

**В.А. Данько, І.З. Індутний, Ю.В. Ушенін, В.І. Минько,
Д. Хегеманн¹, М. Ванденбоше¹, П.Є. Шепелявий,
М.В. Луканюк, П.М. Литвин, Р.В. Христосенко**

ДОСЛІДЖЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ СЕНСОРНИХ Au ЧИПІВ З НАНОСТРУКТУРОВАНОЮ ПОВЕРХНЕЮ

Наведено результати дослідження чутливості ППР біосенсора з наноструктурованими Au чипами. Періодичний рельєф у вигляді ґраток з субмікронною просторовою частотою було сформовано на поверхні Au чипа за допомогою інтерференційної літографії з використанням вакуумних халькогенідних фоторезистів. Просторову частоту ґраток було вибрано з умови близькості до бреггівського відбиття поверхневих плазмон-поляритонів для заданої робочої довжини хвилі сенсора (850 нм) та показника заломлення досліджуваного середовища (розчин гліцерину у воді). Функціоналізація робочої поверхні чипа здійснювалась за допомогою плазмово-стимульованого осадження полімерних а-С:Н:О плівок з ефективною товщиною 5 та 10 нм.

Установлено, що кратність підвищення (від 2 до 4) чутливості біосенсора внаслідок формування ґратки та ширина робочого інтервалу показника заломлення (n) середовища визначаються глибиною рельєфу ґратки і не залежать від товщини функціонального полімерного наночастиці. Така функціоналізація лише викликає зсув положення робочого інтервалу до менших значень n порівняно з вихідними чипами. Положення робочого діапазону наноструктурованого сенсорного чипа може бути узгоджено з величиною показника заломлення досліджуваного середовища шляхом азимутального повороту чипа.

Ключові слова: поверхневий плазмонний резонанс, біосенсори, інтерференційна літографія, функціональні полімерні плівки.

1. ВСТУП

Протягом останніх двох десятиліть спостерігається бурхливий розвиток досліджень та розробок сенсорів на основі явища поверхневого плазмонного резонансу (ППР) завдяки їх високій чутливості, можливості швидко *in situ* детектувати процеси в середовищі біля поверхні металевої плівки. ППР сенсори знайшли широке застосування в різних областях, включаючи вивчення біомолекулярних взаємодій, медичну діагностику, аналізу продуктів харчування та моніторингу оточуючого середовища [1-6] і т.д. У більшості серійних ППР приладів для збудження поверхневих плазмонних хвиль у тонкій плівці Au, нанесеній на прозору підкладку (чип біосенсора), використовується повне внутрішнє відбиття у призмі (метод Кречмана) [7]. Але такі біосенсори все ж мають певні недоліки, зокрема, їх чутливість недостатня для того, щоб надійно детектувати взаємодію протеїнів з лігандами малих розмірів [8].

У недавніх теоретичних дослідженнях [9, 10] було показано, що формування періодичної ґратки на поверхні металевого шару чипа ППР біосенсора, який працює в схемі Кречмана, може в декілька разів підвищити чутливість приладу порівняно із стандартними чипами з плоскими металевими поверхнями. Поверхневий плазмон збуджується в напрямку перпендикулярному до штрихів ґратки і може зазнавати відбиття в зворотному напрямку. Якщо період ґратки підібрано таким чином, щоб задовольнялись умови бреггівського відбиття, то поширення поверхневих плазмонів заборонено (формується заборонена зона). Вибравши робочу зону сенсора в околі забороненої зони (наприклад шляхом зміни частоти ґратки), можна отримати підвищену чутливість положення плазмонного максимуму від зміни показника заломлення середовища біля поверхні чипа порівняно з плоскими Au шарами.

© В.А. Данько, І.З. Індутний, Ю.В. Ушенін, В.І. Минько, Д. Хегеманн¹, М. Ванденбоше¹, П.Є. Шепелявий, М.В. Луканюк, П.М. Литвин, Р.В. Христосенко, 2017

Іншим напрямком підвищення ефективності ППР біосенсорів є процес функціоналізації поверхні Au для іммобілізації біо-селективних елементів на поверхні чипа. Найбільш широко використовуються методи функціоналізації, які включають формування самоорганізованих моношарів (SAM) з алкантіолів і дисульфідів або поліетиленіміну (PEI) [11, 12]. Проте ці методи характеризуються повільним ростом моношару та низькою стабільністю отриманих шарів при підвищеній температурі і УФ опроміненні [13]. Альтернативою хімічним методам функціоналізації поверхні Au може бути метод плазмохімічного осадження з парової фази [14], який дозволяє отримувати ультратонкі функціональні полімерні плівки (товщиною 5–20 нм) [15, 16]. З одного боку, такі тонкі шари не повинні погіршувати умови збудження поверхневих плазмонних хвиль, а з іншого боку, вони повинні забезпечувати значну кількість –COOH, –NH₂, ангідридних або інших реакційноздатних груп.

