UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS

RAFAEL BRATIFICH

Fabricação e caracterização de nanoestruturas metálicas para
aplicações em dispositivos plasmônicos

São Carlos
2015

RAFAEL BRATIFICH

Fabricação e caracterização de nanoestruturas metálicas para
aplicações em dispositivos plasmônicos

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Física do Instituto de
Física de São Carlos da Universidade de
São Paulo, para obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Área de concentração: Física Aplicada
Orientador: Prof. Dr. Euclides Marega
Júnior

Versão Corrigida

(Versão original disponível na Unidade que aloja o Programa)

São Carlos
2015

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação do IFSC,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bratifich, Rafael

Fabricação e caracterização de nanoestruturas metálicas para aplicações em dispositivos plasmônicos / Rafael Bratifich; orientador Euclydes Marega Júnior - versão corrigida -- São Carlos, 2015.
105 p.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Física Aplicada) -- Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2015.

1. Nanofabricação. 2. Nanoestruturas. 3. Plasmônica. I. Júnior, Euclydes Marega, orient. II. Título.

Aos meus pais, Sérgio e Izinita, pelo apoio e
encorajamento incondicionais durante
a elaboração deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Euclydes Marega Junior, pela orientação, paciência e comprometimento que tornaram este projeto possível.

Ao Prof. Dr. Maximo Siu Li pela ajuda com as medidas de espessura de filmes finos de polímeros (pmma).

Ao Prof. Dr. Sérgio Carlos Zilio pela ajuda com as medidas de índice de refração.

Ao Prof. Dr. Ben-Hur V. Borges e ao Dr. John Weiner pela ajuda e sugestões nas simulações de FDTD.

Aos técnicos do grupo de semicondutores Haroldo Arakaki e Carlos A. de Souza pelo suporte instrumental, tecnológico e suas sugestões/auxílio fundamentais durante este projeto.

Aos companheiros do grupo: Víctor A. G. Rivera, Otávio B. Silva, Fernando W. A. Sobreira por suas sugestões e apoio.

À equipe e responsáveis pelos Laboratórios de Fotônica e Biofotônica: Prof. Dr. Vanderlei Salvador Bagnato e a Prof.^a Dra. Cristina Kurachi, pelo empréstimo do equipamento de espectroscopia portátil.

Ao técnico do Laboratório de Instrumentação Eletrônica - LIEPO - João Marcelo P. Nogueira e sua equipe, por seu auxílio na manutenção dos equipamentos.

Ao Prof. Dr. Francisco E. G. Guimarães e ao Dr. Sebastião Pratavieira pela ajuda com as medidas de microscopia confocal.

A Dra. Natália Mayumi Inada pelo auxílio e orientação na manipulação dos compostos porfirina e rodamina 6G.

Aos docentes das disciplinas que participei no Instituto de Física de São Carlos e na Escola de Engenharia Elétrica de São Carlos, por proporcionarem-me desafios cujas soluções ampliaram minha visão como discente e ser humano.

A todos os funcionários do Instituto de Física de São Carlos que com seu empenho e dedicação melhoram a cada dia esta instituição.

Ao Instituto de Física de São Carlos (IFSC-USP), ao Centro de Pesquisa em Óptica e Fotônica (CEPOF) e ao Instituto Nacional de Óptica e Fotônica (INOF) pela oportunidade de realização deste projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

“A persistência é o caminho do êxito. ”

Charles Chaplin

RESUMO

BRATIFICH, R. **Fabricação e caracterização de nanoestruturas metálicas para aplicações em dispositivos plasmônicos**. 2015. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

O interesse por aplicações que utilizam efeitos de *plásmons poláritons de superfície* (SPP) vem crescendo, pois as ondas SPPs apresentam enorme potencial no desenvolvimento de filtros e biossensores ópticos. A sensibilidade da ressonância de plásmons em nanoestruturas permite o estudo em tempo real de variações mínimas em índice de refração, solutos e antígenos. Neste trabalho foram aplicadas técnicas de nanofabricação (litografia por feixe de elétrons e íons) para o desenvolvimento de estruturas plasmônicas e sua posterior caracterização. As estruturas foram utilizadas para verificar propriedades de absorção e fluorescência em moléculas opticamente ativas – Porfirina e Rodamina 6G. As estruturas – conjuntos de fendas e matrizes de buracos circulares com diversos períodos – foram fabricadas em um filme fino de ouro (Au) sobre substrato de vidro (Borofloat 33 - Schott), usando um feixe de íons de Gálio (FEI Quanta Quanta 3D 200i). A transmissão óptica foi estudada na região de 400nm a 900nm (VIS-NIR). Os resultados experimentais foram comparados com simulações computacionais. O estudo da absorção molecular da porfirina foi conduzido observando-se a variação na intensidade da transmissão. Ao alterar a concentração da porfirina sobre as estruturas, foi possível caracterizar a curva de absorvidade $\varepsilon(\lambda)$ da porfirina para concentrações entre 100 μ g/ml e 500 μ g/ml em quantidades mínimas de analito (20 μ l). A técnica de microscopia confocal foi empregada no estudo da fluorescência da Rodamina 6G diluída num filme fino de PMMA sobre as estruturas. Ao avaliar a fluorescência da Rodamina 6G na reflexão das estruturas, observou-se o efeito de *quenching* devido a emissão de plásmons. Os resultados obtidos poderão ser utilizados de apoio a trabalhos futuros, desenvolvidos em plasmônica aplicada a biossensores.

Palavras-chave: Nanofabricação. Nanoestruturas. Plasmônica.

ABSTRACT

BRATIFICH, R. **Manufacturing and characterization of metal nanostructures for plasmonics devices applications**. 2015. 105 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

The interest in applications that use the effects of surface plasmon polaritons (SPP) has been increasing. SPPs waves have an enormous potential for the construction of optical filters and biosensors. The sensitivity of plasmon resonance in nano-structures allows studying in real-time minimal variations in the refractive index, solutes and antigens. In this work, we have studied nanofabrication techniques (electron and ion beam lithography) and the characterization of plasmonic structures. Plasmonic effects were used as biosensors of absorption and fluorescence in optically active molecules – Porphyrin and Rhodamine 6G. The structures – sets of slits and arrays of circular holes with different periods – were manufactured in gold (Au) thin film on a glass substrate (Borofloat 33 – Schott) using a gallium ion beam equipment (FIB FEI Quanta Quanta 3D 200i). Optical transmission was studied in the region of 400 nm to 900 nm (VIS-NIR). The characterization of structures was realized used the Ocean Optics USB-2000 spectrometer. The experimental results were compared to computer simulations. The study of molecular absorption of porphyrin was conducted by observing the variation in intensity of transmission. By changing the porphyrin concentration in the structures, it was possible to characterize the porphyrin absorptivity curve $\varepsilon(\lambda)$ in concentrations between 100 $\mu\text{g/ml}$ and 500 $\mu\text{g/ml}$ in minimum amounts of analyte (20 μl). Confocal microscopy was used to study the fluorescence of Rhodamine 6G on plasmonic structures. The plasmon quenching effect was observed in the evaluation of the fluorescence of Rhodamine 6G in the reflection of the structures. The results will support future works linking plasmonics and biosensors.

Keywords: Nanofabrication. Nanostructures. Plasmonics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cálice de Licurgo, século IV A.C. - A esquerda sob iluminação ambiente e a direita quando seu interior é iluminado.	23
Figura 2 - Diagrama de um biossensor plasmônico de tratamento e análise e fluidos.....	25
Figura 3 - Relação de dispersão para o plásmom de <i>bulk</i> (<i>BPP</i>), para o plasmon de superfície (<i>SPP</i>) e para um dielétrico. A linha tracejada azul representa a dispersão da luz no vácuo ($\omega=ck_0$), a linha tracejada laranja representa a dispersão num dielétrico. Para a frequência ω_i temos o vetor de onda k_{SP} que é maior que o vetor de onda da luz se propagando no dielétrico.	31
Figura 4 - Acoplamento de ondas <i>SPPs</i> por prisma usando reflexão interna total nas configurações Kretschmann (esquerda) e Otto (direita).	32
Figura 5 - Representação da profundidade de penetração do campo evanescente na interface dielétrico-metal	33
Figura 6 - Diagrama da disposição da fenda	34
Figura 7 - Simulação FDTD de uma fenda em filme de Au, com espessura $t=600$ nm, em meio ao ar e um substrato com índice de refração $n=1,46$. As dimensões da fenda são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μ m. O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632,8$ nm. (a) perfil da componente x da densidade de corrente (A/m^2). (b) perfil da componente z da densidade de corrente (A/m^2).	34
Figura 8 - Simulação FDTD de uma fenda em filme de Au, com espessura $t=600$ nm, em meio ao ar e a um substrato com índice de refração $n=1,46$. As dimensões da fenda são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μ m. O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632,8$ nm. (a) perfil da componente x do campo elétrico (V/m). (b) perfil da componente z do campo elétrico (V/m).	35
Figura 9 - Simulação FDTD de um conjunto de fendas em filme de Au, com espessura $t=600$ nm, em meio ao ar e a um substrato com índice refração $n=1,46$. As dimensões das fendas são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μ m e período $p=400$ nm. O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632,8$ nm. (a) perfil da componente x da densidade de corrente (A/m^2). (b) perfil da componente z da densidade de corrente (A/m^2).	37
Figura 10 - Representação da absorção de radiação em uma amostra. I_0 é a radiação incidente, I a radiação transmitida e L a espessura da amostra.	37
Figura 11 - Espectro de absorção da Porfirina-Photogem na concentração 50 mg/ml em PBS, pH 7,4 e $L=0,2$ cm.	38
Figura 12 - Diagrama de um sensor de absorção utilizando estruturas plasmônicas.	39
Figura 13 - Diagrama de Jablonski - os mecanismos radiativos e não radiativos envolvidos no processo de excitação do elétron.	40

Figura 14 - Espectro de absorção e fluorescência da Rodamina B em etanol.	41
Figura 15 - Nanopartículas de cobre podem ser utilizadas para aumentar a fluorescência devido à interação do fluoróforo com o campo SPR.	42
Figura 16 - Representação dos processos envolvidos na fabricação de uma nanoestrutura. ...	43
Figura 17 - Litografia óptica de proximidade com lift off em resiste positivo e negativo	46
Figura 18 - Espessura do filme em função da velocidade de spinner para o fotoresiste Az 5214. As medidas foram realizadas utilizando-se o perfilômetro óptico Nanovea.....	48
Figura 19 - Espessura do filme em função da velocidade de spinner para soluções de PMMA em Anisol. As medidas foram realizadas com o perfilômetro de contato - Dektak XT BRUKER.	49
Figura 20 - Representação do sistema de evaporação de filmes finos.....	50
Figura 21 - Diagrama de um microscópio eletrônico.	51
Figura 22 - Volume de interação provocado por um feixe de elétrons ao incidir em uma amostra.	52
Figura 23 - Efeito de proximidade causado por interações dos elétrons do feixe com a matéria.....	52
Figura 24 - Deformidade do contorno gerado pelo efeito de proximidade.....	53
Figura 25 - Simulação utilizando Monte Carlo para trajetória do elétron em 10 μm de resiste sobre um substrato de silício para as diferenças de potencial (a) 50 kV, (b) 100 kV, (c) 250 kV e (d) 500 kV.....	53
Figura 26 - Diagrama das etapas envolvendo o processo de lift off.....	54
Figura 27 - Efeito de superfície de corte em dupla-camada de resiste.	55
Figura 28 - Representação de um microscópio FIB.....	56
Figura 29 - Detalhes esquemáticos (a) da fonte de gálio (b) do canhão de íons.....	57
Figura 30 - (a) diagrama do sistema de feixe duplo. (b) interação do feixe de íons na amostra: A- feixe de íons de Ga^+ incidente, B - átomos da amostra ejetados, C - espalhamento dos íons Ga^+ , D - redeposição dos íons de Ga^+ e dos átomos da amostra, E - íons Ga^+ presos na amostra e F - elétrons secundários.....	58
Figura 31 - Efeito de redeposição em filme de prata (Ag) gerado pelo feixe de íons de Ga. As fendas apresentam período $p=200\text{ nm}$, comprimento $l=10\text{ }\mu\text{m}$ e abertura de $w=100\text{ nm}$	58
Figura 32 - Efeito de corrosão do feixe de íons sobre um filme de Au com espessura de 380 nm. O diâmetro do buraco circular era $d=5\text{ }\mu\text{m}$ (substrato de GaAs).....	59

Figura 33 - Fendas fabricadas em filme de Ag com espessura de 380 nm. As fendas possuem as seguintes dimensões período $p=500$ nm, largura $l=10$ μm e abertura $w=100$ nm. Imagem em ângulo (substrato de GaAs).	60
Figura 34 - Quadro que mostra a região de simulação FDTD no software Lumerical	62
Figura 35 - Diagrama das dimensões dos conjuntos de fendas: a direita é apresentado o plano xz e a esquerda o plano xy , com p =período da fenda, w = largura da fenda, l =comprimento da fenda e t =espessura do filme.	63
Figura 36 - Quadro que mostra detalhes da simulação FDTD Lumerical – Planos da região computacional e detalhes da PML e da borda periódica.	63
Figura 37 - Diagrama das dimensões das matrizes de buracos circulares: a direita é apresentado o plano xz e a esquerda o plano xy , com p =período dos buracos, d = diâmetro do buraco e t =espessura do filme.	64
Figura 38 - Simulação FDTD Lumerical - Planos da região computacional e detalhes dos monitores de transmissão, reflexão e da fonte de onda plana.....	64
Figura 39 - Simulação FDTD da transmissão de uma fenda em função da variação da espessura do filme de Au para o comprimento de onda $\lambda=632,8$ nm.	65
Figura 40 - Simulação FDTD da intensidade dos campo elétrico (E) e magnético (H) ao longo do eixo z na linha central da fenda para a espessura de filme de Au (a) $t=310$ nm e (b) $t=540$ nm. As linhas verticais tracejadas indicam a posição do feixe incidente e saída do plano do filme de Au. O comprimento de onda utilizado é $\lambda=632,8$ nm.	66
Figura 41 - Simulação FDTD da transmissão através de uma nano-fenda em filme de Au na região VIS-NIR. As dimensões da fenda eram largura $w=100$ e 150 nm, comprimento $l=2$ μm	67
Figura 42 - Simulação FDTD da transmissão através de nanoestruturas em filme de Au na região VIS-NIR. (a) conjuntos de fendas com largura $w=100$ nm, período $p=400$ nm, comprimento $l=2$ μm e espessura de filme $t=100, 150$ e 200 nm e (b) comparação entre os espectros de transmissão de uma fenda e conjuntos de fendas com largura $w=100$ nm, período $p=400$ e 500 nm, comprimento $l=2$ μm e espessura de filme $t=200$ nm.	67
Figura 43 - Simulação FDTD da transmissão através de nanoestruturas em filme de Au na região VIS-NIR. (a) Matrizes de buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm, período $p=400$ nm e espessura de filme $t=100, 150$ e 200 nm. (b) Matrizes de buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm, período $p=400$ e 500 nm e espessura de filme $t=100$ nm e um buraco circular com diâmetro $d=200$ nm e espessura de filme $t=100$ nm.	68
Figura 44 - Diagrama do equipamento de medidas do espectro de transmissão das nanoestruturas. A fonte de luz era uma lâmpada halógena com potência de 50 Watts. O feixe de luz era projetado perpendicularmente a superfície da amostra	

no substrato e com a objetiva de 20x a transmissão da estrutura era coletada e enviada ao espectrômetro pela fibra óptica.	70
Figura 45 - Espectro de transmissão da lâmpada halógena com potência de 50 Watts.	71
Figura 46 - Comparação do espectro de transmissão normalizado - divisão pela intensidade máxima - para o modo de polarização TM em um conjunto de 25 fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura de fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33- Schott) e sua respectiva simulação ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $l=2$ μ m e $p=400$ nm).	72
Figura 47 - Comparação do espectro de transmissão normalizado - divisão pela intensidade máxima - em uma matriz 25x25 de buracos circulares fabricados por FIB em filme de Au com espessura $t=100$ nm, diâmetro do buraco $d=200$ nm, período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33- Schott) e sua respectiva simulação ($t=100$ nm, $d=200$ nm e $p=400$ nm).	73
Figura 48 - Efeito de redeposição de material em conjuntos de fendas, a esquerda temos um conjunto de 50 fendas com largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e período $p=200$ nm em filme de Au e a direita temos um conjunto de 34 fendas com largura de $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e período $p=300$ nm em filme de Ag.	74
Figura 49 - Espectro de transmissão para um conjunto de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro do buraco $d=200$ nm, período $p=400$ nm em vidro Borofloat 33- Schott para várias profundidades de corrosão.	75
Figura 50 - Espectro de transmissão para o modo de polarização TM em um conjunto de fendas fabricadas via FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura de fenda $w=100$ nm, período $p=400$ nm e comprimento $l=10$ μ m em vidro Borofloat 33- Schott para várias profundidades de corrosão.	76
Figura 51 - Simulação computacional representando os perfis de corrosão por FIB com o aumento da dose em filme Au-Ti.	77
Figura 52 - Deformação na superfície do filme promovida pelo processo de corrosão por FIB. Quanto menor o período maior será a deformação na superfície do filme. A imagem da esquerda apresenta um período curto que altera drasticamente a superfície do filme enquanto que períodos maiores apresentam pouca deformação da superfície do filme.	77
Figura 53 - Imagens de fenda única fabricadas por FIB em filme de Au, largura de fenda $w=100$ nm e comprimento $l=10$ μ m. (a) imagem da fenda no campo claro submetida a um laser de $\lambda=660$ nm. (b) imagem da fenda no campo claro sem o laser. (c) imagem da fenda em campo escuro iluminada pelo laser $\lambda=660$ nm na polarização TM e (d) a imagem da fenda em campo escuro iluminada pelo laser $\lambda=660$ nm na polarização TE.	78

