



CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE
ISTITUTO DI CIBERNETICA
I-80078 POZZUOLI (NAPOLI) ITALY

Da: Dr. Massimo Rippa
Istituto di Cibernetica "E. Caianiello" - CNR
Via Campi Flegrei, 34
80078 Pozzuoli

A : Ufficio Relazioni Europee Internazionali -
Relazioni Internazionali:
P.le Aldo Moro, 7
00185 Roma

Relazione Scientifica relativa all'attività di ricerca svolta nel programma Short Term Mobility - STM 2014 ammesso al finanziamento dal Consiglio Nazionale delle Ricerche – CNR con lettera di accettazione prot. AMMCNT – CNR n. 0026255 del 02/04/2014.

Oggetto: Report dell'attività di ricerca dal titolo: "*Sviluppo di un Biosensore Nanostrutturato label free per rilevazione molecolare mediante tecnica SERS*" realizzata dal Dr. Massimo Rippa presso *l'Institute of Photonics, Faculty of Science, Ningbo University - Ningbo (China)*.

1. Introduzione

Nella presente relazione scientifica viene descritta l'attività di ricerca svolta nell'ambito del programma di Short Term Mobility (STM – 2014) dal titolo “*Sviluppo di un Biosensore Nanostrutturato label free per rilevazione molecolare mediante tecnica SERS*” ammesso al finanziamento dal Consiglio Nazionale delle Ricerche – CNR con lettera di accettazione prot. AMMCNT – CNR n. 0026255 del 02/04/2014. Il programma è stato svolto dal Dr. Massimo Rippa, Ricercatore (livello III) afferente all'Istituto di Cibernetica “E. Caianiello” ICIB-CNR nel periodo compreso tra il 31/07/2014 e il 21/08/2014 presso l'*Institute of Photonics, Faculty of Science, Ningbo University - Ningbo (China)* sotto la supervisione del Prof. Jun Zhou capo dell'istituto. Le date di partenza e di rientro dalla missione sono state rispettivamente il 30/07/2014 e il 30/08/2014. Di seguito viene riportata una sintesi dell'attività svolta riguardante, in particolare, la progettazione, la fabbricazione e la caratterizzazione sperimentale sia morfologica che ottica, di nanostrutture plasmoniche periodiche e a-periodiche da utilizzare come biosensori molecolari mediante la tecnica di *Spettroscopia Raman Amplificata da Superfici (SERS)*.

2. Progettazione mediante analisi numerica

Le nanostrutture plasmoniche oggetto dello studio sono state progettate mediante analisi numerica attraverso la quale è stata indagata la risposta in frequenza di diverse tipologie di nanopattern con lo scopo di massimizzare il segnale SERS rilevato. Le simulazioni sono state eseguite impiegando diversi tool del software commerciale RSoft Design Group - Ossining, NY. In particolare il software presenta un opportuno programma di CAD, che consente di disegnare e modellizzare dispositivi inserendo le informazioni principali per la definizione della struttura da analizzare: proprietà fisiche dei materiali e caratteristiche geometriche del dispositivo fotonico. Lo stesso modulo di CAD agisce come programma di controllo per gli altri tool di simulazione a disposizione del software. Per l'analisi sono state prese in considerazione geometrie sia di tipo periodico che a-periodico con lunghezze caratteristiche, forma dei singoli elementi e simmetrie rotazionali diverse. In particolare, durante il programma STM svolto, su tutte le nanostrutture realizzate col CAD, al fine di analizzare il loro comportamento ottico, sono state effettuate le seguenti valutazioni numeriche:

- Variazione della risposta in frequenza al variare delle proprietà costitutive e geometriche.
- Distribuzione spaziale del campo elettromagnetico (EM) locale.
- Calcolo del diagramma a bande per le diverse geometrie analizzate.

Le simulazioni relative alla risposta spettrale e alla distribuzione spaziale del campo sono state eseguite impiegando il tool *FullWAVE* che fa uso del ben noto metodo delle differenze finite nel dominio del tempo (Finite Difference Time Domain – FDTD). Tale metodo risulta ideale nello studiare la propagazione della luce in una grande varietà di dispositivi integrati ottici, specialmente in situazioni dove l'applicazione di metodi che fanno uso della propagazione di fasci non consentono soluzioni adeguate. Esso scaturisce da una rigorosa soluzione dell'equazioni di Maxwell e non presenta alcuna approssimazione o restrizione teorica.

Per la generazione e l'analisi dei diagrammi a bande si è utilizzato invece il tool *Band SOLVE* che fa uso di un'avanzata implementazione della tecnica di sviluppo di onde piane (Plane Wave Expansion – PWE) opportunamente ottimizzata per strutture periodiche. La PWE è una tecnica computazionale utilizzata per risolvere l'equazioni di Maxwell attraverso la formulazione del problema agli autovalori consentendo soluzioni per strutture non omogenee e periodiche.

