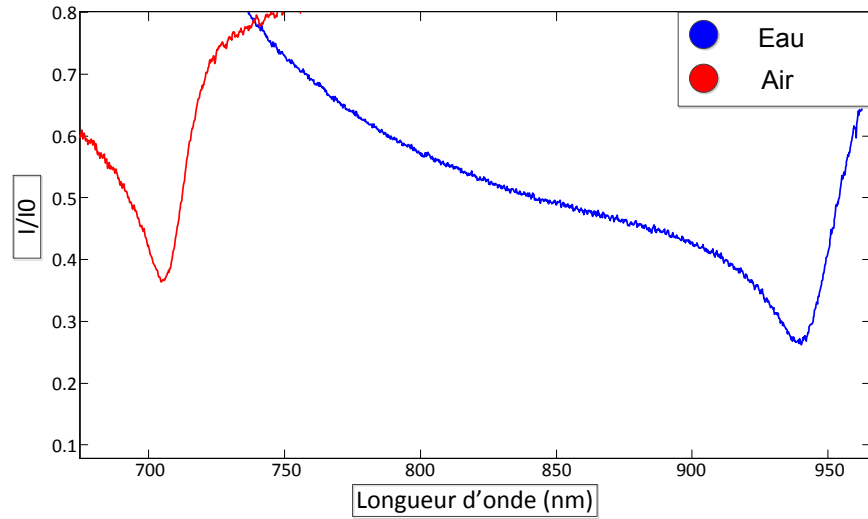


Figure 2.4 : Bande plasmonique associé au mode (1,0) d'un réseau de nanotrous en or de 820 nm de périodicité dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu) ($d/p = 0,55$, $d = 450$ nm).

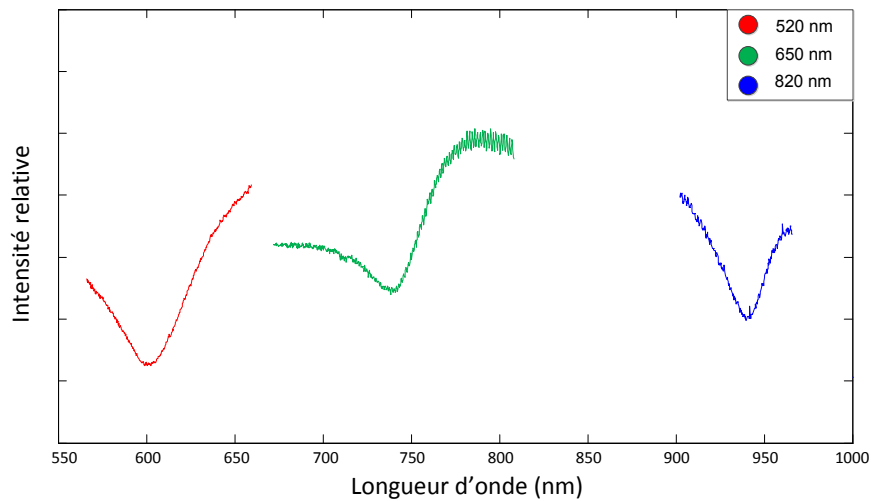


Figure 2.5 : Bandes d'absorption du mode (1,0) de réseaux de nanotrous (0,6 d/P) en or dans l'eau de périodicités de 520 nm (ligne rouge, $d = 310$ nm), 650 nm (ligne verte, $d = 390$ nm) et 820 nm (ligne bleue, $d = 490$ nm). L'intensité des spectres est ajustée pour simplifier la compréhension.

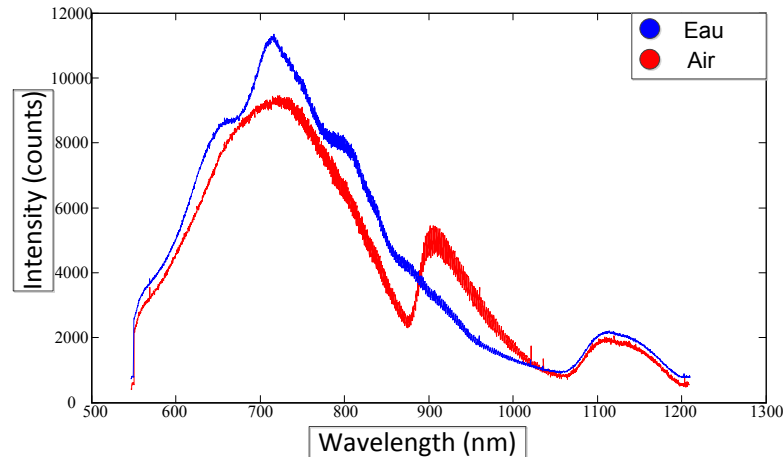


Figure 2.6 : Spectre brute en transmission d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité dans l'air (rouge) et dans l'eau (bleu) ($d/p = 0,60$).

Ainsi, pour une périodicité de 1000 nm, le signal en transmission dans l'air contient une forte bande d'absorption associée au mode (1,0) vers 875 nm (figure 2.6). Lorsque l'échantillon est placé dans l'eau, cette forte bande d'absorption disparaît du spectre visible (vers 1150 nm tel que prédit ci-dessus) et une multitude de bandes apparaissent vers 600-800 nm. L'origine de ces multiples bandes plasmoniques est associées au couplage de la lumière avec des modes de diffractions élevés des BW-SPPs. Ces modes de diffractions des réseaux de nanotrous furent uniquement observés pour des périodicités de 820 nm et 1000 nm.

2.3.1.2 Étude du signal plasmonique des modes de diffractions élevés pour des périodicités de 820 nm et 1000 nm

En effet, les divers ordres (i,j) de diffraction des SPP sont responsables de la présence de nombreuses bandes plasmoniques dans le spectre de transmission d'un réseau de nanotrous en argent (figure 2.7). Ainsi, pour une périodicité de 820 nm, 6 bandes sont situées entre 500-750 nm de longueur d'onde.

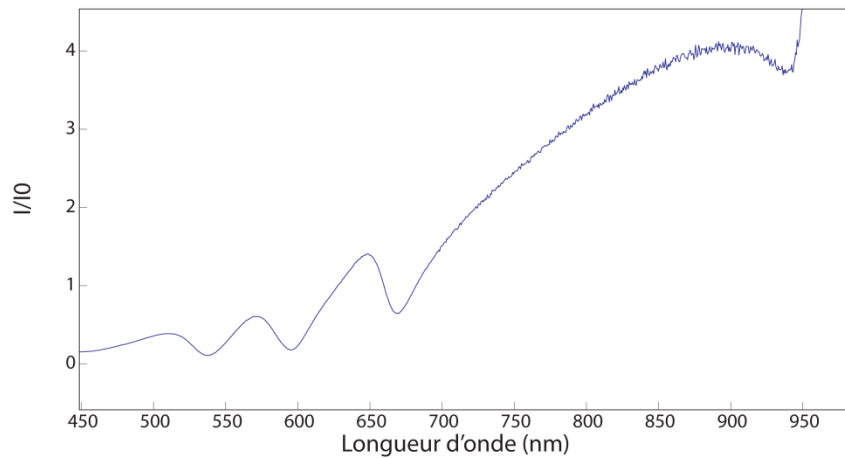


Figure 2.7 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous en argent de 820 nm de périodicité ($d/p = 0,51$).

Parmi ces bandes, celles situées vers 650-750 nm semblent associées à un mode plasmonique verre-métal⁵³ puisqu'elles ne sont pas sensibles à un changement d'indice de réfraction. Par contre, les bandes situées vers 500-600 nm sont sensibles à l'indice de réfraction du milieu, ces dernières sont associées à divers modes de diffraction. C'est très difficile d'identifier les ordres de diffraction associés à la position de ces bandes plasmoniques. Cette opération nécessite l'utilisation de logiciels de simulation du champ électrique ainsi qu'une compréhension approfondie de la physique optique. Par contre, il est exact d'affirmer que ces bandes plasmoniques sont donc toutes associées à des modes de diffraction supérieur au mode (1,0).

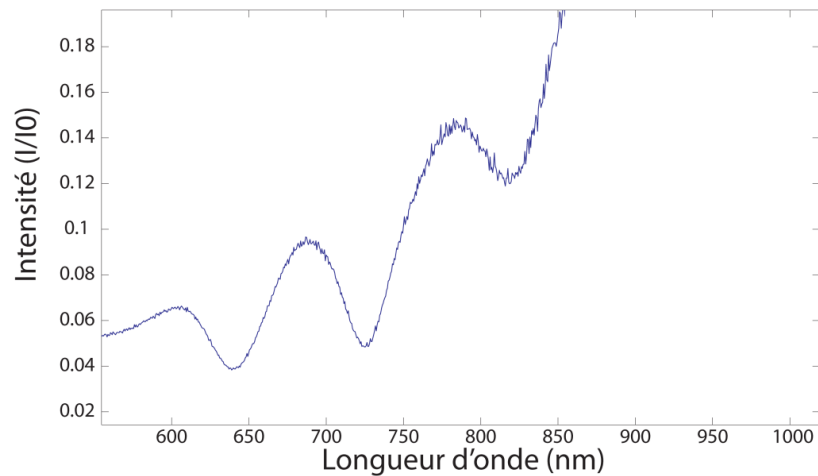


Figure 2.8 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous en argent de 1000 nm de périodicité ($d/p = 0,60$).

Ainsi, lorsque la périodicité du réseau augmente de 820 nm à 1000 nm, l'ensemble des bandes effectue un déplacement bathochromique similaire à celui observé pour le mode (1,0). Elles se déplacent de 500-750 nm à environ 600-850 nm (figure 2.7 et 2.8). L'intérêt de travailler avec ces modes de diffractions est relié au fait qu'ils sont excités dans une gamme spectrale (500 nm à 800 nm) situés dans le visible. Ces modes de diffractions sont au cœur de l'étude d'optimisation de la sensibilité en solution des réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm de périodicité.

2.3.2 Optimisation du diamètre et de la composition métallique des réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm de périodicité

La sensibilité en solution est à la fois affectée par la périodicité du réseau, la composition métallique ainsi que le diamètre des nanotrous. Une optimisation de ces paramètres permet d'identifier la structure ayant la meilleure sensibilité en solution (nm/RIU). Pour ce faire, des solutions d'eau sucrée ayant différents indices de réfraction (1,33 à 1,37 RIU) sont injectées successivement dans la cellule fluide lors d'une analyse en transmission pour différents types de réseaux de nanotrous (figure 2.9). Suite à

l'injection, les spectres sont enregistrés sur une période d'environ 2 minutes pour une moyenne de 100-150 spectres par plateau de cinétique. Une courbe d'étalonnage du déplacement en longueur d'onde d'une bande plasmonique en fonction de l'indice de réfraction du milieu permet de déterminer la sensibilité en solution du transducteur. La sensibilité d'un substrat est attribuée par rapport à la bande plasmonique la plus sensible du spectre lumineux. En effet, la majorité des bandes générées par les réseaux de nanotrous ont des sensibilités différentes dues au mode d'interaction⁵² des BW-SPP avec la lumière. La figure 2.10 démontre le déplacement en longueur d'onde de bandes associées à différents modes plasmonique pour des indices de réfraction croissants.

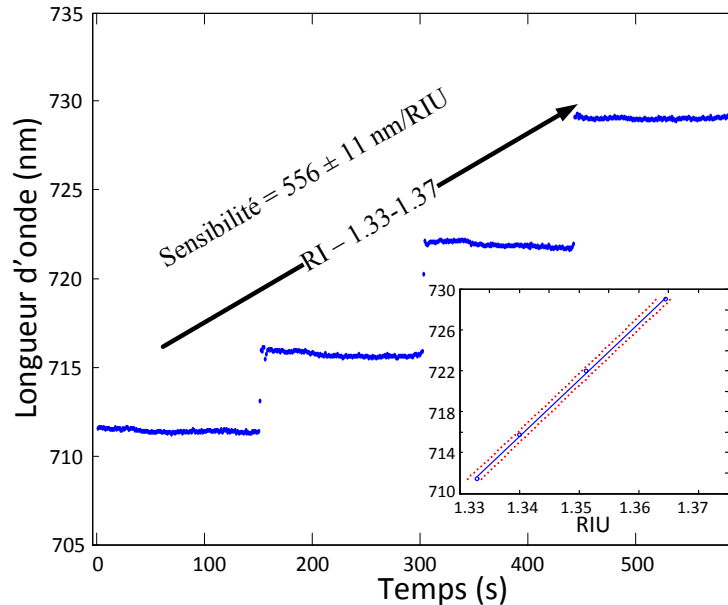


Figure 2.9 : Données cinétiques du déplacement de la longueur d'onde d'une bande plasmonique d'un réseau de nanotrous en or de 1000 nm de périodicité associé à des concentrations croissantes de solutions d'eau sucrée. Encadré : Courbe d'étalonnage associée aux mesures cinétiques ; la sensibilité en solution est de 556 ± 11 nm/RIU.

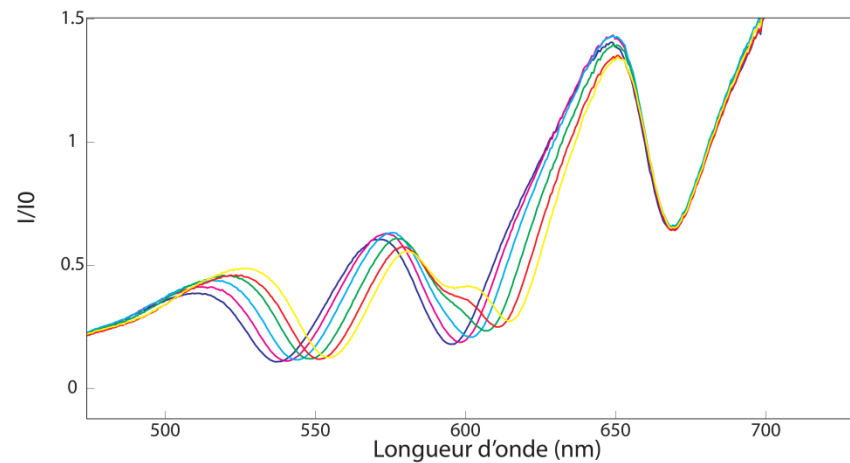


Figure 2.10 : Spectres en transmission d'un réseau de nanotrous d'argent de 820 nm de périodicité ($d/p = 0,51$) pour des d'indices de réfraction de 1,33 (bleu), 1,34 (magenta), 1,35 (bleu pâle), 1,36 (vert), 1,37 (rouge), 1,38 (jaune). La bande situé vers 550 nm est la plus sensible.

Une étude exposant l'influence du diamètre des nanotrous par rapport à la sensibilité des bandes plasmoniques démontre la nécessité d'optimiser celui-ci. L'ajustement du diamètre des trous s'effectue par l'entremise de différents temps de gravure des masques de billes de polystyrènes. Ainsi, pour un réseau de nanotrous d'argent de 1000 nm de périodicité (figure 2.11), la sensibilité en solution obtenue semble proportionnelle à l'augmentation du diamètre des trous. Pour une périodicité de 820 nm (figure 2.11), c'est une tendance différente qui est exposée; le diamètre des trous est inversement proportionnel à la sensibilité du capteur. Ce phénomène fut d'ailleurs observé pour des réseaux de nanotrous de 450 nm de périodicité⁵³. C'est important de noter qu'à la figure 2.11 (droite), la sensibilité d'environ 200 nm/RIU pour le plus petit diamètre (300 nm) ne suit pas la tendance des autres points. À partir d'un certain temps de gravure, les trous générés sont tellement petits que les billes ne parviennent pas à être éjectées du réseau. La présence de billes de polystyrènes nuit énormément à l'intensité et à la sensibilité du signal. Les différentes relations entre le diamètre des trous et la sensibilité des

senseurs pour des périodicités de 1000 nm et 820 nm sont dues à l'excitation de différents modes plasmoniques.