Figura 54 - Espectros de transmissão do modo transversal elétrico (TE) para conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e períodos $p=500, 700$ e 900 nm	78
Figura 55 - Espectros de transmissão do modo transversal magnético (TM) para conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e períodos $p=500, 700$ e 900 nm	81
Figura 56 - Conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura de fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e períodos (a) $p=500$ nm / $N=20$ fendas, (b) $p=700$ nm/ $N=15$ fendas e (c) $p=900$ nm/ $N=11$ fendas em vidro (Borofloat 33- Schott).	79
Figura 57 - Espectros de transmissão no modo transversal magnético (TM) para matrizes de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e períodos $p=400, 600$ e 800 nm em vidro (Borofloat 33- Schott).....	80
Figura 58 - Matrizes de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e períodos (a) $p=400$ nm/ $M=25 \times 25$ buracos, (b) $p=600$ nm/ $M=17 \times 17$ buracos e $p=800$ nm/ $M=13 \times 13$ buracos em vidro (Borofloat 33- Schott).	80
Figura 59 - Diagrama da preparação das amostras para medir a absorção da Porfirina-Photogem®	83
Figura 60 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para a solução de porfirina na concentração de $C=500$ μ g/ml e para a água destilada sobre um conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m). O volume dos analitos foi de $V=20$ μ l.	83
Figura 61 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para a solução de porfirina na concentração de $C=500$ μ g/ml e água destilada sobre um conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m). O volume dos analitos foi de $V=20$ μ l.....	84
Figura 62 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para soluções de porfirina nas concentrações $C=500, 250, 100$ e 50 μ g/ml e para a água destilada sobre uma camada de $t=80$ nm de PMMA 996K. O filme polimérico estava sobre o conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m). O volume dos analitos foi de $V=20$ μ l.	85
Figura 63 - Espectros de absorção das soluções de porfirina sobre o filme de PMMA no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m).....	86
Figura 64 - Espectros de transmissão para a soluções de porfirina nas concentração $C=500, 250, 100$ e 50 μ g/ml e para a água destilada sobre uma camada de $t=80$ nm de PMMA 996K. O filme polimérico estava sobre a matriz 25×25 de buracos circulares em filme de Au ($t=100$ nm, $d=200$ nm, $p=400$). O volume dos analitos foi de $V=20$ μ l.	87

Figura 65 - Espectros de absorção das soluções de porfirina sobre o filme de PMMA na matriz de buracos em filme de Au ($t=100$ nm, $d=200$ nm e $p=400$ nm).....	87
Figura 66 - Absorbância da porfirina em função da concentração da solução para o comprimento de onda $\lambda=488$ e 532 nm.....	88
Figura 67 - Representação dos processos envolvidos no <i>MEF</i> em moléculas devido a interação com plásmons de superfície.....	90
Figura 68 - Diagrama da preparação da amostra para medir a fluorescência da Rodamina 6G em nano-estruturas plasmônicas.	91
Figura 69 - Fluorescência da Rodamina 6G coletada por reflexão no filme de Au e no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m). O comprimento de onda de excitação foi $\lambda=514$ nm.	92
Figura 70 - Imagem de fluorescência da Rodamina 6G na região da estrutura plasmônica. O comprimento de onda de excitação foi $\lambda=514$ nm.	92
Figura 71 - Fluorescência coletada por reflexão da Rodamina 6G no filme de Au e no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μ m) para os comprimentos de onda de excitação $\lambda=488, 514, 532$ e 594 nm.....	93
Figura 72 - Espectro de excitação e emissão da fluorescência de um fluoróforo. Os espectros de fluorescência são representados por três excitação em comprimentos de onda diferentes (EX1, EX2 e EX3) e suas respectivas emissões (EM1, EM2 e EM3).....	94
Figura 73 - Representação do efeito do <i>quenching</i> devido acoplamento do campo próximo do dipolo com os modos <i>SPs</i> na interface orgânica/metal	94
Figura 74 - Fluorescência coletada por reflexão da Rodamina 6G no filme de Au e na matriz 25x25 de buracos circulares em filme de Au ($t=100$ nm, $d=100$ nm e $p=400$ nm). O comprimento de excitação foi $\lambda=514$ nm.	95

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Massas molares e concentrações das soluções de PMMA em Anisol.	47
Tabela 2 - Área total de transmissão dos conjuntos de fendas com períodos $p=500, 700$ e 900 nm.	81
Tabela 3 - Área total de transmissão das matrizes de buracos circulares com períodos $p=400, 600$ e 800 nm.	81
Tabela 4 - Índice de refração das soluções de porfirina e água destilada. As medidas foram realizadas com o refratômetro Atago RX-5000 α na linha D - 589 nm.	85
Tabela 5 - Ajuste linear da função absorbância no OriginPro 8 SR5 - OriginLab.	88
Tabela 6 - Absortividade $\varepsilon(\lambda)$ da molécula de porfirina para os comprimentos de onda $\lambda=488$ e 532 nm.	89
Tabela 7 - Comprimento de onda do feixe laser, potência utilizada e filtro passa-banda empregados na microscopia confocal de fluorescência da Rodamina 6G sobre as estruturas plasmônicas.	91

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
2	OSCILAÇÕES ELETROMAGNÉTICAS EM INTERFACES METÁLICAS: PLASMÔNICA	29
2.1	A constante dielétrica dos metais e os plásmons de superfície	29
2.2	Profundidade de penetração do campo e comprimento de propagação <i>SPP</i>	32
2.3	Transmissão óptica extraordinária (TOE)	33
3	PRINCÍPIOS BÁSICOS DE SENSORES ÓPTICOS	37
3.1	Espectrofotometria de absorção molecular	37
3.2	Espectroscopia de fluorescência	39
4	PROCESSOS DE NANOFABRICAÇÃO APLICADOS AO DESENVOLVIMENTO DE ESTRUTURAS PLASMÔNICAS	43
4.1	Materiais e Métodos	44
4.2	Limpeza do substrato	45
4.3	Preparação dos resistes	45
4.4	Spinner	47
4.5	Deposição de filmes finos	49
4.6	Litografia por feixe de elétrons	50
4.7	Lift off	54
4.8	Litografia por feixe de íons	55
5	RESULTADOS	61
5.1	Modelos e simulações computacionais das estruturas plasmônicas	61
5.1.1	Influência da espessura do filme e da geometria na TOE	65
5.2	Propriedades ópticas de estruturas processadas através de litografia por feixe de íons ..	69
5.2.1	Espectro de TOE de nanoestruturas fabricadas por litografia por feixe de íons	71
5.2.2	Efeitos da corrosão por feixe de íons em nanoestruturas metálicas	74
5.2.3	Transmissão óptica extraordinária e a periodicidade das estruturas	78
5.3	Interação de plasmons com moléculas	82
5.3.1	Absorção da Porfirina	82
5.3.2	Fluorescência da Rodamina 6G	90
6	CONCLUSÕES	97
	REFERÊNCIAS	99

1 INTRODUÇÃO

Há séculos os artistas utilizam, mesmo sem conhecimento, efeitos plasmônicos em suas obras. O primeiro objeto que se tem conhecimento a utilizar esse fenômeno é o cálice de Licurgo criado no século IV a.C. Este cálice romano, em iluminação ambiente aparece verde, mas quando seu interior é iluminado a luz é transmitida na coloração vermelha, Figura 1. Esse fenômeno é devido à interação da luz com nanopartículas de ouro e prata misturadas ao vidro do artefato. (1) Durante a construção de igrejas na idade média os vitrais recebiam vidros incrustados com nanopartículas. Esses vitrais criam diversos efeitos de cores devido à variação de incidência dos raios solares durante o dia. (2)

Figura 1 - Cálice de Licurgo, século IV A.C. - A esquerda sob iluminação ambiente e a direita quando seu interior é iluminado.

Fonte: BRITISH (1)

Os efeitos plasmônicos ficaram presentes em diversos objetos de arte por diversos séculos, porém, somente começaram a ser investigados no início do século XX. Um dos primeiros trabalhos retratando plásmons surgiu em 1902, Robert W. Wood relatou os efeitos plasmônicos observados no espectro de difração de uma grade metálica, entretanto os efeitos gerados pelos plásmon foram descritos como anomalias no espectro de difração. (3)

Em 1941, U. Fano, apresentou uma possível explicação sobre a origem das anomalias de Wood. O trabalho teórico explicava que as anomalias geradas no espectro eram interferências provocadas por ondas eletromagnéticas evanescentes excitadas na superfície da rede de difração. (4)

Em 1956, David Pines introduz o termo plásmons ao descrever teoricamente as perdas de energia provocadas por oscilações de elétrons na superfície metálica. (5) Em 1957, R. Ritchie formulou matematicamente os efeitos das interações entre os plásmons (6) e U.

Fano introduz o termo poláriton ao descrever o acoplamento entre os plásmons e a radiação eletromagnética. (7)

No início da década de 60, inspirados pelo trabalho de Ritchie diversos pesquisadores estudaram extensivamente formas de gerar plásmons e seus possíveis efeitos. Em 1958, T. Turbadar mediu a reflexão da luz em filmes finos de metal depositados sobre substratos. Contrariando sua tese inicial, os filmes finos metálicos apresentavam baixa refletância. (8) A explicação para esse fenômeno surgiu, em 1968, com os trabalhos de A. Otto, E. Kretschmann e H. Raether. Otto utilizando a pesquisa de Turbadar e a teoria de Ritchie explicou que a baixa reflexão no filme metálico é devido à excitação de plásmons na superfície metálica. (9) Kretschmann e Raether, baseando-se no trabalho de Otto, propuseram um sistema de ressonância de plásmom de superfície (*SPR*). (10)

Em 1998, T. W. Ebbessen reportou a transmissão extraordinária de luz (*TOE*) através de estruturas com dimensões inferiores ao comprimento de onda por intermédio da geração de *SPR*. (11) A pesquisa de Ebbessen difundiu e consolidou o que se conhece hoje como plasmônica colocando-a como uma área de aplicação tecnológica para o desenvolvimento de aplicações desde a transmissão de dados em comunicações até biossensores e novas terapias em biomedicina.

Plásmons podem ser entendidos como quanta de energia, derivados da oscilação coletiva dos elétrons de condução no metal, excitados por uma fonte de radiação externa. A interação entre a radiação incidente e a superfície do metal origina o plásmom de superfície (*SP*). Os *SPs* confinados na superfície do metal ao se acoplarem com os fótons da radiação incidente formam o que se conhece como plásmons poláritons de superfície (*SPPs*). (6-7)

Os *SPPs* são ondas evanescentes extremamente sensíveis às propriedades dielétricas próximas a superfície do metal, portanto, alterações no índice de refração na interface em torno, por exemplo, de nanoestruturas metálicas produzirão modificações no espectro da *SPR*. (12) Essas variações mensuráveis de posição dos picos e da magnitude do espectro podem ser utilizadas para executar rotinas de comparação em tempo real.

A *SPR* propicia a construção de filtros e sensores ópticos com área ativa de detecção na escala de micro/nanômetros. A profundidade de penetração da onda do evanescente torna o *SPP* menos sensível às mudanças de temperatura no solvente, longe da superfície do metal. (13) O confinamento da luz nos campos *SPPs* podem promover o aumento na emissão do espalhamento em moléculas adsorvidas sobre nanoestruturas. Esse efeito é utilizado em técnicas de espectroscopia de fluorescência (surface-enhanced fluorescence - SEF) (14) e de espalhamento Raman (surface-enhanced Raman scattering). (15-16)

Outro fator que demonstra o potencial de aplicação para o sensoriamento a partir de efeitos plasmônicos é a utilização da luz branca como fonte de excitação dos plásmos, o que pode tornar o sistema de detecção compacto e portátil. A *SPR* permite o desenvolvimento de biossensores integrados a sistemas microeletromecânicos (*MEMS*) de controle e manipulação de fluidos em canais micro-dimensionados para análise química e automatizada de reações bioquímicas, Figura 2. (17)

Figura 2 - Diagrama de um biossensor plasmônico de tratamento e análise de fluidos.

Fonte: Adaptada de BROLO (17)

Um grande desafio no desenvolvimento desses sensores é a otimização do seu desempenho que é fortemente relacionado com a geometria das nanoestruturas e com os materiais utilizados. (18) Diversas estruturas como nanopartículas, (19-22) matrizes de buracos circulares, (23-25) e conjuntos de fendas (26-28) já foram empregados para tentar maximizar a *TOE* em sensores plasmônicos.

Existem dois tipos de sensores *SPR*: os sensores que utilizam a ressonância de plásmos de superfície localizados (*localized surface plasmon resonance - LSPR*) no qual as *SPRs* confinadas em estruturas metálicas têm a propriedade de intensificar o campo elétrico na superfície dessas estruturas e os sensores que utilizam a ressonância de plásmos de superfície propagantes (*propagated surface plasmon resonance - PSPR*) que empregam os campos evanescentes dos plásmos na superfície metálica plana. (29)

A principal diferença entre esses sensores é o decaimento do campo evanescente da *SPR* (δ_d). Nos *PSPR*, na região do visível, o δ_d é da ordem de metade do comprimento de onda de ressonância podendo alcançar centenas de nanômetros. Para os *LSPR*, o δ_d é de algumas ordens de grandeza menor, por exemplo, para nanopartículas é de cerca de $\delta_d \approx 20$ a 30 nm. (30) Essa diferença possibilita aos sensores *LSPR* uma resposta mais rápida às mudanças próximas à interface.

Esses sensores permitem diversas aplicações como a detecção de moléculas e componentes químicos, a quantificação de concentrações de solutos orgânicos e inorgânicos e a espectroscopia de fluorescência. (31-37)

Nosso projeto consistiu no estudo dos efeitos plasmônicos a partir da transmissão óptica extraordinária de estruturas plasmônicas interagindo com soluções e moléculas opticamente ativas e, também, no estudo da fluorescência de moléculas próximas as nanoestruturas metálicas. Essas interações são as origens de funcionamento dos sensores *LSPR*.

Este trabalho foi basicamente experimental e com suporte de simulações numéricas que nos permitiram analisar os resultados obtidos.

As estruturas fabricadas foram caracterizadas por espectroscopia na região 400-900nm (VIS-NIR). Estudamos a interação de soluções de porfirina e de um filme fino de PMMA diluído com Rodamina 6G sobre as nanoestruturas para avaliar o efeito de absorção e fluorescência dessas moléculas na TOE.

A Porphirina e a Rodamina 6G são moléculas orgânicas com grande absorção de luz e fluorescência na região visível do espectro. Essas moléculas são de grande interesse de estudo, principalmente, a porfirina que devido a suas propriedades de foto-oxidação está sendo investigada como agente catalítico na Terapia Fotodinâmica (Photodynamic Therapy - PDT), enquanto a Rodamina 6G é utilizada como corante em técnicas histológicas e corante-laser como meio amplificador. Essa molécula também é utilizada em aplicações biotecnológicas e no desenvolvimento e aprimoramento de técnicas de microscopia de fluorescência.

Para a melhor compreensão dos estudos realizados neste projeto organizamos esta dissertação da seguinte forma:

No capítulo 2, é apresentado os formalismos teóricos relacionados com a física de plásmons, algumas propriedades das ondas *SPPs* e a transmissão óptica extraordinária em fendas e buracos circulares.

No capítulo 3 são apresentados os fundamentos básicos para a confecção de sensores ópticos utilizados em espectroscopia de absorção molecular e fluorescência.

No capítulo 4 são apresentadas metodologias que podem ser empregadas nos processos de nanofabricação de estruturas plasmônicas.

No capítulo 5 são apresentados os resultados obtidos e as discussões. Neste capítulo é abordado o estudo da simulação computacional utilizando o método de FDTD, a caracterização por espectroscopia na região VIS-NIR das nanoestruturas fabricadas e a calibração de um protótipo de estrutura para uso como um sensor plasmônico de concentração de porfirina e de fluorescência utilizando Rodamina 6G.

Finalmente no capítulo 6 são apresentadas as conclusões deste trabalho e as perspectivas para a utilização dos resultados obtidos para futuros trabalhos.

2 OSCILAÇÕES ELETROMAGNÉTICAS EM INTERFACES METÁLICAS: PLASMÔNICA

Neste capítulo é apresentado um resumo sobre os tópicos mais relevantes para a compreensão do fenômeno de transmissão óptica extraordinária (TOE) devido a plásmons de superfície (SP) em nanoestruturas metálicas.

O capítulo aborda os seguintes temas: a função dielétrica em metais, a relação de dispersão para plásmons de superfície (SP), propriedades dos campos SPs e os mecanismos da transmissão óptica extraordinária em nanoestruturas.

2.1 A constante dielétrica dos metais e os plásmons de superfície

O conceito de plásmons é usado para explicar muitas das propriedades ópticas fundamentais dos metais e dos fenômenos da transmissão óptica extraordinária (TOE) dispensando o uso de ferramentas complexas como a mecânica quântica. (37) Utilizando esse conceito podemos tratar os elétrons livres em um metal como um gás, com densidade n , movendo-se em estruturas de íons positivos. Este movimento é amortecido por colisões entre os elétrons e os íons.

Se aplicarmos um campo externo, a esse gás de elétrons, estes irão oscilar em resposta ao campo. Essa excitação coletiva dos elétrons no sólido pode ser entendida como um quantum de energia denominado de plásmon. (5,6) Quando ocorre o acoplamento entre os fótons da radiação incidente e os plásmons dá-se a denominação plásmon-poláriton. (7) Entretanto há condições para que esse fenômeno ocorra e a resposta dielétrica do material, que pode ser descrita pelo modelo de Drude, (38) é um fator decisivo a ser considerado. (37)

$$\varepsilon_m(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \quad (1)$$

Na equação 1, ω_p é o termo da frequência de plasma dos elétrons livres e γ é a taxa de colisão entre os elétrons.

Se considerarmos mínimas as perdas no metal ($\gamma = 0$), quando $\omega > \omega_p$ a permissividade é positiva ($\varepsilon_m > 0$) e a luz propaga-se pelo metal por meio dos elétrons livres no *bulk*. Esse acoplamento entre a luz e os elétrons livre é denominado plasmon-poláritons de *bulk* (*bulk plasmon polariton* - BSP).

Quando $\omega < \omega_p$ a permissividade é negativa ($\varepsilon_m < 0$) e a luz se propaga na superfície metálica por meio de ondas evanescentes originando os modos plamon-polártons de superfície (*surface plasmon polariton - SPP*).