In fig.1 viene mostrato un esempio di simulazione numerica effettuata e relativa alla distribuzione spaziale di campo EM locale ottenuta considerando un pattern periodico con singoli elementi rappresentati da prismi triangolari in oro.

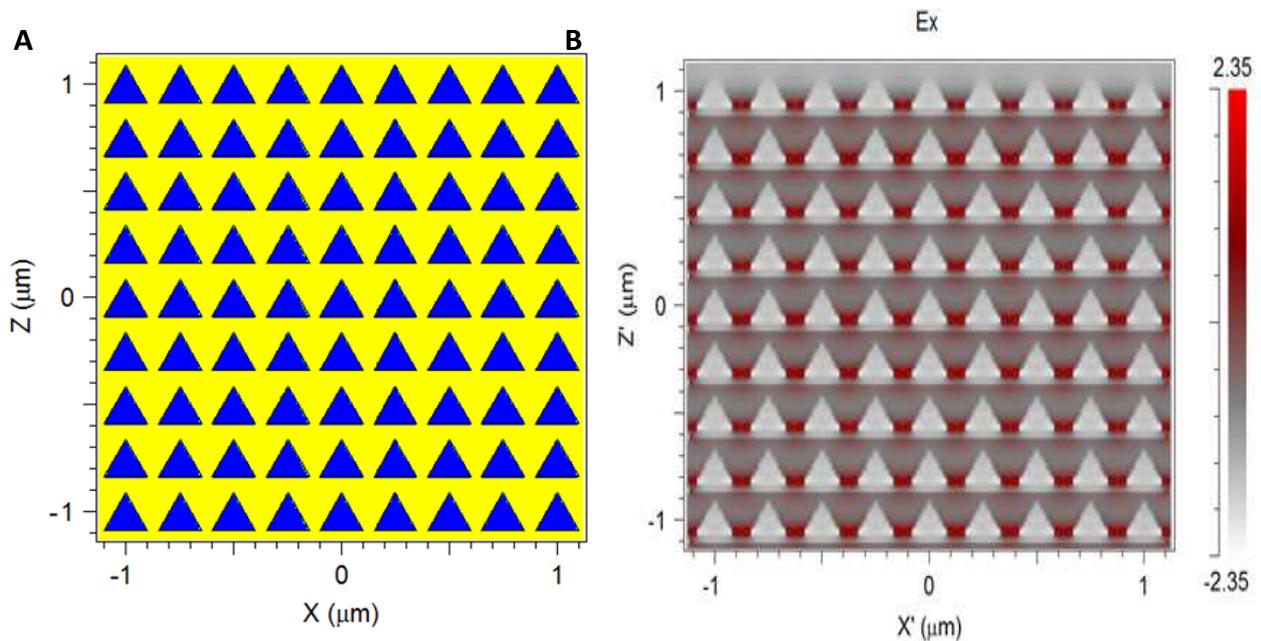


Fig. 1: Esempio di simulazione FDTD realizzata su una struttura periodica con passo $a=250\text{ nm}$ e con singoli elementi triangolari: A) schema del pattern impiegato nel calcolo, B) distribuzione spaziale dell'intensità del campo EM locale calcolato alla lunghezza d'onda d'interesse $\lambda=785\text{ nm}$.

3. Fabbricazione mediante tecnica litografica a fascio elettronico (EBL)

Le nanostrutture plasmoniche fabbricate fanno parte della famiglia dei cristalli e quasi-cristalli fotonici (PC e PQC) ottenuti arrangiando singoli elementi di materiale metallico (oro) in aria. In particolare sono state prese in esame due geometrie periodiche, entrambe costruite su base quadrata ma con singoli elementi rappresentati rispettivamente da cilindri e prismi triangolari, e due geometrie a-periodiche, ben note in letteratura, quali: Thue-Morse e ottagonale.

Per la fabbricazione dei pattern nanometrici è stata impiegata la tecnica litografica a fascio elettronico (Electron Beam Lithography – EBL) che consente la realizzazione di strutture fotoniche integrate altamente riproducibili e con risoluzione estremamente elevata. In sintesi, la tecnica consiste nella scansione, con un fascio di elettroni, della superficie di un substrato su cui è stato depositato un film sottile di materiale sensibile agli stessi elettroni, detto resist. La scansione comporta una deposizione di energia nelle regioni esposte del polimero. In funzione della tipologia di resist adottato, tale deposizione di energia rompe i legami chimici (resist positivo) o, al contrario, porta alla reticolazione le parti esposte al fascio (resist negativo). Un successivo processo di sviluppo va ad asportare o le zone illuminate (resist positivo) o, viceversa, quelle non raggiunte dal fascio (resist negativo). L'utilizzo dell'una o dell'altra tipologia di resist dipende esclusivamente dalle specifiche esigenze di fabbricazione. Utilizzando scansioni programmate, gestite da un apposito software, risulta così possibile imprimere nel resist impiegato un qualsiasi pattern con geometrie e dimensioni (micro\nano-metriche) desiderate.