Такий метод вже успішно застосовувався для осадження стабільних, збагачених на аминні групи тонких плівок на поверхні золотого електрода біосенсора на основі кварцового мікробаланса [17, 18]. Було повідомлено, що реакція імуносенсора, функціоналізованого шляхом полімеризації циклопропіламіна з допомогою імпульсної плазми, в 2 рази вища у порівнянні зі стандартним датчиком з використанням SAM як проміжного шару.

У попередніх роботах ми експериментально показали можливість збільшити чутливість ППР біосенсора, який працює в схемі Кречмана, шляхом формування високочастотного періодичного рельєфу на поверхні Au чипа [19, 20]. У даній роботі проведено детальні дослідження умов збудження плазмонів у плівках з рельєфною поверхнею у вигляді високочастотних ґраток, у тому числі Au чипів, додатково покритих ультратонкими а-С:Н:О плазмовими полімерними плівками різної товщини.

2. ЕКСПЕРИМЕНТ

Інтерференційна літографія (ІЛ) широко використовується для виготовлення бездефектних періодичних мікро- і наноструктур, таких як ґратки та біґратки. Ця технологія набагато простіша і дешевша, ніж електронно-променева літографія, і може бути використана для виготовлення сенсорних ППР структур [21, 22]. Суттєвою перевагою ІЛ є можливість за допомогою однієї експозиції інтерференційним полем лазерного випромінювання швидко формувати ідеально періодичну структуру на великій площі, яка обмежується лише інтенсивністю та довжиною когерентності лазера. У попередніх дослідженнях авторів було показано, що ІЛ з використанням високороздільного вакуумного фоторезисту на основі халькогенідних стекл (ХС) є перспективною технологією для формування одно- та двовимірних субмікронних періодичних структур на поверхні металевих плівок, напівпровідників та діелектриків [19, 20]. Тому ця технологія була використана в цій роботі для наноструктурування золотих плівок сенсорних чипів.

Зразки для досліджень (чипи ППР біосенсора-рефрактометра) готували шляхом послідовного термічного випаровування у вакуумі $2 \cdot 10^{-3}$ Па та осадження на підкладки адгезійного шару Cr товщиною 3 нм, шару металу (Au) з товщиною 40–50 нм і шару ХС (As₄₀S₄₀Se₂₀) з товщиною біля 100 нм. В ролі підкладок використовувались поліровані пластини зі скла Ф1 ($n = 1,615$) розміром 20×20×1 мм. Контроль товщин під час нанесення плівок здійснювався за допомогою кварцового вимірювача товщини (КИТ-1), після осадження – за допомогою мікроінтерферометра МІІ-4.

Запис інтерференційних структур на плівках ХС здійснювався за допомогою інтерференційної картини від випромінювання гелій-кадмієвого лазера (довжина хвилі $\lambda = 440$ нм) із заданою просторовою частотою. Величина експозиції при запису ґраток становила 0,2–0,5 Дж/см². Після експонування за допомогою обробки в селективному травильному реагенті на основі амінів формувалась літографічна маска, крізь яку травилась плівка металу. Змінюючи час для селективного травлення фоторезисту, можна змінити ширину елементів літографічної маски. Травлення фоторезисту та металу контролювалось *in situ* за допомогою

реєстрації нефотоактивного довгохвильового світла, дифрагованого від рельєфної структури. Після видалення в розчині луку залишків фоторезисту, промивання та висушування отримували сформовану металеву періодичну структуру.

Періодична структура формувалась лише на одній половині чипа, друга половина залишалась покритою неструктурованою плівкою золота. Такі зразки готувались для проведення порівняльних досліджень на двоканальному приладі з використанням розчину гліцерину у воді. У роботі було використано розроблений в Інституті фізики напівпровідників ім. В.Є. Лашкарьова НАН України двоканальний ППР рефрактометр «Плазмон-71» у конфігурації Кречмана, джерелом випромінювання в якому є напівпровідниковий лазер з довжиною хвилі 850 нм.

Симетричний плазмовий реактор з ємнісним зв'язком використовували для осадження функціональних плазмових полімерних шарів на обох половинах (структурована і плоска) сенсорних чипів з Au покриттям. Конфігурація плазмового реактора містить циліндричну камеру (внутрішній діаметр 30 см) з плоскопаралельними електродами, розділеними скляним кільцем (висотою 5 см). Умови осадження були такими: потік CO₂ і C₂H₄ становив від 8 до 4 см³/хв (відношення потоків 2:1), робочий тиск дорівнював 10 Па, а вхідна потужність 70 Вт. На поверхню чипів було осаджено функціональні полімерні плівки з номінальними товщинами 5 та 10 нм. Такі покриття досліджувались у попередній роботі [15], де було встановлено, що швидкість осадження при вказаних режимах становить 6 нм·хв⁻¹, щільність плівки 1,5 г·см⁻³ і [O]/[C] становить 0,21. Такі плівки містять COOH і OH функціональні групи.

Для визначення форми профілю рельєфних елементів періодичної структури і їх розмірів використовувався мікроскоп атомних сил Dimension 3000 Scanning Probe Microscope (Digital Instruments Inc., Tonawanda, NY, USA). Просторова частота ґраток визначалась за допомогою оптичного стенда на основі гоніометра Г5М з точністю ± 5 лін/мм.