O vetor de onda k_{SP} , relacionado às ondas *SPPs*, está associado à frequência de oscilação ω e a resposta dielétrica pela relação de dispersão descrita por (37):

$$k_{SP} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_d}{\varepsilon_m + \varepsilon_d}} \quad (2)$$

Sendo ε_m e ε_d as permissividades relativas do metal e do dielétrico e c a velocidade da luz. A parte real do k_{SP} é:

$$k'_{SP} = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon'_m \varepsilon_d}{\varepsilon'_m + \varepsilon_d}} \quad (3)$$

e define a condição de existência dos modos *SPPs*: a parte real da constante dielétrica do metal deve ser negativa ($\varepsilon'_m < 0$) e satisfazer $|\varepsilon'_m| > \varepsilon_d$ (37), e a parte imaginária (k''_{SP}), determina o amortecimento interno e absorção no material.

$$k''_{SP} = \frac{k_0 \varepsilon''_m}{2(\varepsilon'_m)^2} \sqrt{\left(\frac{\varepsilon'_m \varepsilon_d}{\varepsilon'_m + \varepsilon_d}\right)^3} \quad (4)$$

Substituindo a função dielétrica da equação 1 na equação 2 e considerando a frequência $\omega \rightarrow \omega_p$, podemos obter a frequência máxima que o vetor de propagação pode atingir ($k_{SP} \rightarrow \infty$). Este valor de frequência é denominado frequência de plamon de superfície (ω_{SP}) e está relacionada diretamente com o dielétrico utilizado.

$$\omega_{SP} = \frac{\omega_p}{\sqrt{1 + \varepsilon_d}} \quad (5)$$

A Figura 3 apresenta as curvas de dispersão dos modos *BPP* e *SPP*. A linha tracejada azul representa a dispersão no vácuo, a tracejada laranja num material dielétrico, a curva vermelha a dispersão k_{SP} - modos *SPP* e a linha roxa a dispersão dos modos *BPP*.

Figura 3 - Relação de dispersão para o plásmon de *bulk* (*BPP*), para o plásmon de superfície (*SPP*) e num dielétrico. A linha tracejada azul representa a dispersão da luz no vácuo ($\omega = ck_0$), a linha tracejada laranja representa a dispersão num dielétrico. Para a frequência ω_i temos o vetor de onda k_{SP} que é maior que o vetor de onda da luz se propagando no dielétrico.

Fonte: Adaptada de SILVA (39)

O número de onda no modo *SPP* (k_{SP}) é maior do que no dielétrico (k) para a frequência ω_i , portanto o comprimento de onda *SPP* (λ_{SP}) é menor que o comprimento de onda da radiação incidente (λ). O número de onda da linha de luz (azul), também, é menor que o número de onda no modo *SPP* (k_{SP}) implicando que para uma frequência, ω_i , a radiação incidente não pode excitar diretamente as ondas *SPPs*.

Entretanto existem formas de excitar essas ondas *SPPs*. Considerando um feixe de radiação com uma projeção ao longo da interface, o vetor de onda dos fótons no feixe é $k_x = k_0 \sin \theta$, esses fótons incidem sob um ângulo θ normal à superfície e seu vetor de onda é sempre menor do que a constante de propagação *SPP*. Kretschmann e Otto (9,10,37) demonstraram que é possível excitar as ondas *SPP* utilizando prismas ou um acoplamento planar.

O prisma, Figura 4, pode ser considerado um sistema de três camadas constituídas por uma película fina de metal e dois materiais dielétricos diferentes. Para simplificar, vamos tomar um dos dielétricos como sendo o ar ($\epsilon = 1$).

Figura 4 - Acoplamento de ondas *SPPs* por prisma usando reflexão interna total nas configurações Kretschmann (esquerda) e Otto (direita).

Fonte: MEIER (37)

O feixe refletido na interface entre o dielétrico e o metal provocará oscilações de carga momentaneamente promovendo um campo eletromagnético que decai exponencialmente para o espaço perpendicular à superfície (um campo evanescente) e tem o seu máximo na interface. O vetor de onda do fóton no prisma é $k_x = k_0 \sqrt{\epsilon} \sin \theta$, que é suficiente para excitar as ondas *SPPs* na interface entre o metal e o dielétrico de menor constante dielétrica, ou seja, a interface ar/metal.

2.1 Profundidade de penetração do campo e comprimento de propagação *SPP*

A intensidade do campo evanescente na direção z determina a profundidade de penetração (δ_d) que é uma medida de quão profundo o campo eletromagnético pode penetrar no material até que a sua intensidade decaia para $1/e$ (cerca de 37%) do seu valor inicial na interface.

A intensidade do campo *SPP* diminui, exponencialmente, normal à superfície por uma onda evanescente proporcional a $e^{-|k_{zi}||z|}$. A profundidade de penetração do campo é definida por (37,40):

$$|\delta_i| = \frac{1}{|k_{zi}|} \quad (6)$$

onde para a região metálica temos:

$$\delta_m = -\frac{c}{\omega} \sqrt{\frac{|\epsilon'_m + \epsilon_d|}{\epsilon_m'^2}} \quad (7)$$

e para o dielétrico:

$$\delta_d = \frac{c}{\omega} \sqrt{\frac{|\epsilon'_m + \epsilon_d|}{\epsilon_d^2}} \quad (8)$$

Tipicamente a região de penetração do campo no dielétrico é da ordem de $\lambda/2$. A Figura 5 representa a profundidade de penetração dos campos nas regiões dielétrico e metal.

Figura 5 - Representação da profundidade de penetração do campo evanescente na interface dielétrico-metal

Fonte: BARNES (40)

Além da penetração do campo no material temos, também, o comprimento efetivo de propagação (L) da onda *SPP* ao longo da interface que determina o limiar para a queda da intensidade de $1/e$ do valor inicial do campo. O comprimento efetivo de propagação é definido por (39):

$$L = \frac{1}{2k_{SP}''} = \frac{\lambda}{2\pi} \sqrt{\left(\frac{\epsilon_m' + \epsilon_d}{\epsilon_m' \epsilon_d}\right)^3 \frac{(\epsilon_m')^2}{\epsilon_m''}} \quad (9)$$

Na região visível do espectro essa distância é da ordem de micrômetros (10^{-6} m).

2.2 Transmissão óptica extraordinária (TOE)

A transmissão óptica extraordinária é um fenômeno no qual estruturas, fabricadas em um material opaco (por exemplo, um metal), com dimensões inferiores ao comprimento de onda, permitem uma transmissão superior à esperada pela teoria clássica da difração de Abbe. (39)

Vamos considerar uma fenda na qual um campo de radiação incide no plano xz . A fenda está disposta ao longo do eixo y e a radiação incidente se desloca na direção de z e possui as componentes H_y , E_x e E_z , modo transversal magnético (TM).

Figura 6 - Diagrama da disposição da fenda

Fonte: Elaborada pelo autor.

A interação da radiação com estrutura origina uma densidade de corrente J_x devido ao acúmulo de cargas elétricas nas quinas da fenda, Figura 7 (a). Essas cargas oscilantes, devido a variação temporal da componente E_x , formarão um dipolo elétrico na região. As cargas e correntes presentes nas paredes irão “conduzir” a radiação para a outra superfície da fenda e ao chegar na interface Metal/Ar um segundo dipolo é formado, Figura 7 (b). Essas antenas de dipolo irão irradiar o comprimento de onda através da outra interface - Metal/Ar - como se houvesse a transmissão da luz através das fendas. (39,41-42)

Figura 7 - Simulação FDTD de uma fenda em filme de Au, com espessura $t=600$ nm em meio ao ar e um substrato com índice de refração $n=1,46$. As dimensões da fenda são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μm . O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632.8$ nm. (a) perfil da componente x da densidade de corrente (A/m^2). (b) perfil da componente z da densidade de corrente (A/m^2).

Fonte: Elaborada pelo autor.

A estrutura apresentará propriedades similares a de um guia de onda: as componentes dos campos em seu interior se comportam como uma onda estacionária e uma onda

propagante, sendo o plásmon o modo propagante desse guia que apresenta condições de ressonância semelhante a cavidade de Fabry-Pérot. (41)

Figura 8 - Simulação FDTD de uma fenda em filme de Au, com espessura $t=600$ nm em meio ao ar e a um substrato com índice de refração $n=1,46$. As dimensões da fenda são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μm . O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632.8$ nm. (a) perfil da componente x do campo elétrico (V/m). (b) perfil da componente z do campo elétrico (V/m).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para um conjunto de fendas, Figura 9 (a-b), o mesmo fenômeno de indução de cargas e correntes superficiais é observado.

Figura 9 - Simulação FDTD de um conjunto de fendas em filme de Au, com espessura $t=600$ nm, em meio ao ar e a um substrato com índice refração $n=1,46$. As dimensões das fendas são: largura $w=50$ nm, comprimento $l=2$ μm e período $p=400$ nm. O comprimento de onda do feixe incidente é $\lambda=632.8$ nm. (a) perfil da componente x da densidade de corrente (A/m^2). (b) perfil da componente z da densidade de corrente (A/m^2).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os comprimentos de onda transmitidos através da nanoestrutura serão o produto da redistribuição de cargas e correntes definidas pela interferência entre o campo da radiação incidente, o campo estacionário no interior da estrutura e o campo refletido na interface.

Desse modo, as propriedades ópticas dos materiais, a espessura do filme, a geometria da estrutura e o período entre as estruturas - considerando os arranjos periódicos - interferem diretamente no comprimento de onda transmitido. (18,26,39-42)

3 PRINCÍPIOS BÁSICOS DE SENSORES ÓPTICOS

A alta sensibilidade dos plásmons de superfície à mudanças no meio dielétricos em torno das nanoestruturas metálicas vem sendo amplamente estudada e utilizada na elaboração de sensores ópticos e biossensores *LSPR*. (43-45)

A radiação eletromagnética transmitida permite quantificar parâmetros ópticos como índice de refração, fenômenos de difração, polarização, concentração, luminescência, fluorescência entre outros que constitui a base dos sensores ópticos convencionais. (46-49)

3.1 Espectrofotometria de absorção molecular

A absorção de radiação por moléculas, dentro da região do espectro UV-VIS-NIR, constitui a base da técnica denominada Espectrofotometria de Absorção Molecular. Essa técnica de espectroscopia consiste em verificar as alterações presentes na intensidade da radiação (I_0) depois de interagir com uma substância. (50-51)

Nessa interação a intensidade da luz decresce exponencialmente à medida que a espessura e concentração do meio absorvente aumentam. Esse fenômeno de interação é descrito pela lei de Beer-Lambert (51):

$$I_T = I_0 e^{-\epsilon l C} \quad (10)$$

sendo I_T a radiação transmitida após a interação com a substância, I_0 a intensidade inicial da radiação, C a concentração da espécie absorvente expressa em moles.l⁻¹, L a espessura em cm da amostra atravessada pela radiação, Figura 10, e $\epsilon(\lambda)$ é denominado absortividade que é uma característica da substância dependendo do comprimento de onda incidente.

Figura 10 - Representação da absorção de radiação em uma amostra. I_0 é a radiação incidente, I a radiação transmitida e L a espessura da amostra.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A transmitância é definida como a razão entre a intensidade transmitida (I_T) e a incidente (I_0) sendo expressa por:

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-\epsilon l C} \quad (11)$$

e a absorbância é definida por:

$$A = -\log T = \epsilon l C \quad (12)$$

A partir da lei de Beer-Lambert podemos relacionar diretamente a absorbância de uma substância à sua concentração utilizando técnicas de espectrofotometria.

A Figura 11 - apresenta o espectro de absorção da Porfirina Photogem® na concentração $C=50$ mg/ml em PBS, pH 7,4 e a espessura da camada de solução analisada é $L=0,2$ cm.

Figura 11 - Espectro de absorção da Porfirina-Photogem na concentração 50 mg/ml em PBS, pH 7,4 e $L=0,2$ cm.

Fonte: MENEZES (52)

Os sensores baseados em *LSPR* apresentam bandas de transmissão bem definidas no intervalo VIS-NIR, na qual as moléculas biológicas e compostos orgânicos apresentam atividade óptica como absorção e fluorescência. (44,47-48,53)

Medindo-se a absorção presente na transmissão do espectro da substância e comparando com a transmissão do solvente, Figura 12 (ii-iii), é possível desenvolver biossensores capazes de analisar a concentração dos compostos.

Figura 12 - Diagrama de um sensor de absorção utilizando estruturas plasmônicas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

3.2 Espectroscopia de fluorescência

A espectroscopia de fluorescência permite analisar a concentração de compostos em soluções a partir da emissão de radiação. Ao interagir com a radiação eletromagnética algumas moléculas opticamente ativas podem ter seus elétrons excitados. Quando a molécula absorve um fóton de luz com uma energia específica seu elétron migra de um estado fundamental (S_0) para um estado eletrônico de maior energia. A diferença de energia entre o estado excitado (S_2) e o fundamental (S_0) corresponde à energia do fóton absorvido ($E_{fóton}$).

No estado excitado, o elétron pode emitir esse excesso de energia ($h\nu$) e ir para um estado de menor energia até o retornar ao seu estado fundamental.

O processo pode ser resumido por:

Nessa transição para o nível menos energéticos as perdas de energia podem ocorrer por mecanismo radiativos (fluorescência e fosforescência) ou por mecanismos não radiativos (conversão interna e cruzamento intersistemas), *quenching* e interações no solvente. (54-55)

No diagrama de Jablonski, Figura 13, é possível observar a evolução da excitação e desexcitação do elétron por processos radiativos e não radiativos.

Figura 13 - Diagrama de Jablonski - os mecanismos radiativos e não radiativos envolvidos no processo de excitação do elétron.

Fonte: Adaptada de LAKOWICZ (55)

O mecanismo de conversão interna consiste na transferência de energia e sem emissão radiativa do estado singlete superior (S₂), que o elétron atingiu, ao estado singlete de mais baixa energia (S₁). No estado singlete de mais baixa energia pode ocorrer o cruzamento intersistema ou a transmissão de energia por fluorescência.

No cruzamento intersistema parte da energia é transferida aos estados tripletos sem emissão de radiação e no estado tripleto a energia é emitida por fosforescência e o elétron retorna ao estado fundamental (S₀).

Quando a energia é transmitida por fluorescência o elétron retorna ao estado fundamental (S₀). A diferença entre o estado singlete e o tripleto é que devido a inversão do spin, no estado tripleto, o processo de fosforescência é mais lento quando comparado a fluorescência. (55)

Devido aos processos não radiativos o espectro de fluorescência estará deslocado para comprimentos de onda maiores que os da banda de absorção como apresentado no espectro da Rodamina B em etanol, Figura 14.

Figura 14 - Espectro de absorção e fluorescência da Rodamina 6G em etanol.

A intensidade da fluorescência é proporcional à concentração de moléculas na solução, entretanto, a intensidade pode sofrer redução por diversos processos, tais como reações no estado excitado, transferência de energia, formação de complexos e colisões moleculares. (55) Esses mecanismos de redução na intensidade são chamados de *quenching*.

Uma forma de reduzir os efeitos do *quenching* é a utilização de nanoestruturas, como por exemplo uma nanopartícula metálica, que pode apresentar um aumento no campo elétrico local devido aos efeitos da *SPR*.

Um campo *SPR* promove o aumento da excitação dos fluoróforos que estão na proximidade das nanopartículas. (57) O acoplamento do estado excitado do fluoróforo à *SPR* pode resultar num aumento do rendimento quântico de fluorescência. (57-60)

Figura 15 - Nanopartículas de cobre podem ser utilizadas para aumentar a fluorescência devido à interação do fluoróforo com o campo SPR.

Fonte: Adaptada de AKIYAMA (60)

Como os campos evanescente *SP* podem excitar os fluoróforos podemos utilizar estruturas plasmônicas, como conjuntos de fendas e matrizes de buracos circulares, para melhorar a emissão de fluorescência das moléculas aumentando a intensidade de excitação localmente e direcionando a radiação aos detectores por meio das nanoestruturas.

4 PROCESSOS DE NANOFABRICAÇÃO APLICADOS AO DESENVOLVIMENTO DE ESTRUTURAS PLASMÔNICAS

Este capítulo tem como objetivo fazer uma breve descrição dos principais processos que podem ser utilizados para o processamento de estruturas plasmônicas. As estruturas que utilizamos foram todas obtidas através da técnica de litografia por feixe de íons, porém a descrição dos métodos de litografia óptica e eletrônica servem como comparativo para que se tenha uma visão clara das vantagens e desvantagens destas técnicas, tanto quanto a resolução e quanto aos problemas inerentes de cada metodologia.

Um resumo das etapas envolvidas nos processos de nanofabricação de estruturas está resumido esquematicamente na Figura 16.

Figura 16 - Representação dos processos envolvidos na fabricação de uma nanoestrutura.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Na litografia por feixe de elétrons há etapas intermediárias, como a deposição de eletro-resiste (spinner) e lift-off, o que aumenta consideravelmente o tempo de processamento e o grau de dificuldade deste processo, porém há uma preservação do substrato. Já pela técnica de litografia por feixe de íons as estruturas são processadas diretamente sobre filme metálico depositado sobre o vidro o que diminui consideravelmente o tempo de processamento, porém a interação do feixe de íons com o substrato pode ocasionar a sua destruição parcial nas regiões de interesse e também provocar efeitos de redeposição do

material removido com o íon do feixe. A litografia óptica não tem resolução suficiente para fabricação de estruturas plasmônicas, porém é utilizada como, por exemplo, delimitadora de uma área no substrato onde se deseja processar a estrutura sendo muito útil para o processamento de regiões de dispositivos que fazem a conexão em nano e macroestruturas.