Per il processo di fabbricazione è stato utilizzato il sistema RAITH 150, una facility costituita da una colonna SEM Leo che consente tensioni di accelerazione per il fascio variabili da 1-30 keV, un diametro minimo dello spot di circa 3 nm a basse correnti e una risoluzione litografica inferiore ai 20 nm. In fig. 2 viene mostrata un'immagine del sistema adoperato.



Fig. 2: Sistema EBL RAITH 150 utilizzato per la fabbricazione delle nanostrutture.

Le strutture sono state realizzate utilizzando un substrato commerciale (Sigma-Aldrich) di vetro (BK7) dello spessore di 1 mm, ricoperto da uno film sottile di materiale conduttore (Indium Tin Oxide – ITO) dello spessore di 25 nm. Sul substrato, mediante tecnica di spin-coating, è stato depositato un film polimerico (stirene metil-acrilato – ZEP 520, resit positivo) dello spessore di 200 nm sopra al quale sono stati realizzati, con tecnica EBL, i diversi pattern nanometrici presi in considerazione. Successivamente, sulle strutture, mediante un processo di evaporazione termica, è stato depositato un film d'oro dello spessore di 60 nm. Infine, come ultimo step è stato effettuato un attacco chimico (lift-off) per rimuovere definitivamente il resist dal substrato, lasciando la sola nanostrutturazione fatta di colonnine di oro. Le fasi successive effettuate nel processo di fabbricazione sono illustrate in fig. 3.

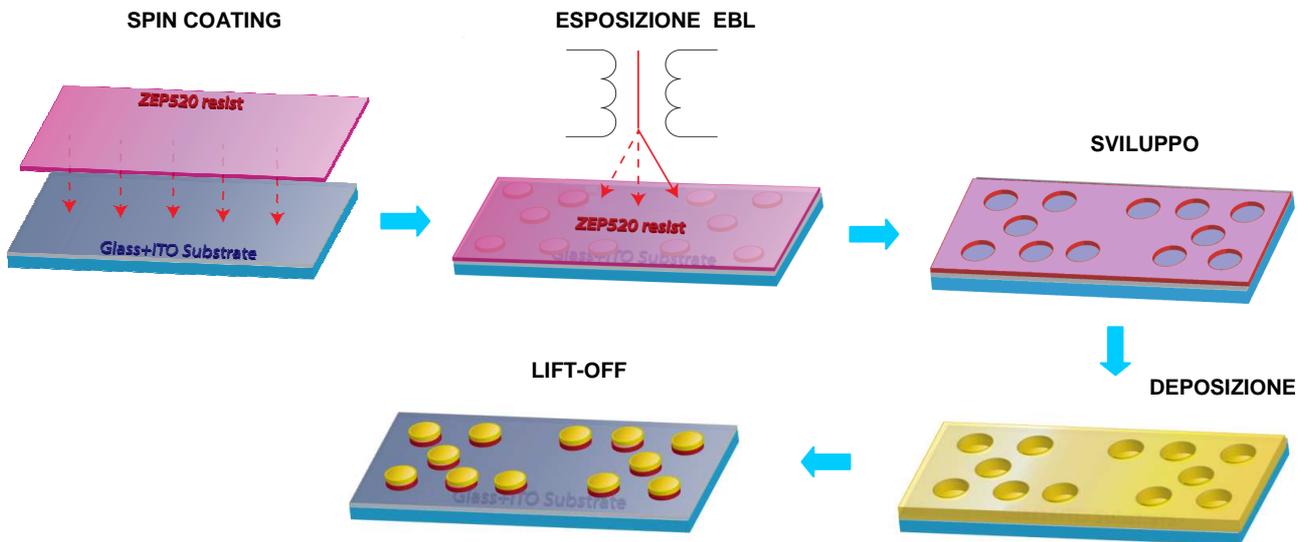


Fig. 3: Fasi del processo di fabbricazione per la realizzazione delle nanostrutture plamoniche

I materiali e le geometrie adoperate per la fabbricazione delle nanostrutture sono state scelte tenendo in considerazione i risultati ottenuti dalle simulazioni realizzate in fase di progettazione.

Le caratteristiche geometriche di alcune delle diverse strutture realizzate sono riassunte in tab. 1.