3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Просторова частота ґратки вибиралась із умови близькості до бреггівського відбиття. Теоретичне моделювання в роботі [9] виконано для ґраток синусоїдального профілю з малою глибиною рельєфу. Для таких ґраток можна приблизно оцінити значення бреггівського періоду ґратки (Λ_B) за допомогою простої формули [23]:

$$\Lambda_B = 0,5\lambda_0 \frac{((\epsilon_{mr} + \epsilon_D)/\epsilon_{mr} \epsilon_D)^{1/2}}{\cos \varphi} = 0, \quad (1)$$

де λ_0 – довжина світлової хвилі у вакуумі, φ – азимутальний кут, який визначається як кут між площиною падіння та хвильовим вектором ґратки (що перпендикулярний до штрихів ґратки), $\epsilon_D = n^2$ – діелектрична константа середовища (n – його показник заломлення, в наших дослідженнях ми використовували розчин води з гліцерином) і ϵ_{mr} – дійсна частина діелектричної сталої металу (в нашому випадку золота). Для межі Au–вода при довжині хвилі збудження 850 нм умова бреггівського резонансу відповідає періоду ґратки біля 309 нм (просторова частота $\nu = 3240$ лін/мм). Тут ми використовували діелектричну проникність Au з [24], для води показник заломлення $n = 1,333$ при 20 °С. При збільшенні показника заломлення середовища, яке контактує із золотом, умова резонансу задовольняється при менших значеннях періоду ґратки. Так, для гліцерину з $n = 1,474$ при 20 °С бреггівський резонанс відповідає періоду 277 нм ($\nu = 3610$ лін/мм). За цими оцінками методом ІЛ було виготовлено зразки з просторовими частотами періодичного нанорельєфу, вибраними із вказаного інтервалу.

На рис. 1а показано АСМ зображення такого чипа з періодом рельєфу $302,0 \pm 0,5$ нм (просторова частота $\nu = 3311 \text{ мм}^{-1}$), сформованого на шарі золота товщиною 45 нм за допомогою ІЛ з використанням халькогенідного фоторезисту. На цьому зразку маска фоторезисту була сформована з відношенням ширини смужки до ширини проміжку близьким до одиниці. Середня глибина рельєфу становила $18,5 \pm 2$ нм (рис. 1б).

ППР рефрактометр «Плазмон-71» дозволяє вимірювати кутові залежності інтенсивності внутрішнього відбиття $R(\theta)$ (ППР криві) для плівки золота і визначати положення мінімуму θ_{\min} кривої відбиття, який відповідає збудженню поверхневих плазмонів на межі плівка Au – оточуюче середовище (тут θ – кут падіння зондуєчого променя). Положення мінімуму $R(\theta)$ дуже чутливе до зміни показника заломлення n середовища біля поверхні плівки Au, що і дозволяє реєструвати процеси, які приводять навіть до дуже малих змін n у цій області.

Для визначення сенсорної чутливості структур, тобто впливу показника заломлення оточуючого середовища на зсув θ_{\min} , у даній роботі використовувались розчини гліцерину. Розчин вводився в проточну двоканальну кювету, котра була розташована над досліджуваним зразком таким чином, що забезпечувала контакт рідини зі структурою, при цьому один канал відповідав контрольній плівці золота, а другий – наноструктурованій плівці (з поверхневим рельєфом у вигляді ґратки).

У попередніх дослідженнях [20] ми показали, що формування періодичної ґратки на поверхні золотої плівки викликає зміну форми кутової залежності відбиття від робочої поверхні сенсорного чипа біля резонансу порівняно з такою ж залежністю для неструктурованої стандартної плівки Au (що узгоджується з результатами теоретичного моделювання [9]). На рис. 2а показано типові ППР криві для стандартного Au чипа з плоскою поверхнею, яка контактує з середовищем (розчином гліцерину у воді) з різними значеннями показника заломлення. Крива 1 відповідає $n = 1,3925$, 2 – $1,3952$, 3 – $1,3984$, 4 – $1,4023$. Видно, що зі збільшенням показника заломлення середовища положення мінімуму плазмонного резонансу θ_{\min} зміщується в напрямку більших кутів і при зростанні показника приблизно на $0,01 \theta_{\min}$ збільшується на $1,1^\circ$. Відношення величини зсуву положення мінімуму $\Delta\theta_{\min}$ до відповідної зміни показника заломлення Δn і характеризує чутливість методу до змін n середовища біля поверхні металевої плівки.

На рис. 2б показано аналогічні залежності для чипа із структурованою поверхнею, причому параметри поверхневого рельєфу відповідають представленим на рис. 1. Чип орієнтовано таким чином, що площина падіння зондуєчого променя перпендикулярна до штрихів ґратки (азимутальний кут $\varphi = 0$). Видно, що резонансна крива дещо розширена, а зсув положення мінімуму $\Delta\theta_{\min}$ у тому ж інтервалі зміни показника заломлення середовища дещо більший – $\Delta\theta_{\min} = 1.4^\circ$, що свідчить про відповідне підвищення чутливості структурованого чипа порівняно із стандартним у даному інтервалі зміни показника заломлення середовища.