4.1 Materiais e Métodos

O laboratório de nanofabricação do IFSC-USP dispõe de diversas instalações: sala limpa, sala de evaporação de filmes finos e a sala de litografia por feixe de íons (FIB). A sala limpa tem uma classe estimada entre 1.000 - 10.000, com regiões onde a classe pode chegar a 100. Este ambiente possui fluxo de ar limpo contínuo e um sistema de controle de temperatura (20-22°C) e de umidade (40-65%). (63)

Esses ambientes possuem diversos equipamentos instalados que são utilizados no processo de nanofabricação, tais como:

- BALANÇA ANALÍTICA - MARTE - ($\pm 0,001$ g);
- MILI-Q - CORNING - água deionizada (18 M Ω cm);
- PRATO QUENTE/AGITADOR - CORNING - mod. PC. 220 - 25 a 550°C, 60 a 1100 rpm;
- CAPELA DE QUÍMICOS - BRASLAB;
- ULTRA-SOM - Thornton Inpec Eletrônica - mod. T14 - freq. 40.000 Hz;
- CÂMERA DIGITAL - SONY - 1200 linhas;
- MICROSCÓPIO ÓPTICO - Olympus - mod. BH2-UMA - mag. 50 a 1.000x;
- PHOTO RESIST SPINNER - Karl Suss - mod. SM 240/EC - 500 a 10.000 rpm;
- EVAPORADOR DE FILMES FINOS - BAL-TEC - BAE 250;
- PERFILÔMETRO DE CONTATO - BRUKER - Dektak XT - resolução 4Å;
- MÁSCARA ALINHADORA - KARL SUSS - MJB3;
- MICROSCÓPIO ELETRÔNICO - LEO Electron microscopy - mod. LEO 440 - mag. 5x a 300.000x;
- MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DUPLO FEIXE - FEI QUANTA 3D 200i dual beam SEM/FIB - mag. 30x a 1280kx;

4.2 Limpeza do substrato

A limpeza do substrato é o primeiro, e mais importante estágio no processo de nanofabricação. Os substratos podem estar contaminados por partículas de poeira presentes no ambiente, resíduos orgânicos e inorgânicos provenientes do manuseio e estocagem incorretos.

Um substrato contaminado apresentará alterações de suas propriedades ópticas e contaminantes em grande escala (micrometros) como partículas de poeira podem inutilizar a nanoestrutura produzida.

A técnicas de limpeza de substratos mais utilizadas em processos de nanofabricação é o método RCA - desenvolvido pela Radio Corporation of America (64) - que consiste na limpeza do substrato em 4 etapas.

A primeira etapa remove resíduos orgânicos e partículas, a segunda promove a limpeza dos óxidos, e na terceira é realizado a remoção dos íons e na última etapa a limpeza dos químicos e secagem do substrato. (65) Para materiais adquiridos e previamente limpos e estocados em ambiente controlado. A metodologia de limpeza é:

Limpeza: Remoção de partículas, resíduos orgânicos e químicos.

Coloca-se o substrato em acetona aquecida (40°C) no equipamento de ultrassom por 20 minutos, após coloca-se o substrato em álcool isopropílico aquecido (40°C) no equipamento de ultra-som por mais 20 minutos.

Terminado o banho de ultrassom é aplicado um jato de N₂ seco na amostra que pode ser armazenada no interior de um dissecador em ambiente ultra-limpo.

4.3 Preparação dos resistes

A fabricação de nanoestruturas por litografia óptica e por feixe de elétrons requer a deposição de um filme fino de material polimérico sobre a superfície do substrato. Esse filme fino é denominado resiste. No resiste serão impressos os padrões que originarão as micro e nanoestruturas.

O resiste poderá ser sensível a fótons (foto resiste) ou a elétrons (eletro resiste). Essas duas classes de resistes podem ser classificados em tonalidades positiva e negativa dependendo da reação que desencadeiam quando expostos a radiação. (63)

Nos resistes positivos, as regiões expostas à radiação tornam-se solúveis ao revelador e nos negativos tornam-se insolúveis, Figura 17.

Figura 17 - Litografia óptica de proximidade com lift off em resiste positivo e negativo

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos processos de litografia óptica podemos utilizar, por exemplo, o resiste positivo - AZ-5214 photoresist da Sigma-Aldrich e nos processos por feixe de elétrons empregamos soluções de PMMA em Anisol, também, da Sigma-Aldrich. Essas soluções são preparadas seguindo as etapas abaixo:

- A massa de uma quantidade de Anisol é medida em uma balança analítica.
- A massa correspondente à concentração¹ desejada do PMMA é medida.
- O PMMA é misturado ao Anisol e levado a um prato-quente/agitador. A solução é aquecida até 80°C sob agitação moderada até a completa diluição do PMMA.
- A massa da solução é medida novamente e verifica-se a concentração.

¹ A concentração de PMMA é definida por $C = (\text{massa de PMMA} / \text{massa de Anisol}) * 100\%$.

Geralmente após a etapa do prato-quente é necessário acrescentar solvente a solução para manter a concentração devido à evaporação no processo de aquecimento.

As soluções de PMMA preparadas são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Massas molares e concentrações das soluções de PMMA em Anisol.

Massa Molar (M_w)	Concentração [PMMA/Anisol]
15K	8%
101K	4%
996K	2%
996K	4%

Fonte: Elaborada pelo autor.

A massa molar (M_w) da solução influencia na eletrossensibilização do filme quando exposto ao feixe de elétron. Considerando dois filmes de PMMA com espessura t , M_w diferentes e submetidos a condições idênticas de exposição. O filme com maior M_w apresentará menor eletrossensibilização em relação ao com menor M_w . A M_w , também, determina a viscosidade da solução influenciando diretamente na espessura do filme. (66)

Preparando filmes de PMMA com baixa M_w aumentamos a eletrossensibilização à radiação e os filmes mais finos possibilitam a utilização de correntes de baixa intensidade no feixe de elétrons. As baixas correntes diminuem o espalhamento dos elétrons no interior do filme reduzindo os efeitos de borda e melhorando a qualidade e resolução da impressão. (63,66)

4.4 Spinner

Para fabricar os filmes finos de resiste utilizamos o equipamento de spinner PHOTO RESIST SPINNER - Karl Suss - mod. SM 240 - 300 a 10.000 rpm.

A técnica conhecida por *spin coating* consiste na deposição da solução de resiste sobre o substrato alocado horizontalmente sobre o porta-substrato do spinner. O substrato é submetido a uma alta velocidade angular. Durante a rotação, o resiste é espalhado horizontal produzindo um filme extremamente fino. Esse espalhamento do resiste é resultado da disputa das forças adesivas da solução de resiste e o substrato para com a força centrífuga.

Na preparação dos filmes finos podem ser utilizadas duas sequências de rotações: a primeira 500 rpm por 10s para espalhar o resiste sobre o substrato e a segunda na velocidade desejada por 40 s para homogeneizar o filme e alcançar a espessura ideal.

Após o processo do spinner o substrato era levado a um tratamento térmico. Os foto resistes permaneciam em um prato-quente a 100°C por 1 minutos enquanto os eletro resistes eram levados a uma estufa a 90°C por 30 minutos.

No término do tratamento o substrato estava pronto para receber impressões por litografia óptica ou litografia por feixe de elétrons.

As Figura 18 e Figura 19 - apresentam a espessura dos resistes empregados na litografia óptica e litografia por feixe de elétrons.

Figura 18 - Espessura do filme em função da velocidade de spinner para o fotoresiste Az 5214. As medidas foram realizadas utilizando-se o perfilômetro óptico Nanovea.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A variação de velocidade do spinner permite obter filmes com a espessura de 1,5 a 3,0 μm para litografia óptica.

Figura 19 - Espessura do filme em função da velocidade de spinner para soluções de PMMA em Anisol. As medidas foram realizadas com o perfilômetro de contato - Dektak XT BRUKER.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os filmes empregados na litografia por feixe de elétrons possuem alguns nanômetros de espessura. Essas camadas extremamente finas possibilitam a impressão de padrões com dimensão inferior a 100 nm. (66)

4.5 Deposição de filmes finos

Desenvolvemos, neste projeto, nanoestruturas a partir de filmes metálicos de Prata (Ag) e Ouro (Au)². Como interface de aderência entre o substrato de vidro e esses metais empregamos filmes extremamente finos, espessura máxima 10 nm, de Cromo (Cr).

Os filmes metálicos foram depositados através do processo de evaporação térmica usando o sistema BAL-TEC BAE 250. Nesse processo o material a ser depositado é aquecido a uma temperatura em que ocorre sua vaporização ou sublimação.

² Os filmes de prata e ouro são *soft-contact* em vidro, ou seja, não tem forte aderência podendo ser removidos durante a manipulação do substrato.

Figura 20 - Representação do sistema de evaporação de filmes finos.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O vácuo no interior da câmara é sempre inferior a 10^{-6} mbar antes do início dos processos de evaporação.

Durante todo o processo um cristal de quartzo era utilizado para monitorar a espessura do filme depositado no substrato e o prato dos substratos era mantido em rotação para assegurar a uniforme do filme. Inicialmente ocorria a sublimação do Cr e depois a vaporização do Au ou da Ag.

4.6 Litografia por feixe de elétrons

A litografia por feixe de elétrons gera padrões com dimensões inferiores a 100 nm em eletro resiste. O controle computacional do feixe permite o processamento de estruturas complexas e a otimização dos recursos de exposição como: dose, tempo e camadas de exposição. O padrão impresso pelo feixe de elétrons originará as nanoestruturas durante o processo de evaporação. (67)

A litografia por feixe de elétrons no laboratório de nanofabricação do IFSC-USP é realizada a partir do microscópio eletrônico - LEO Electron microscopy - mod. LEO 440 - mag. 5x a 300.000x que apresenta resumidamente a seguinte configuração: um canhão de elétrons, lentes eletrostáticas e bobinas magnéticas, Figura 21 - .

Figura 21 - Diagrama de um microscópio eletrônico.

Fonte: MICROSCOPIA... (68)

O principal problema durante o processo de exposição é o espalhamento e a interação dos elétrons do feixe com o resiste e o substrato. Os elétrons no feixe podem ter sua trajetória desviada ao colidirem com os átomos da amostra ou sofrer retro-espalhado quando ocorrem colisões elásticas. As perdas de energia dos elétrons para o meio poderiam promover o aparecimento de elétrons secundários e elétrons “Auger”. A excitação dos elétrons de camadas eletrônicas internas dos átomos pelo feixe poderia promover o surgimento de raios-x característicos e outros efeitos, Figura 22. (69)

Figura 22 - Volume de interação provocado por um feixe de elétrons ao incidir em uma amostra.

Fonte: DEDAVID (69)

Todos esses processos de espalhamento originam uma exposição indesejada nas áreas próximas ao feixe, Figura 23, criando um efeito conhecido como "efeito de proximidade." (69)

Figura 23 - Efeito de proximidade causado por interações dos elétrons do feixe com a matéria.

Fonte: Adaptada de WIEDERRECHT (70)

O efeito de proximidade altera as características do contorno na região exposta e durante o processo de revelação química, na região com espalhamento, ocorre a formação de um gel devido exposição parcial do resiste. Deformando as bordas do padrão impresso e aumento o volume nos contornos da estrutura, desse modo perde-se os aspectos lineares das quinas, Figura 24. (71)

Figura 24 - Deformidade do contorno gerado pelo efeito de proximidade.

Fonte: Adaptada de STEPANOVA (71)

O efeito de proximidade pode ser reduzido empregando-se litografia por feixe de elétrons com alta-energia. Os resultados das simulações de Monte Carlo para a trajetória dos elétrons sobre resiste em substrato de silício com energias de 50 kV, 100 kV, 250 kV e 500 kV demonstram que o aumento da energia do feixe promove um maior confinamento dos elétrons no substrato reduzindo os efeitos de espalhamento, principalmente, na região do resiste. O confinamento dos elétrons possibilita a construção de estruturas com alta resolução altura/largura. (66,70)

Figura 25 - Simulação utilizando Monte Carlo para trajetória do elétron em 10 μm de resiste sobre um substrato de silício para as diferenças de potencial (a) 50 kV, (b) 100 kV, (c) 250 kV e (d) 500 kV

Fonte: Adaptada de WIEDERRECHT (70)

Outra solução seria utilizar a litografia de média energia (5-40 kV) e variar as doses e o tempo exposição na impressão das estruturas utilizando o software de litografia. As doses e o tempo deveriam variar conforme a espessura da linha, o período e a geometria da estrutura e a espessura e tipo de resiste. (72)

Após a exposição do resiste ocorre o processo de revelação. Na revelação utilizávamos como solvente a solução de metil-isobutil-cetona ($C_6H_{12}O$) em álcool isopropílico (C_3H_8O) na proporção 1:3. Terminada a revelação, a estrutura estava pronta para a evaporação e lift off.

4.7 Lift off

A técnica do lift-off consiste em formar estruturas metálicas utilizando como máscara o PMMA da região exposta do filme ao feixe de elétrons. O filme polimérico exposto é removido na etapa da revelação química formando ranhuras. O processo de evaporação do metal permite que uma camada de filme metálico seja depositada nessas ranhuras formando as estruturas. Após a evaporação, a máscara de PMMA é removida com Acetona (C_3H_6O) restando apenas as estruturas metálicas depositadas nas ranhuras formando o padrão desejado, Figura 26 - .

Fonte: Adaptada de ALVES (63)

Essa técnica aparentemente simples apresentava algumas dificuldades como: a deformação do resiste durante a evaporação, a baixa aderência do metal ao substrato e a ligação da camada metálica do resiste com a das ranhuras.

Durante a evaporação do metal, o resiste passa por um processo de aquecimento que poderia deformar o perfil impresso no filme arruinando os padrões. Para evitar esse efeito utilizamos um resiste com alta tolerância ao aumento da temperatura e os processos de evaporação eram realizados na menor temperatura possível.

A fraca adesão do metal ao substrato promovia, durante o descascamento, a remoção do metal aderido ao substrato destruindo a nanoestrutura. Para evitar esse efeito depositávamos uma fina camada de filme metálico de cromo no substrato antes da deposição do ouro ou da prata.

Finalmente, o último problema no processamento da nanoestrutura é a aderência das camadas metálicas do resiste com a das ranhuras. Para solucionar essa questão utilizamos camadas individuais de PMMA espessas (73) ou uma dupla-camada de PMMA. (74) A vantagem da dupla-camada é devido sua composição de filmes com diferentes massas molares (M_w) o que permitia o *spin coating* de filmes com elevada espessura e alta eletro-sensibilização.

A camada inferior do filme era a mais espessa e apresentava uma M_w baixa enquanto a superior era uma camada fina e apresentava uma alta M_w , Figura 27.

Figura 27 - Efeito de superfície de corte em dupla-camada de resiste.

Fonte: Elaborada pelo autor.

4.8 Litografia por feixe de íons

A litografia por feixe de íons (*focused ions beam* - *FIB*) permite fabricar as nanoestruturas diretamente sobre o filme metálico. Um feixe de íons com diâmetro menor que 7 nm colide com a amostra promovendo sua corrosão e gerando a estrutura. Essa técnica é conhecida como *sputtering* e permite um maior controle e qualidade na nanofabricação.

O feixe de íons é produzido no canhão de íon, utilizando-se normalmente o gálio (Ga) por ser um elemento com baixo ponto de fusão e relativamente massivo o que permite uma alta taxa de *sputtering*. (75-76)

O FIB é composto por um emissor de partículas carregadas (canhão de íons), aberturas fixas/variáveis e lentes eletrostáticas que promove os ajustes de foco do feixe, Figura 28 - . Todo esse conjunto permanece sobre vácuo da ordem de 1×10^{-6} Pa. (77)

Figura 28 - Representação de um microscópio FIB

Fonte: REYNTJENS (78)

O feixe de íons é gerado no canhão de íons que possui uma fonte de metal líquido (*liquid metal ion source - LMIS*). A *LMIS* é composta por um reservatório de abastecimento envolvido por uma resistência externa ligada a dois terminais e uma agulha de tungstênio (W).

Na agulha existem pequenas ranhuras que transportam o metal líquido a partir do reservatório para sua extremidade, Figura 29 (a). O metal escorre pelas ranhuras da agulha e umedece sua ponta formando uma fina camada de filme líquido. Essa *LMIS* é submetida a um campo elétrico gerado a partir de uma tensão negativa de cerca de 7 kV. Esse campo elétrico ioniza os átomos e ocorre a emissão de íons carregados positivamente em direção a um eletrodo extrator.

Para colimar os íons em direção ao eletrodo extrator é colocado ao redor da fonte um eletrodo supressor com potencial elétrico positivo de cerca de 2 kV em relação a fonte *LMIS*, Figura 29 (b). Devido ao desequilíbrio entre as forças de coesão do filme de metal

líquido sobre a superfície da ponta de tungstênio e às forças provenientes do campo elétrico no eletrodo extrator forma-se um cone de íons conhecido como cone de Taylor-Gilbert. (79)

Figura 29 - Detalhes esquemáticos (a) da fonte de gálio (b) do canhão de íons

Fonte: Adaptada de WANG (79)

Os íons no feixe são acelerados por uma tensão entre -1 e 30 kV e atravessam um o conjunto de lentes eletrostáticas e aberturas que promovem seu ajuste.

As lentes de abertura fixa promovem o afinamento inicial do feixe, as lentes eletrostáticas³ são responsáveis pela colimação, as objetivas realizam a focalização, as aberturas mecânicas controlam a intensidade do feixe sobre a amostra e as lentes quadrupolos superiores controlam angulação e deslocamento.

Ao atingir as camadas de átomos da amostra, os íons no feixe geram processos de corrosão da amostra e de redeposição de material e íons em sua superfície. A formação de elétrons e íons secundários, também, ocorre durante o processo, Figura 30 (b).

Os elétrons secundários são usados na formação de imagem, entretanto, durante a varredura do feixe para a formação das imagens por espalhamento de elétrons secundários a amostra é destruída. Por este motivo, os sistemas de microscopia apresentam feixe duplo, ou seja, um sistema de feixe de íons e um de feixe de elétrons que é utilizado para aquisição de imagens e também pode ser empregado para processos litográficos, Figura 30 (a). (79)

³ Ao contrário do microscópio eletrônico que emprega lentes eletromagnéticas as lentes do FIB são eletrostáticas devido aos íons metálicos apresentarem massa muito superior à dos elétrons. (79)

Figura 30 - (a) diagrama do sistema de feixe duplo. (b) interação do feixe de íons na amostra: A - átomos da amostra ejetados, B - espalhamento dos íons Ga^+ , C - elétrons secundários, D - íons Ga^+ presos na amostra, E - redeposição dos íons de Ga^+ , F - redeposição dos átomos da amostra

Fonte: Adaptada de WANG (79)

Esses processos de redeposição e espalhamento dependem de aspectos como: o tipo de rede cristalina do material, o ângulo de incidência e a energia do feixe de íons. Essa redeposição de material promove o aparecimento de rugosidades na superfície das amostras que podem danificar as estruturas impressas, Figura 31 - .