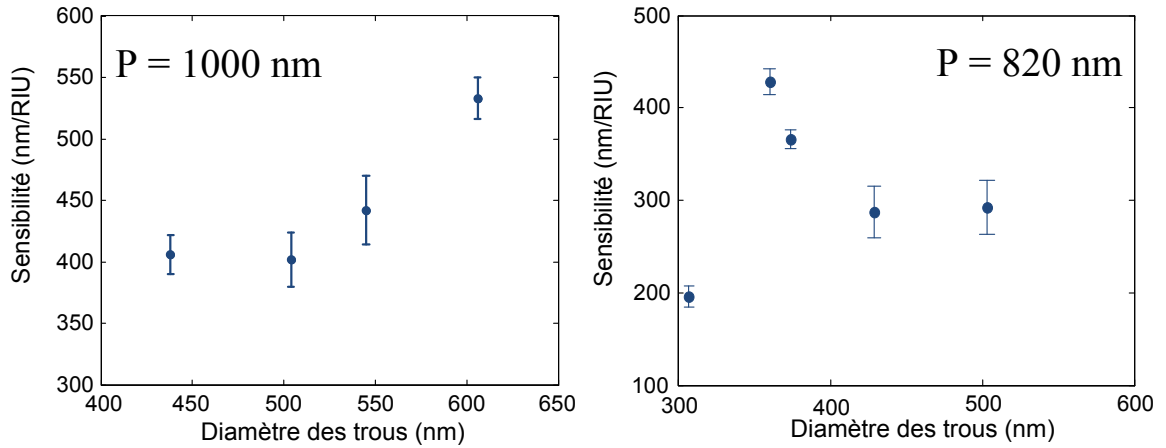


Figure 2.11 : Sensibilités en solution de réseaux de nanotrous d'argent de 1000 nm (bande à 710 nm) de périodicité (gauche) et 820 nm (bande à 550 nm) (droite) par rapport au diamètre des nanotrous.

Ainsi, les diamètres optimaux pour des réseaux de nanotrous de 1000 nm et 820 nm de périodicité est respectivement d'environ 610 nm et 360 nm. De ce fait, la sensibilité obtenue pour le cas d'une structure optimale de 1000 nm et 820 nm de périodicité est respectivement de 533 ± 17 nm/RIU et 420 ± 20 nm/RIU. Tel que prévu et démontré ci-dessus, le fait d'augmenter la périodicité du réseau a un énorme impact sur la sensibilité du senseur. La composition métallique du réseau de nanotrous a un effet moindre sur la sensibilité du transducteur. En effet, tel que démontré au tableau 2.1, un réseau d'argent est plus sensible de quelque 10-30 nm/RIU par rapport au senseur en or pour une même périodicité. En effet, les propriétés diélectriques de l'argent sont davantage favorables⁹³ aux plasmons de surface que l'or. Cette différence de propriété diélectrique explique également le fait que le signal est plus intense et moins bruyant avec de l'argent à l'instar de l'or. Cependant, l'argent est relativement instable⁹⁴ dans l'air et son oxydation génère du Ag_2O à

la surface des senseurs, un matériau non plasmonique. À l'opposé de l'argent, l'or est chimiquement stable et réagit bien avec les thiols utilisés en tant que monocouche auto assemblée (SAM).

Il est possible de bénéficier à la fois des avantages de l'or et de l'argent à l'aide d'une composition métallique composée d'une bicouche d'or sur de l'argent ⁵³. En effet, l'argent contribue à améliorer la résolution du signal tandis que la couche de l'or prévient l'oxydation de l'argent tout en étant un substrat idéal pour effectuer de la biodétection. Par contre, tel qu'exposé au tableau 2.1, la sensibilité en solution pour une bicouche métallique d'Ag-Au est peu supérieure à celle d'une composition d'or pour la même périodicité.

Tableau 2.1 : Sensibilité en solution de réseaux de nanotrous de 820 nm et 1000 nm de périodicité selon la composition métallique. (d/p = 0,43 pour 820 nm et 0,60 pour 1000 nm)

Périodicité	Composition métallique	Sensibilité (nm/RIU)
820	Ag	428 ± 14
820	Au	397 ± 15
820	Ag/Au (1:1)	406 ± 11
1000	Ag	533 ± 17
1000	Au	519 ± 31
1000	Ag/Au (1:1)	531 ± 22

De plus, la production d'échantillons composé d'une bicouche métallique est relativement complexe et nécessite le changement de cibles métalliques (or et argent) des têtes de déposition du *sputter coater* lors des dépositions. Lors de ces mesures, le *sputter coater* n'était muni que de deux têtes de dépositions, soit une en chrome et l'autre en or. Le fait d'interchanger les cibles (argent pour or) entre chaque déposition nuisait au fonctionnement de l'instrument. D'ailleurs, le gain de sensibilité et de signal par rapport à un réseau de nanotrous d'or ne justifiait pas l'utilisation d'une bicouche Ag-Au dû à sa complexité de production. Avec le système à trois têtes de déposition maintenant disponible

dans le groupe Masson, il serait plus facile de fabriquer ces structures. Cependant, le gain en sensibilité reste marginal.

En somme, l'intérêt de cette étude est de déterminer quelle structure offre le meilleur potentiel de biodétection par rapport à la composition métallique du substrat, le diamètre et la périodicité du réseau de nanotrous. La structure idéale est un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité, un diamètre de nanotrous d'environ 600-650 nm ainsi qu'une composition métallique d'or.

2.4 Conclusion

En conclusion, les réseaux de nanotrous sont des structures plasmoniques pouvant être modifiées selon de nombreux paramètres physiques. L'optimisation des propriétés structurales des réseaux de nanotrous a un énorme impact sur le signal plasmonique et la sensibilité des senseurs. En effet, l'augmentation de la périodicité du réseau engendre un déplacement bathochromique des bandes plasmoniques et une amélioration de la sensibilité. L'étude de la position de la bande (1,0) dans l'eau pour différentes périodicités (520 nm, 650 nm et 820 nm) a permis d'estimer que le ratio λ_{SPP}/P est d'environ 1,15. Ce faisant, la bande (1,0) d'un réseau de nanotrous de 1000 nm dans l'eau peut être estimée à environ 1150 nm. De plus, les spectres en transmission de réseaux de 820 nm et de 1000 nm contiennent des bandes plasmoniques vers 500-700 nm associés à d'autres modes de diffraction des BW-SPP. C'est d'ailleurs en fonction de la sensibilité en solution de ces bandes que les réseaux de 820 nm et de 1000 nm ont été optimisés. En effet, l'optimisation du diamètre des trous de 820 nm révèle que le diamètre offrant une sensibilité optimale (420 ± 20 nm/RIU) est d'environ 350-400 nm. D'ailleurs, la sensibilité des senseurs semble être inversement proportionnelle au diamètre des réseaux de nanotrous de 820 nm. Pour le cas des 1000 nm de périodicité, c'est le phénomène inverse qui est observé ; le diamètre des trous est proportionnel à la sensibilité en solution (533 ± 17 nm/RIU). En somme, l'optimisation de la composition métallique pour ces périodicités a déterminé que les réseaux d'argent sont plus sensibles que ceux d'or. Cependant, les réseaux de nanotrous en or sont chimiquement plus appropriés pour la biodétection que ceux d'argent. Ainsi, suite à

l'ensemble de ces études d'optimisation, la structure idéale est un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité, de 600-650 nm de diamètre et une composition métallique de 125 nm d'épaisseur d'or. C'est d'ailleurs à partir de cette structure que des tests de biodétection sont basés dans le chapitre 3. L'intérêt relié à cette nanostructure est aussi la possibilité d'exciter les plasmons de surface en transmission (EOT) et en réflexion totale interne (SPR) pour évaluer la dispersion du champ plasmonique au niveau localisé et propagatif.

Chapitre 3 EOT or Kretschmann configuration?

Comparative study of the plasmonic modes in gold nanohole arrays⁹⁵

Couture, M.; Live, L. S.; Dhawan, A.; Masson, J. F. EOT or Kretschmann configuration? Comparative study of the plasmonic modes in gold nanohole arrays, *Analyst* **2012**, *137*, 4162.

Contributions :

Maxime Couture : Fabrication, caractérisation et analyse des senseurs. Traitements de données et rédaction de l'article.

Anuj Dhawan : Simulation FDTD.

Ludovic Live : Résultats de détection de l'IgG en SPR pour des films d'or. Installation du montage SPR spectro-angulaire.

Jean-François Masson : Directeur du projet et rédaction de l'article.

Abstract

The debate is still ongoing on the optimal mode of interrogation for surface plasmon resonance (SPR) sensors. Comparative studies previously demonstrated that nanoparticles exhibiting a localized SPR (LSPR) have superior sensitivity to molecular adsorption processes while thin Au film-based propagating SPR is more sensitive to bulk refractive index. In this paper, it is demonstrated that nanohole arrays (1000 nm periodicity, 600 nm diameter and 125 nm depth), which support both LSPR and propagating SPR modes, exhibited superior sensitivity to bulk refractive index and improved detection limits for IgG sensing by using the Kretschmann configuration. The greater sensitivity to IgG detection in the Kretschmann configuration was obtained despite the shorter penetration depth of

nanohole arrays excited in the enhanced optical transmission (EOT) configuration. The decay length of the electromagnetic field in EOT mode was estimated to approximately 140 nm using a layer-by-layer deposition technique of polyelectrolytes (PAH and PSS) and was confirmed with 3D FDTD simulations, which was lengthen by almost a factor of two in the Kretschmann configuration. Spectroscopic data and field depth was correlated to RCWA and FDTD simulations, which were in good agreement with the experimental results. Considering these analytical parameters, it is advantageous to develop sensors based on nanohole arrays in the Kretschmann configuration of SPR.

3.1 Introduction

Highly sensitive plasmonic materials allow label-free detection methods suited for real-time monitoring of binding events, thus providing information about affinity, specificity, and kinetics of binding partners as well as the concentration of biological analyte such as protein biomarkers, DNA, or enzyme among others⁹⁶. In recent years, nanostructured substrates have attracted interest to improve the plasmonic properties of biosensing platforms^{4,5}. The optical properties of plasmonic materials are defined by the propagating surface plasmon resonance¹ excited in thin metallic films and by the localized surface plasmon resonance³² (LSPR) supported by nanoscopic materials. Propagating SPR affords superior bulk sensitivity, while LSPR results in improved surface sensitivity. Both SPR or LSPR substrates are currently used as sensing platforms, but it remains unclear whether SPR or LSPR is optimal for biosensing applications. The comparison of the analytical properties of a nanostructured substrate supporting both surface plasmon (SP) modes provides further understanding of their potential use in biosensing.

Localized and propagating SPR have matured into established techniques for bioanalytical measurements. The boundaries of the propagating and localized plasmonic regimes are not clearly defined for metallic nanostructures lying in different regimes of nanostructure length scales. For example, substrates with features of length scale intermediate to the nano and micro regimes may support both plasmonic modes. These plasmonic modes mainly differ by the instrumental setup and in sensitivity. LSPR sensors

require direct transmission on a relatively simple and low cost instrumental setup. Propagating SPR typically requires a dedicated instrument based on prism-coupling. While most commercial SPR instruments requires expensive instrumentation, the recent advent of small and inexpensive SPR instrument tends to challenge the performance of the bulkier and expensive SPR instruments⁵.

Sensitivity to molecular adsorption processes is the main difference of the two SP modes. Propagating SPR is more sensitive to bulk refractive index, while localized SPR has superior sensitivity to molecular adsorption processes. This difference in sensitivity is a consequence of the longer decay length of propagating SPR¹⁷ at 200-300 nm in comparison to a decay length of 5-60 nm for LSPR⁹⁷. These differences in plasmonic properties have triggered comparative studies between these modes of SP^{34,46}. These previous reports rely on the comparison of substrates that are supporting only one of the two modes of surface plasmon (nanotriangles or nanodisks were compared to thin Au films). Similar analytical performance were reported for the detection of Concanavallin A³⁴ and biotin-avidin coupling⁴⁶. However, the comparison of substrates supporting both localized and propagating SPs has not yet been done, to assess whether these types of plasmonic substrates should be analyzed using transmission measurements or the Kretschmann configuration of SPR.

Gold nanohole arrays are attractive due to relatively high refractive index sensitivity and narrow plasmonic bands suited for biosensing applications. Nanohole arrays substrates relies on the enhanced optical transmission (EOT) phenomenon first reported by Ebbesen *et al.*⁴⁴. EOT enhances transmission intensity of specific wavelength under the coupling^{47,48} of light with Bloch-wave surface plasmon polaritons (BW-SPPs) and/or localized surface plasmons (LSP). It is well known that the topology of the nanohole arrays has an impact on their plasmonic features. For example, Lesuffleur *et al.*⁹⁸ proposed a double nanohole arrays structure to favour the LSP mode in EOT. In addition, the sensitivity to bulk refractive index can be tuned by varying the periodicity of the nanohole array. Pang *et al.*⁵² exemplified the enhanced sensitivity of large periodicity nanohole arrays by reporting a substrate with a periodicity of 1.53 μm , which had a bulk refractive

index sensitivity of 1500 nm/RIU for the (1,0) mode excited in the IR region. Brolo group⁹⁹ pioneer works exposed the biosensing capabilities of gold nanohole arrays as they optimized the surface sensitivity using a flow-through^{69,100} structure rather than a flow-over fluidic system. Recently, Brolo and al. have reported¹⁰¹ a hand-held device with an integrated nanohole arrays using a dual-wavelength source. Such advances are very promising for the future of gold nanohole arrays as biosensing platforms.

Nanohole arrays may also be excited in the Kretschmann configuration of SPR with excellent sensitivity^{67,102}. Depending on the diameter and periodicity of the nanohole array substrate, sensitivity improvements were observed in comparison to classical thin Au films^{61,102}. This enhanced sensitivity makes nanohole arrays an interesting substrate to design biosensors. The prevalence of nanohole arrays in recent scientific literature and the possibility of exciting localized and propagating SP on nanohole arrays makes them a perfectly suited substrate to compare the analytical properties of the Kretschmann configuration and EOT mode of SPR.

3.2 Materials and Methods

3.2.1 Gold nanohole arrays fabrication and characterization

Nanohole arrays were manufactured using a modified nanosphere lithography technique¹⁰³. Glass slides were successively cleaned in piranha solution for 90 minutes and in a mixture of water, ammonia and hydrogen peroxide at a 5:1:1 ratio for 60 minutes in an ultrasonication bath. The glass slides were copiously rinsed with water between treatments and stored in ultrapure water. The nanohole array substrates were prepared by drop-coating a suspension of polystyrene beads of 1000 nm (Thermo scientific particle technology) mixed with ethanol and pure water (18 M Ω /cm) on a clean and dry glass slide (22x22 mm², BK7, Fisher Scientific). The drop-coating solution was composed of 8:2:1 (v/v/v) ratio of water/spheres/ethanol. A 37 μ L drop of the final polystyrene spheres solution was deposited on a clean glass slide and covered with a Petri dish for slow evaporation rate. The resulting nanosphere lithography mask formed an hexagonal close-packed monolayer of about 5x5 mm², large enough for SPR characterization. The

polystyrene spheres diameter was etched to a final diameter of about 600 nm with reactive ion etching using oxygen plasma (Harrick Plasma Cleaner PDC-32G) at 18 W for 8 minutes. Subsequently, the nanosphere mask was metallized by sputtering 125 nm of Au (ESPI metals) with a 1 nm Cr adhesion layer (Cressington 308R sputter). The polystyrene beads were removed by sonication in ethanol for 2 min, affording the nanohole arrays. The morphology of the nanohole arrays was characterized by atomic force microscopy (AFM) and scanning electron microscopy (SEM).

3.2.2 SPR and EOT measurements

EOT analysis of the nanohole arrays was performed in visible-NIR transmission spectroscopy with a spectrophotometer (Ocean Optics) covering the spectral range of 550 to 1100 nm⁵³. The substrates were analysed with a homemade fluidic cell working in transmission mode and illuminated with a halogen lamp. The data were acquired by collecting an average of 10 spectra at acquisition rate of 10 Hz. The transmission signal of a 50 nm Au film was used as a reference spectrum.

The SPR analysis was performed with an angulo-spectral SPR instrument at 72.6° with a right-angle LaSFn9 glass prism. The sample was centered on the rotation axis of the goniometer controlled with a stepper-motor allowing angle variation step of $> 0.01^\circ$. The range of the excitation angles of the instrument is from $\theta = 70$ to 77° at the glass – metal interface. SPR spectra were collected with a PI-Acton spectrophotometer equipped with a grating of 150 g/mm, set to cover the spectral range of 450 to 900 nm and an Andor CCD camera. The reference signal was acquired with s-polarized light, while the p-polarized light constituted the SPR signal. The data analysis was performed with MatLab using a maximum/minimum finding algorithm to track the spectral position of the SPR or LSPR band.