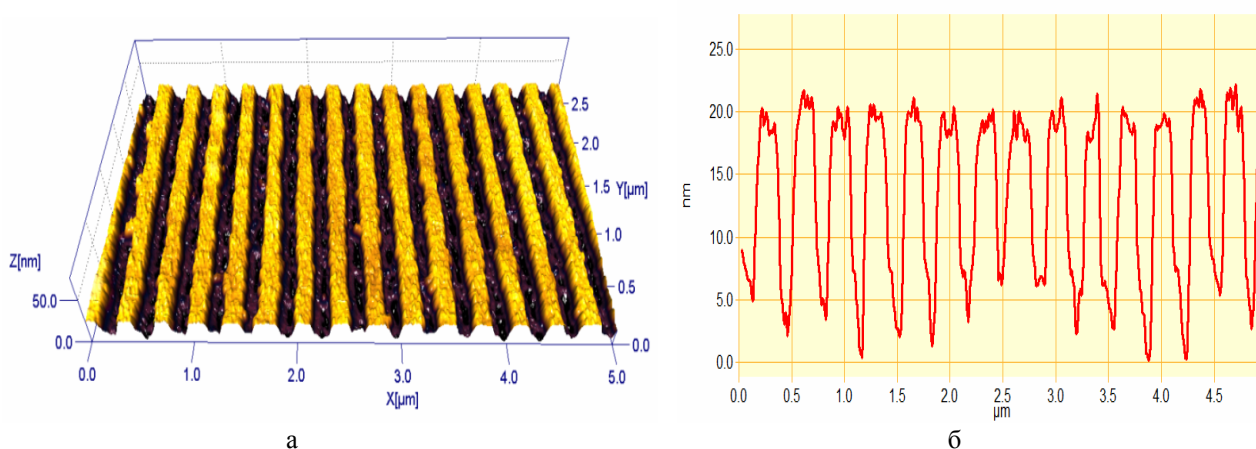


Рис. 1. АСМ зображення (а) та профіль поперечного перерізу поверхні (б) наноструктурованого Au чипа з періодом $302,0 \pm 0,5$ нм та середньою глибиною рельєфу $18,5 \pm 2$ нм.

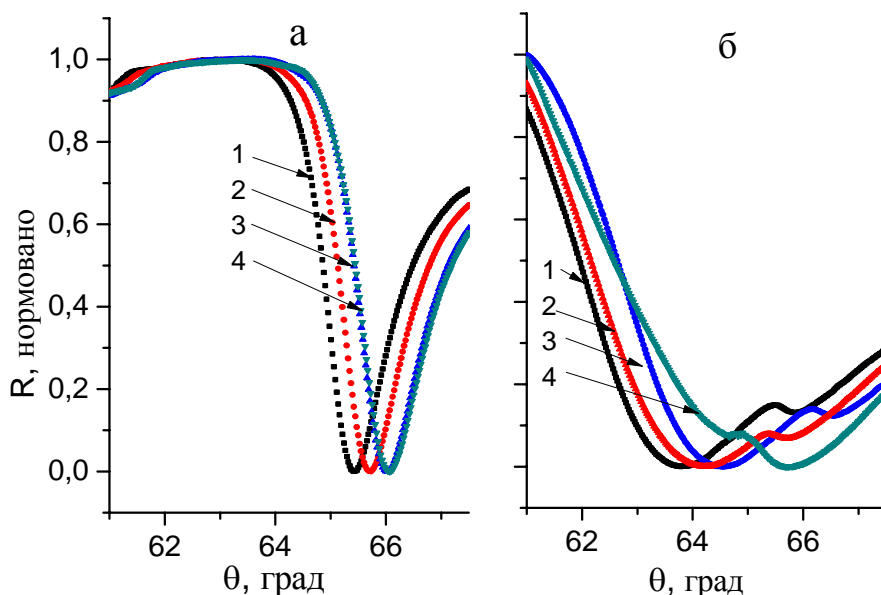


Рис. 2. Залежності відбиття R від кута падіння θ для стандартного Au чипа з плоскою поверхнею (а) та структурованого Au чипа з просторовою частотою $\nu = 3311 \text{ мм}^{-1}$ та середньою глибиною рельєфу $18,5 \pm 2 \text{ нм}$ (б).

Для структурованих чипів, у тому числі і з нанесеним функціональним полімерним шаром, проведено більш детальні дослідження залежності положення ППР резонансу θ_{min} від показника заломлення n досліджуваного середовища, тобто чутливості сенсора. Вплив функціонального полімерного шару на форму поверхневого рельєфу структурованого чипа продемонстровано на рис. 3, де показано профіль перерізу поверхні вихідного Au чипа (рис. 3а) та профіль того ж зразка, але покритого тонким шаром (10 нм) функціональної полімерної плівки, нанесеної в плазмі (рис. 3б).

Дослідження гістограми розподілу висоти штрихів дозволило визначити середню глибину рельєфу ґратки, яка становила $21 \pm 2 \text{ нм}$ для вихідного зразка та $19 \pm 2 \text{ нм}$ після осадження полімерної плівки. При цьому трохи змінюється і півширина штрихів: від 130 ± 5 до $157 \pm 5 \text{ нм}$. Таким чином, осадження такої тонкої полімерної плівки викликає лише незначні зміни рельєфу поверхні чипа.