Figura 31 - Efeito de redeposição em filme de prata (Ag) gerado pelo feixe de íons de Ga. As fendas apresentam período $p=200$ nm, comprimento $l=10$ μm e abertura de $w=100$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O formato do feixe de íons é gaussiano o que torna incerto o controle de profundidade de corrosão. Os parâmetros de corrosão se mal calibrados podem promover a corrosão parcialmente do filme, Figura 32 (a), ou corroer completamente o filme metálico e a

superfície do substrato. Em substratos semicondutores a corrosão danificaria o semicondutor alterando suas propriedades ópticas na região das estruturas.

Figura 32 - Efeito de corrosão do feixe de íons sobre um filme de Au com espessura de 380 nm. O diâmetro do buraco circular era $d=5\text{ }\mu\text{m}$ (substrato de GaAs). As legendas são: (a) diâmetro $d=5,15\text{ }\mu\text{m}$. (b) diâmetro $d=5,11\text{ }\mu\text{m}$ e espessura de filme $t=384,5\text{ }\mu\text{m}$. (c) Espessura de filme $t=381,7\text{ }\mu\text{m}$

Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse formato gaussiano do feixe, também, pode promover alterações no formato das estruturas. As fendas podem apresentar a borda com um formato em V, Figura 33, e os buracos poderiam apresentar a base com formato esférico.

Figura 33 - Fendas fabricadas em filme de Ag com espessura de 380 nm. As fendas possuem as seguintes dimensões período $p=500$ nm, largura $l=10$ μm e abertura $w=100$ nm. Imagem em ângulo (substrato de GaAs).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Apesar de todas essas peculiaridades da fabricação por FIB, a técnica de litografia por feixe de íons apresenta resolução e controle superiores à litografia por feixe de elétrons sendo a método mais utilizada no processamento de estruturas plasmônicas de metal sobre substratos dielétricos.

Apesar do aparente “estrango” que o feixe de íons ocasiona no substrato, o índice de refração do material varia pouco na região da nanoestrutura o que ocasiona pouca variação nas propriedades da nanoestrutura plasmônica, principalmente na TOE. No capítulo seguinte mostraremos um estudo realizado para determinar a influência da corrosão do feixe de íons nas propriedades ópticas de uma nanoestrutura plasmônica. Porém, caso o substrato venha a ser um material dielétrico cristalino, como um semicondutor, o feixe de íons causa uma amorfização na região de interação, modificando as propriedades eletrônicas do material, que são mais sensíveis. Nesta situação o uso de litografia eletrônica pode ser mais apropriado já que a interação do feixe de elétrons é menos danosa ao substrato.

5 RESULTADOS

Neste capítulo serão apresentados os resultados que foram obtidos a partir do desenvolvimento dos objetivos. Inicialmente serão apresentados os resultados de estudos computacionais de simulações das propriedades de ópticas das estruturas de interesse. Resultados de caracterizações ópticas experimentais serão apresentados e confrontados com os resultados esperados a partir dos modelos. Por fim apresentaremos os resultados da análise e caracterização das estruturas interagindo com soluções de porfirina e com um filme fino de Rodamina diluída em PMMA para avaliar os efeitos de absorção e fluorescência resultantes do contato dessas moléculas com os campos plasmônicos.

5.1 Modelos e simulações computacionais das estruturas plasmônicas

Para interagir com moléculas a estrutura plasmônica deve apresentar uma banda de transmissão na região do espectro de absorção da molécula e uma supressão da transmissão na banda de fluorescência, portanto, conhecer os parâmetros que influenciam diretamente o espectro de transmissão das estruturas plasmônicas é de fundamental importância para nosso estudo.

A transmissão óptica extraordinária (*TOE*) pode ser influenciada por diversos fatores, tais como: o substrato, o metal utilizado, a espessura do filme metálico e a geometria das estruturas. Para verificar a influência desses fatores na *TOE* estudamos estruturas com geometrias de nano-fendas retangulares e nano-buracos circulares em um filme metálico depositado sobre substrato de vidro de borosilicato (Borofloat 33 – Schott), o mesmo utilizado no processamento das estruturas, a partir do método de diferenças finitas no domínio do tempo (*Finite-difference time-domain - FDTD*).

Utilizando o software comercial *FDTD* da Lumerical foram estudadas nanoestruturas interagindo com a radiação eletromagnética na região do visível e infravermelho próximo (400-900 nm). As soluções numéricas para os campos convergem uma parte em 10^5 . A discretização da rede (*meshing*) ao longo dos eixos x , y foi de 10 nm e no eixo z , 15 nm, e no interior das estruturas o *meshing* foi de 5 nm em todos os eixos.

Para a simulação de uma fenda a região computacional empregada foi de 2 μm no eixo x , 3 μm no eixo y e 1,5 μm no eixo z . Todo o espaço computacional apresentava bordas de absorção de radiação conhecidas como *Perfectly Matched Layer (PML)*, que é um artifício para evitar reflexões que venham a alterar os resultados. As dimensões da fenda foram de:

largura $w = 100$ nm no eixo x , comprimento $l = 2$ μm no eixo y e altura equivalente a espessura do filme (t) no eixo z .

Para um buraco circular a região computacional empregada foi de 2 μm no eixo x , 2 μm nos eixos y e 1,5 μm no eixo z . Todo o espaço computacional foi envolvido por uma *PML*. As dimensões do buraco são: diâmetro $d=200$ nm e espessura, também, equivalente a espessura do filme (t), Figura 34.

Figura 34 – Quadro que mostra a região de simulação FDTD no software Lumerical-Planos da região computacional e detalhes da PML.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Foram realizados estudos em conjuntos de fendas cuja região computacional foi de 3 períodos no eixo x , 3 μm nos eixos y e 2 μm no eixo z . Nos planos zx e zy , nos extremos dos períodos, foram utilizadas condições de contorno periódicas e nos planos xy inferior e superior *PML*. As dimensões das fendas utilizadas foram: largura $w=100$ nm no eixo x , comprimento $l=2$ μm no eixo y , altura equivalente à espessura do filme (t) no eixo z e período $p=400$ e 500 nm no eixo x . A Figura 35 apresenta detalhes da estrutura periódica de fendas.

Figura 35 - Diagrama das dimensões do conjunto de fendas: a direita é apresentada o plano xz e a esquerda o plano xy , com p =período da fenda, w = largura da fenda, l =comprimento da fenda e t =espessura do filme.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para as matrizes de buracos a região computacional foi de 3 períodos no eixo x , 1 período no eixo y e $2 \mu\text{m}$ no eixo z . Nos planos zy e zx , nos extremos dos períodos, foram utilizadas condições periódicas de contorno e os planos paralelos ao filme superior e inferior (xy) PML , Figura 36.

Figura 36 – Quadro mostra detalhes da simulação FDTD Lumerical – Planos da região computacional e detalhes da PML e da borda periódica.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os buracos circulares apresentam diâmetro $d=200 \text{ nm}$, altura equivalente a espessura do filme (t) no eixo z e período $p=400$ e 500 nm nos eixos x e y , Figura 37.

Figura 37 - Diagrama das dimensões da matriz de buracos circulares: a direita é apresentada o plano xz e a esquerda o plano xy , com p =período dos buracos, d = diâmetro do buraco e t =espessura do filme.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Utilizamos como fonte de excitação uma onda plana posicionada a 500 nm no plano xy abaixo do filme metálico na região do substrato. Vários “monitores” (regiões onde se podem obter os valores dos campos) foram empregados, porém, os principais coletavam a intensidade do espectro refletido no filme e o espectro transmitido através da estrutura. Esses monitores estavam posicionados paralelos ao plano xy , 100 nm abaixo da fonte de excitação e a 500 nm acima das estruturas, Figura 38.

Figura 38 - Simulação FDTD Lumerical - Planos da região computacional e detalhes dos monitores de transmissão, reflexão e da fonte de onda plana.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A transmissão é a razão entre a componente z do fluxo de energia (vetor de Poynting - P_z) detectado deixando o plano de saída, integrado ao longo da área do monitor de

transmissão (A_T), em relação a componente do z do fluxo de energia da fonte, integrada ao longo da área da fonte (A_F):

$$T = \frac{\int_{A_T} P_z dA_T}{\int_{A_F} P_z dA_F} \quad (16)$$

A normalização da transmissão empregada é a mesma descrita por Weiner (41) na qual o campo normalizado é a razão entre o fluxo de energia (P_z) detectado no monitor de transmissão (A_T) em relação ao fluxo de energia que passa através da área de secção transversal da estrutura (A_E):

$$T_{norm} = \frac{\int_{A_T} P_z dA_T / A_E}{\int_{A_F} P_z dA_F / A_F} = T \frac{A_F}{A_E} \quad (17)$$

5.1.1 Influência da espessura do filme e da geometria na TOE

Inicialmente verificamos a influência da espessura do filme (t) na transmissão para o comprimento de onda (λ) de 632,8 nm (laser HeNe). Para isso, utilizamos uma fenda com largura $w=100$ nm, comprimento de $l=2$ μ m e variamos a espessura do filme (t) de ouro (Au) no intervalo Δt de 100-700 nm. O substrato empregado apresenta propriedades equivalentes ao vidro Borofloat 33 - Schott.

Figura 39 - Simulação FDTD da transmissão de uma fenda em função da variação da espessura do filme de Au para o comprimento de onda $\lambda=632,8$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A variação da espessura do filme de Au resulta no aparecimento de mínimos e máximos na transmissão. Os máximos de transmissão ocorrem em $t=310$ nm e $t=540$ nm para uma fenda única e correspondem a ressonâncias do tipo Fabry-Perot no interior da fenda, a primeira gerada por uma meia-onda, Figura 40 - (a), e a segunda por uma onda completa dos campos elétrico (E) e magnético (H), Figura 40 - (b).

Figura 40 - Simulação FDTD da intensidade dos campos elétrico (E) e magnético (H) ao longo do eixo z na linha central da fenda para a espessura de filme de Au (a) $t=310$ nm e (b) $t=540$ nm. As linhas verticais tracejadas indicam a posição do feixe incidente e saída do plano do filme de Au. O comprimento de onda utilizado é $\lambda=632,8$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Esse padrão de oscilação e ressonância da estrutura dependerá das propriedades ópticas do meio, da largura da fenda (w) e espessura do filme (t), Figura 41.

Segundo Ferri (43), o campo espalhado ($E_{\text{espalhado}}$) pode ser definido a partir desses parâmetros por:

$$E_{\text{espalhado}} \approx \frac{E_{\text{incidente}} w}{\pi t} \cos\left(k_{\text{SPP}} \cdot t + \frac{\pi}{2}\right) \quad (18)$$

O k_{SPP} é número de onda que se relaciona com a parte real da constante de propagação k_{SP} .

Figura 41 - Simulação FDTD da transmissão através de uma nano-fenda em filme de Au na região VIS-NIR. As dimensões da fenda eram largura $w=100$ e 150 nm, comprimento $l=2$ μm e espessura do filme $t=100, 200$ e 300 nm

Fonte: Elaborada pelo autor.

Nos conjuntos de fendas, além desses parâmetros o período (separação entre as fendas) contribuirá no aparecimento de bandas de plásmons de superfície, Figura 42 (a-b).

Figura 42 - Simulação FDTD da transmissão através de nanoestruturas em filme de Au na região VIS-NIR. (a) conjuntos de fendas com largura $w=100$ nm, período $p=400$ nm, comprimento $l=2$ μm e espessura de filme $t=100, 150$ e 200 nm e (b) comparação entre os espectros de transmissão de uma fenda e conjuntos de fendas com largura $w=100$ nm, período $p=400$ e 500 nm, comprimento $l=2$ μm e espessura de filme $t=200$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os picos de transmissão (λ_{SPP}) associados as ressonâncias dos modos *SPP* são dados por (81):

$$\lambda_{SPP}(i) = \frac{p}{i} Re \left[\sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right] \quad (19)$$

com p sendo o período das fendas, ϵ_m e ϵ_d são as constantes dielétricas do metal e do dielétrico e i um número inteiro que representa a ordem do espalhamento no conjunto.

Enquanto o aumento da espessura do filme melhora a transmissão na região NIR das fendas, para a matriz de buracos circulares o efeito do incremento promove uma redução da TOE.

Desse modo, utilizando o FDTD verificamos a influência do período e da espessura do filme na transmissão de matrizes de buracos circulares na região VIS-NIR para as espessuras do filme de Au $t=100, 150$ e 200 nm e buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm e períodos $p=400$ e 500 nm.

Figura 43 - Simulação FDTD da transmissão através de nanoestruturas em filme de Au na região VIS-NIR. (a) Matrizes de buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm, período $p=400$ nm e espessura de filme $t=100, 150$ e 200 nm. (b) Matrizes de buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm, período $p=400$ e 500 nm e espessura de filme $t=100$ nm e um buraco circular com diâmetro $d=200$ nm e espessura de filme $t=100$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O aumento da espessura do filme (t) promove um pequeno deslocamento dos picos de ressonância ($\Delta\lambda \approx 10$ nm) e uma redução na transmissão, Figura 43 (a).

Os buracos são similares a cavidades ópticas de Fabry-Perot onde há o acoplamento entre as ondas de superfície em sua extremidade superior e inferior. Quando as reflexões entre as extremidades encontram-se em fase, o campo é aumentado dentro da estrutura e há, também, o aumento da transmissão.

O incremento da espessura do filme modifica o acoplamento entre os plásmos e a fase da reflexão reduzindo a transmissão devido ao decaimento exponencial do modo de guia de onda. (82)

Segundo Ebbesen (11), as ressonâncias na transmissão são determinadas pela periodicidade da matriz, Figura 43 (b). Os máximos de transmissão no espectro são caracterizados por *SPRs* que estão relacionados com a ordem da matriz de espalhamento e o comprimento de onda destas ressonâncias, em uma primeira aproximação, é dado por (81):

$$\lambda_{SPR}(i, j) = \frac{p}{\sqrt{i^2 + j^2}} Re \left[\sqrt{\frac{\epsilon_m \epsilon_d}{\epsilon_m + \epsilon_d}} \right] \quad (20)$$

com p sendo o período entre os buracos, ϵ_m e ϵ_d são as constantes dielétricas do metal e do dielétrico e i e j são números inteiros que representam a ordem do espalhamento na matriz.

Pelos resultados obtidos observamos que estruturas com geometria retangular geram bandas de TOE na região mais próxima do NIR, já a geometria circular as bandas estão na região visível do espectro que é onde a maioria das moléculas de interesse biológico apresentam atividade óptica. A geometria circular apresenta uma vantagem sobre a retangular porque a transmissão resultante da incidência perpendicular à superfície independe da polarização do campo que ilumina a estrutura.

5.2 Propriedades ópticas de estruturas processadas através de litografia por feixe de íons.

As estruturas plasmônicas utilizadas neste trabalho foram todas fabricadas pela técnica de litografia por feixe de íons com o equipamento FIB FEI Quanta 3D-200i (*dual beam*) como descrito no capítulo 4. Foram processadas a partir de filmes finos de Au depositados sobre substratos de vidro de borossilicato (Borofloat® 33 - Schott).

A espessura dos filmes depositados foi determinada com o uso do perfilômetro de contato DekTak XT - Brunker e apresentavam espessura média que variam de $t_1=100\pm10$ nm a $t_2=180\pm10$ nm.

Os conjuntos de estruturas fabricadas têm as seguintes propriedades geométricas:

1 - Conjuntos de fendas: Estruturas processadas em regiões de 10×10 μm , com as seguintes dimensões: largura da fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm , período variando entre $p=200$ e 900 nm e espessura (t) equivalente a do filme de Au.

2 - Matrizes de buracos circulares: as matrizes foram processadas em regiões de $10 \times 10 \mu\text{m}$, com as seguintes dimensões: diâmetro $d=200 \text{ nm}$, período variando entre $p=400$ e 800 nm e espessura (t) equivalente a do filme de Au.

As medidas de transmissão óptica extraordinária nas estruturas foram realizadas adaptando-se um microscópio óptico Olympus - mod. BH2-UMA acoplado a um sistema de espectroscopia, Ocean Optics USB2000+, através de uma fibra óptica, Figura 44.

A fonte de luz branca, incoerente, utilizada para a geração dos plásmons foi uma lâmpada halógena com potência de 50 Watts.

O feixe de luz atravessa inicialmente um polarizador linear e com um espelho óptico é desviado em direção ao estágio do microscópio, atingindo perpendicularmente a base do substrato.

A luz transmitida através dos conjuntos de estruturas é coletada por uma lente objetiva de 20x (de abertura numérica 0.4) focalizada na superfície da amostra e através do sistema óptico do microscópio é enviada ao espectrômetro por uma fibra óptica. A intensidade transmitida foi analisada com o software OOIBase32 Version 2.0.2.2.

Figura 44 - Diagrama do equipamento de medidas do espectro de transmissão das nanoestruturas. A fonte de luz era uma lâmpada halógena com potência de 50 Watts. O feixe de luz era projetado perpendicularmente a superfície da amostra no substrato e com a objetiva de 20x a transmissão da estrutura era coletada e enviada ao espectrômetro pela fibra óptica.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros de transmissão foram normalizados subtraindo-se a transmissão através da estrutura (T_E) da transmissão de fundo do filme (T_{Au}) e dividindo-os pela intensidade da fonte (I_F):

$$T_{norm} = \frac{T_E - T_{Au}}{I_F} * 100\% \quad (21)$$

O espectro de transmissão da lâmpada é o indicado na Figura 45. O intervalo de emissão é na região VIS-NIR apresentando maior intensidade no intervalo 475 a 750 nm. As franjas de máximos e mínimos do espectro são resultado de interferências internas no sistema óptico.

Figura 45 - Espectro de transmissão da lâmpada halógena com potência de 50 Watts.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2.1 Espectro de TOE de nanoestruturas fabricadas por litografia por feixe de íons

Na seção 5.1 apresentamos a influência da geometria e das dimensões das estruturas plasmônicas na TOE. Para verificar as previsões das simulações computacionais fabricamos estruturas plasmônicas exatamente com as mesmas geometrias e cuja TOE foi obtida com o arranjo da Figura 44. Inicialmente apresentamos o espectro de TOE de um conjunto de 25 fendas fabricadas sobre um filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura da fenda $w=100$ nm e período de $p=400$ nm em vidro (Borofloat® 33 - Schott) e seu espectro simulado na Figura 46.