3.2.3 Sensitivity to bulk refractive index and IgG sensing

The sensitivity to bulk refractive index (nm/RIU) was measured with aqueous sucrose solutions (0-30% w/w) covering a range of 1.33-1.36 RIU. The refractive

index of all solutions was determined with a high-resolution refractometer (ATR W1-plus, Schmidt + Haensch, Germany). The detection of human IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.) was made possible by EDC-NHS coupling chemistry of anti-human IgG with 16-mercaptohexadecanoic acid (16-MHA, Sigma-Aldrich) as a self assembled monolayer (SAM) on the nanohole array. A 5 mM solution of 16-MHA dissolved in dimethylformaldehyde (DMF) was deposited on the gold nanohole arrays for 16 hours. The sample was then cleaned with ethanol, air-dried and inserted in the fluidic system. Rinsing of the substrate was performed with pure water (18 M Ω /cm) for 2 min, followed with activation of 16-MHA with an aqueous solution of 100 mM of N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC, Fluka) and 20 mM of N-hydroxysuccinimide (NHS, Sigma-Aldrich) for 3 min. The substrate was then rinsed with PBS at pH 4.5 and a solution of 160 nM anti-human IgG (Fragment Anti-hIgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories Inc.) in phosphate buffered saline (PBS) was flowed in the fluidic cell and reacted for 15 min. The surface was washed with PBS and a 1 M ethanolamine aqueous solution at pH 8.5 was injected for 5 min to deactivate the unreacted EDC-NHS sites and then rinsed again with PBS. The detection of IgG was performed by successive injection of different human IgG concentrations (1, 10, 50, 100 and 1000 nM). Each concentration was monitored for 10 minutes before injecting the following concentration. Finally, the substrate was washed with PBS and regenerated with oxygen plasma treatment for 20 minutes. SPR samples were washed with THF prior to plasma cleaning, to remove the refractive index matching fluid on the backside of the substrate. Regenerating the gold nanohole arrays led to good reproducibility, but the intensity of the noise increased after each regeneration.

3.2.4 Polyelectrolyte layer-by-layer preparation

The layer-by-layer (LBL) deposition of polyelectrolytes was necessary to assess the penetration depth of the SP on nanohole arrays. LBL was performed with poly(allylamine) hydrochloride (PAH, 20 wt. % in water, 65 kDa, Sigma-Aldrich) as the cationic polyelectrolyte and poly(4-styrene sulfonate) (PSS, 18 wt. % in water, 75 kDa, Sigma-Aldrich) as the anionic polyelectrolyte. The polymer solutions at 1 mg/mL were

prepared in 0.1 M NaCl. The PAH and PSS solutions were respectively adjusted to pH 5 and pH 4 with concentrated solution of NaOH and HCl. The polymer bilayers were deposited by successive injection of the solutions in the fluidic cell, allowing kinetic measurements of the plasmonic shift during deposition of the polyelectrolytes. The nanohole array substrates were rinsed with pure water (18 M Ω /cm), followed by the injection of the PAH solution, which reacted directly with the negatively charged surface of the gold substrate. The substrates were washed again with pure water (18 M Ω /cm) prior to the injection of the PSS solution. The adsorption lasted 1 minute per polyelectrolyte. A wash step was performed with pure water (18 M Ω /cm) after each layer. The thickness of the polyelectrolyte bilayer was determined by ellipsometry with an RC2 ellipsometer (J.A. Woollam Co.) using a Cauchy model fit. Ellipsometric measurements required the polyelectrolyte to be deposited on a 100 nm thick Au film to assess the thickness of the dried film. Measurements on dried films are a good approximation of the thickness of the films in solution³⁵. Thereby, the average thickness of PAH/PSS bilayer was estimated at 2.9 (\pm 0.8) nm (n = 30), which is in good agreement with the literature value of 2-3 nm previously reported in the literature^{35,89,104}.

3.2.5 FDTD and RCWA simulations

Finite Difference Time Domain (FDTD) Simulations: FDTD simulations were employed for calculating distributions of electromagnetic fields in the vicinity of hexagonal arrays of nanoholes in gold thin films. Employing an extended Debye dispersion model for the dielectric constant of gold^{105,106}, E and H fields in the x, y, and z directions were calculated both on the plane containing the surface of the gold film containing the array of nanoholes, as well as on orthogonal planes intersecting the gold film. FullWAVE 6.0 was employed for FDTD simulations. The hexagonal array of nanoholes simulated in this work consisted of the nanoholes - having a diameter of 600 nm and periodicity of 1000 nm - in a 125 nm thick gold film (with a 1 nm Cr layer below the gold film) deposited on a BK7 glass substrate. In the first set of simulations, a plane wave ($\lambda_{\text{incident wave}} = 700$ nm) traveling in the z direction was incident normally on the nanohole arrays containing gold film from the side of the BK7 glass substrate. The electric field of the incident wave was

polarized in the x direction (TM polarization) and its magnitude was taken as unity. In another set of simulations, a plane wave ($\lambda_{\text{incident wave}} = 640 \text{ nm}$) was incident on the nanohole arrays containing gold film at an angle of 72.6° with the z-axis, with the plane wave being incident from the BK7 glass substrate side. In the second set of simulations, the electric field of the incident wave was also set to be linearly polarized in the x direction (TM polarization) and its magnitude taken as unity. In all the FDTD simulations, the grid sizes in the x, y, and z directions were 5, 5, and 10 nm, respectively and the time steps were employed such that they satisfied the Courant stability criterion¹⁰⁷. Moreover, in all the FDTD calculations, the media on the top side of the gold film containing the nanohole arrays was taken as water ($n = 1.33$), while the media underneath the gold film was taken as BK7 glass ($n = 1.52$).

Rigorous Coupled Wave Analysis (RCWA) simulations: In order to determine the reflection and transmission spectra of the hexagonal array of nanoholes, RCWA calculations^{107,108} employing DiffractMOD 3.1 software were carried out. The hexagonal array of nanoholes simulated in this work consisted of the nanoholes - having a diameter of 600 nm and periodicity of 1000 nm - in a 125 nm thick gold film (with a 1 nm Cr layer deposited below the gold film) deposited on a BK7 glass substrate. In the first set of RCWA calculations, TM polarized plane waves were incident normally on the hexagonal array of nanoholes from the BK7 glass side and the transmission spectrum calculated. In the second set of RCWA calculations, TM polarized plane waves were incident on the hexagonal array of nanoholes in a thin gold film at different wavelengths at angle of incidence of 72.6° with the z-axis (the axis orthogonal to the gold film surface), and the reflection spectrum calculated. In all the RCWA calculations, the media on the top side of the gold film containing the nanohole arrays was taken as water ($n = 1.33$), while the media underneath the gold film was taken as BK7 glass ($n = 1.52$).

3.3 Results and Discussion

3.3.1 Optical properties of nanohole arrays in transmission and Kretschmann SPR modes

Light incident on a periodically nanostructured metal film leads to EOT, which is associated to the SP modes supported by the substrate. EOT was explained by different mechanisms¹¹ involving photon tunneling via the SPP Bloch modes, excitation of localized surface plasmons (LSP) and tunneling between LSP states. A surface plasmon polariton (SPP) is a collective oscillation of free electrons that propagates on the metal/dielectric interface. Under physical conditions governed by eq.1, diffracted light is exciting the SPPs resulting in a standing Bloch wave SPPs (BW-SPP) in transmission mode¹⁰⁹.

$$\lambda = \frac{P}{\sqrt{\frac{4}{3}(i^2 + ij + j^2)}} \sqrt{\frac{\epsilon_{Au}(\lambda)\epsilon_d}{\epsilon_{Au} + \epsilon_d}} \quad (1)$$

Equation 1 highlights the influence of the periodicity (P), where as the Bragg resonance order (i and j) and the dielectric constant of the medium at the interface of the metal (ϵ_d) are correlated to the position (λ) of the plasmonic bands of the gold arrays. Stewart⁴⁸ *et al.* also reported the presence of woods anomalies, which can couple and overlap with the BW-SPPs and LSPs resulting in a complex transmission spectrum. One important analytical feature of nanohole arrays relies on shifting of the wavelength of the EOT plasmonic band depending on the refractive index of the medium near the nanohole arrays, suited to probe biological binding event occurring near the surface⁹⁹ of the gold nanohole arrays. The contribution of each mechanism depends on the physical characteristics⁴⁹ of the gold nanohole arrays; such as the diameter and thickness of the holes, wavelength and angle of the incident light, and the composition of the metallic film¹¹⁰. Also, Pang *et al.*⁵² exposed that the sensitivity was correlated to the periodicity and the order of the SPP modes. Therefore, it was previously shown that sensitivity to bulk refractive index increases for nanohole arrays of greater periodicity⁵³.

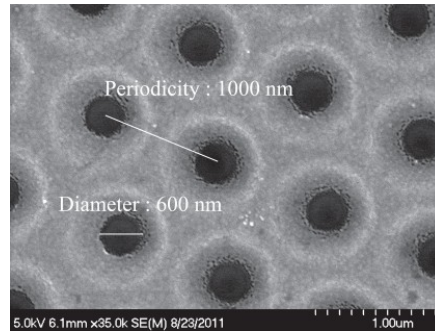


Figure 3.1 : SEM image at 35k magnification of gold nanohole arrays (periodicity of 1000 nm, a diameter of 600 nm and a thickness of 125 nm of gold).

Au nanohole arrays with a periodicity of 1000 nm, a diameter of 600 nm and a depth of 125 nm Au (Figure 1) were targeted due to good refractive index sensitivity in both the transmission and Kretschmann modes. For transmission measurements in aqueous solutions, nanohole arrays possess three plasmonic bands in water at $\lambda = 630, 710$ and 800 nm (Figure 3.2 – Top Left), with the two bands at lower wavelengths being sensitive to bulk refractive index. FDTD simulations correlated well with the experimental data. Plasmonic bands were simulated at $\lambda = 600, 740$ and 815 nm (Figure 3.2 – Bottom – Left). The differences in wavelength between the experimental and simulated spectrum arises from surface roughness and the taper of the nanohole, leading to small differences in dielectric properties. The peak for the nanohole arrays at $\lambda = 710$ nm was the most sensitive (530 nm/RIU) in EOT mode and will be the subject of the comparative study.

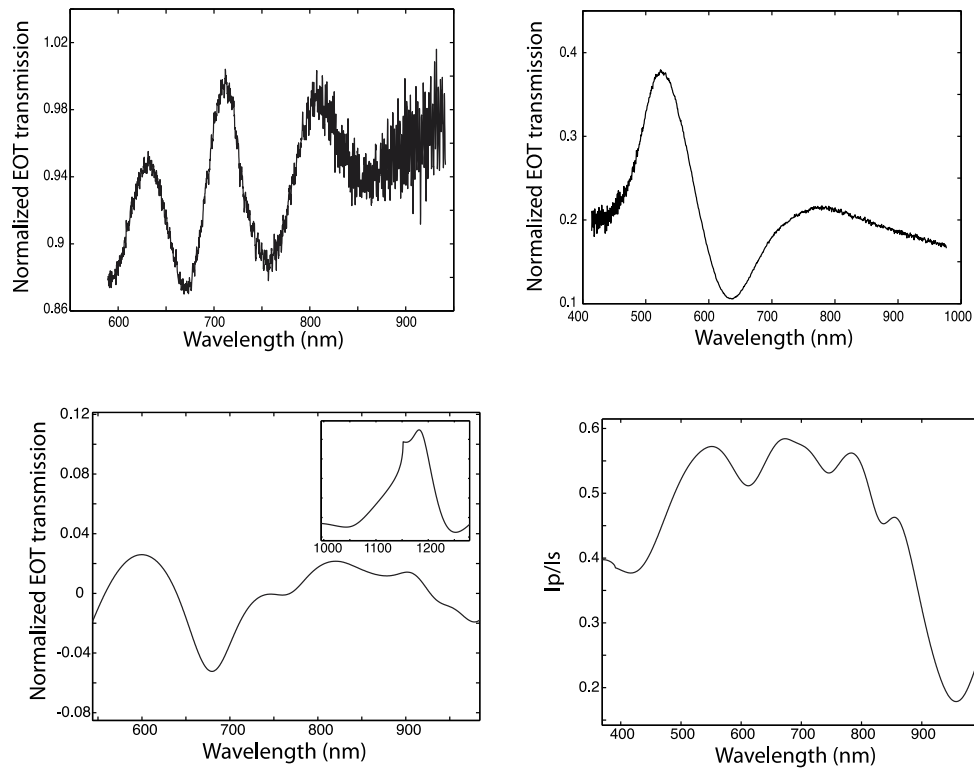


Figure 3.2 : Top row) Experimental data and Bottom row) simulated spectrum. Left) Transmission spectrum of gold nanohole arrays of 1000 nm of periodicity and 600 nm of diameter at normal incidence. The most sensitive plasmonic band is at 710 nm on the spectrum. Right) SPR spectrum of gold nanohole arrays with a periodicity of 1000 nm and 600 nm of diameter at an excitation angle of 72.6° .

The properties of the nanohole arrays analyzed in the Kretschmann configuration were determined with an angulo-spectral instrument. Mapping the dispersion curve revealed that a localized and a propagating surface plasmon wave is excited in nanohole arrays (Figure 3.3). The plasmonic band at 450 nm is invariable to the excitation angle, characteristic of localized SP. The propagating SP was observed from the strong wavelength shifting of the plasmonic band from 550 to 750 nm with decreasing excitation angle.

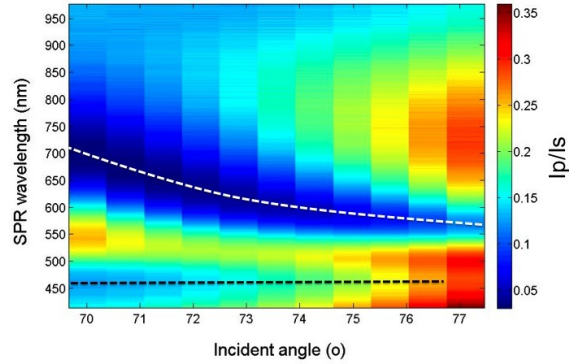


Figure 3.3 : Surface plasmon dispersion curve for nanohole arrays of 1000 nm periodicity and 600 nm diameter. The white and black lines guide the eye on the propagating SP and localized SP respectively.

At an angle of 72.6° , the coupling of the light with the propagating SPPs of the gold produced a broad absorption band centered at 640 – 660 nm in water for the nanohole arrays (Figure 3.2 – Top Right). RCWA simulations revealed a similar shape of the plasmonic response of nanohole arrays in the Kretschmann configuration (Figure 3.2 – Bottom right). Multiple bands are present in the 600 – 800 nm region for the simulated spectrum in the Kretschmann configuration of SPR, which are absent in the experimental spectrum, due to the effect of the orientation of the nanohole arrays lattice. In the simulated data, the rotational orientation (ϕ) of the nanohole array with respect to light results in the presence of several plasmonic bands corresponding to the different propagation directions of the SP. For different rotational angles from 0° – 60° , different plasmonic properties should arise. A symmetry rotational angle for increments of 60° is inherent to the hexagonal crystalline lattice. The rotation angle was set at 0° for the simulation, which favoured the excitation of several propagating SPR bands. The imperfect nature of the experimental substrate results in a convolution of several crystal domains and several rotational angles, leading to the presence of a unique band in the 600 – 800 nm region that is broader than the simulation predicts.

3.3.2 Comparison of the sensitivity, resolution and penetration depth of nanohole arrays with thin film SPR

The sensitivity of plasmonic materials can be tuned by changing their morphology, thus modifying their dielectric constant. The nanohole array with 1000 nm periodicity and 600 nm hole diameter was selected due to the presence of plasmonic bands of similar excitation wavelength for EOT measurements and the Kretschmann configuration of SPR. Hence, the dielectric properties of Au match between the different modes of excitation to avoid an influence on the sensitivity to refractive index. Sensitivity to bulk refractive index and to molecular adsorption must be considered in assessing the potential for biosensing applications of a substrate. In order to address this issue, sensitivity to bulk refractive index was measured using aqueous sucrose solution with refractive index ranging from 1.33 to 1.36 RIU. As expected, sensitivity differs greatly depending on the excitation mode. For example, the nanohole arrays resulted in a sensitivity of 530 (± 30) nm/RIU at $\lambda = 710$ nm in EOT, while the Kretschmann configuration improved the sensitivity by a factor of 6 to $3.6 (\pm 0.2) \times 10^3$ nm/RIU (Figure 3.4). This latter value is in statistical agreement with the sensitivity of 3681 nm/RIU for nanohole arrays excited similar experimental conditions⁶¹. Thus, the sensitivity was greater for nanohole arrays than for continuous thin Au film at $2.7 (\pm 0.1) \times 10^3$ nm/RIU, the substrate used in Kretschmann configuration SPR.