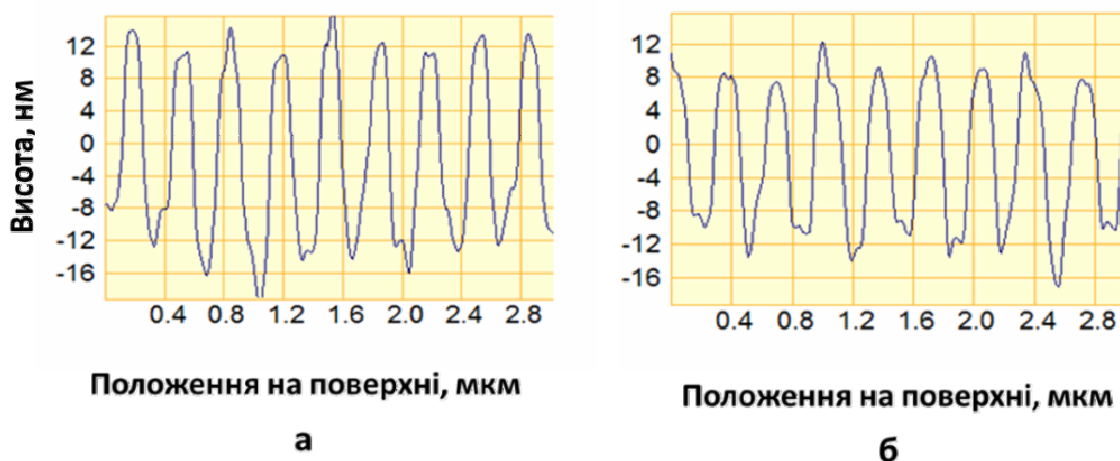


Рис. 3. Профіль поперечного перерізу поверхні наноструктурованого Au чипа з періодом $296,6 \pm 0,5 \text{ нм}$ – вихідного (а) та покритого функціональним полімерним шаром товщиною 10 нм (б).

На рис. 4а показано результати досліджень чутливості для двоканальних зразків, причому одна половина кожного зразка покрита неструктурованим шаром золота (стандартний чи контрольний сенсор), а на другій половині на поверхні золотої плівки витравлена ґратка з періодом $302,0 \pm 0,5$ нм і глибиною рельєфу в $17,5 \pm 2,0$ нм. Чипи орієнтовано таким чином, що площина падіння зондуючого променя перпендикулярна до штрихів ґратки. Рис. 4а відповідає зразку, який не покритий полімерною плівкою, рис. 4б та 4в відповідають зразкам, на які нанесено функціональну полімерну плівку товщиною 5 та 10 нм відповідно.

Криві 1 на всіх графіках (рис. 4) відображають залежність θ_{\min} від n для стандартного Au чипа з неструктурованою поверхнею. Видно, що із зростанням n величина θ_{\min} теж монотонно збільшується і нахил цієї залежності (відношення зсуву положення мінімуму $\Delta\theta_{\min}$ до відповідної зміни показника заломлення Δn) майже постійний на всьому досліджуваному інтервалі зміни n середовища і приблизно дорівнює 100 град./RIU (де RIU: refractive index unit – одиниця показника заломлення). Відношення $\Delta\theta_{\min}$ до відповідного Δn і характеризує чутливість методу до змін n середовища біля поверхні металевої плівки ($\Delta\theta_{\min}/\Delta n$).

Для структурованого чипа (рис. 4а, крива 2) залежність θ_{\min} від n нелінійна: при наближенні до умови бреггівського резонансу нахил цієї залежності суттєво зменшується порівняно з результатом для стандартного чипа, потім спостерігається ділянка підвищеної крутизни (і відповідно чутливості) в інтервалі зміни показника заломлення $\Delta n = 0,0066$. На рис. 4а, крива 2 цей інтервал виокремлено двома вертикальними пунктирами. При подальшому зростанні n середовища стандартний і структурований чипи мають однакову чутливість. В інтервалі підвищеної чутливості експериментальні точки як для стандартного, так і структурованого чипа апроксимовано відрізками прямих ліній. Відношення нахилів цих відрізків, тобто відношення чутливостей структурованого та стандартного чипів, становить 3,6.

У роботі [20] було показано, що кратність підвищення чутливості рефрактометра та величина інтервалу зміни показника заломлення середовища, в якому спостерігається це підвищення (робочий інтервал), суттєво залежать від глибини рельєфу ґратки. При збільшенні глибини рельєфу ширина робочого інтервалу зменшується, а чутливість збільшується порівняно із стандартним чипом. Було встановлено, що оптимальні значення глибини рельєфу становлять від 10 до 23 нм. При цьому було експериментально досягнуто дво–чотирикратне підвищення чутливості ППР рефрактометра за рахунок формування ґратки на робочій поверхні сенсорного чипа.