Nome Pattern	Geometria di base	Forma singolo elemento	Passo (nm)	Diametro fori (nm)
PC Quad D180 A265	Quadrata	Cilindrico	265	180
PC Triang D200 A300	Quadrata	Prisma triangolare	300	200
PQC Octag D250	Ottagonale	Cilindrico	-	250
PQC TM D250	Thue-Morse	Cilindrico	-	250

Tab. 1: *Tipologia e caratteristiche geometriche dei pattern realizzati.*

4. Caratterizzazione sperimentale ottica e morfologica delle nanostrutture

Le nanostrutture fabbricate sono state caratterizzate sia morfologicamente che otticamente. Dal punto di vista morfologico, le strutture sono state analizzate attraverso l'uso sia della microscopia a scansione elettronica (SEM) che attraverso l'impiego della microscopia a forza atomica (AFM). L'analisi SEM consente l'acquisizione di immagini ad alta risoluzione ed elevata profondità di campo permettendo una veloce visualizzazione bi-dimensionale di grandi aree del pattern sotto esame con differenti possibilità d'ingrandimento. L'analisi AFM consente di acquisire immagini con risoluzione di pochi nanometri e permette di analizzare un profilo della struttura tri-dimensionale. Una volta acquisite le immagini i software a disposizione ad entrambe le facility consentono di eseguire una completa indagine metrologica.

Le proprietà ottiche delle nanostrutture sono state investigate sia nel campo vicino che nel campo lontano. Le informazioni relative al campo vicino sono state ottenute mediante microscopia ottica a scansione in campo prossimo (SNOM) che consente di superare il limite di diffrazione ed ottenere informazioni circa le proprietà elettromagnetiche dei nanopattern con elevata risoluzione attraverso una scansione punto-punto della struttura. Le proprietà ottiche in campo lontano sono state invece studiate mediante un set-up sperimentale realizzato su banco ottico che consente di effettuare un'analisi spettrale delle nanostrutture ed osservare eventuali risonanze di tipo plasmonico.

Per l'analisi SEM è stato utilizzato il sistema integrato nella facility EBL RAITH 150, mentre sia l'indagine AFM che SNOM sono state effettuate attraverso l'impiego del sistema di analisi NT-MDT NTEGRA Spectra mostrato in fig. 4.

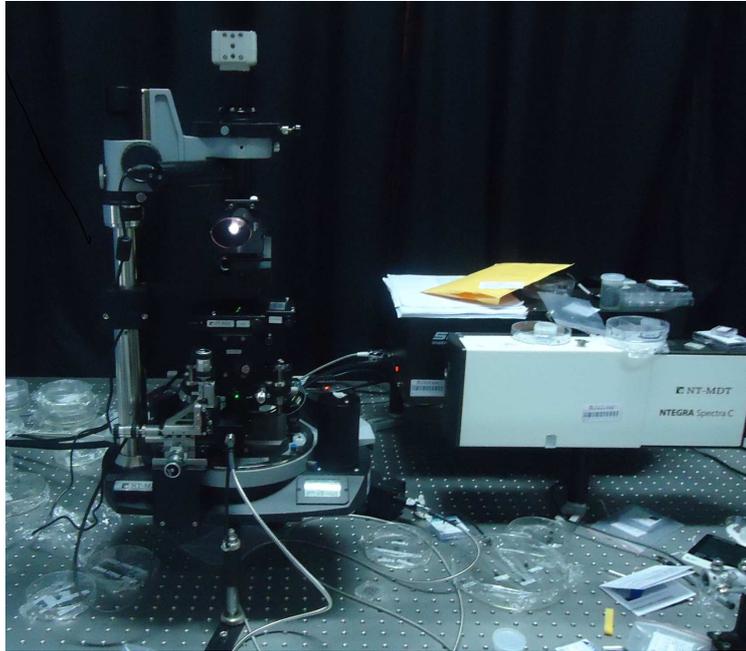


Fig. 4: Sistema NT-MDT NTEGRA Spectra in dotazione dell'Istituto di Fotonica dell'Università di Ningbo (Cina).

In fig. 5 viene mostrata il set-up ottico, realizzato su banco, impiegato per l'analisi ottica in campo lontano delle nanostrutture. Nel set-up è stato utilizzato lo spettroradiometro USB4000 - Ocean Optics che consente di ottenere informazioni spettrali delle nanostrutture indagate con elevata risoluzione.