Table 3.1 : Analytical parameters for nanohole arrays and thin gold film

	Sensitivity to bulk refractive index (nm/RIU)	Detection limit of IgG (nM)	FWHM (nm)	RI resolution (RIU)	Decay Length (nm)
Nanohole arrays (EOT)	530 \pm 30	100	40	1.4 $\times 10^{-3}$	140
Nanohole arrays (SPR)	3600 \pm 200	5	110	4.4 $\times 10^{-5}$	200-300
Gold Film	2700 \pm 100	10	70	6.6 $\times 10^{-6}$	200-300

Although bulk RI sensitivity is used as common denominator to compare materials, other analytical parameters need to be considered for sensing applications, such as linearity of the calibration curve and RI resolution. The correlation coefficient for the linear regression (R^2) of the calibration curve in the 1.33 to 1.38 RIU range was slightly better for EOT ($R^2 = 0.991$) than propagating SPR ($R^2 = 0.963$) for nanohole arrays, which is in agreement with a previous report in the literature¹¹¹. Indeed, the correlation coefficient is expected to be slightly worst for SPR in the Kretschmann configuration due to the greater sensitivity and the non-linear increase of the dielectric constant for Au in the NIR region¹¹².

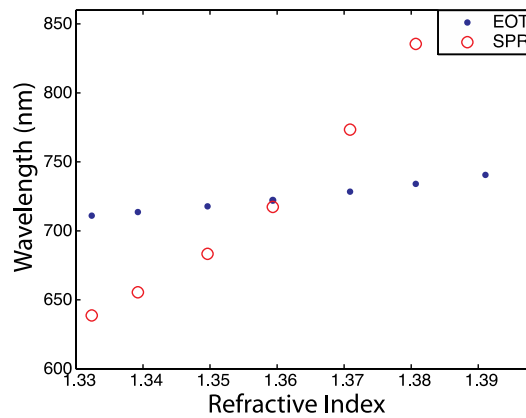


Figure 3.4 : Refractive index calibration curves for the Kretschmann configuration of SPR ($R^2 = 0,963$) and EOT mode ($R^2 = 0,991$) for the gold nanohole arrays substrate.

The RI resolution of the substrate in different modes of excitation is critical to compare, as this value directly impacts the limits of detection for a biosensor. The figure of merit (FOM), a ratio of the sensitivity and the full width at half maximum (FWHM) provides an indication of the resolution of the spectroscopic band. In transmission measurements, the plasmonic band at 710 nm displays a sharper peak (FWHM = 40 nm) than in the Kretschmann mode (FWHM = 110 nm). The FOM in transmission measurement is about 2.5 times worst at 132, than in the Kretschmann configuration at 327. The value for nanohole arrays in the Kretschmann configuration is slightly worse than thin Au film (FOM

= 385), due to the slightly larger FWHM for nanohole arrays. This is expected, due to scattering of the SPP in the nanopatterned substrate, which causes a broadening of the SP band. In addition, the refractive index resolution refers to the smallest change of RI that can be measured in a kinetic experiment. Despite the sharper band in transmission measurement, the resolution towards variation of the RI is 30-fold better for nanohole arrays excited in the Kretschmann configuration at 4.4×10^{-5} RIU, in comparison to EOT (Table 3.1). The RI resolution of thin Au films is about one order of magnitude better than for nanohole arrays at 6.6×10^{-6} RIU. These conventional comparison parameters clearly favour the Kretschmann configuration of SPR, regardless of the substrate.

The classical analytical parameters such as the bulk sensitivity, FOM and RI resolution do not take into account the different penetration depth (l_d) of the SP. Shorter penetration depth leads to more sensitive detection of molecular adsorption events. It is well known that the penetration depth in SPR is relatively high¹⁷ ($l_d = 200\text{-}300$ nm) for thin Au films relative to the short penetration depth of nanostructured substrates ($l_d = 5\text{-}60$ nm)^{113 114}. Thus, LSPR is more sensitive to molecular adsorbate, which impacts the sensing properties of the substrate³⁴ for biodetection³², and in particular of small biomolecule²⁰. This is the main reason why the previous comparative studies of nanotriangle⁴⁶ and nanodisks³⁴ concluded that the overall sensing properties of the nanostructured substrate are relatively equivalent to the thin Au film.

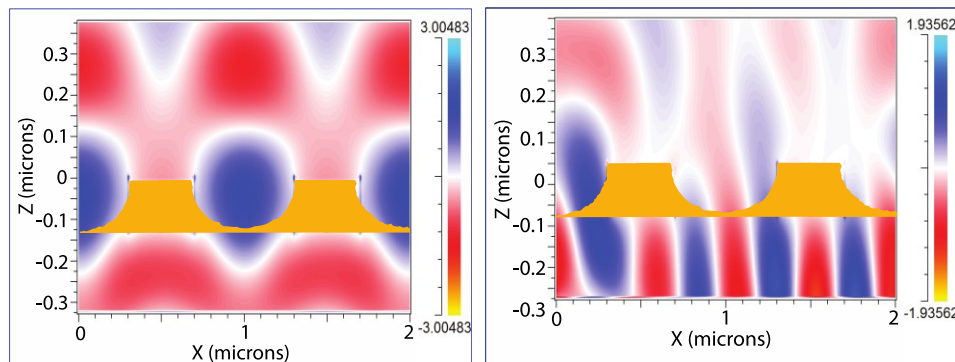


Figure 3.5 : FDTD simulations of the field distribution for nanohole arrays excited in EOT (Left) and the Kretschmann configuration of SPR (Right). The penetration depth is approximately 125 nm for EOT and 200 – 300 nm for the Kretschmann configuration.

The penetration depth of the SP in nanohole arrays has not been clearly defined in the literature. We previously estimated it between 100 and 250 nm by the measurement of a monolayer formation⁶¹, and a recent FDTD simulation for nanohole arrays of 500 nm periodicity and 180 nm hole diameter was in agreement with a penetration depth of about 150-200 nm¹¹⁵. Here, the FDTD simulation concurs with these other accounts, with a penetration depth of approximately 125 nm for a nanohole array of 1000 nm periodicity and 600 nm diameter (Figure 3.5 – Left). A recent publication revealed a simple method exploiting the deposition of alternating layers of polyelectrolyte to measure the penetration depth of plasmonic substrates¹¹⁶. Such experimental analysis can be accomplished using a layer-by-layer (LBL) polymer deposition technique first reported by Decher *et al.* and Caruso *et al.*^{88,89}. The LBL technique consists of adding a positively charged polyelectrolyte on a negatively charged substrate than adding a negative polyelectrolyte, which will be electrostatically adsorbed on the former (figure 3.6).

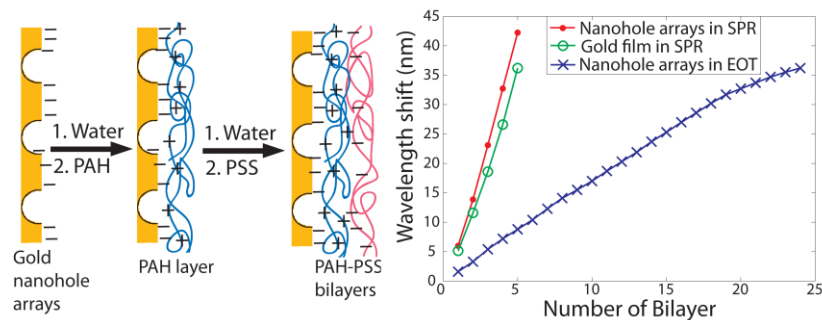


Figure 3.6 : Left) Scheme of formation of PAH-PSS bilayers on the gold nanohole arrays substrate. Right) Wavelength shift of the plasmonic band for a gold film in SPR (green; circles), a gold nanohole arrays in SPR (red; dots) and transmission mode (blue; crosses) for different thickness of bilayers.

Each polymer bilayer possesses constant thickness that can be tuned depending on the polymers identities and concentration¹¹⁷, the adsorption time¹¹⁸, the pH¹¹⁹, the ionic strength¹²⁰ and the rinsing step as well. Poly(allylamine) hydrochloride (PAH, 65 kDa) and

poly(styrene sulfonate) (PSS, 75 kDa) were employed in this study. This pair of polyelectrolytes exhibited a linear growth of the adsorbed thickness for the adsorption of the polyelectrolyte bilayers¹²¹. Similar to Vaskevich *et al.*³⁵, our goal was to determine the decay length of the SP field on gold nanohole arrays using PAH-PSS bilayer. Due to the limited penetration depth of the SP field, the plasmonic response should plateau for large thicknesses of polymer deposited on the substrate. The LSPR and SPR sensor response ($\Delta\lambda$) towards the deposition of a chemical layer can be estimated by a simple mathematical relationship¹⁷:

$$\Delta\lambda = m\Delta n \left[1 - \exp\left(\frac{-2d}{l_d}\right) \right] \quad (2)$$

where $\Delta\lambda$ corresponds to the wavelength shift of the plasmonic band, Δn is the dielectric refractive index difference between the adsorbed layer and the bulk, m is the sensitivity (nm/RIU) to the bulk refractive index, d is the thickness of the adsorbed film and l_d is the decay length of the evanescent plasmonic field. Multiples studies^{35,122} were based on this correlation to identify the penetration depth of diverse LSPR sensors by adding fixed thicknesses of adsorbate layer as all parameters of the equation are known except the wavelength shift.

The deposition of the polyelectrolytes was performed in a transmission fluidic cell rather than dipping the transducer which was based on the procedure proposed by Kim *et al.*¹²³. Between each adhesion step, ultra pure water was injected to rinse away unbound polyelectrolytes. Caruso *et al.*⁸⁹ reported the possibility to perform such experiments without first laying down a SAM on the plasmonic substrate. Thus, the first layer of PAH was formed directly on the surface of the gold nanohole arrays substrate, due to the negative charge of the Au surface¹²⁴.

In order to estimate l_d from equation 2, we determined by ellipsometry an approximate thickness of the PAH-PSS bilayer deposited on a continuous Au gold film. A thickness of 2.9 (± 0.8) nm per bilayer was obtained from the measurement of three independently prepared samples. This value is in good agreement with literature at around 2-3 nm/bilayer^{35,89,125}. The correlation coefficient ($R^2 = 0.991$) of the ellipsometric measurements for an increasing number of bilayers confirmed the linear growth of the LBL

adsorption. The EOT measurements for gold nanohole arrays during the LBL deposition process (Figure 3.6) exposed a linear response until the 20th bilayer, above which, the wavelength shift tends to decrease for the further adsorption of bilayer. The decay length was calculated based on the total wavelength shift and the expected thickness of the last 5 bilayers. The penetration depth was thus estimated at 140 nm in EOT for the gold nanohole arrays. This value is significantly higher than for other LSPR substrate ($l_d = 5-60$ nm), but in good agreement with FDTD calculations. The sensitivity of the nanohole array in the Kretschmann configuration caused large wavelength shifts for the fixation of several bilayers of PAH-PSS. Thus, the SPR response rapidly exceeded the range of measurement, prior to reaching a plateau of the SPR response. The penetration depth was estimated at 300 nm by comparing the anticipated shifts from equation 2 with the experimental data, with an estimated 5 % error on the correlation between the predicted data and the actual data. The penetration depth measured with the polyelectrolytes correlated well with FDTD simulations performed for nanohole arrays in the Kretschmann configuration (Figure 3.5 – Right). Therefore, the excitation of the plasmonic bands by the Kretschmann configuration leads to a penetration depth of the same magnitude than propagating SPR on a thin Au film ($l_d = 200-300$ nm).

These observations suggest that BW-SPP, through coupling with incident light, dominate our plasmonic signal in EOT due to diffractive coupling of the periodic arrays. Such SPP can couple with the LSP resonance coming from individual holes¹²⁶. Bloch-wave surface plasmon polaritons can exhibit large decay length of 100-900 nm⁴⁸ similar to SPR. Recent studies, using 3D nanohole arrays¹²⁷, have exposed the presence of both LSP and BW-SPP in their transmission spectrum. Multiple coupling and overlap between the LSP and the SPPs can occur, resulting in a complex electromagnetic field¹²⁸. However, Figure 3 revealed that the localized and propagating SP are not co-excited at a single wavelength, which is necessary to obtain an enhanced field. FDTD simulation of the plasmonic fields across the Z-X plane shows that the electromagnetic field is highly confined in the holes when excited in EOT.

3.3.3 IgG biosensing

A comparison in an actual biosensing experiment is required to establish which substrates and excitation methods are most suited for biosensing. A biosensor for IgG was thus established by immobilizing anti-IgG using EDC-NHS chemistry¹²⁹ to determine whether EOT or SPR mode is more sensitive for the gold nanohole arrays substrate. The calibration curve was monitored with successive injections of increasing concentrations of IgG (Figure 3.7 – Left).

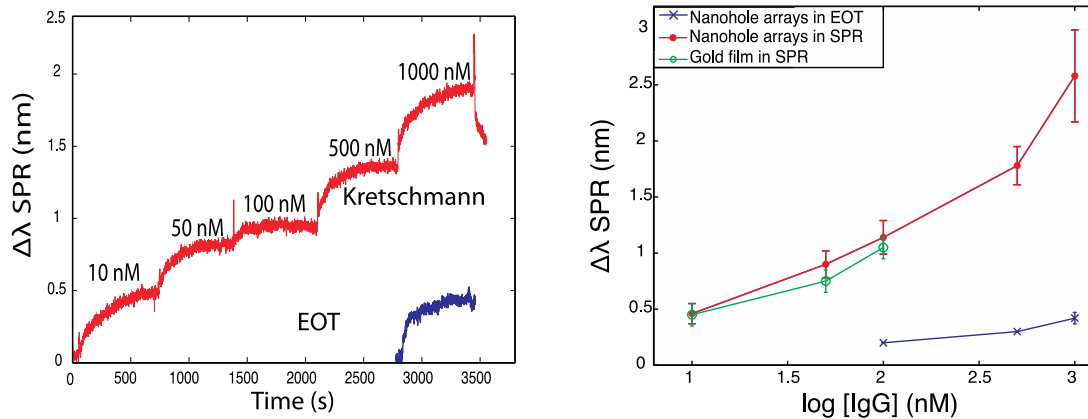


Figure 3.7 : Left) Comparison of kinetic measurements for IgG detection in the Kretschmann configuration of SPR (red line) and in EOT – 1000 nM only for EOT (blue line). Right) Calibration curves for the Kretschmann configuration of SPR for gold nanohole arrays (red dot), EOT (green circle) and for SPR on a thin gold film (blue cross).

It is clear that the plasmonic shift for IgG detection in the Kretschmann configuration of SPR is greater by a factor of 6 in comparison to EOT. Consequently, the lowest IgG concentration detectable in SPR mode (5 nM) is more than one order of magnitude smaller than with the transmission mode (100 nM). In comparison, the limit of detection for IgG using a thin film sensor was 10 nM. The relatively high limit of detection for is explained by the use of 16-mercaptohexadecanoic acid as the monolayer used for the immobilization of the anti-IgG, which is suboptimal.

Importantly, the small difference in detection limit for the nanohole arrays and thin Au film can be explained by the somewhat larger sensitivity of the nanohole arrays. This was demonstrated with two independent sensing experiments; the formation of polyelectrolyte bilayers and IgG sensing. The total binding shift of 5 bilayers of polyelectrolytes for the thin gold film (36 nm) was smaller than for nanohole arrays (42 nm). This improved SPR response was also the case for the anti-hIgG immobilization on the plasmonic substrates; which was $2.6 (\pm 0.5)$ nm in Kretschmann configuration for nanoholes arrays and $2.1 (\pm 0.5)$ nm for gold film. The amplification factor (AF – a ratio of the sensitivity or response of nanohole arrays divided by the one of thin Au film) for the sensitivity to molecular adsorbate (AF = 1.23) and bulk RI (AF = 1.33) are nearly identical. Therefore, the improved sensitivity of nanohole arrays is due to the improved bulk sensitivity.