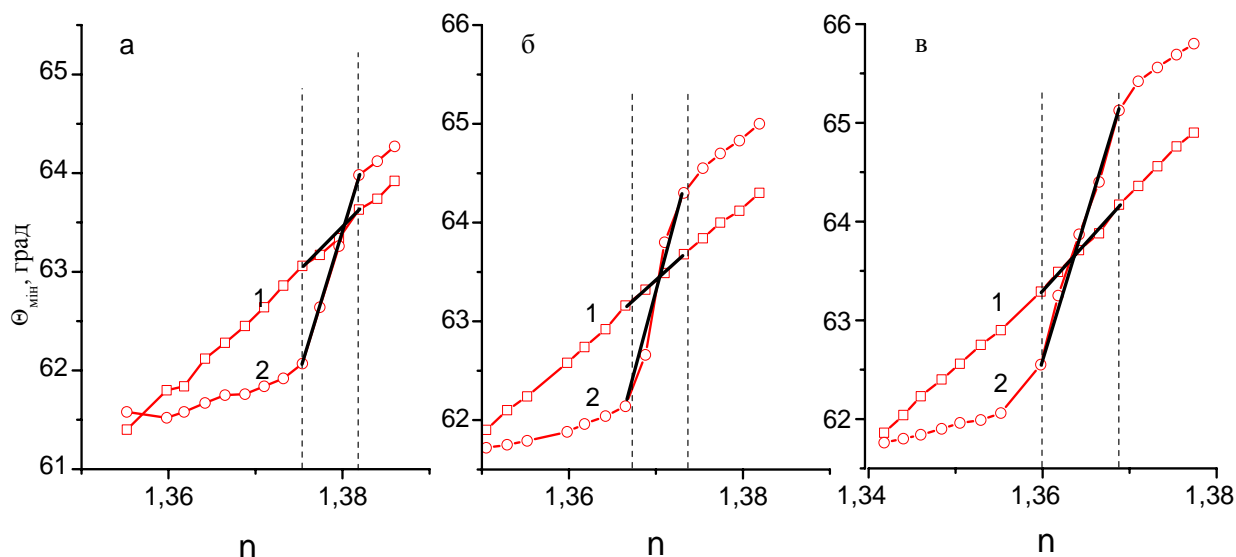


Рис. 4. Залежності положення ППР резонансу θ_{\min} від n для стандартного Au чипа з плоскою поверхнею (криві 1) та Au ґраток з періодом $302,0 \pm 0,5$ нм і глибиною рельєфу $17,5 \pm 2$ нм (криві 2). (а) – вихідний зразок без полімерної плівки, (б) та (в) – зразки з полімерною плівкою товщиною 5 та 10 нм відповідно.

На рис. 4б, 4в продемонстровано, як функціональний полімерний шар, осаджений на поверхню плівки сенсорного чипа (як стандартного, так і наноструктурованого), впливає на його чутливість. Видно, що для стандартних Au чипів при збільшенні товщини полімерної плівки значення θ_{\min} зростають на всьому досліджуваному інтервалі n , у порівнянні зі значеннями для чипа без полімеру. Наприклад, при $n = 1,36$, θ_{\min} збільшується з $61,46^\circ$ (Au без покриття) до $62,62^\circ$ і $63,42^\circ$ для чипів, покритих полімерними шарами товщиною 5 і 10 нм відповідно. Проте нахил залежності θ_{\min} від n , а отже, і чутливість не змінюються і залишаються близько 100 град./RIU.

Для наноструктурних чипів величина θ_{\min} також зростає зі збільшенням товщини функціонального полімерного шару (рис. 4б, 4в, криві 2). Крім того, осадження плівки на поверхні чипа призводить до зміщення положення робочого діапазону на 0,0086 RIU (для плівки товщиною 5 нм) і на 0,0144 RIU (для 10 нм) відповідно до менших значень n у порівнянні з чипами без покриття. Ширина робочого інтервалу також дещо зростає від 0,0066 RIU для непокритого чипа до 0,0068 і 0,009 RIU для чипів з 5 та 10 нм полімерними покриттями відповідно. Чутливість у межах робочого інтервалу залишається майже незмінною, незалежно від наявності функціонального шару, і становить для досліджуваних чипів 360, 380 та 360 град./RIU (рис. 4, криві 2 відповідно).

Однак збільшення чутливості структурованих ППР сенсорних чипів спостерігається лише в обмеженому інтервалі зміни показника заломлення середовища. Це узгоджується з результатами теоретичних досліджень, в яких передбачалось підвищення чутливості в інтервалі Δn меншому, ніж 0,01 [9]. Біохімічні процеси, які досліджуються за допомогою ППР рефрактометра, часто супроводжуються осадженням моношарів біомолекул з дуже невеликими змінами в значеннях показника заломлення. Роздільна здатність за показником заломлення рефрактометра «Плазмон-71» дорівнює $5 \cdot 10^{-6}$ RIU, тому робочий діапазон Δn навіть менший, ніж 0,01 RIU, достатній для таких вимірювань.