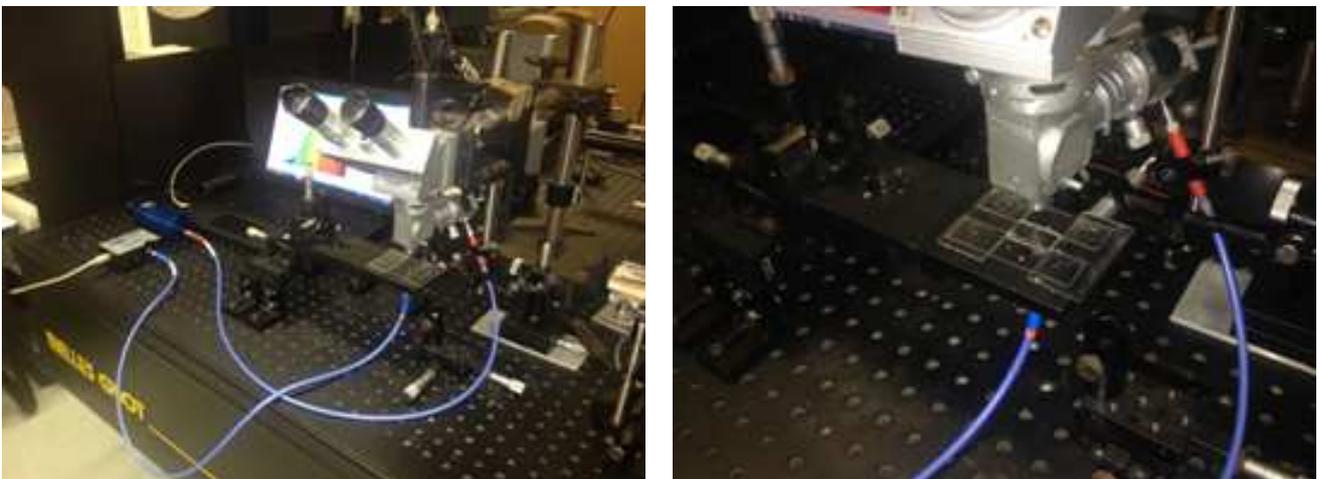
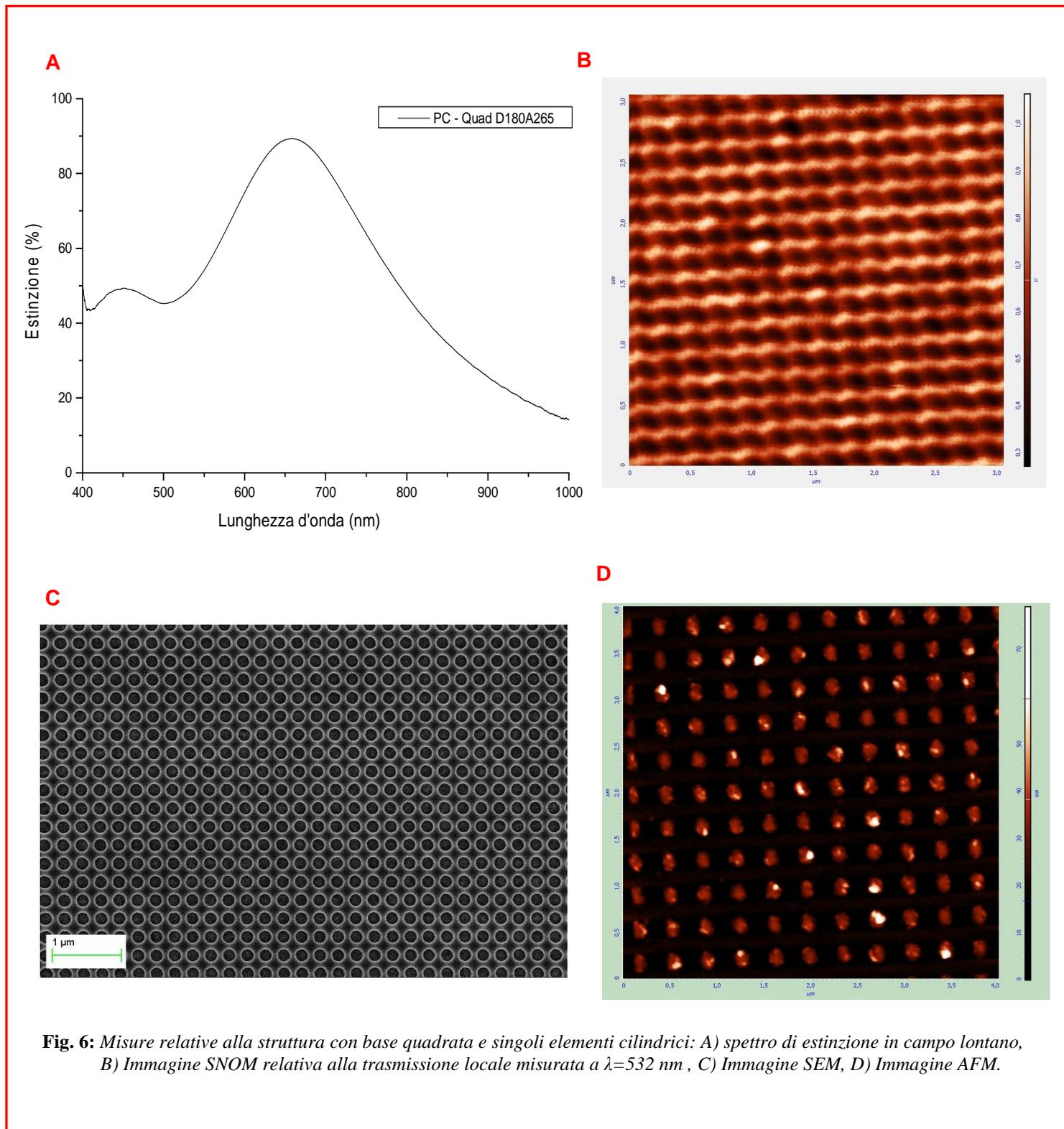


Fig. 5: Set-up ottico utilizzato per l'analisi spettrale in campo lontano.