3.4 Conclusions

The comparison of EOT and SPR in the Kretschmann configuration for gold nanohole arrays revealed that the Kretschmann configuration afforded superior analytical performances than EOT. The surface sensitivity towards biodetection of IgG was higher in the Kretschmann configuration of SPR, providing a 6-fold amplification of the plasmonic shift. The sensitivity of nanohole arrays to bulk RI was also higher in the Kretschmann configuration of SPR (3.6×10^3 nm/RIU) than for a gold film (2.7×10^3 nm/RIU) or the EOT mode of nanohole arrays (530 nm/RIU). A penetration depth of 140 and 200-300 nm was determined respectively for the EOT mode and the Kretschmann configuration of SPR of nanohole arrays by a sequential deposition of polyelectrolytes and confirmed by FDTD. Analytical parameters, as well as biosensing capabilities, confirm the advantage of exciting a propagating SP on nanohole arrays.

Chapitre 4 Effet de l'angle d'excitation en transmission exaltée pour des réseaux de nanotrous

4.1 Introduction et problématique

En SPR, pour avoir une condition de résonance, le vecteur d'onde de la lumière doit être égal au vecteur d'onde des plasmons de surface. En configuration Kretschmann, le couplage plasmonique peut-être effectué à un angle fixe (e.g : 72°) tout en balayant une gamme de longueur d'onde dans le visible. Tel que démontré au chapitre 1, si l'angle d'excitation augmente, la longueur d'onde à laquelle le plasmon de surface est absorbé augmente aussi. Or, c'est bien connu que l'angle d'excitation en SPR a aussi un impact sur la sensibilité en solution du senseur. De ce fait, pour un film d'or, lorsque l'angle d'excitation augmente, la sensibilité décroît de manière significative (figure 4.1). Ainsi, c'est possible de profiter de cette amplification de la sensibilité par l'angle d'incidence pour améliorer la limite de détection¹³⁰ des biocapteurs SPR.

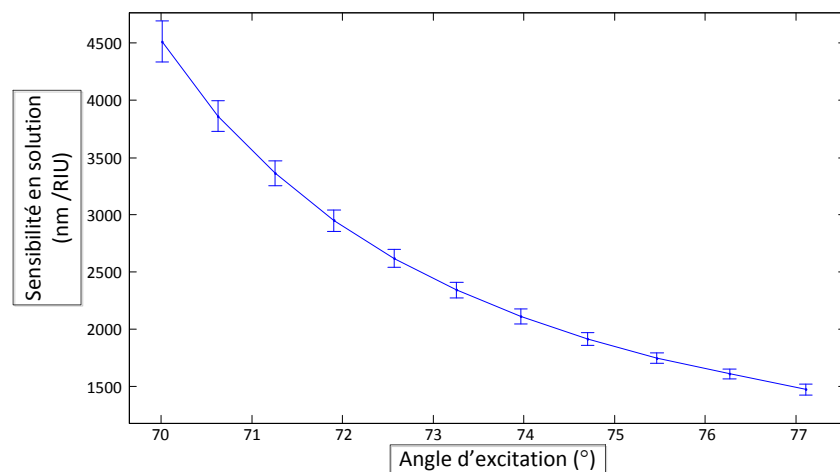


Figure 4.1 : Sensibilité en solution d'un film d'or excité en SPR par rapport à l'angle d'excitation.

Dans un même ordre d'idée, en transmission exaltée, l'angle d'excitation va avoir un impact sur les propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous. Le signal d'un réseau de nanotrous est affecté par de nombreux paramètres⁹⁹, notamment ; la périodicité (P), le diamètre, la composition métallique et l'indice de réfraction du milieu. De plus, le couplage⁴⁶ entre le vecteur d'onde du plasmon (k_{SP}) de surface et celui de la lumière (k_0) dépend aussi de l'angle d'excitation (θ) et de l'ordre de propagation (i) des SPPs. L'optimisation des réseaux de nanotrous permet de concevoir des senseurs ayant de meilleures sensibilités envers des variations locales d'indice de réfraction. De ce fait, les réseaux de nanotrous sont des structures plasmoniques ayant un énorme potentiel pour le développement de biocapteur capable d'effectuer du criblage à haut débit.

$$k_{SP} = k_0 \sin\theta + i \left(\frac{2\pi}{P} \right) \quad (4.1)$$

Dans la majorité des cas¹⁰⁹, les senseurs EOT sont excités avec un angle d'incidence de 0° par rapport à la normale, donc en transmission directe. La variation de l'angle d'excitation va avoir un impact sur la relation de dispersion des BW-SPP avec la lumière, donc sur la position de la bande plasmonique⁴⁴. Le changement d'angle d'incidence d'excitation du réseau de nanotrous permet un couplage avec différents modes de SPP⁴⁴. D'ailleurs, quelques groupes de recherches tentent de profiter de ce phénomène afin d'optimiser les capacités analytiques de leur senseur. Pang *et al.*¹³¹ ont démontré la possibilité de détecter des bactéries à des concentrations de l'ordre du picomolaire à l'aide de réseaux de nanotrous lorsqu'excités avec un certain angle d'incidence. En effet, certains modes d'excitation seront davantage sensibles aux variations d'indice de réfraction du milieu pour différents angles d'incidence. De plus, l'angle d'incidence aurait un impact sur la quantité de bruit présent dans le signal analytique. Ce faisant, Ji *et al.*⁷¹ ont amélioré par un facteur de 4 leur ratio de signal sur bruit en augmentant l'angle d'excitation par rapport à la normale. Le fait de diminuer la quantité de bruit dans le signal permet d'améliorer la précision au niveau du suivi mathématique de la bande plasmonique, donc augmente la sensibilité de la méthode.

Malgré ces quelques exemples, l'impact de l'angle d'incidence d'excitation des réseaux de nanotrous est très peu documenté dans la littérature. Dans la majorité des cas, la variation de l'angle est utilisée afin d'améliorer les performances analytiques de leur méthode. Certaines études ont d'ailleurs été effectuées par le biais d'une simulation informatique par « *rigorous coupled-wave analysis* » (RCWA). Un test RCWA¹³² permet de simuler la dispersion des BW SPP pour des structures périodiques selon différents modes d'orientation. Ces simulations des modes de diffractions du champ plasmonique permettent de corroborer selon différents paramètres, dont l'angle d'incidence, le signal théorique d'un réseau de nanotrous par rapport au signal expérimental. Par contre, les simulations ne tiennent pas compte de certains facteurs tels que l'imperfection des réseaux ou la sensibilité en surface. Or, très peu de recherches ont été effectuées afin d'interpréter expérimentalement comment l'angle affecte le signal plasmonique des réseaux de nanotrous.

Ainsi, le but de ce chapitre est d'étudier empiriquement l'effet de l'angle d'excitation à l'aide de réseaux de nanotrous en or de 820 nm de périodicité, 500 nm de diamètre et environ 125 nm d'épaisseur d'or. Le signal plasmonique de ce type de nanostructures est étudié en transmission pour différents angles d'incidence allant de 0° à 16,2°. Une courbe d'étalonnage (1,33 à 1,36 RIU) de la sensibilité en solution de ces capteurs est effectuée pour les différents angles. La sensibilité en surface des réseaux de nanotrous est déterminée à l'aide de la méthode de déposition de bicouche de polymères cationiques et anioniques. Le déplacement en longueur d'onde associé à l'adhésion d'une bicouche PAH-PSS est analysé pour des angles d'incidence de 0°, 6,6° et 13,3°. Finalement, la sensibilité en solution et en surface sont comparées afin d'évaluer l'impact de l'angle d'excitation sur les performances du capteur. L'objet de cette comparaison est de vérifier si la sensibilité en solution est proportionnelle à la sensibilité en surface. L'intérêt du chapitre est de démontrer qu'un capteur de réseaux de nanotrous est davantage sensible aux variations d'indice de réfraction à la surface lorsque l'angle d'incidence augmente.

4.2 Partie expérimentale

4.2.1 Fabrication des senseurs

La fabrication des réseaux de nanotrous de 820 nm de périodicité est identique au protocole du chapitre 2.

4.2.2 Analyse des senseurs

Les réseaux de nanotrous en or de 820 nm de périodicité sont analysés en transmission à l'aide d'un spectrophotomètre (Ocean Optics) couvrant une gamme spectrale de 550 nm à 1100 nm. Les échantillons sont illuminés à l'aide d'une lampe halogène par le biais d'une fibre optique. Une cellule fluïdique est montée sur un goniomètre manuel (figure 4.2) permettant l'excitation des senseurs pour des angles allant de 0° à 25°. Les échantillons sont illuminés par le côté en verre de l'échantillon. La réfraction de la lumière par le verre BK7 ($n = 1,517$) implique que la gamme angulaire d'excitation corrigée des PS est de 0° à 16,2°. Le signal de référence correspond à celui d'un film d'or de 50 nm analysés en transmission directe. Le traitement de données des spectres de transmission s'effectue à l'aide du logiciel MatLab par le biais d'un algorithme d'intégration des maximum-minimum.

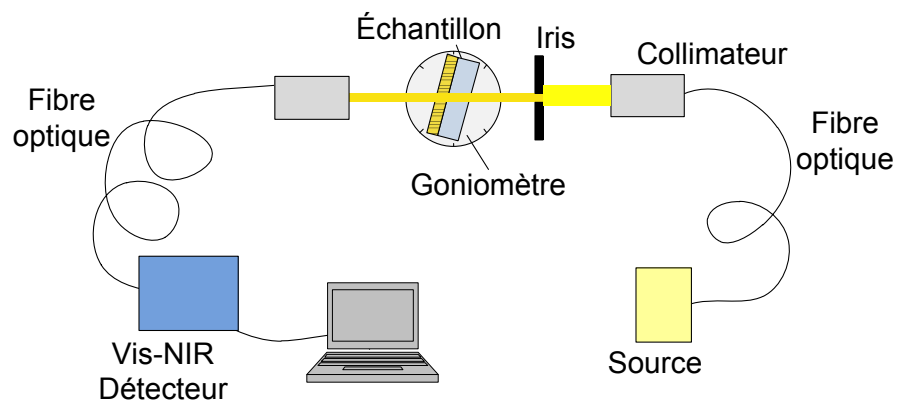


Figure 4.2 : Schéma du montage utilisé pour l'analyse de réseau de nanotrous par variation de l'angle d'incidence.

4.2.3 Sensibilité en solution et en surface

La sensibilité en solution (nm/RIU) des senseurs est déterminée par une courbe d'étalonnage de solutions d'eau sucrée ayant différents indices de réfraction (1,33 à 1,36 RIU) pour 6 différents angles d'excitations (0° à $16,2^\circ$). L'angle de mesure est maintenu fixe pour chaque courbe d'étalonnage afin de limiter les erreurs de précision liées au goniomètre. La cellule est rincée abondamment avec de l'eau pure entre chaque calibration.

La déposition par couche successive de polymère fut effectuée avec du poly(allylamine) hydrochlorée (PAH, 20 % P/V dans l'eau, 65 kDa, Sigma-Aldrich) et du poly(4-styrène sulfonate) (PSS, 18 % P/V dans l'eau, 75 kDa, Sigma-Aldrich). Ces couches sont formées directement sur les senseurs dans la cellule fluidique.

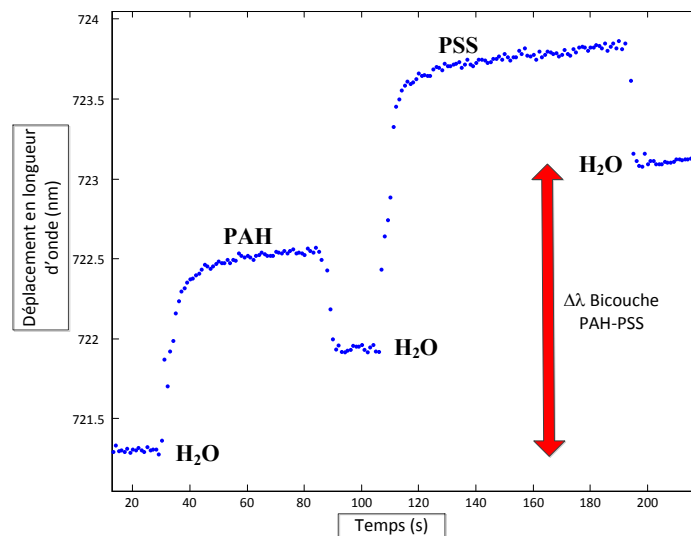


Figure 4.3 : Déplacement en longueur d'onde associé à l'adhésion d'une bicouche de polyélectrolytes PAH-PSS pour un réseau de nanotrous d'or.

Les solutions de polyélectrolytes sont diluées à 1 mg/mL dans du NaCl 0,1 M. Le polymère cationique (PAH) est adsorbé directement sur le senseur d'or puis rincé à l'eau pure avant d'adsorber le polymère anionique (PSS). L'adsorption des polymères dure environ 1 minute et un rinçage à l'eau est nécessaire entre chaque déposition. Le

déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique associé à l'adhésion d'une bicouche de PAH-PSS correspond à l'écart entre le signal dans l'eau avant l'adsorption du PAH et après celle du PSS (voir figure 4.3).

4.3 Résultats et discussion

4.3.1 Effet de l'angle d'incidence sur le signal EOT

Tel que mentionné dans le chapitre 2 de ce mémoire, le signal plasmonique en transmission directe dans l'eau de réseaux de nanotrous de 820 nm de périodicité est composé de plusieurs bandes plasmoniques (figure 4.4) ayant des propriétés analytiques distinctes. La bande ayant le signal d'absorption le plus intense est située vers 940 nm. Cette dernière corrèle⁵³ avec le mode (1,0) d'orientation des constantes de diffraction de Bragg. Ce signal provient d'un couplage entre les BW-SPPs⁴⁸ du réseau et la lumière incidente. Les bandes situées vers 500-650 nm proviennent de couplage entre différents modes de diffractions de BW-SPPs et de LSP. Cette réponse plasmonique est associée au même effet de réseau observé pour les réseaux de nanotrous de 1000 nm de périodicité vu au chapitre 3. D'ailleurs, ces bandes disparaissent immédiatement du spectre lumineux lorsque l'échantillon n'est pas excité en transmission directe. Ainsi, l'apport de ces bandes sur le signal des réseaux de nanotrous ne sera pas pris en compte dans cette étude. Ce faisant, le reste du chapitre fait uniquement référence au signal plasmonique relié au mode (1,0) de dispersion des BW-SPPs ($\lambda = 940$ nm, figure 4.4).

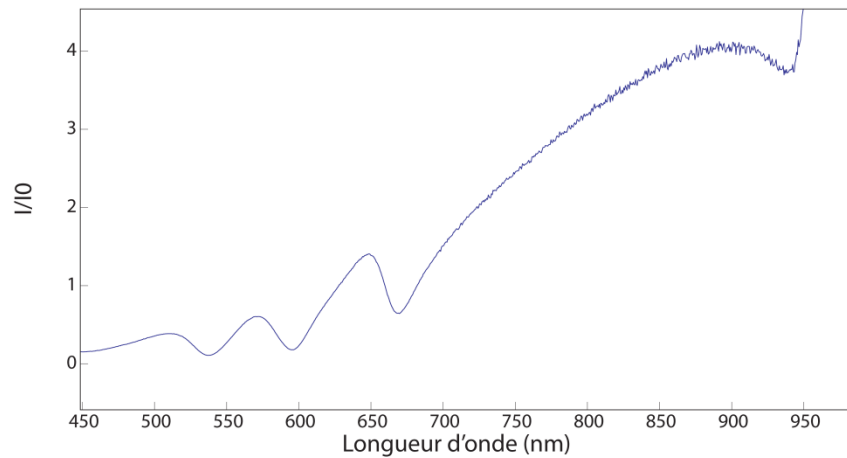


Figure 4.4 : Spectre en transmission directe dans l'eau d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité et 500 nm de diamètre. Bande plasmonique associé au mode (1,0) situé vers 940 nm.