Але виникає питання, як підігнати робочий інтервал до показника заломлення досліджуваного середовища. Недавно ми показали [20], що найбільш зручним способом такої процедури може бути зміна азимутального кута. Тому на цих же зразках з нанесеними шарами полімеру (ті ж, що і на рис. 4б і 4в) було проведено аналогічні дослідження зі зміною азимутального кута φ . Під час вимірювань зразок фіксувався у ППР рефрактометрі таким чином, щоб площина падіння зонduючого променя була повернута на декілька градусів відносно хвильового вектора ґратки. У таблиці наведено результати досліджень для обох зразків з різною товщиною полімерного шару. Встановлено, що зі збільшенням азимутального кута робочий діапазон зміщується у бік вищих показників заломлення для обох зразків (з функціональним шаром товщиною 5 і 10 нм). Спостерігається, що збільшення азимутального кута φ викликає також невелике розширення робочого інтервалу Δn . У той же час чутливість практично не змінюється.

Таблиця. Вплив полімерного шару на поверхні наноструктурованого чипа на його характеристики. d – товщина полімерного шару, φ – азимутальний кут, δn – зсув положення робочого інтервалу, $\Delta\theta_{\min}/\Delta n$ – чутливість сенсора в межах робочого інтервалу.

d , нм	φ , град.	δn , RIU	$\Delta\theta_{\min}/\Delta n$, град./RIU
5	0	0	380
	4,6	0,01	375
	7,5	0,023	360
10	0	0	360
	6	0,011	355
	11	0,039	365

4. ВИСНОВКИ

У результаті проведених досліджень наноструктурованих чипів з підвищеною чутливістю для біосенсора «Плазмон-71» встановлено, що функціоналізація поверхні таких чипів за допомогою плазмово-стимульованого осадження наноплівки полімеру не зменшує їх чутливість. Проте спостерігається зміщення положення робочого діапазону наноструктурних чипів у бік менших значень показника заломлення досліджуваного середовища зі збільшенням товщини полімерної плівки. Положення робочого діапазону наноструктурованого сенсорного чипа може бути узгоджено з величиною показника заломлення досліджуваного середовища шляхом азимутального повороту чипа. Таким чином, при невеликих варіаціях азимутального кута ППР вимірювання з використанням області підвищеної чутливості можуть бути виконані у широкому діапазоні зміни показника заломлення на одному наноструктурованому чипі, функціоналізованому за допомогою плазмово-стимульованого осадження наноплівки полімеру.

**Viktor Dan'ko, Ivan Indutnyi, Yuriy Ushenin, Victor Myn'ko,
Dirk Hegemann, Marianne Vandenbossche, Petro Shepeliavyi,
Mariia Lukaniuk, Petro Lytvyn, Roman Khrystosenko**

INVESTIGATION OF THE SENSITIVITY INHERENT TO SENSOR Au CHIPS WITH NANOSTRUCTURED SURFACE

The results of studying the sensitivity of surface plasmon resonance biosensor based on nanostructured Au chips have been presented. Periodic relief in the form of a grating with submicron spatial frequency was created on the Au chip surface by using interferential lithography with vacuum chalcogenide photoresists. The spatial frequency of a grating was selected from the conditions of proximity to Bragg reflection of surface plasmon-polaritons for the set operation wavelength of the biosensor (850 nm) and the refractive index of the studied environment (solution of glycerol in water). Functionalization of the operation surface of the chip was carried out using plasma-stimulated deposition of polymeric a-C:H:O films with the effective thickness 5 and 10 nm. It has been ascertained that (2...4)-fold increasing the biosensor sensitivity as a result of grating formation and the width of the operation range of the environment refractive index (n) have been defined by the depth of the grating relief and have not depended on the thickness of the functional polymeric nanolayer. This functionalization of the chip surface merely results in the shift of the operation range position to smaller values of n as compared to that of uncoated chips. The operation range position of the nanostructured sensor chip can be adjusted to the refractive index of the studied environment by rotation of the chip in the azimuthal direction.

Keywords: surface plasmon resonance, biosensor, interferential lithography, functional polymeric films.

1. Maier S.A. *Plasmonics, Fundamentals and Applications*. New York: Springer Science & Business Media, 2007.
2. Homola J. Present and future of surface plasmon resonance biosensors. *Anal. Bioanal. Chem.* 2003. **377**, No 3. P. 528–539.
3. Gobi K.V., Tanaka H., Shoyama Y., Miura N. Continuous flow immunosensor for highly sensitive and real-time detection of sub-ppb levels of 2-hydroxybiphenyl by using surface plasmon resonance imaging. *Biosensors & Bioelectronics*. 2004. **20**. P. 350–357.
4. Habauzit D., Chopineau J., Roig B. SPR-based biosensors: a tool for biodetection of hormonal compounds. *Anal. Bioanal. Chem.* 2007. **387**, No 4. P. 1215–1223.
5. Shankaran D.R., Gobi K.V.A., Miura N. Recent advancements in surface plasmon resonance immunosensors for detection of small molecules of biomedical, food and environmental interest. *Sensors and Actuators B: Chem.* 2007. **121**, No 1. P. 158–177.