Figura 46 - Comparação do espectro de transmissão normalizado - divisão pela intensidade máxima - para o modo de polarização TM em um conjunto de 25 fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura da fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33- Schott) e sua respectiva simulação ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $l=2$ μm e $p=400$ nm).

O espectro de TOE apresenta máximos em $\lambda_{\text{max}1}=575$ e $\lambda_{\text{max}2}=775$ nm e um mínimo em $\lambda_{\text{min}1}=650$ nm. A simulação apresenta um máximo em $\lambda_{\text{max}1}=588$ nm e um crescimento contínuo do espectro na região do NIR e um mínimo em $\lambda_{\text{min}1}=636$ nm.

Os espectros são similares, entretanto, há um pequeno desvio na região do visível ($\Delta\lambda_{\text{max}} = 13$ nm e $\Delta\lambda_{\text{min}} = 14$ nm) e uma incongruência na região NIR.

Esse efeito no espectro experimental no NIR, possivelmente, é gerado pela queda na eficiência quântica do espectrômetro em conjunto com a queda na intensidade da fonte. O sistema óptico do microscópio não é eficiente acima de 800 nm.

Outra estrutura analisada foi a de uma matriz de 25x25 buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm e período $p=400$ nm fabricados em um filme de Au com espessura $t=100$ nm em substrato de vidro (Borofloat® 33 - Schott). O espectro dessa matriz e sua simulação são apresentados na Figura 47.

Figura 47 - Comparação do espectro de transmissão normalizado - divisão pela intensidade máxima - em uma matriz 25x25 de buracos circulares fabricados por FIB em filme de Au com espessura $t=100$ nm, diâmetro do buraco $d=200$ nm, período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33- Schott) e sua respectiva simulação ($t=100$ nm, $d=200$ nm e $p=400$ nm).

Fonte: Elaborada pelo autor.

A medida experimental de TOE apresenta máximos em $\lambda_{\max1}= 575$ e $\lambda_{\max2}= 710$ nm e um mínimo em $\lambda_{\min}= 647$ nm e o FDTD apresenta ressonância em $\lambda_{\max1}= 575$ nm e $\lambda_{\max2}= 690$ nm e um mínimo em $\lambda_{\min}= 630$ nm. Novamente os espectros apresentam similaridades com pequenos desvios de $\Delta\lambda_{\max} = 20$ nm e $\Delta\lambda_{\min} = 17$ nm.

Essa divergência, entre os espectros nas fendas e nas matrizes, pode ter origem em problemas decorrentes da fabricação das estruturas. As imperfeições nas estruturas devido a corrosão do metal pelo feixe gaussiano do FIB, principalmente, nas bordas resultam no aparecimento do formato em "V" das fendas e buracos. Segundo investigações de Silva (39), as simulações em "V" não apresentaram contribuições significativas para explicar o desvio. Ele atribui esse fenômeno ao deslocamento e mudanças nas configurações das cargas e correntes devido ao acúmulo de íons de gálio (Ga^+) no interior da fenda e/ou a processos de redeposição do metal na região da estrutura durante os processos de corrosão, Figura 48.

Figura 48 - Efeito de redeposição de material em conjuntos de fendas, a esquerda temos um conjunto de 50 fendas com largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e período $p=200$ nm em filme de Au e a direita temos um conjunto de 34 fendas com largura de $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μ m e período $p=300$ nm em filme de Ag.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para períodos abaixo de 300 nm o efeito de redeposição é bem pronunciado como se pode observar nas estruturas da Figura 48. Para períodos acima de 400nm este efeito se torna pouco visível na superfície do filme, porém pode ainda haver depósitos no interior das nanofendas.

Como último fator a ser considerado temos a incoerência da fonte de luz. Nas simulações utilizamos fontes coerentes monocromáticas, enquanto que a fonte utilizada nas medidas experimentais foi uma fonte incoerente. As fontes de luz incoerentes limitam sua interferência ao plano focal e sua fase é alterada aleatoriamente o que promove uma interferência instável nas estruturas. (83-84)

Apesar dos desvios entre os espectros experimental e simulado, ambos os modelos simulados apresentam alta compatibilidade com as estruturas fabricadas, podendo ser empregados em estudos antes dos processos de fabricação, principalmente para se determinar as bandas de transmissão.

5.2.2 Efeitos da corrosão por feixe de íons em nanoestruturas metálicas

Cada material apresenta uma taxa de corrosão específica devido à interação com o feixe de íons, tornando-se necessário uma calibração precisa dos parâmetros do equipamento para que o processo de nanofabricação seja o mais fiel possível a geometria real da estrutura.

A calibração do feixe permite a corrosão completa da região danificando o mínimo possível o substrato. A corrosão parcial da estrutura altera suas propriedades e diminui a TOE.

Na Figura 49, apresentamos o efeito da corrosão no espectro TOE para matrizes 25x25 de buracos circulares em um filme de Au com espessura $t=100$ nm, diâmetro do buraco $d=200$ nm, período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33- Schott). Nessas matrizes o parâmetro de corrosão (equivalente à profundidade de corrosão do feixe (z_{cor})) variou entre $z_{cor}=200$ a 500 nm. Este parâmetro do equipamento FIB é a calibração de fábrica disponível para o Au.

Observou-se que a taxa não corresponde ao medido e que é necessário ajusta-la para cada geometria.

Figura 49 - Espectro de transmissão para um conjunto de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro do buraco $d=200$ nm, período $p=400$ nm em vidro Borofloat 33- Schott para várias profundidades de corrosão.

O aumento da profundidade de corrosão (z_{cor}) promove o incremento da intensidade e o alargamento da banda de transmissão. Para as profundidades de corrosões entre $z_{cor}=400$ e 500 nm o espectro de transmissão não apresenta alterações na intensidade e largura da banda, portanto, a partir de $z_{cor}=400$ nm a região das estruturas apresenta-se limpa e ocorre a saturação da transmissão. Isto não significa que corrosão possa incrementada ainda mais porque acima desta a dose de íons alterará consideravelmente o diâmetro dos buracos. O mesmo efeito pode ser observado nos espectros da Figura 50, para conjuntos de fendas.

O conjunto de fendas foi fabricado em filme de Au com espessura $t=110$ nm, largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e período $p=400$ nm em vidro (Borofloat 33 - Schott). A profundidade de corrosão do feixe variou entre $z_{cor}=50$ e 200 nm.

Figura 50 – Espectro de transmissão para o modo de polarização TM em um conjunto de fendas fabricadas via FIB em filme de Au com espessura de $t=110$ nm, largura de fenda $w=100$ nm, período $p=400$ nm e comprimento $l=10$ μm em vidro Borofloat 33- Schott para várias profundidades de corrosão.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Novamente, o aumento da profundidade de corrosão promove o incremento da intensidade e o alargamento das bandas de transmissão. Para as profundidades de corrosão entre $z_{cor}=150$ e 200 nm o espectro de transmissão apresenta-se saturado, portanto, a partir da espessura $z_{cor}=150$ nm ocorreu a remoção total do metal na região e a partir deste valor o feixe inicia a corrosão do substrato de vidro.

É importante notar que a determinação do valor de corrosão ótimo depende da geometria da estrutura. Isto deve ser consequência da forma de varredura do feixe sobre o filme que é determinado pelo próprio software do microscópio.

Outro fator que influencia a corrosão é o formato gaussiano do feixe que promove uma corrosão lateral em formato de V. A Figura 51 apresenta uma simulação do efeito do feixe nas bordas de um filme de Au devido ao aumento da dose. Essa alteração das bordas da estrutura pode modificar o espectro de transmissão da radiação (84) caso a dose aplicada seja muito maior que a necessária.

Figura 51 - Simulação computacional representando os perfis de corrosão por FIB com o aumento da dose em filme de Au-Ti.

Fonte: Adaptada de NAGASE (84)

Além de promover o alargamento lateral da estrutura o aumento da dose em conjuntos de estruturas com períodos curtos modifica a superfície do metal promovendo uma intensa deformação da geometria da estrutura, Figura 52. Vide também a Figura 33 do capítulo anterior.

Figura 52 - Deformação na superfície do filme promovida pelo processo de corrosão por FIB. Quanto menor o período maior será a deformação na superfície do filme. A imagem da esquerda apresenta um período curto que altera drasticamente a superfície do filme enquanto que períodos maiores apresentam pouca deformação da superfície do filme.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Junto aos problemas de corrosão parcial e da deformação das bordas, podem ocorrer processos de redeposição no interior da fenda. Na Figura 53 - apresentamos uma fenda fabricada em Au com largura $w=100$ nm e comprimento $l=10$ μm .

As imagens da Figura 53 - mostram a fenda sendo iluminada por um feixe laser $\lambda=660$ nm nos modos transversal elétrico (TE) e transversal magnético (TM). Para a polarização TM, Figura 53 - (a e c), não é possível observar o defeito de fabricação na fenda devido ao intenso campo emitido na TOE, entretanto, na polarização TE em campo escuro, Figura 53 - (d), é possível observar falhas de transmissão na região central da fenda devido a problemas de redeposição ou uma falha durante a corrosão do metal. Mesmo no modo TE, devido ao comprimento finito da fenda, uma pequena quantidade de luz pode ser observada.

Figura 53 - Imagens de fenda única fabricadas por FIB em filme de Au, largura de fenda $w=100$ nm e comprimento $l=10$ μm . (a) imagem da fenda no campo claro submetida a um laser de $\lambda=660$ nm. (b) imagem da fenda no campo claro sem o laser. (c) imagem da fenda em campo escuro iluminada pelo laser $\lambda=660$ nm na polarização TM e (d) a imagem da fenda em campo escuro iluminada pelo laser $\lambda=660$ nm na polarização TE.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.2.3 Transmissão óptica extraordinária e a periodicidade das estruturas

As Figuras 54 e 55 apresentam a transmissão, nos modos transversais elétrico (TE) e magnético (TM), para conjuntos de fendas em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura da fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e períodos $p=500, 700$ e 900 nm sobre vidro (Borofloat 33- Schott).

Figura 54 - Espectros de transmissão do modo transversal elétrico (TE) para conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e períodos $p=500, 700$ e 900 nm

Fonte: Elaborada pelo autor.

Figura 55 - Espectros de transmissão do modo transversal magnético (TM) para conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e períodos $p=500$, 700 e 900 nm

Fonte: Elaborada pelo autor.

A transmissão mais intensa ocorre para o conjunto de fendas com período $p=500$ nm. Para os conjuntos de $p=700$ e 900 nm a transmissão no modo TM alcança 0,5% na região do espectro analisada.

Essa diferença de intensidade na transmissão deve-se ao deslocamento para o IR dos picos de transmissão máxima e, também, devido a redução da área efetiva de transmissão.

As fendas foram corroídas em uma região de 10×10 μm e ao aumentarmos o período do conjunto diminuímos o número de elementos, de modo, que para $p=500$ nm existem $N=20$ fendas, para $p=700$ nm existem $N=15$ nm e para $p=900$ nm existem $N=11$, Figura 56.

Figura 56 - Conjuntos de fendas fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, largura de fenda $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm e períodos (a) $p=500$ nm / $N=20$ fendas, (b) $p=700$ nm/ $N=15$ fendas e (c) $p=900$ nm/ $N=11$ fendas em vidro (Borofloat 33- Schott).

Fonte: Elaborada pelo autor.

Avaliamos, também, a influência do número de buracos circulares na transmissão. Os espectros de transmissão no modo transversal magnético (TM) para matrizes de buracos

circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e períodos $p=400$, 600 e 800 nm em vidro (Borofloat 33- Schott) são apresentados na Figura 57 - .

Figura 57 - Espectros de transmissão no modo transversal magnético (TM) para matrizes de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e períodos $p=400$, 600 e 800 nm em vidro (Borofloat 33- Schott)

Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Figura 57 - a influência da redução dos buracos é mais intensa em relação às fendas. Os buracos, também, foram corroídos em uma região de $10 \times 10 \mu\text{m}$ e ao aumentarmos o período entre os elementos da matriz diminuíamos o número de elementos, de modo, que para $p=400$ nm existem $M=25 \times 25$ buracos, para $p=600$ nm existem $M=17 \times 17$ e para $p=800$ nm existem $M=13 \times 13$.

Figura 58 - Matrizes de buracos circulares fabricadas por FIB em filme de Au com espessura de $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e períodos (a) $p=400$ nm/ $M=25 \times 25$ buracos, (b) $p=600$ nm/ $M=17 \times 17$ buracos e (c) $p=800$ nm/ $M=13 \times 13$ buracos em vidro (Borofloat 33- Schott).

Fonte: Elaborada pelo autor.

A redução na área total das nanoestruturas é um fator muito importante quando se deseja desenhar uma estrutura para detecção óptica. Claro que a sensibilidade do sistema de detecção deve ser levada em consideração. As Tabelas 2 e 3 trazem a área efetiva de transmissão da nanoestrutura em função das propriedades geométricas. Todas as estruturas são processadas em uma área efetiva de $10 \times 10 \mu\text{m}^2$. A área de transmissão de uma fenda é de $1 \mu\text{m}^2$, portanto, a área total de transmissão dos conjuntos de fendas está representada na Tabela 2.

Tabela 2 - Área total de transmissão dos conjuntos de fendas com períodos $p=500, 700$ e 900 nm.

Período [nm]	Número de fendas [N]	Área efetiva de transmissão [μm^2]
500	20	20
700	15	15
900	11	11

Fonte: Elaborada pelo autor.

Para um buraco a área de transmissão é de $0,03 \mu\text{m}^2$, e a área total de transmissão das matrizes de buracos circulares estão representadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Área total de transmissão das matrizes de buracos circulares com períodos $p=400, 600$ e 800 nm.

Período [nm]	Número de buracos [M]	Área efetiva de transmissão [μm^2]
400	$25 \times 25 = 625$	18,75
600	$17 \times 17 = 289$	8,67
800	$13 \times 13 = 169$	5,07

Fonte: Elaborado pelo autor.

O aumento do período em ambas as estruturas faz com que haja um deslocamento das bandas de transmissão máxima para a região do infravermelho (acima de 900 nm) e uma diminuição efetiva na transmissão total. Uma solução para que haja um aumento na transmissão na região de interesse (por exemplo, na região visível) é o aumento da área total de escrita da estrutura. No caso de um conjunto de buracos com período de 400 nm numa área de $50 \times 50 \mu\text{m}$ resultaria num conjunto de 125×125 buracos e o tempo de processamento aumentaria num fator aproximadamente 50 vezes. Já para períodos maiores o tempo de processamento seria menor tornando-se uma solução viável.

5.3 Interação de plásmons com moléculas

A interação dos campos plasmônicos com moléculas orgânicas e inorgânicas está sendo amplamente pesquisada. (43-45) A alta sensibilidade da SPR permite investigar baixas concentrações de soluto em mínimas quantidades de solvente (abaixo μl). A interação de moléculas opticamente ativas com os campos SPRs permite o desenvolvimento de estudos de absorção e fluorescência com aplicações importantes em biossensoriamento. (46-49)

Neste item do capítulo apresentamos os resultados que foram obtidos dos estudos realizados nas estruturas caracterizadas nos itens anteriores. Estudamos basicamente os efeitos de absorção da Porfirina e os efeitos de *quenching* e *MEF* na fluorescência da Rodamina 6G. Não desenvolvemos propriamente um dispositivo, porém os resultados poderão ser utilizados no futuro para o desenvolvimento de biossensores ópticos baseados em estruturas plasmônicas.

5.3.1 Absorção da Porfirina

Utilizando conjuntos de fendas e matrizes de buracos plasmônicos observamos os efeitos de absorção da molécula Porfirina-Photogem® na transmissão óptica (VIS-NIR).

Soluções de porfirina foram preparadas em água destilada nas concentrações $C=500$, 250, 100 e 50 $\mu\text{g/ml}$. O topo do filme metálico foi recoberto com um volume de $V=20 \mu\text{l}$. O espectro de TOE das estruturas com o material foi coletado utilizando o sistema óptico apresentado na seção 5.2.

Inicialmente, a solução de porfirina foi utilizada diretamente sobre as estruturas, Figura 59 (a), entretanto, processos de oxidação poderiam ocorrer no metal. Para evitar esses processos depositamos um filme com espessura de $t=80 \text{ nm}$ de PMMA 996K sobre as estruturas, Figura 59 (b).

Figura 59 - Diagrama da preparação das amostras para medir a absorção da Porfirina- Photogem® .

Fonte: Elaborada pelo autor.

Os espectros de TOE da solução de porfirina na concentração de $C=500 \mu\text{g/ml}$ e da água destilada sobre um conjunto de 20 fendas em filme de Au com espessura de $t=100 \text{ nm}$, largura da fenda $w=100 \text{ nm}$, comprimento $l=10 \mu\text{m}$ e período $p=500 \text{ nm}$ em vidro (Borofloat 33- Schott) são apresentados na Figura 60.

Figura 60 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para a solução de porfirina na concentração de $C=500 \mu\text{g/ml}$ e para a água destilada sobre um conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100 \text{ nm}$, $w=100 \text{ nm}$, $p=500 \text{ nm}$ e $l=10 \mu\text{m}$). O volume dos analitos foi de $V=20 \mu\text{l}$.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A camada de água altera as propriedades de ressonância dos plásmons. O máximo de ressonância antes em $\lambda_{\text{max}}(\text{Ar})=770 \text{ nm}$ é deslocado para $\lambda_{\text{max}}(\text{Água})=570 \text{ nm}$ com a adição do solvente. A solução de porfirina não altera a posição de ressonância dos plásmons apresentada na água $\lambda_{\text{max}}(\text{Água})$, porém, ocorre a diminuição na intensidade e na largura de banda da transmissão. Esse efeito é devido a absorção da molécula de porfirina na região $\Delta\lambda_{\text{Abs}}=480\text{-}690 \text{ nm}$, como mostrado na Figura 11 - .

O efeito de absorção da solução é observado de forma mais nítida no espectro da Figura 61, na qual a escala de transmissão não foi normalizada com a lâmpada.

Figura 61 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para a solução de porfirina na concentração de $C=500$ $\mu\text{g/ml}$ e água destilada sobre um conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μm). O volume dos analitos foi de $V=20$ μl .

Fonte: Elaborada pelo autor.