Tel que prédit par la théorie, la variation de l'angle d'incidence d'excitation du réseau de nanotrous va avoir un impact sur la dispersion du couplage entre les SPPs et la lumière. En d'autres termes, la position de la bande plasmonique à 940 nm (dans l'eau) va varier selon l'angle d'incidence de la lumière. En effet, ce déplacement en longueur d'onde est hypsochromique lorsque l'angle d'excitation des photons incidents augmente (figure 4.5). D'ailleurs, la variation de l'angle d'incidence est reliée linéairement à celle de la position de la bande plasmonique ($R^2 = 0,999$).

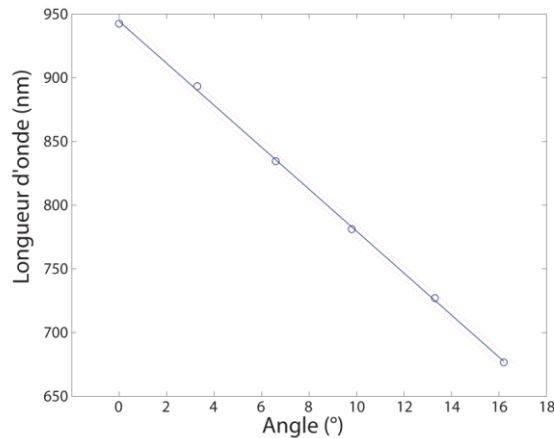


Figure 4.5 : Relation linéaire entre la longueur d'onde de la bande plasmonique et l'angle d'incidence (θ) de la lumière excitant un réseau de nanotrous en or de 820 nm de périodicité dans l'eau. $\lambda = -16,2(\text{nm}/^\circ)*\theta + 944 \text{ nm}$ ($R^2 = 0,9996$)

Contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature par Ji⁷¹, l'angle d'incidence n'a pas eu un énorme impact sur le bruit de fond des spectres de transmission. En effet, ces derniers amélioreraient leur ratio signal/bruit ($\Delta S/N$) de 5 à 22 lorsque l'angle d'excitation était supérieure à 0° ($> 13^\circ$), ce qui expliquait en partie l'amplification de la sensibilité de leur senseur. Pour le cas des réseaux de nanotrous étudiés dans ce chapitre, la largeur de bande à mi-hauteur (*full width at half maximum, FWHM*) est constante à $29 \pm 4 \text{ nm}$ pour l'ensemble des angles. De plus, l'écart type sur la position de la bande dans l'eau pour la mesure de plusieurs points est constante à $3,0 \pm 0,5 \times 10^{-2} \text{ nm}$ pour les différents angles mesurés. Ainsi, la variation de l'angle ne semble pas avoir d'impact sur la résolution du signal plasmonique de ces structures.

Cette relation linéaire décroissante pour le mode (1,0) entre la bande plasmonique et l'angle d'incidence fut aussi observée par Pang et al⁵². Ces derniers ont obtenu dans l'eau avec un réseau de nanotrous de 1530 nm de périodicité et 300 nm de diamètre un déplacement d'environ 1000 nm (de $\lambda = 2000 \text{ nm}$ à 1000 nm) pour un changement total de 40° de l'angle d'incidence. La sensibilité de leur senseur ($\sim 25 \text{ nm}/^\circ$) par rapport à l'angle d'excitation est donc dans le même ordre de grandeur que celui obtenu avec des nanotrous

de 820 nm (~ 16 nm/°). L'intérêt de travailler avec cette relation entre l'angle et la position de la bande des BW-SPPs est de vérifier si la sensibilité des senseurs peut être optimisée selon l'angle d'incidence.

4.3.2 Variation de la sensibilité en solution et en surface des senseurs

L'optimisation d'un senseur dans le but d'effectuer des tests de biodétection est généralement basée sur la sensibilité de ce dernier à l'indice de réfraction et à la formation d'une monocouche. Le fait de varier l'angle d'incidence de l'excitation du réseau de nanotrous peut mener à différents couplages des BW-SPP. Ce couplage permet entre autres d'augmenter la sensibilité du signal envers des changements d'indice de réfraction localisés à proximité de la surface du réseau. L'évaluation de la sensibilité en solution du senseur permet d'estimer grossièrement le potentiel de ce dernier pour effectuer de la biodétection. Or, ce n'est pas toujours vrai que la sensibilité en solution est reliée³⁵ à la sensibilité en surface du transducteur. D'où l'importance de déterminer expérimentalement les deux types de sensibilités du senseur avant d'entrevoir la possibilité d'effectuer des tests complexes de détection biologique.

Tout d'abord, la sensibilité en solution est indépendante de la variation de l'angle d'incidence d'excitation du réseau de nanotrous (figure 4.6). Ceci fut déterminé à l'aide de courbes de calibration par des solutions d'eaux sucrées d'indice de réfraction variable (1,33 à 1,36 RIU) pour chaque angle. En effet, aucune relation ne semble s'établir comme le témoigne le coefficient de corrélation de la courbe de régression linéaire à 0,1036. La sensibilité en solution moyenne est d'environ 670 ± 70 nm/RIU pour l'ensemble des angles. La variation du déplacement de la bande par rapport à l'angle incident (nm/°) est indépendante de l'indice de réfraction du milieu puisque cette valeur reste constante à environ ~ 16 -17 nm/° pour les divers angles d'incidence et indices de réfraction mesurés.

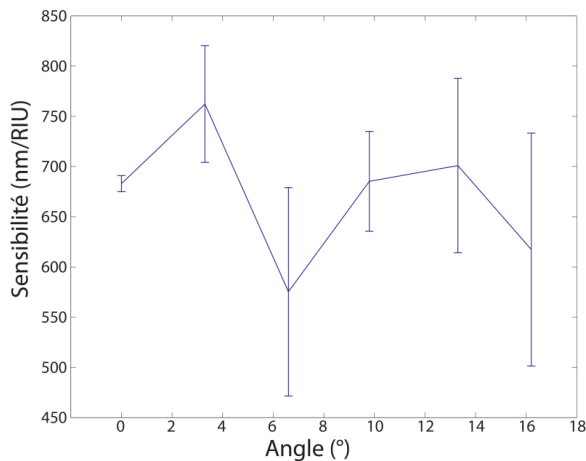


Figure 4.6 : Variation de la sensibilité en solution (nm/RIU) pour des solutions d'eau sucrée (1,33 à 1,36 RIU) d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité par rapport à l'angle d'excitation du senseur ($n=3$, $R^2 = 0,1036$).

Cette indépendance de la sensibilité en solution du mode (1,0) par rapport à la variation de l'angle a aussi été observée par Pang et al [ENREF 49](#)⁵² avec une sensibilité fixe d'environ 1500 nm/RIU. L'écart entre les sensibilités obtenues par Pang *et al.* et la nôtre (1500 nm/RIU vs 670 nm/RIU) s'explique par la différence de taille de la périodicité des réseaux (1530 nm vs 820 nm). En effet, tel que mentionné au chapitre 2, la sensibilité du senseur est proportionnelle à la périodicité du réseau. Le mode (1,0) est d'ailleurs reconnu théoriquement pour être celui ayant la plus grande sensibilité en solution. En effet, il a été rapporté par Pang que la sensibilité en solution est inversement proportionnelle aux ordres de diffractions (i et j) de Bragg (équation 4.2). Donc, les bandes plasmoniques associées aux ordres de diffractions élevés auront des sensibilités inférieures au mode (1,0).

$$S = \frac{\Delta\lambda}{\Delta n} = \frac{P}{\sqrt{i^2 + j^2}} \sqrt{\left(\frac{\epsilon_m}{n^2 + \epsilon_m}\right)^3} \quad (4.2)$$

L'étude de la sensibilité en surface des senseurs est effectuée à l'aide d'une technique de déposition successive de polyélectrolytes. Le protocole utilisé est identique à celui effectué au chapitre précédent. Les bicouches de PAH-PSS qui s'adsorbent à la surface du réseau permettent de simuler l'adhésion d'un quelconque modèle biologique. Ainsi, un

capteur qui est plus sensible en surface induit un déplacement bathochromique plus élevé de la bande plasmonique pour une même bicouche de PAH-PSS.

La variation de l'angle d'incidence a un impact sur le déplacement en longueur d'onde du signal pour une bicouche de polyélectrolytes (figure 4.7). L'augmentation de l'angle d'incidence de 0° à $13,3^\circ$ génère une amplification de la sensibilité en surface du réseau de nanotrous. Ainsi, un angle d'incidence avec un écart de $13,3^\circ$ par rapport à la normale provoque un facteur d'amplification de 3-fois la sensibilité en surface. Aucun résultat de fixation de bicouches de PAH-PSS n'a été effectué pour des angles supérieurs à $13,3^\circ$. Il faut tenir compte que la cellule fluïdique limitait l'analyse des échantillons à un angle maximal de $16,2^\circ$, soit 25° sans correction de la réfraction du verre BK7. L'intensité du signal obtenu pour des angles supérieurs ou égaux à $16,2^\circ$ était relativement faible. Somme toute, les résultats démontrent que l'augmentation de l'angle d'incidence induit un couplage avec des modes plasmoniques qui semblent davantage localisés à proximité de la surface du réseau de nanotrous.

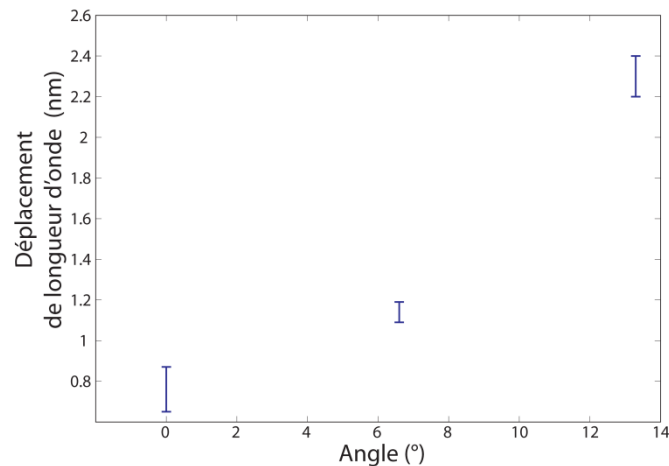


Figure 4.7 : Déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité associé à la fixation d'une bicouche de polyélectrolytes PAH-PSS pour des angles de 0° , $6,6^\circ$ et $13,3^\circ$ ($n=3$).

Ces observations renforcent davantage l'hypothèse qu'il n'y a pas de corrélation entre la sensibilité en surface d'un capteur et celle en solution. En effet, à $13,3^\circ$ la sensibilité en solution est similaire à celle à 0° mais la sensibilité en surface lui est 3-fois supérieure. Le fait que le champ plasmonique soit plus localisé lorsque l'angle d'excitation augmente est une supposition ; il serait important d'effectuer des simulations RCWA pour le confirmer.

4.4 Conclusion

En conclusion, l'angle d'incidence d'excitation d'un réseau de nanotrous de 820 nm de périodicité a un énorme impact sur la dispersion du couplage de la lumière avec les BW-SPP. Les résultats ont démontré que pour différents angles d'excitation, mais à un même indice de réfraction ($RI = 1,33$), la bande plasmonique se déplace de façon hypsochromique de $16,2 \pm 0,2 \text{ nm}/^\circ$. Cette sensibilité aux changements d'angle est d'ailleurs constante pour des gammes d'indices de réfraction de 1,33 à 1,36 RIU. De plus, la sensibilité en solution des capteurs est indépendante de l'angle d'excitation. En effet, la moyenne des sensibilités en solution pour des angles d'incidence allant de 0° à $16,2^\circ$ est de $670 \pm 70 \text{ nm}/\text{RIU}$. La sensibilité en surface du capteur s'est avérée dépendante de l'angle d'excitation. De ce fait, le déplacement en longueur d'onde associé à l'adhésion d'une bicouche de polyelectrolytes triple lorsque l'angle varie de 0° à $13,3^\circ$. Ce faisant, la sensibilité en surface ne corrèle pas en fonction de la sensibilité en solution pour les différents angles d'excitation. Cette information est d'une importance capitale pour tout groupe de recherche désirant optimiser leur signal analytique de réseaux de nanotrous. En fait, les résultats de ce chapitre démontrent qu'une optimisation de l'angle d'incidence permet d'améliorer la sensibilité en surface des capteurs. Cet ajustement de l'angle d'excitation devrait être considéré dans le futur pour le développement de biocapteurs fonctionnant par criblage à haut débit.

Chapitre 5 Conclusions

En conclusion, il est aisé de constater que les réseaux de nanotrous sont des structures plasmoniques d'une grande complexité. De nombreux paramètres sont à tenir en compte pour l'optimisation du signal plasmonique des réseaux de nanotrous. En effet, la périodicité, le diamètre, la composition métallique, l'épaisseur et l'angle d'excitation des nanotrous influencent tous la position, l'intensité et la sensibilité des bandes plasmoniques. L'optimisation de l'ensemble de ces paramètres aboutit à l'identification d'une structure ayant une sensibilité en solution optimale. L'hypothèse étant que plus une structure est sensible en solution plus elle est influencée par des variations d'indice de réfraction local. Ainsi, un tel substrat serait applicable pour effectuer des tests de biodétection.

De plus, le mode d'excitation des réseaux de nanotrous (EOT ou SPR) a aussi un impact sur les performances analytiques de ces senseurs. Jusqu'à maintenant, il n'y avait encore aucune étude qui avait été effectuée afin de comparer les propriétés plasmoniques de ces deux modes d'excitations pour un même réseau de nanotrous. Ainsi, ce mémoire tente de répondre à certaines questions, notamment : est-ce que l'excitation directe des nanotrous est optimale ? Quel mode d'excitation des nanotrous (EOT ou SPR) est préférable pour effectuer la détection de biomolécules à faible concentration ? Les réponses à ces questions sont d'une grande importance puisqu'elles auront un impact quant aux futures applications des réseaux de nanotrous.

Pour continuer, il a été démontré que l'augmentation de la périodicité du réseau (520 nm, 650 nm, 820 nm et 1000 nm) est associée à une augmentation de la sensibilité et de la position des bandes plasmoniques pour un même mode de diffraction des SPPs. Les senseurs composés uniquement d'argent sont davantage sensibles que ceux composés d'or ou de bicouche métallique Ag/Au. Par contre, les senseurs d'argent sont beaucoup moins stables chimiquement que l'or et réagissent mal avec les thiols utilisés comme monocouche auto assemblée pour la fixation de récepteur moléculaire. Le senseur ayant un signal et une sensibilité optimale fut déterminé au chapitre 2 : un réseau d'une périodicité de 1000 nm, un diamètre des trous de 600 nm et une composition métallique de 125 nm d'or. Ce substrat possède une sensibilité en solution de 500-600 nm/RIU et le spectre contient de

nombreuses bandes situées entre 600-800 nm. Ces bandes plasmoniques sont d'ailleurs associées à différents modes de diffractions des BW-SPPs avec la lumière. La limite de détection de l'IgG humain pour ce substrat en transmission est d'environ 100 nM ; ce qui est relativement élevé. En effet, le déplacement en longueur d'onde de la bande plasmonique en transmission pour une concentration de 100 nM d'IgG est cinq fois inférieur à celui d'un film d'or en SPR ; considéré comme le standard. Le mode SPR propagatif d'un réseau de nanotrous de 1000 nm de périodicité a une sensibilité en solution plus élevée (3600 nm/RIU) que celle d'un film d'or (2700 nm/RIU). Le facteur d'amplification associé à la détection de 100 nM d'IgG est d'environ 1,30 pour un réseau de nanotrous en SPR par rapport à un film d'or. Une comparaison entre les deux modes d'excitation pour la détection de l'IgG a permis de déterminer que le mode SPR est 6-fois plus sensible qu'en transmission pour le même réseau de nanotrous pour une même concentration d'IgG de 100 nM. Ce faisant, ces résultats ont émis un doute quant aux propriétés plasmoniques du signal EOT des réseaux de nanotrous. Si le champ plasmonique est davantage localisé à proximité des trous, la sensibilité pour la détection de l'IgG serait grandement supérieure. Ainsi, une étude de la distance de pénétration du champ plasmonique par déposition successive de polyélectrolytes a permis de déterminer que le volume de détection est d'environ 140 nm pour un réseau de 1000 nm de périodicité. En tant normal, pour un phénomène LSPR, le champ plasmonique est d'environ 10-40 nm de hauteur. La distance de pénétration élevée du capteur en transmission révèle que le signal plasmonique est davantage associé à un mode propagatif de BW-SPPs qu'un mode localisé de PS. Cette section du mémoire a permis d'approfondir la compréhension des propriétés plasmoniques de réseaux de nanotrous excités en transmission. Ces recherches permettent de réorienter le tir quant au choix du réseau de nanotrous permettant d'effectuer de la biodétection par criblage à haut débit.