6. Ruffato G., Pasqualotto E., Sonato A., Zacco G., Silvestrie D., Morpurgo M., De Toni A., Romanato F. Implementation and testing of a compact and high-resolution sensing device based on grating-coupled surface plasmon resonance with polarization modulation. *Sensors and Actuators B: Chem.* 2013. **185**. P. 179–187.
7. Kretschmann E. Die Bestimmung optischer Konstanten von Metallen durch Anregung von Oberflächenplasmaschwingungen. *Zeitschrift für Physik.* 1971. **24**. P. 313–324.
8. Shalabney Atef and Abdulhalim Ibrahim. Sensitivity-enhancement methods for surface plasmon sensors. *Laser Photonics Rev.* 2011. **5**, No 4. P. 571–606.
9. Alleyne C.J., Kirk A.G., McPhedran R.C., Nicorovici N-A.P. and Maystre D. Enhanced SPR sensitivity using periodic metallic structures. *Opt. Exp.* 2007. **15**. P. 8163–8169.
10. Bonod N., Popov E., McPhedran R.C. Increased surface plasmon resonance sensitivity with the use of double Fourier harmonic gratings. *Opt. Exp.* 2008. **16**. P. 11691–11702.
11. Fohlerova Z., Skladal P., Turanek J. Adhesion of eukaryotic cell lines on the gold surface modified with extracellular matrix proteins monitored by the piezoelectric sensor. *Biosens. Bioelectron.* 2007. **22**. P. 1896–1901.
12. Marx K. Quartz crystal microbalance: A useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution–surface interface. *Biomacromolecules.* 2003. **4**. P. 1099–1120.
13. Peluso P., Wilson D., Do D. et al., Optimizing antibody immobilization strategies for the construction of protein microarrays. *Anal. Biochem.* 2003. **312**. P. 113–124.
14. Nakamura R., Muguruma H., Ikebukuro K., Sasaki S., Nagata R., Karube I., Pedersen H. A plasma-polymerized film for surface plasmon resonance immunosensing. *Anal. Chem.* 1997. **69**, No 22. P. 4649–4652.
15. Hegemann D., Lorusso E., Butron Garcia M.I., Blanchard N.E., Rupper P., Favia P., Heuberger M., Vandenbossche M. Suppression of hydrophobic recovery by plasma polymer films with vertical chemical gradients. *Langmuir.* 2016. **32**. P. 651–654.
16. Vandenbossche M., Butron Garcia M.I., Schütz U., Rupper P., Amberg M., Hegemann D. Initial growth of functional plasma polymer nanofilms. *Plasma Chem. Plasma Process.* 2016. **36**, P. 667–677.
17. Manakhov A., Makhneva E., Skladal P., Necas D., Cechal J., Kalina L., Elias M., Zajickova L. The robust bio-immobilization based on pulsed plasma polymerization of cyclopropylamine and glutaraldehyde coupling chemistry. *Appl. Surf. Sci.* 2016. **360**, Part A. P. 28–36.
18. Makhneva E., Manakhov A., Skladal P., Zajickova L. Development of effective QCM biosensors by cyclopropylamine plasma polymerization and antibody immobilization using cross-linking reactions. *Surface & Coatings Technology.* 2016. **290**. P. 116–123.
19. Dan'ko V.A., Dorozinsky G.V., Indutnyi I.Z., Min'ko V.I., Ushenin Yu.V., Korchovyi A.A., Khrystosenko R.V. Nanopatterning Au chips for SPR refractometer by using interference lithography and chalcogenide photoresist. *Semiconductor Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics.* 2015. **18**. P. 438–442.
20. Indutnyi I., Ushenin Yu., Hegemann D., Vandenbossche M., Myn'ko V., Shepeliavyy P., Lukaniuk M., Korchovyi A., Khrystosenko R. Enhancing surface plasmon resonance detection using nanostructured Au chips. *Nanoscale Res. Lett.* 2016. **11**. P. 535.
21. Arriola A., Rodriguez A., Perez N., Tavera T., Withford M.J., Fuerbach A., and Olaizola S.M. Fabrication of high quality sub-micron Au gratings over large areas with pulsed laser interference lithography for SPR sensors. *Opt. Mater. Exp.* 2012. **2**. P. 1571–1579.
22. Vala M. and Homola J. Flexible method based on four-beam interference lithography for fabrication of large areas of perfectly periodic plasmonic arrays. *Opt. Exp.* 2014. **22**, No 15. P. 18778–18789.
23. Gazzola E., Brigo L., Zacco G., Zilio P., Ruffato G., Brusatin G. & Romanato F. Coupled SPP modes on 1D plasmonic gratings in conical mounting. *Plasmonics.* 2014. **9**, No 4. P. 867–876.
24. Johnson P.B. and Christy R.W. Optical constants of the noble metals. *Phys. Rev. B.* 1972. **6**. P. 4370–4379.

Інститут фізики напівпровідників
ім. В.С. Лашкарьова НАН України,
41, проспект Науки, 03680 Київ, Україна
E-mail: indutnyu@isp.kiev.ua

¹Empa, Swiss Federal Laboratories
for Materials Science and Technology,
Lerchenfeldstrasse 5, 9014 St. Gallen, Switzerland
E-mail: dirk.hegemann@empa.ch