Neste espectro é possível observar a absorção da molécula na região. Fora do intervalo de absorção, $\Delta\lambda_{\text{Abs}}=310\text{-}690$ nm, o espectro da solução e da água apresentam o mesmo comportamento e intensidade. Um dos problemas observados no contato direto entre a solução e o filme metálico foi o surgimento de “partículas contaminantes” na região das nano-fendas muito provavelmente devido a oxidação ou mesmo deposição de soluto não dissolvido.

Uma fina camada com espessura de $t=80$ nm de PMMA 996K foi depositado sobre as estruturas para evitar uma possível oxidação do metal. Os espectros de transmissão das soluções apresentados na Figura 62 foram medidos depositando-se a gota de 20 μl sobre o PMMA na estrutura.

Figura 62 - Espectros de transmissão, na polarização TM, para soluções de porfirina nas concentrações $C=500$, 250, 100 e 50 $\mu\text{g/ml}$ e para a água destilada sobre uma camada de $t=80$ nm de PMMA 996K. O filme polimérico estava sobre o conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ μm). O volume dos analitos foi de $V=20$ μl .

Fonte: Elaborada pelo autor.

O filme de PMMA incrementa a ressonância na região visível em torno de $\lambda_{\text{max}}=575$ e diminui no NIR, entretanto, há a redução da intensidade de transmissão em todo o espectro.

A água promove um alargamento da banda de transmissão na região VIS-NIR e o pequeno deslocamento da ressonância de $\lambda_{\text{max}}=575$ para próximo de $\lambda_{\text{max}}=600$ nm.

Os espectros das soluções de porfirina e da água são similares, porém, ocorre um deslocamento do espectro das soluções em direção a região do NIR. Esse deslocamento poderia ser atribuído à mudança de índice de refração na superfície do PMMA que afetaria os campos plasmônicos.

Para confirmar essa possibilidade analisamos o índice de refração das soluções de porfirina no refratômetro Atago RX-5000 α na Linha D - 589 nm. Os resultados são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Índice de refração das soluções de porfirina e água destilada. As medidas foram realizadas com o refratômetro Atago RX-5000 α na linha D - 589 nm.

Solução	Índice de Refração (n)
Água destilada	1,33299
Porfirina 50 $\mu\text{g/ml}$	1,33303
Porfirina 100 $\mu\text{g/ml}$	1,33306
Porfirina 250 $\mu\text{g/ml}$	1,33316
Porfirina 500 $\mu\text{g/ml}$	1,33320

Elaborada pelo autor.

A variação no índice de refração é muito pequena para justificar os desvios apresentados nos espectros, portanto, esse efeito é devido à absorção, no intervalo $\Delta\lambda_{\text{Abs}}=450\text{-}690\text{ nm}$, e a fluorescência da molécula.

A absorção da porfirina é apresentada na Figura 63 - .

Figura 63 - Espectros de absorção das soluções de porfirina sobre o filme de PMMA no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100\text{ nm}$, $w=100\text{ nm}$, $p=500\text{ nm}$ e $l=10\text{ }\mu\text{m}$).

Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro das soluções $C=500\text{ }\mu\text{g/ml}$ e $C=250\text{ }\mu\text{g/ml}$ apresentam bandas de absorção nos comprimentos de onda $\lambda=507, 540$ e 575 nm como o espectro de absorção presente na Figura 11 - .

Analizamos, também, o efeito de absorção da porfirina em uma matriz 25×25 de buracos circulares em filme de Au ($t=110\text{ nm}$, $d=200\text{ nm}$ e $p=400\text{ nm}$). Sobre a matriz foi depositado uma fina camada ($t=80\text{ nm}$) de PMMA 996k. Os espectros de transmissão das soluções de porfirina são apresentados na Figura 64.

Figura 64 - Espectros de transmissão para as soluções de porfirina nas concentrações $C=500, 250, 100$ e $50 \mu\text{g/ml}$ e para a água destilada sobre uma camada de $t=80 \text{ nm}$ de PMMA 996K. O filme polimérico estava sobre a matriz 25×25 de buracos circulares em filme de Au ($t=100 \text{ nm}$, $d=200 \text{ nm}$, $p=400$). O volume dos analitos foi de $V=20 \mu\text{l}$.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Novamente, os espectros de transmissão apresentam uma redução gradual na intensidade com o aumento da concentração da porfirina para o intervalo $\Delta\lambda_{\text{Abs}}=450\text{-}680 \text{ nm}$.

A partir de 650 nm o efeito da fluorescência da molécula incrementa a transmissão.

A absorção da porfirina é apresentada na Figura 65.

Figura 65 - Espectros de absorção das soluções de porfirina sobre o filme de PMMA na matriz de buracos em filme de Au ($t=100 \text{ nm}$, $d=200 \text{ nm}$ e $p=400 \text{ nm}$).

Fonte: Elaborada pelo autor.

As franjas de absorção da porfirina não estão bem definidas. Os máximos de absorção estão em $\lambda=490, 530$ e 620 nm .

Utilizando a lei de Beer-Lambert calculamos a absorbância (A) da porfirina para os comprimentos de onda $\lambda=488$ e 532 nm em função da concentração das soluções. Os comprimentos de onda $\lambda=488$ e 532 nm foram escolhidos por serem próximos dos máximos de absorção $\lambda_{Abs}=507$ e 540 nm da molécula. A absorbância da porfirina em relação a sua concentração molar é apresentada na Figura 66.

Figura 66 - Absorbância da porfirina em função da concentração da solução para o comprimento de onda $\lambda=488$ e 532 nm.

Tabela 5 - Ajuste linear da função absorbância no OriginPro 8 SR5 - OriginLab.				
Equation	$A(C) = a + \epsilon l * C$			
Weight	No weighting			
Residual Sum of Square	7,165E-4	2,77E-4	0,003	6,018E-4
Adj. R-Square	0,880	0,970	0,841	0,967
Estrutura	λ [nm]		Value	Standard Error
Conj. fendas	488	a	0,104	0,015
		ϵl	145,183	30,226
	532	a	0,08	0,009
		ϵl	186,677	18,807
Matriz buracos	488	a	0,203	0,031
		ϵl	253,406	61,701
	532	a	0,131	0,014
		ϵl	262,127	27,701

Fonte: Elaborada pelo autor.

A tabela 5 permite-nos encontrar o valor da absorptividade $\varepsilon(\lambda)$ da porfirina para os comprimentos de onda analisados a partir do produto εl .

A espessura de solução foi estimada em $L = 0,1 \text{ cm}$, portanto, temos as seguintes absorptividades para a molécula de porfirina.

Tabela 6 - Absortividade $\varepsilon(\lambda)$ da molécula de porfirina para os comprimentos de onda $\lambda = 488$ e 532 nm .

Estrutura	$\lambda[\text{nm}]$	$\varepsilon(\lambda)[\text{l.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}]$
Conj. fendas	488	$1,452 \times 10^3$
	532	$1,867 \times 10^3$
Matriz buracos	488	$2,534 \times 10^3$
	532	$2,621 \times 10^3$

Fonte: Elaborada pelo autor.

Segundo Conde (85), o coeficiente de absorptividade varia entre 10^3 e 10^6 para sensores de absorbância de corantes e complexos orgânicos.

A matriz de buracos circulares apresenta melhor sensibilidade nos comprimentos de onda analisados em relação ao conjunto de fendas. A sensibilidade de detecção diminui para concentrações inferiores a $C=100 \text{ }\mu\text{g/ml}$ ou $C=1,77 \times 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$.

Em termos de moléculas, considerando a solução de concentração $C=500 \text{ }\mu\text{g/ml}$ de porfirina ($\text{C}_{34}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_4$). A massa molar da molécula é $562,66 \text{ g/mol}$, portanto, na solução temos uma concentração de $C=8,886 \times 10^{-4} \text{ mol.l}^{-1}$ ou $C=5,352 \times 10^{17}$ moléculas por cm^3 .

O volume de solução depositado sobre a estrutura é $20 \text{ }\mu\text{l}$ resultando em $0,107 \times 10^{17}$ moléculas. A área dos conjuntos e matrizes era de $100 \text{ }\mu\text{m}^2$ e a lâmina de solução apresentava uma espessura de $L=0,1 \text{ cm}$, portanto, na região da estrutura temos o volume de $1 \times 10^{-7} \text{ cm}^3$.

Se ocorrer há uniformidade na distribuição das moléculas de porfirina o número de moléculas que interagem com a radiação proveniente da estrutura é de $53,52 \times 10^9$ moléculas, ou seja, mais de 50 bilhões de moléculas. Para a solução de porfirina com concentração de $100 \text{ }\mu\text{g/ml}$ seria próximo de 100 milhões de moléculas de porfirina interagindo, portanto, o limite de detecção nas estruturas seria próximo de $0,02 \text{ }\mu\text{mol.l}^{-1}$.

5.3.2 Fluorescência da Rodamina 6G

Como foi descrito no capítulo 2 a ressonância dos plásmons de superfície em estruturas produz campos eletromagnético evanescentes intensos associados às estruturas plasmônicas.

Os campos *SPPs* podem modificar as propriedades de fluorescência de moléculas e aumentar a excitação e a eficiência quântica de um fluoróforo melhorando o desempenho da emissão da fluorescência. (60,86-87)

Estruturas como nano-esferas metálicas são capazes de amplificar a fluorescência de moléculas em algumas ordens de grandeza devido ao fenômeno denominado *Metal-Enhanced Fluorescence – MEF*. (60)

O *MEF* é devido ao acoplamento não radiativo do estado excitado das espécies fluorescentes com os plásmons de superfície promovendo o reforço da absorção de luz nos fluoróforos que é gerado pelo intenso campo plasmônico ao redor das nanopartículas, Figura 67 - .

Figura 67 - Representação dos processos envolvidos no *MEF* em moléculas devido a interação com plásmons de superfície.

Fonte: Adaptada de GEDDES (87)

Para avaliar o efeito da interação de moléculas com nanoestruturas através da fluorescência usamos as moléculas de Rodamina 6G. As estruturas plasmônicas foram preparadas com uma solução do corante na concentração de 0,373 mg/cm³ diluída em PMMA 996K (2%) da Sigma-Aldrich em Anisol. Desta forma foi possível depositar um filme muito fino sobre a estrutura onde as moléculas do corante ficaram homogeneamente dispersas. Um filme fino de espessura $t=80$ nm da solução foi depositado usando o spinner (capítulo 4) sobre as estruturas plasmônicas, Figura 68 - .

Figura 68 - Diagrama da preparação da amostra para medir a fluorescência da Rodamina 6G em nano-estruturas plasmônicas.

Fonte: Fonte: Elaborada pelo autor.

As estruturas analisadas foram o conjunto de 20 fendas com largura $w=100$ nm, comprimento $l=10$ μm , período $p=500$ nm e a matriz 25×25 de buracos circulares com diâmetro $d=200$ nm, período $p=400$ nm sobre um filme de Au com espessura de $t=100$ nm depositado sobre um substrato de vidro (Borofloat 33 - Schott).

Para excitar e coletar as imagens de fluorescência da Rodamina 6G no filme utilizou-se um microscópio confocal de fluorescência Zeiss (modelo LSM 780 invertido, *Carl Zeiss*) (88) com excitação feita na região visível do espectro (488 a 595nm). A excitação da Rodamina 6G nas estruturas pelo feixe laser foi realizada na interface PMMA/metál. A fluorescência foi coletada por reflexão.

As imagens de fluorescência das estruturas e do substrato foram observadas com uma lente objetiva plan-apochromat (20x, abertura numérica 0,8).

Para que não houvesse degradação do filme utilizou-se potências muito baixas para a excitação. Na Tabela 7 estão descritos os parâmetros utilizados para excitação e detecção.

Tabela 7 - Comprimento de onda do feixe laser, potência do laser e filtro passa-banda empregados na microscopia confocal de fluorescência da Rodamina 6G sobre as estruturas plasmônicas.

Comprimento de onda [nm]	Potência empregada [μW]	Filtro passa-banda [nm]
488	2,3	505
514	2,5	520
532	1,5	550
594	1,4	600

Fonte: Elaborada pelo autor.

A fluorescência da Rodamina 6G excitada no comprimento de onda $\lambda=514$ nm e coletada por reflexão sobre o filme metálico e o conjunto de fendas é apresentada na Figura 69.

Figura 69 - Fluorescência da Rodamina 6G coletada por reflexão no filme de Au e no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ mm). O comprimento de onda de excitação foi $\lambda=514$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O máximo de fluorescência apresenta-se em $\lambda=550$ nm para a excitação da Rodamina 6G pelo laser de $\lambda=514$ nm. Quando comparamos a intensidade do máximo de fluorescência ($\lambda=550$ nm) entre o filme de Au e as fendas observamos que ocorre uma diminuição de 43% na intensidade sobre a região das estruturas, entretanto, não foi possível observar efeito de transmissão no substrato.

Na Figura 70 - é possível observar o efeito do decréscimo da fluorescência na região das fendas.

Figura 70 - Imagem de fluorescência da Rodamina 6G na região da estrutura plasmônica. O comprimento de onda de excitação foi $\lambda=514$ nm.

Fonte: Elaborada pelo autor.

O mesmo efeito de redução da fluorescência foi observado para a excitação da Rodamina 6G nos comprimentos de onda $\lambda = 488, 514, 532$ e 594 nm, Figura 71.

Figura 71 - Fluorescência coletada por reflexão da Rodamina 6G no filme de Au e no conjunto de 20 fendas em filme de Au ($t=100$ nm, $w=100$ nm, $p=500$ nm e $l=10$ mm) para os comprimentos de onda de excitação $\lambda=488, 514, 532$ e 594 nm.

Fonte: Fonte: Elaborada pelo autor.

A fluorescência da Rodamina 6G foi mais intensa na região do filme de Au em todos os comprimentos de onda de excitação. A diferença de intensidade da fluorescência nos diversos comprimentos de onda de excitação tem origem na potência empregada no laser e na relação entre a absorção e fluorescência da Rodamina 6G.

O espectro de excitação e fluorescência de uma espécie fluorescente são idênticos, raras são as exceções, e a intensidade de fluorescência é proporcional à amplitude do comprimento de onda de excitação, Figura 72 - . (89)

Figura 72 - Espectro de excitação e emissão da fluorescência de um fluoróforo. Os espectros de fluorescência são representados por três excitação em comprimentos de onda diferentes (EX1, EX2 e EX3) e suas respectivas emissões (EM1, EM2 e EM3).

Entretanto, a diferença de intensidade da fluorescência refletida no filme de Au e no conjunto de fendas é resultado do efeito de transferência da energia para os plásmons na estrutura através do efeito de *quenching*.

A emissão de fluorescência a partir de moléculas, normalmente, é descrita em termos de um momento dipolar elétrico oscilante, portanto, o efeito do *quenching*, nessas estruturas, pode ser compreendido como o acoplamento do campo próximo do dipolo para com os modos *SPs* na interface orgânica/metal, Figura 73. Tal dipolo pode formar um éxciton que gera através de um processo não radioativo um SPP resultando no *quenching* da luminescência (87). Esta transferência de energia das moléculas orgânicas excitadas para o metal é descrita pela Teoria de Förster. (87,90)

Figura 73 - Representação do efeito do *quenching* devido acoplamento do campo próximo do dipolo com os modos *SPs* na interface orgânica/metal

O efeito de *quenching*, também, foi observado na matriz 25x25 de buracos circulares em filme de Au com espessura $t=100$ nm, diâmetro $d=200$ nm e período $p=400$ nm. A diminuição da fluorescência foi mais intensa na matriz de buracos.

Figura 74 - Fluorescência coletada por reflexão da Rodamina 6G no filme de Au e na matriz 25x25 de buracos circulares em filme de Au ($t=100$ nm, $d=100$ nm e $p=400$ nm). O comprimento de excitação foi $\lambda=514$ nm.

Fonte: Elaborada pelo Grupo de Óptica do IFSC.

O acoplamento do dipolo induzido pela excitação das moléculas com as ressonâncias plasmônicas é extremamente alto. A energia é dissipada na forma de um SPP que se propaga na interface PMMA/metal. Este efeito pode ser utilizado para mapear o campo próximo dos modos SPPs gerados na interface através da coleta da fluorescência num ponto diferente do da excitação, situação que não é possível no nosso caso.

6 CONCLUSÕES

Nesta dissertação estudamos técnicas de nanofabricação e caracterização de nanoestruturas plasmônicas. Analisamos os efeitos dos campos plasmônicos na TOE e na interação com moléculas opticamente ativas e investigamos os efeitos de absorção da molécula de Porfirina e o efeito de fluorescência da Rodamina 6G na presença da SPR.

A transmissão por ondas *SPP* primordialmente está relacionada com a geometria e as propriedades ópticas dos materiais que compõem a nanoestrutura. Do ponto de vista do eletromagnetismo clássico essas estruturas são similares a cavidades ópticas de Fabry-Perot que conduzem a radiação de uma interface a outra.

O uso de simulações permite estudar os efeitos geométricos e dos materiais, sendo uma ferramenta potente para a definição das propriedades que se deseja obter. Para os conjuntos de fendas a transmissão concentrava-se na região NIR enquanto que para os buracos a transmissão concentrava-se na região visível.

As estruturas analisadas foram todas fabricadas por litografia de feixe de íons (FIB) que é um processo com grande precisão e resolução. Esse processo nos permitiu fabricar estruturas de alta qualidade devido a excelente desempenho do equipamento. Sem essa calibração, defeitos como: corrosão parcial do material e a deformação das bordas e da superfície do metal poderiam afetar a qualidade das estruturas e a TOE. Isto faz com que os custos de projetos nesta linha de pesquisa sejam relativamente altos devido ao uso de uma série de equipamentos cuja manutenção e custos são elevados.

O estudo da absorção das moléculas de porfirina apresentou-se linear com a concentração. Os limites de detecção são entre 100 µg/ml e 500 µg/ml. Essas concentrações foram analisadas em amostra com volume de 20 µl de solução, em termos de detecção de moléculas, o limite de detecção desse sistema seria de 100 milhões de moléculas ou 0,02 µmol.l⁻¹ ao considerarmos somente a área da nanoestrutura. Sistemas portáteis de medida de absorbância como o STS-UV Microspectrometer da Ocean Optics conseguem uma resolução entre 0,15 a 150 µg/ml na região UV (260 nm) em medidas de concentração de DNA (91).