Di seguito, in 4 distinte schede, vengono riportati i risultati sperimentali ottenuti sulle strutture descritte in tab.1.

PC Quad D180 A265



PC Triang D200 A300

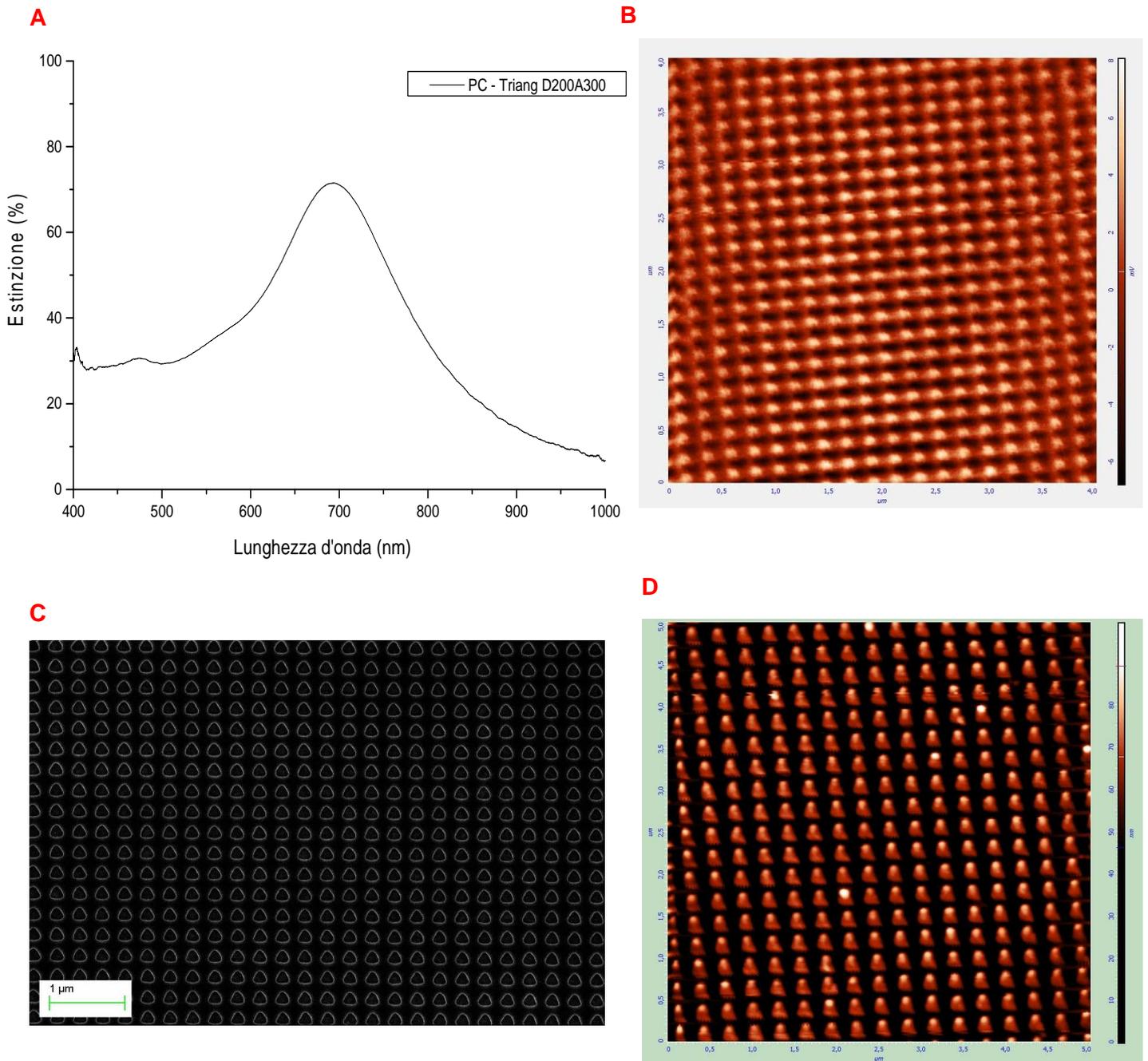


Fig. 7: Misure relative alla struttura con base quadrata e singoli elementi rappresentati da prismi triangolari: A) spettro di estinzione in campo lontano, B) Immagine SNOM relativa alla trasmissione locale misurata a $\lambda=532$ nm, C) Immagine SEM, D) Immagine AFM.