De plus, la variation de l'angle d'incidence a un impact sur la position de la bande plasmonique associée au mode (1,0). L'étude de ce mode d'excitation fut effectuée à l'aide de réseaux de nanotrous en or de 820 nm de périodicité. La variation de l'angle d'excitation induit un déplacement hypsochromique de la bande plasmonique pour une sensibilité de $16,2 \pm 0,2$ nm/°. D'ailleurs, la sensibilité en solution moyenne pour une gamme d'angles

d'incidence de 0° à $16,2^\circ$ est de 670 ± 70 nm/RIU pour le mode (1,0). La variation de l'angle d'incidence a un impact sur la sensibilité en surface de ces senseurs. En effet, le déplacement en longueur d'onde associé à la fixation d'une bicouche de polyélectrolytes triple pour un angle d'incidence de $13,3^\circ$ par rapport à un angle de 0° . Sachant que la sensibilité en solution est constante pour l'ensemble des angles étudiés; c'est erroné d'affirmer que la sensibilité en solution est proportionnelle à la sensibilité en surface. Très peu de groupes de recherches se sont intéressés à l'effet de l'angle d'incidence d'excitation des BW-SPPs de réseaux de nanotrous. Ce mémoire démontre l'importance d'optimiser l'angle d'incidence afin d'améliorer la sensibilité en surface des senseurs.

5.1 Perspectives

Il a été démontré que le mode SPR est beaucoup plus sensible que le mode EOT pour effectuer de la biodétection. Par contre, l'intérêt de travailler en EOT par rapport à la SPR est dû à la simplicité du montage (transmission vs couplé à un prisme) permettant d'effectuer du criblage à haut débit. De plus, les recherches du chapitre 4 ont démontré que l'excitation en transmission directe n'est pas optimale et que la sensibilité des capteurs en EOT peut être optimisée en variant l'angle d'excitation. Ainsi, l'étude de caractérisation des matériaux effectuée dans le cadre de ce mémoire a permis de déterminer la structure idéale pouvant effectuer de la biodétection avec une sensibilité acceptable. Ce réseau de nanotrous doit avoir une bande plasmonique associée au mode (1,0) qui absorbe dans le visible vers 400-600 nm, donc une périodicité d'environ 500-700 nm. En effet, la majorité des lecteurs de plaques multi puits ont un spectrophotomètre intégré qui œuvre uniquement dans le visible. De plus, l'intérêt de travailler avec le mode (1,0) est l'amplification de la sensibilité du senseur lorsque l'angle d'incidence est optimisé. Si une telle structure est déterminée, la fabrication des senseurs devrait être modifiée de façon à produire massivement le même type d'échantillons. La lithographie colloïdale pourrait être remplacée par une technique de nano impression qui possède l'avantage de générer des structures presque parfaites. À défaut d'avoir un lecteur à plaque multi puits, un robot permettant de trianguler la position des puits par rapport à la position des fibres optiques peut être fabriqué maison. D'ailleurs,

l'excitation des puits pourrait s'effectuer avec un angle d'incidence sans avoir à modifier physiquement les plaques multi puits.

Dans un autre ordre d'idée, les groupes de recherche en plasmonique ayant accès à des spectrophotomètres travaillant dans l'infrarouge pourrait considérer l'étude de réseaux de nanotrous ayant une périodicité de 1000 nm et plus. En effet, le chapitre 3 a démontré que le mode (1,0) de telles structures absorbe vers 1200 nm. Très peu d'études portant sur l'excitation de réseaux de nanotrous dans l'infrarouge ont été effectuées. Cette voie serait grandement à considérer afin d'élargir nos connaissances des propriétés plasmoniques des réseaux de nanotrous. En conclusion, les réseaux de nanotrous sont toujours d'actualité dans le monde scientifique de la plasmonique. La caractérisation physique et analytique de ces structures étant faite, la prochaine étape de ces senseurs sera d'être adapté à une application soutirant le maximum de leur potentiel par criblage à haut débit.

Bibliographie

- (1) Homola, J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors, *Anal. Bioanal. Chem.* **2003**, 377, 528.
- (2) Wood, R. W. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum, *Phil. Mag.* **1902**, 4, 396.
- (3) Schasfoort, R. B. M., Tudos, A. J. *Handbook of Surface Plasmon Resonance*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 2008.
- (4) Rayleigh, L. Note on the remarkable case of diffraction spectra described by Prof. Wood, *Philos. Mag* **1907**, 14, 60.
- (5) Otto, A. *Z. Phys* **1968**, 216, 398.
- (6) E. Kretschmann, H. R. *Z. Naturforsch.* **1968**, 23, 2135.
- (7) Liedberg, B. *Sens. Actuators* **1983**, 4, 299.
- (8) Fivash, M.; Towler, E. M.; Fisher, R. J. BIAcore for macromolecular interaction, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1998**, 9, 97.
- (9) Oshannessy, D. J.; Brighamburke, M.; Peck, K. Immobilization chemistries suitable for use in the biacore surface-plasmon resonance detector *Anal. Biochem.* **1992**, 205, 132.
- (10) Hoa, X. D.; Kirk, A. G.; Tabrizian, M. Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress, *Biosens. Bioelectron.* **2007**, 23, 151.
- (11) Zayats, A. V.; Smolyaninov, II; Maradudin, A. A. Nano-optics of surface plasmon polaritons, *Phys. Rep.-Rev. Sec. Phys. Lett.* **2005**, 408, 131.
- (12) Knoll, W. Interfaces and thin films as seen by bound electromagnetic waves, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **1998**, 49, 569.
- (13) Srituravanich, W.; Fang, N.; Sun, C.; Luo, Q.; Zhang, X. Plasmonic nanolithography, *Nano Lett* **2004**, 4, 1085.
- (14) Homola, J.; Yee, S. S.; Gauglitz, G. Surface plasmon resonance sensors: review, *Sens. Actuator B-Chem.* **1999**, 54, 3.

- (15) Xiao, C. D.; Sui, S. F. Characterization of surface plasmon resonance biosensor, *Sensor Actuat B-Chem* **2000**, *66*, 174.
- (16) Gwon, H. R.; Lee, S. H. Spectral and Angular Responses of Surface Plasmon Resonance Based on the Kretschmann Prism Configuration, *Mater. Trans.* **2010**, *51*, 1150.
- (17) Jung, L. S.; Campbell, C. T.; Chinowsky, T. M.; Mar, M. N.; Yee, S. S. Quantitative interpretation of the response of surface plasmon resonance sensors to adsorbed films, *Langmuir* **1998**, *14*, 5636.
- (18) Bolduc, O. R.; Live, L. S.; Masson, J. F. High-resolution surface plasmon resonance sensors based on a dove prism, *Talanta* **2009**, *77*, 1680.
- (19) Live, L. S.; Dhawan, A.; Gibson, K.; Poirier-Richard, H.; Graham, D.; Canva, M.; Vo-Dinh, T.; Masson, J. F. In *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, p DOI: 10.1007/s00216.
- (20) Sepúlveda, B.; Angelomé, P. C.; Lechuga, L. M.; Liz-Marzán, L. M. LSPR-based nanobiosensors, *Nano Today* **2009**, *4*, 244.
- (21) Vo-Dinh, T.; Cullum, B. Biosensors and biochips: advances in biological and medical diagnostics, *Fresenius J. Anal. Chem.* **2000**, *366*, 540.
- (22) Cho, J. W.; Kang, D. Y.; Jang, Y. H.; Kim, H. H.; Min, J.; Oh, B. K. Ultra-sensitive surface plasmon resonance based immunosensor for prostate-specific antigen using gold nanoparticle-antibody complex, *Colloid Surface A* **2008**, *313*, 655.
- (23) BioChips Business Trends & Latest Market Research. [Online Early Access]. Published Online: 2011. <http://www.biomedtrends.com/GetDetails.asp?CatName=BioChips>.
- (24) Nie, Z. H.; Deiss, F.; Liu, X. Y.; Akbulut, O.; Whitesides, G. M. Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers, *Lab Chip* **2010**, *10*, 3163.
- (25) Biosensors Market to Reach \$6.1 Billion by 2012. [Online Early Access]. Published Online: 2008. <http://www.azonano.com/news.aspx?newsID=8571>.
- (26) 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.
- (27) Bolduc, O. R.; Pelletier, J. N.; Masson, J. F. SPR Biosensing in Crude Serum Using Ultralow Fouling Binary Patterned Peptide SAM, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 3699.

- (28) Ratel, M.; Branca, M.; Breault-Turcot, J.; Zhao, S. S.; Chaurand, P.; Schmitzer, A. R.; Masson, J. F. Properties of ionic liquids on Au surfaces: non-conventional anion exchange reactions with carbonate, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 10644.
- (29) Cheng, G.; Li, G. Z.; Xue, H.; Chen, S. F.; Bryers, J. D.; Jiang, S. Y. Zwitterionic carboxybetaine polymer surfaces and their resistance to long-term biofilm formation, *Biomaterials* **2009**, *30*, 5234.
- (30) Fan, X. D.; White, I. M.; Shopova, S. I.; Zhu, H. Y.; Suter, J. D.; Sun, Y. Z. Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review, *Anal Chim Acta* **2008**, *620*, 8.
- (31) Endo, T.; Kerman, K.; Nagatani, N.; Hiepa, H. M.; Kim, D. K.; Yonezawa, Y.; Nakano, K.; Tamiya, E. Multiple label-free detection of antigen-antibody reaction using localized surface plasmon resonance-based core-shell structured nanoparticle layer nanochip, *Anal Chem* **2006**, *78*, 6465.
- (32) Willets, K. A.; Van Duyne, R. P. In *Annual Review of Physical Chemistry*; Annual Reviews: Palo Alto, 2007; Vol. 58, p 267.
- (33) Haes, A. J.; Van Duyne, R. P. A unified view of propagating and localized surface plasmon resonance biosensors, *Anal. Bioanal. Chem.* **2004**, *379*, 920.
- (34) Yonzon, C. R.; Jeoungf, E.; Zou, S. L.; Schatz, G. C.; Mrksich, M.; Van Duyne, R. P. A comparative analysis of localized and propagating surface plasmon resonance sensors: The binding of concanavalin a to a monosaccharide functionalized self-assembled monolayer, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12669.
- (35) Vaskevich, A.; Kedem, O.; Tesler, A. B.; Rubinstein, I. Sensitivity and Optimization of Localized Surface Plasmon Resonance Transducers, *Acs Nano* **2011**, *5*, 748.
- (36) Rindzevicius, T.; Alaverdyan, Y.; Kall, M.; Murray, W. A.; Barnes, W. L. Long-range refractive index sensing using plasmonic nanostructures, *J Phys Chem C* **2007**, *111*, 11806.
- (37) Roh, S.; Chung, T.; Lee, B. Overview of the Characteristics of Micro- and Nano-Structured Surface Plasmon Resonance Sensors, *Sensors* **2011**, *11*, 1565.
- (38) Mustafa, D. E.; Yang, T. M.; Xuan, Z.; Chen, S. Z.; Tu, H. Y.; Zhang, A. D. Surface Plasmon Coupling Effect of Gold Nanoparticles with Different Shape and Size on Conventional Surface Plasmon Resonance Signal, *Plasmonics* **2010**, *5*, 221.
- (39) He, L.; Musick, M. D.; Nicewarner, S. R.; Salinas, F. G.; Benkovic, S. J.; Natan, M. J.; Keating, C. D. Colloidal Au-enhanced surface plasmon resonance for ultrasensitive detection of DNA hybridization, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 9071.

- (40) Montgomery, J. M.; Imre, A.; Welp, U.; Vlasko-Vlasov, V.; Gray, S. K. SERS enhancements via periodic arrays of gold nanoparticles on silver film structures, *Opt. Express* **2009**, *17*, 8669.
- (41) McNay, G.; Eustace, D.; Smith, W. E.; Faulds, K.; Graham, D. Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) and Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering (SERRS): A Review of Applications, *Appl. Spectrosc.* **2011**, *65*, 825.
- (42) Fan, M. K.; Andrade, G. F. S.; Brolo, A. G. A review on the fabrication of substrates for surface enhanced Raman spectroscopy and their applications in analytical chemistry, *Anal Chim Acta* **2011**, *693*, 7.
- (43) Hankus, M. E.; Stratis-Cullum, D. N.; Pellegrino, P. M. In *Biosensing and Nanomedicine Iv*; Mohseni, H., Agahi, M. H., Razeghi, M., Eds.; Spie-Int Soc Optical Engineering: Bellingham, 2011; Vol. 8099.
- (44) 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.
- (45) Bethe, H. A. Theory of diffraction by small holes, *Phys. Rev.* **1944**, *66*, 163.
- (46) Genet, C.; Ebbesen, T. W. Light in tiny holes, *Nature* **2007**, *445*, 39.
- (47) Krishnan, A.; Thio, T.; Kima, T. J.; Lezec, H. J.; Ebbesen, T. W.; Wolff, P. A.; Pendry, J.; Martin-Moreno, L.; Garcia-Vidal, F. J. Evanescently coupled resonance in surface plasmon enhanced transmission, *Opt. Commun.* **2001**, *200*, 1.
- (48) 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, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2006**, *103*, 17143.
- (49) Salomon, L.; Grillot, F.; Zayats, A. V.; de Fornel, F. Near-field distribution of optical transmission of periodic subwavelength holes in a metal film, *Phys Rev Lett* **2001**, *86*, 1110.
- (50) Gibson, K. F.; Correia-Ledo, D.; Couture, M.; Graham, D.; Masson, J. F. Correlated AFM and SERS imaging of the transition from nanotriangle to nanohole arrays, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 3404.
- (51) Correia-Ledo, D.; Gibson, K. F.; Dhawan, A.; Couture, M.; Tuan, V. D.; Graham, D.; Masson, J. F. Assessing the Location of Surface Plasmons Over Nanotriangle and Nanohole Arrays of Different Size and Periodicity, *J. Phys. Chem. C* **2012**, *116*, 6884.

- (52) Pang, L.; Hwang, G. M.; Slutsky, B.; Fainman, Y. Spectral sensitivity of two-dimensional nanohole array surface plasmon polariton resonance sensor, *Appl. Phys. Lett.* **2007**, *91*.
- (53) Murray-Methot, M. P.; Ratel, M.; Masson, J. F. Optical Properties of Au, Ag, and Bimetallic Au on Ag Nanohole Arrays, *J. Phys. Chem. C* **2010**, *114*, 8268.
- (54) Haes, A. J.; Zou, S. L.; Schatz, G. C.; Van Duyne, R. P. Nanoscale optical biosensor: Short range distance dependence of the localized surface plasmon resonance of noble metal nanoparticles, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 6961.
- (55) Tam, F.; Moran, C.; Halas, N. J. Geometrical parameters controlling sensitivity of nanoshell plasmon resonances to changes in dielectric environment, *J Phys Chem B* **2004**, *108*, 17290.
- (56) Underwood, S.; Mulvaney, P. Effect of the solution refractive-index on the color of gold colloids, *Langmuir* **1994**, *10*, 3427.
- (57) Lee, K. S.; El-Sayed, M. A. Gold and silver nanoparticles in sensing and imaging: Sensitivity of plasmon response to size, shape, and metal composition, *J Phys Chem B* **2006**, *110*, 19220.
- (58) Live, L. S.; Murray-Methot, M. P.; Masson, J. F. Localized and Propagating Surface Plasmons in Gold Particles of Near-Micron Size, *J Phys Chem C* **2009**, *113*, 40.
- (59) 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, *Phys. Rev. B* **2004**, *69*.
- (60) Live, L. S., Université de Montréal, 2011.
- (61) Petruck, P.; Riesenberger, R.; Hubner, U.; Kowarschik, R. Spatial coherence on micrometer scale measured by a nanohole array, *Opt. Commun.* **2012**, *285*, 389.
- (62) Im, H.; Lee, S. H.; Wittenberg, N. J.; Johnson, T. W.; Lindquist, N. C.; Nagpal, P.; Norris, D. J.; Oh, S. H. Template-Stripped Smooth Ag Nanohole Arrays with Silica Shells for Surface Plasmon Resonance Biosensing, *Acs Nano* **2011**, *5*, 6244.
- (63) Brolo, A. G.; Arctander, E.; Gordon, R.; Leathem, B.; Kavanagh, K. L. Nanohole-enhanced Raman scattering, *Nano Lett* **2004**, *4*, 2015.
- (64) Xu, T.; Wu, Y. K.; Luo, X. G.; Guo, L. J. Plasmonic nanoresonators for high-resolution colour filtering and spectral imaging, *Nat. Commun.* **2010**, *1*.

- (65) Hao, Q. Z.; Zhao, Y. H.; Juluri, B. K.; Kiraly, B.; Liou, J.; Khoo, I. C.; Huang, T. J. Frequency-addressed tunable transmission in optically thin metallic nanohole arrays with dual-frequency liquid crystals, *J Appl Phys* **2011**, *109*.
- (66) Menezes, J. W.; Ferreira, J.; Santos, M. J. L.; Cescato, L.; Brolo, A. G. Large-Area Fabrication of Periodic Arrays of Nanoholes in Metal Films and Their Application in Biosensing and Plasmonic-Enhanced Photovoltaics, *Adv Funct Mater* **2010**, *20*, 3918.
- (67) Lee, S. H.; Bantz, K. C.; Lindquist, N. C.; Oh, S. H.; Haynes, C. L. Self-Assembled Plasmonic Nanohole Arrays, *Langmuir* **2009**, *25*, 13685.
- (68) Wu, L.; Bai, P.; Zhou, X.; Li, E. P. Reflection and Transmission Modes in Nanohole-Array-Based Plasmonic Sensors, *IEEE Photonics J.* **2012**, *4*, 26.
- (69) Escobedo, C.; Brolo, A. G.; Gordon, R.; Sinton, D. Flow-Through vs Flow-Over: Analysis of Transport and Binding in Nanohole Array Plasmonic Biosensors, *Anal Chem* **2010**, *82*, 10015.
- (70) Bruls, D. M.; Evers, T. H.; Kahlman, J. A. H.; van Lankvelt, P. J. W.; Ovsyanko, M.; Pelssers, E. G. M.; Schleipen, J.; de Theije, F. K.; Verschuren, C. A.; van der Wijk, T.; van Zon, J. B. A.; Dittmer, W. U.; Immink, A. H. J.; Nieuwenhuis, J. H.; Prins, M. W. J. Rapid integrated biosensor for multiplexed immunoassays based on actuated magnetic nanoparticles, *Lab Chip* **2009**, *9*, 3504.
- (71) 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, *Anal Chem* **2008**, *80*, 2491.
- (72) Ali, M. Y.; Hung, W.; Fu, Y. Q. A Review of Focused Ion Beam Sputtering, *Int. J. Precis. Eng. Manuf.* **2010**, *11*, 157.
- (73) Tseng, A. A. Recent developments in nanofabrication using focused ion beams, *Small* **2005**, *1*, 924.
- (74) **Laser print forming** [Online Early Access]. Published Online: **2012**. <http://www-mmd.eng.cam.ac.uk/pp/projects/laserprintforming.html>.
- (75) Vieu, C.; Carcenac, F.; Pepin, A.; Chen, Y.; Mejias, M.; Lebib, A.; Manin-Ferlazzo, L.; Couraud, L.; Launois, H. Electron beam lithography: resolution limits and applications, *Appl Surf Sci* **2000**, *164*, 111.
- (76) Nakamoto, K.; Kurita, R.; Niwa, O.; Fujii, T.; Nishida, M. Development of a mass-producible on-chip plasmonic nanohole array biosensor, *Nanoscale* **2011**, *3*, 5067.

- (77) Boltasseva, A. Plasmonic components fabrication via nanoimprint, *J. Opt. A-Pure Appl. Opt.* **2009**, *11*.
- (78) Hultheen, J. C.; Vanduyne, R. P. Nanosphere lithography - a materials general fabrication process for periodic particle array surfaces, *J. Vac. Sci. Technol. A-Vac. Surf. Films* **1995**, *13*, 1553.
- (79) Yang, S. M.; Jang, S. G.; Choi, D. G.; Kim, S.; Yu, H. K. Nanomachining by colloidal lithography, *Small* **2006**, *2*, 458.
- (80) 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.
- (81) Jansen, H.; Gardeniers, H.; deBoer, M.; Elwenspoek, M.; Fluitman, J. A survey on the reactive ion etching of silicon in microtechnology, *J Micromech Microeng* **1996**, *6*, 14.
- (82) Juremi, N. R. M.; Mustafa, U.; Agam, M. A.; Nur, H. In *Enabling Science and Nanotechnology*; Hashim, A. M., Arora, V. K., Ahmad, M. R., Rahman, S. F. A., Abidin, M. S. Z., Eds.; Amer Inst Physics: Melville, 2011; Vol. 1341, p 296.
- (83) Jeyachandran, Y. L.; Karunagaran, B.; Narayandass, S. K.; Mangalaraj, D.; Jenkins, T. E.; Martin, P. J. Properties of titanium thin films deposited by dc magnetron sputtering, *Mater. Sci. Eng. A-Struct. Mater. Prop. Microstruct. Process.* **2006**, *431*, 277.
- (84) Butt, H. J.; Cappella, B.; Kappl, M. Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications, *Surf. Sci. Rep.* **2005**, *59*, 1.
- (85) Bioimaging. Atomic force microscopy - a brief explanation. [Online Early Access]. Published Online: 2008. <http://www.bioimaging.dk/index.php?id=77>.
- (86) Ghaemi, H. F.; Thio, T.; Grupp, D. E.; Ebbesen, T. W.; Lezec, H. J. Surface plasmons enhance optical transmission through subwavelength holes, *Phys. Rev. B* **1998**, *58*, 6779.
- (87) Zhu, Y.; Inada, H.; Nakamura, K.; Wall, J. Imaging single atoms using secondary electrons with an aberration-corrected electron microscope, *Nat. Mater.* **2009**, *8*, 808.
- (88) Decher, G. Fuzzy nanoassemblies: Toward layered polymeric multicomposites, *Science* **1997**, *277*, 1232.
- (89) Caruso, F.; Niikura, K.; Furlong, D. N.; Okahata, Y. Ultrathin multilayer polyelectrolyte films on gold: Construction and thickness determination .1, *Langmuir* **1997**, *13*, 3422.

- (90) R. M. A. AZZAM, N. M. B. Ellipsometry and polarized light, *North-Holland Physics Publishing* **1977**.
- (91) Filippov, V. V.; Kutavichus, V. P. *Determination of anisotropic film thickness, complex reflective indices and their dispersion from reflectance spectra*; Spie - Int Soc Optical Engineering: Bellingham, 1997; Vol. 3094.
- (92) 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, *Phys. Rev. B* **2009**, *79*.
- (93) Szunerits, S.; Castel, X.; Boukherroub, R. Surface plasmon resonance investigation of silver and gold films coated with thin indium tin oxide layers: Influence on stability and sensitivity, *J Phys Chem C* **2008**, *112*, 15813.
- (94) Choi, S. H.; Byun, K. M. Investigation on an application of silver substrates for sensitive surface plasmon resonance imaging detection, *J. Opt. Soc. Am. A-Opt. Image Sci. Vis.* **2010**, *27*, 2229.
- (95) Couture, M.; Live, L. S.; Dhawan, A.; Masson, J. F. EOT or Kretschmann configuration? Comparative study of the plasmonic modes in gold nanohole arrays, *Analyst* **2012**, *137*, 4162.
- (96) Hoa, X. D.; Kirk, A. G.; Tabrizian, M. Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress, *Biosensors and Bioelectronics* **2007**, *23*, 151.
- (97) Haes, A. J.; Zou, S. L.; Schatz, G. C.; Van Duyne, R. P. A nanoscale optical biosensor: The long range distance dependence of the localized surface plasmon resonance of noble metal nanoparticles, *J. Phys. Chem. B* **2004**, *108*, 109.
- (98) Lesuffleur, A.; Im, H.; Lindquist, N. C.; Oh, S. H. Periodic nanohole arrays with shape-enhanced plasmon resonance as real-time biosensors, *Appl Phys Lett* **2007**, *90*, 243110.
- (99) 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.
- (100) Escobedo, C.; Wood, P.; Gordon, R.; Brolo, A.; Sinton, D. Flow-through nanohole array based sensing, **2010**, 753.
- (101) Escobedo, C.; Vincent, S.; Choudhury, A. I. K.; Campbell, J.; Brolo, A. G.; Sinton, D.; Gordon, R. Integrated nanohole array surface plasmon resonance sensing device using a dual-wavelength source, *J Micromech Microeng* **2011**, *21*, 1.

- (102) Live, L. S.; Masson, J. F. High Sensitivity of Plasmonic Microstructures near the Transition from Short-Range to Propagating Surface Plasmon, *J Phys Chem C* **2009**, *113*, 10052.
- (103) Masson, J. F.; Murray-Methot, M. P.; Live, L. S. Nanohole arrays in chemical analysis: manufacturing methods and applications, *Analyst* **2010**, *135*, 1483.
- (104) Ge, L. Q.; Wang, X.; Tu, Z. C.; Pan, C.; Wang, C.; Gu, Z. Z. Fabrication of multilayered hollow nanofibers and estimation of its Young's modulus, *Jpn J Appl Phys I* **2007**, *46*, 6790.
- (105) Dhawan, A.; Du, Y.; Batchelor, D.; Wang, H. N.; Leonard, D.; Misra, V.; Ozturk, M.; Gerhold, M. D.; Tuan, V. D. Hybrid Top-Down and Bottom-Up Fabrication Approach for Wafer-Scale Plasmonic Nanoplatfoms, *Small* **2011**, *7*, 727.
- (106) Dhawan, A.; Norton, S. J.; Gerhold, M. D.; Vo-Dinh, T. Comparison of FDTD numerical computations and analytical multipole expansion method for plasmonics-active nanosphere dimers, *Opt. Express* **2009**, *17*, 9688.
- (107) Taflove, A. *Computational Electrodynamics: The Finite-Difference Time Domain Method*; 2nd ed.; Artech: Boston, 2000.
- (108) Dhawan, A.; Duval, A.; Nakkach, M.; Barbillion, G.; Moreau, J.; Canva, M.; Vo-Dinh, T. Deep UV nano-microstructuring of substrates for surface plasmon resonance imaging, *Nanotechnology* **2011**, *22*.
- (109) Jonsson, M. P.; Dahlin, A. B.; Jonsson, P.; Hook, F. Nanoplasmonic biosensing with focus on short-range ordered nanoholes in thin metal films, *Biointerphases* **2008**, *3*, FD30.
- (110) Pang, L.; Tetz, K. A.; Fainman, Y. Observation of the splitting of degenerate surface plasmon polariton modes in a two-dimensional metallic nanohole array, *Appl. Phys. Lett.* **2007**, *90*.
- (111) Cao, J.; Galbraith, E. K.; Sun, T.; Grattan, K. T. V. In *Sensors & Their Applications XVI*; Kyriacou, P. A., O'Riordan, A., McConnell, G., Eds.; Iop Publishing Ltd: Bristol, 2011; Vol. 307.
- (112) Sharpe, J. C.; Mitchell, J. S.; Lin, L.; Sedoglavich, H.; Blaikie, R. J. Gold nanohole array substrates as immunobiosensors, *Anal Chem* **2008**, *80*, 2244.
- (113) Barbillion, G.; Bijeon, J. L.; Plain, J.; Royer, P. Sensitive detection of biological species through localized surface-plasmon resonance on gold nanodisks, *Thin Solid Films* **2009**, *517*, 2997.

(114) Bingham, J. M.; Anker, J. N.; Kreno, L. E.; Van Duyne, R. P. Gas Sensing with High-Resolution Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy, *J Am Chem Soc* **2010**, *132*, 17358.

(115) Im, H.; Lee, S. H.; Wittenberg, N. J.; Johnson, T. W.; Lindquist, N. C.; Nagpal, P.; Norris, D. J.; Oh, S.-H. Template-Stripped Smooth Ag Nanohole Arrays with Silica Shells for Surface Plasmon Resonance Biosensing, *Acs Nano* **2011**, *5*, 6244.

(116) Kedem, O.; Tesler, A. B.; Vaskevich, A.; Rubinstein, I. Sensitivity and Optimization of Localized Surface Plasmon Resonance Transducers, *Acs Nano* **2011**, *5*, 748.

(117) Cini, N.; Tulun, T.; Decher, G.; Ball, V. Step-by-Step Assembly of Self-Patterning Polyelectrolyte Films Violating

(Almost) All Rules of Layer-by-Layer Deposition, *J Am Chem Soc* **2010**.

(118) Lefaux, C. J.; Zimberlin, J. A.; Dobrynin, A. V.; Mather, P. T. Polyelectrolyte spin assembly: Influence of ionic strength on the growth of multilayered thin films, *J Polym Sci Pol Phys* **2004**, *42*, 3654.

(119) Elzbieciak, M.; Kolasinska, M.; Warszynski, P. Characteristics of polyelectrolyte multilayers: The effect of polyion charge on thickness and wetting properties, *Colloid Surface A* **2008**, *321*, 258.

(120) Kolasinska, M.; Krastev, R.; Gutberlet, T.; Warszynski, P. Layer-by-Layer Deposition of Polyelectrolytes. Dipping versus Spraying, *Langmuir* **2009**, *25*, 1224.

(121) Hoda, N.; Larson, R. G. Modeling the Buildup of Exponentially Growing Polyelectrolyte Multilayer Films, *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 4232.

(122) Szunerits, S.; Das, M. R.; Boukherroub, R. Short- and long-range sensing on gold nanostructures, deposited on glass, coated with silicon oxide films of different thicknesses, *J Phys Chem C* **2008**, *112*, 8239.

(123) Kim, H. J.; Lee, K.; Kumar, S.; Kim, J. Dynamic Sequential Layer-by-Layer Deposition Method for Fast and Region-Selective Multilayer Thin Film Fabrication, *Langmuir* **2005**, 8532.

(124) Wei, M.; Xie, Z. Y.; Sun, L. G.; Gu, Z. Z. Electrochemical Properties of a Boron-Doped Diamond Electrode Modified with Gold/Polyelectrolyte Hollow Spheres, *Electroanal* **2009**, *21*, 138.

(125) Ray, K.; Badugu, R.; Lakowicz, J. R. Polyelectrolyte layer-by-layer assembly to control the distance between fluorophores and plasmonic nanostructures, *Chem Mater* **2007**, *19*, 5902.

- (126) Senanayake, P.; Hung, C. H.; Shapiro, J.; Lin, A.; Liang, B. L.; Williams, B. S.; Huffaker, D. L. Surface Plasmon-Enhanced Nanopillar Photodetectors, *Nano Lett* **2011**, *11*, 5279.
- (127) Yang, J. C.; Gao, H. W.; Suh, J. Y.; Zhou, W.; Lee, M. H.; Odom, T. W. Enhanced Optical Transmission Mediated by Localized Plasmons in Anisotropic, Three-Dimensional Nanohole Arrays, *Nano Lett.* **2010**, *10*, 3173.
- (128) Zeng, Y.; Fu, Y.; Chen, X. S.; Lu, W.; Agren, H. Selective excitation of surface-polariton Bloch waves for efficient transmission of light through a subwavelength hole array in a thin metal film, *Phys. Rev. B* **2007**, *76*.
- (129) Jung, Y. W.; Kang, H. J.; Lee, J. M.; Jung, S. O.; Yun, W. S.; Chung, S. J.; Chung, B. H. Controlled antibody immobilization onto immunoanalytical platforms by synthetic peptide, *Anal. Biochem.* **2008**, *374*, 99.
- (130) Akimoto, T.; Sasaki, S.; Ikebukuro, K.; Karube, I. Effect of incident angle of light on sensitivity and detection limit for layers of antibody with surface plasmon resonance spectroscopy, *Biosens. Bioelectron.* **2000**, *15*, 355.
- (131) Hwang, G. M.; Pang, L.; Mullen, E. H.; Fainman, Y. Plasmonic Sensing of Biological Analytes Through Nanoholes, *IEEE Sens. J.* **2008**, *8*, 2074.
- (132) Moharam, M. G.; Gaylord, T. K. Rigorous Coupled-Wave Analysis of Planar-Grating Diffraction, *Journal of the Optical Society of America* **1981**, *71*, 811.