PQC Octag D250

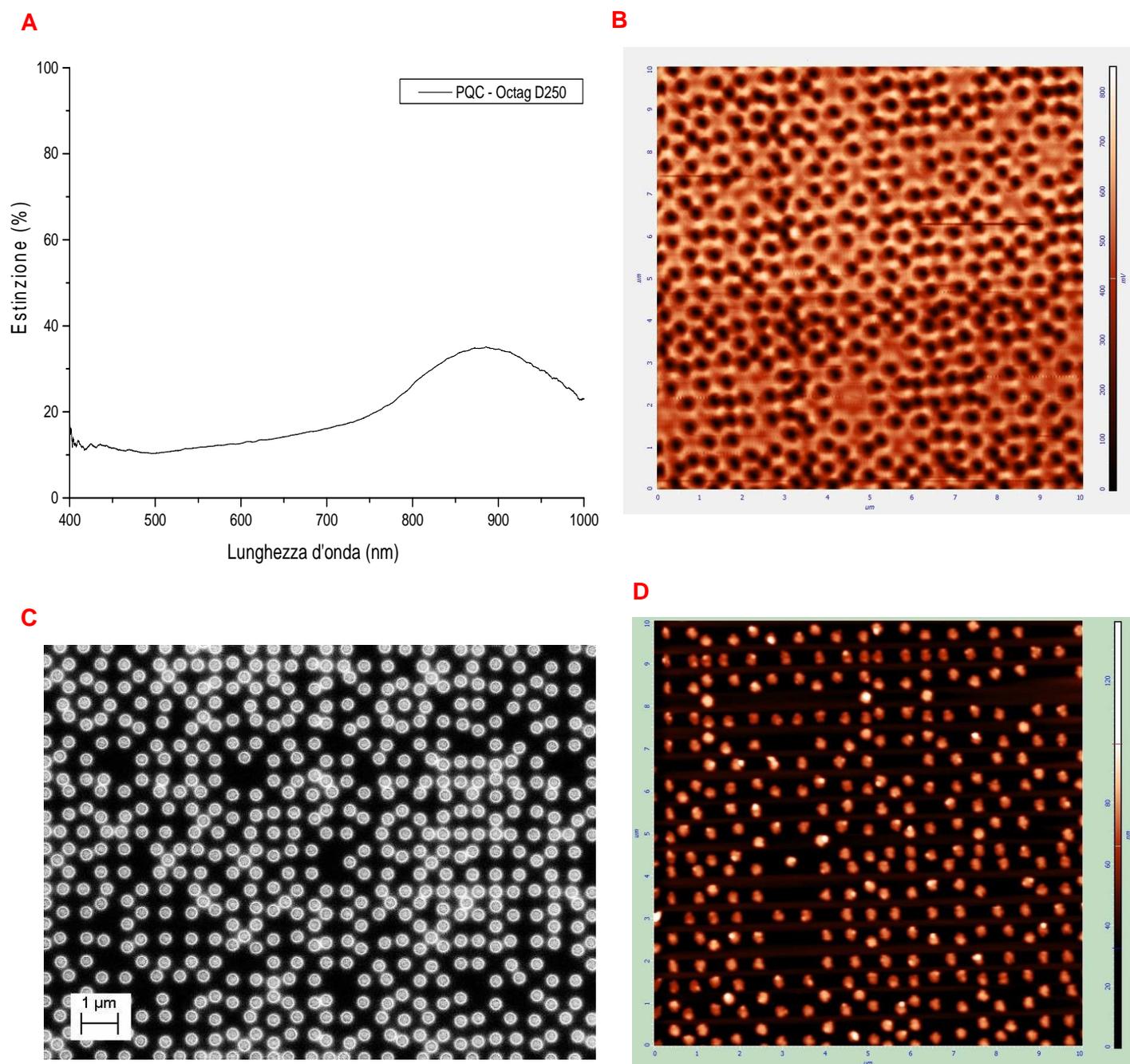


Fig. 8: Misure relative alla struttura con base ottagonale e singoli elementi cilindrici: A) spettro di estinzione in campo lontano, B) Immagine SNOM relativa alla trasmissione locale misurata a $\lambda = 532$ nm, C) Immagine SEM, D) Immagine AFM.

PQC TM D250

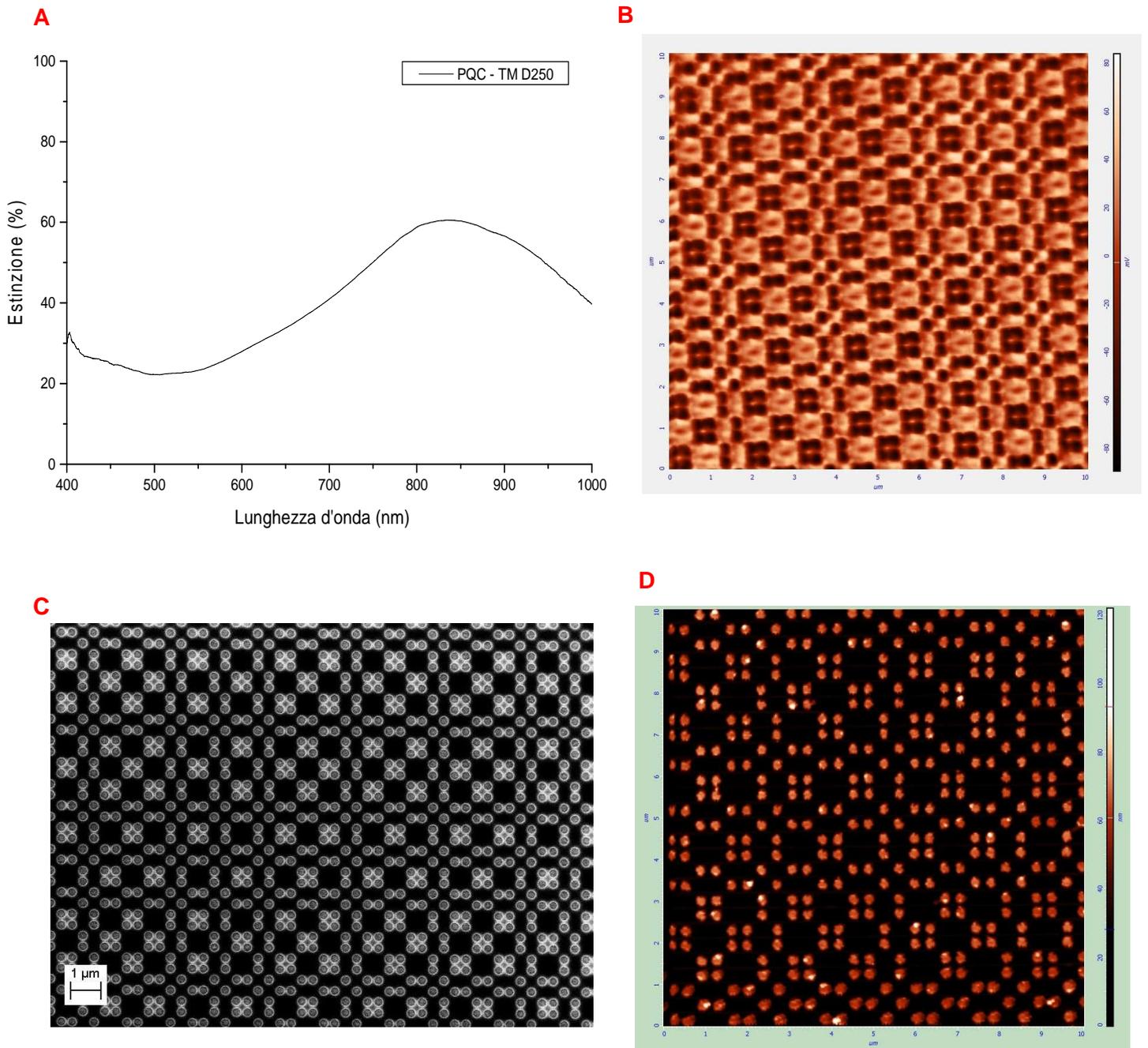


Fig. 9: Misure relative alla struttura Thue-Morse con singoli elementi cilindrici: A) spettro di estinzione in campo lontano, B) Immagine SNOM relativa alla trasmissione locale misurata a $\lambda=532$ nm, C) Immagine SEM, D) Immagine AFM.

5. Caratterizzazione delle nanostrutture mediante spettroscopia Raman

Tutte le strutture fabbricate, successivamente alla caratterizzazione morfologica ed ottica, sono state analizzate mediante spettroscopia Raman. Nelle misure, al fine di valutare l'incremento del segnale Raman (*Enhancement Factor*, EF) dovuto alla presenza della nanostrutturazione plasmonica, è stata utilizzata come molecola *probe* l'acido Mercaptobenzoico (4MBA) che ha la capacità di formare monostrati auto-assemblati su superfici metalliche come l'oro. Le misure sono state effettuate mediante l'impiego del sistema Raman BWS415-B&W TekInc in dotazione del laboratorio utilizzando una lunghezza d'onda di $\lambda=785\text{ nm}$. L'apparato viene mostrato in fig.10.



Fig. 10: Sistema Raman BWS415-B&W TekInc utilizzato per le valutazioni dell'EF SERS.

L'analisi delle misure Raman, effettuate su tutte le nanostrutture considerate, sono attualmente in corso e al termine di tale studio sarà possibile valutare per tutte le strutture indagate l'importante parametro rappresentato dall'EF SERS. Per il calcolo di tale parametro verrà utilizzata la seguente relazione $EF = I_{sers}N_{bulk} / I_{bulk}N_{sers}$ dove I_{sers} e I_{bulk} sono l'intensità del segnale alla stessa banda Raman ottenuto rispettivamente con la nanostruttura e nella forma bulk, mentre N_{sers} e N_{bulk} rappresentano il numero di molecole interessate nell'interazione sul substrato nanostrutturato e nel campione in forma bulk.