Estudamos, também, o efeito da fluorescência da Rodamina 6G nas estruturas plasmônicas. Observamos um quenching, no qual parte da energia da emissão de fluorescência foi transferida aos plásmons de superfície devido ao forte acoplamento do campo próximo do dipolo (fluoróforo) para com os modos *SP* na interface orgânica/metálica. O efeito do *quenching* foi mais intenso na matriz de buracos.

REFERÊNCIAS

- 1 BRITISH Museum. The lycurgus cup. Disponível em: <http://www.britishmuseum.org/explore/highlights/highlight_objects/pe_mla/t/the_lycurgus_cup.aspx>. Acesso em: 8 jun. 2015.
- 2 NATURE Milestones. Small and beautiful. Disponível em: <<http://www.nature.com/milestones/milephotons/full/milephotons20.html>>. Acesso em: 8 jun. 2015.
- 3 WOOD, R. W. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. **Proceedings of the Physical Society of London**, v. 18, n. 1, p. 269–275, 1902.
- 4 FANO, U. The theory of anomalous diffraction gratings and of quasi stationary waves on metallic surfaces. **Journal of the Optical Society of America**, v. 31, n. 3, p. 213–222, 1941.
- 5 PINES, D. Collective energy losses in solids. **Reviews of Modern Physics**, v. 28, n. 3, p. 184–198, 1956.
- 6 RITCHIE, R. Plasma losses by fast electrons in thin films. **Physical Review**, v. 106, n. 5, p. 874–881, 1957.
- 7 FANO, U. Atomic theory of electromagnetic interactions in dense materials. **Physical Reviews**, v. 103, n. 5, p. 1202–1218, 1956
- 8 TURBADAR, T. Complete absorption of light by thin metal films. **Proceedings of the Physical Society**, v. 73, n. 1, p. 40–44, 1959.
- 9 OTTO, A. Towards multimaterial multifunctional fibres that see, hear, sense and communicate. **Zeitschrift für Physik**, v. 216, p. 398–410, 1968.
- 10 KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non-radiative surface plasmons excited by light. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 23a, p. 2135–2136, 1968.
- 11 EBBESEN, T. W.; LEZEC, H. J.; GHAEMI, H. F.; THIO, T.; WOLFF, P. A. Extraordinary optical transmission through sub-wavelength hole arrays. **Nature**, v. 391, n. 6668, p. 667–669, 1998.
- 12 BARNES, W. L.; DEREUX, A.; EBBESEN, T. W. Surface plasmon subwavelength optics. **Nature**, v. 424, n. 6950, p. 824–830, 2003.
- 13 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**, v. 20, n. 12, p. 4813–4815, 2004
- 14 FORT, E; GRÉSILLON, S. Surface enhanced fluorescence. **Journal of Physics D: applied physics**, v. 41, n. 1, p. 13001–13031, 2008.

- 15 BLACKIE, E. J.; LERU, E. C.; ETCHEGOIN, P. G. Single-molecule surface-enhanced raman spectroscopy of nonresonant molecules. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 40, p. 14466–14472, 2009.
- 16 BLACKIE, E. J.; LERU, E. C.; MEYER, M.; ETCHEGOIN, P. G. Surface enhanced raman scattering enhancement factors: a comprehensive study. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 111, n. 37, p. 13794–13803, 2007.
- 17 BROLO, A. G. Plasmonics for future biosensors. **Nature Photonics**, v. 6, n. 11, p. 709–713, 2012.
- 18 LINDQUIST, N. C.; NAGPAL, P.; MCPEAK, K. M.; NORRIS, D. J.; OH, S. H. Engineering metallic nanostructures for plasmonics and nanophotonics. **Reports on Progress in Physics**, v. 75, n. 3, p. 036501-1 - 036501-61, 2012.
- 19 MCFARLAND, A. D.; DUYNE, R. P. van. Single silver nanoparticles as real-time optical sensors with zeptomole sensitivity. **Nano Letters**, v. 3, n. 8, p. 1057-1062, 2003.
- 20 HAES, A. J.; DUYNE, R. P. van. A nanoscale optical biosensor: sensitivity and selectivity of an approach based on the localized surface plasmon resonance spectroscopy of triangular silver nanoparticles. **Journal of the American chemical society**, v. 124, n. 35, p. 10596-10604, 2002.
- 21 SHERRY, L. J.; CHANG, S. H.; SCHATZ, G. C.; DUYNE, R. P. van.; WILEY, B. J.; XIA, Y., Localized surface plasmon resonance spectroscopy of single silver nanocubes. **Nano Letters**, v. 5, n. 10, p. 2034-2038, 2005.
- 22 SANNOMIYA, T.; HAFNER, C.; VOROS, J. In situ sensing of single binding events by localized surface plasmon resonance. **Nano Letters**, v. 8, n. 10, p. 3450-3455, 2008.
- 23 BROLO, A. G.; KWOK, S. C.; MOFFITT, M. G.; GORDON, R.; RIORDON, J.; KAVANAGH, K. L. Enhanced fluorescence from arrays of nanoholes in a gold film. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 42, p. 14936-14941, 2005.
- 24 LEEBEECK, A.; KUMAR, L. S.; LANGE, V.; SINTON, D.; GORDON, R.; BROLO, A. G. On-chip surface-based detection with nanohole arrays. **Analytical Chemistry**, v. 79, n. 11, p. 4094-4100, 2007.
- 25 FERREIRA, J.; SANTOS, M. J.; RAHMAN, M. M.; BROLO, A. G.; GORDON, R.; SINTON, D.; GIROTTO, E. M. Attomolar protein detection using in-hole surface plasmon resonance. **Journal of the American Chemical Society**, v. 131, n. 2, p. 436-437, 2008.
- 26 LEE, K. L.; WANG, W. S.; WEI, P. K. Comparisons of surface plasmon sensitivities in periodic gold nanostructures. **Plasmonics**, v. 3, n. 4, p. 119-125, 2008.
- 27 LEE, K. L.; WU, S. H.; WEI, P. K. Intensity sensitivity of gold nanostructures and its application for high-throughput biosensing. **Optics Express**, v. 17, n. 25, p. 23104-23113, 2009.

- 28 LEE, K. L.; CHEN, P. W.; WU, S. H.; HUANG, J. B.; YANG, S. Y.; WEI, P. K. Enhancing surface plasmon detection using template-stripped gold nanoslit arrays on plastic films. **ACS Nano**, v. 6, n. 4, p. 2931-2939, 2012.
- 29 SHEN, Y.; ZHOU, J.; LIU, T.; TAO, Y.; JIANG, R.; LIU, M.; XIAO, G.; ZHU, J.; ZHOU, Z. K.; WANG, X.; JIN, C.; WANG, J. Plasmonic gold mushroom arrays with refractive index sensing figures of merit approaching the theoretical limit. **Nature Communications**, v. 4, n. 2381, p. 2381-1-2381-12, 2013
- 30 RAETHER, H. **Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings**. New York: Springer, 1998. 133 p.
- 31 HOMOLA, J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. **Chemical Review**, v. 108, n. 2, p. 462-493, 2008.
- 32 HOMOLA, J.; YEE, S. S.; GAUGLITZ, G. Surface plasmon resonance sensors: review. **Sensors and Actuators B**, v. 54, n. 1-2, p. 3-15, 1999.
- 33 HIEPA, H. M.; ENDOB, T.; KERMANA, K.; CHIKAEA, M.; KIMA, D. K.; YAMAMURAA, S.; TAKAMURAA, Y.; TAMIYAA, E. A localized surface plasmon resonance based immunosensor for the detection of casein in milk. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 8, n. 4, p. 331-338, 2007.
- 34 VOGEL, R.; MEREDITH, P.; HARVEY, M. D.; DUNLOP, H. R. Absorption and fluorescence spectroscopy of rhodamine 6G in titanium dioxide nanocomposites. **Spectrochimica Acta Part A**, v. 60, n. 1-2, p. 245-249, 2004.
- 35 MATSUBARA, K.; KAWATA, S.; MINAMI, S. Optical chemical sensor based on surface plasmon measurement. **Applied Optics**, v. 27, n. 6, p. 1160-1163, 1988.
- 36 HONG, Y. C.; HUH, Y. M.; YOON, D. S.; YANG, J. Nanobiosensors based on localized surface plasmon resonance for biomarker detection. **Journal of Nanomaterials**, v. 2012, n. 759830, p. 759830-1-759830-13, 2012. doi: 10.1155/2012/759830.
- 37 MAIER, S. A. **Plasmonics: fundamentals and applications**. New York: Springer, 2007. 223 p.
- 38 DRUDE, P. Zur elektronentheorie der metalle. **Annalen der Physik**, v. 306, n. 3, p. 566-613, 1900.
- 39 SILVA, O. B. **Geração e propagação de ondas de superfície em fendas metálicas de dimensões menores que o comprimento de onda**. 2012. 148 p. Dissertação (Mestrado em Física Básica) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2012.
- 40 VIDAL, G. F.; EBBESEN, T. W.; KUIPERS, L. Light passing through subwavelength apertures. **Reviews of Modern Physics**, v. 82, n. 1, p. 729-787, 2010.
- 41 WEINER, J. The electromagnetics of light transmission through subwavelength slits in metallic films. **Optics Express**, v.19, n.17, p.16139-16153, 2011.

- 42 FERRI, F. A.; RIVERA, V. A. G.; OSORIO, S. P. A.; SILVA, O. B.; ZANATTA, A. R.; BORGES, B. H.; WEINER, J.; JUNIOR, E. M. Influence of film thickness on the optical transmission through subwavelength single slit in metallic thin films. **Applied Optics**, v. 50, n. 31, p. 1-6, 2011.
- 43 STEWART, M. E.; ANDERTON, C. R.; THOMPSON, L. B.; MARIA, J.; GRAY, S. K.; ROGERS, J. A.; NUZZO, R. G. Nanostructured plasmonic sensors. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 2, p. 494-521, 2008.
- 44 MAYER, K. M.; HAFNER, J. H. Localized surface plasmon resonance sensors. **Chemical Reviews**, v. 111, n. 6, p. 3828-3857, 2011.
- 45 ANKER, J. N.; HALL, W. P.; LYANDRES, O.; SHAH, N. C.; ZHAO, J.; DUYNE, R. P. van. Biosensing with plasmonic nanosensors. **Nature Materials**, v. 7, n. 6, p. 442-453, 2008.
- 46 CHUN, H.; CHUNG, T.; LEE, B.; LEE, S. Y.; SONG, E. Y. Plasmonic nanostructures for nano-scale bio-sensing. **Sensors**, v. 11, p. 10907-10929, 2011.
- 47 COTTAT, M.; THIOUNE, N.; GABUDEAN, A. M.; GUIGUI, N. L.; FOCSAN, M.; ASTILEAN, S.; CHAPELLE, M. L. Localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensor for the protein detection. **Plasmonics**, v. 8, n. 2, p. 699-704, 2013.
- 48 ESCOBE, C.; CHOU, Y. W.; RAHMAN, M.; DUAN, X.; GORDON, R.; SINTON, D.; BROLO, A. G.; FERREIRA, J. Quantification of ovarian cancer markers with integrated microfluidic concentration gradient and imaging nanohole surface plasmon resonance. **Analyst**, v. 138, n. 5, p. 1450-1458, 2013.
- 49 SOARES, L.; CSÁKI, A.; JATSCHKA, J.; FRITZSCHE, W.; FLORES, O.; FRANCO, R.; PEREIRA, E. Localized surface plasmon resonance (LSPR) biosensing using gold nanotriangles: detection of DNA hybridization events at room temperature. **Analyst**, v. 139, n. 19, p. 4964-4973, 2014.
- 50 HOLLAS, J. M. **Modern spectroscopy**. 4th ed. New York: John Wiley and Sons, 2004. 482 p.
- 51 HARRIS, D. C.; BERTOLUCCI, M. D. **Symmetry and spectroscopy: an introduction to vibrational and electronic spectroscopy**. New York: Dover Publications, 1989. 576 p.
- 52 MENEZES, P. F. C. **Estudos espectroscópicos e citotóxicos do photogem® fotodegradado e dos fotoprodutos formados pela irradiação com laser**. 2006. 182 p. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 2006.
- 53 ANKER, J. N.; HALL, W. P.; LYANDRES, O.; SHAH, N. C.; ZHAO, J.; DUYNE, R. P. van. Biosensing with plasmonic nanosensors. **Nature Materials**, v. 7, n. 6, p. 442-453, 2008.
- 54 VOGEL, A. R.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. **Análise química quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2002. 462 p.

55 LAKOWICZ, J. R. **Principles of fluorescence spectroscopy**. 3rd ed. New York: Springer, 2009. 954 p.

56 OREGON Medical Laser Center. Rhodamine 6G. Disponível em: <<http://omlc.org/spectra/PhotochemCAD/html/083.html>>. Acesso em: 22 ago. 2015.

57 CHOWDHURY, M. H.; ASIAN, K.; MALYN, S. N.; LAKOWICZ, J. R.; GEDDES, C. D. Metal-enhanced chemiluminescence. **Journal of Fluorescence**, v. 16, n. 3, p. 295-299, 2006.

58 CHOWDHURY, M. H.; ASIAN, K.; MALYN, S. N.; LAKOWICZ, J. R.; GEDDES, C. D. Metal-enhanced chemiluminescence: Radiating plasmons generated from chemically induced electronic excited states. **Applied Physics Letters**, v. 88, n. 17, p. 173104-1-173104-8, 2006

59 LAKOWICZ, J. R. Radiative decay engineering; biophysical and biomedical applications. **Analytical Biochemistry**, v. 298, n. 1, p. 1-24, 2001.

60 AKIYAMA, T.; FUKUDA, N.; KUSAKA, Y.; SUGAWA, K.; TAHARA, H.; TAMURA, T.; OTSUKI, J.; USHIJIMA, H.; YAMAGUCHI, D. Metal-enhanced fluorescence platforms based on plasmonic ordered copper arrays: wavelength dependence of quenching and enhancement effects. **ACS Nano**, v. 7, n. 11, p. 9997–10010, 2013.

61 BOG, U.; HUSKA, K.; MAERKLE, F.; MUELLER, A. N.; LEMMER, U.; MAPPES, T. Design of plasmonic grating structures towards optimum signal discrimination for biosensing applications. **Optics Express**, v. 20, n. 10, p. 11357-11369, 2012.

62 HUNG, Y. J.; SMOLYANINOV, I. I.; DAVIS, C. C.; WU, H. C. Fluorescence enhancement by surface gratings. **Optics Express**, v. 14, n. 22, p. 10825-10830, 2006.

63 ALVES, M. V. **Estudos de técnicas de nanofabricação aplicadas a filmes semicondutores**. 1999. 101 p. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 1999.

64 KERN, W. The evolution of silicon wafer cleaning technology. **Journal of the Electrochemical Society**, v. 137, n. 6, p. 1887–1892, 1990.

65 REINHARDT, K. A.; KERN, W. **Handbook of silicon wafer cleaning technology**. 2nd ed. Norwich: William Andrew, 2008. 718 p.

66 SILVA, M. A. P. **Estudo de litografia por feixe de elétrons para a produção de padrões sobre substratos de eletroestruturas**. 1996. 174 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos. 1996.

67 CHOUDHURY, P. R. **Handbook of microlithography, micromachining and microfabrication**. New York: Cornell University, 1996. 768 p.

68 MICROSCOPIA eletrônica de varredura. Disponível em: <<http://fap.if.usp.br/~nandast/mev.html>>. Acesso em: 10 nov. 2014.

- 69 DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia eletrônica de varredura**: aplicações e preparação de amostras. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.
- 70 WIEDERRECHT, G. **Handbook of nanofabrication**. Amsterdam: Academic Press, 2009. 305 p.
- 71 STEPANOVA, M.; DEW, S. **Nanofabrication**: techniques and principles. New York: Springer, 2012. 352 p.
- 72 KRATSCHMER, E. Verification of a proximity effect correction program in electron-beam lithography. **Journal of Vacuum Science and Technology**, v. 19, n. 4, p. 1264–1268, 1981.
- 73 BEAUMONT, S. P.; BOWER, P. G.; TAMAMURA, T.; WILKINSON, C. D. W. Sub-20nm-wide metal lines by electron-beam exposure of thin poly(methyl methacrylate) films and lift off. **Applied Physics Letters**, v. 38, n. 6, p. 436-439, 1981.
- 75 TSENG, A. Recent developments in micromilling using focused ion beam technology. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 14, n. 11, p. 15–34, 2004.
- 76 GIERAK, J. Focused ion beam technology and ultimate applications. **Semiconductor Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 043001-043023, 2009.
- 77 GIANNUZZI, L. A. A review of focused ion beam milling techniques for TEM specimen preparation. **Micron**, v. 30, n. 3, p. 197-204, 1999.
- 78 REYNTJENS, S. A review of focused ion beam applications in microsystem technology. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 11, n. 4, p. 287-300, 2001.
- 79 WANG, Z. M.; WAAG, A.; SALAMO, G.; KISHIMOTO, N.; BELLUCCI, S.; PARK, Y. J. **FIB nanostructures**. New York: Springer, 2013. 530 p. (Lecture notes in nanoscale science and technology, 20)
- 80 VOLKERT, C. A.; MINOR, A. M. Focused ion beam microscopy and micromachining. **MRS Bulletin**, v. 32, n. 5, p. 389-399, 2007.
- 81 KARABCHEVSKY, A.; AUSLENDER, M.; ABDULHALIM, I. Dual-surface plasmon excitation with thin metallic nanoslits. **Journal of Nanophotonics**, v. 5, n. 1, p. 051821-1-051821-9, 2011.
- 82 GORDON, R.; BROLO, A. G.; SINTON, D.; KAVANAGH, K. L. Resonant optical transmission through hole-arrays in metal films: physics and applications. **Laser & Photonics Reviews**, v. 4, n. 2, p. 311–335, 2010.
- 83 ZEISS. Coherence of light. Disponível em: <<http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/tutorials/coherence/indexflash.html>>. Acesso em: 1 jun. 2015.
- 84 NAGASE, T.; GAMO, K.; KUBOTA, T.; MASHIKO, S. Maskless fabrication of nanoelectrode structures with nanogaps by using Ga focused ion beams. **Microelectronic Engineering**, v. 78-79, p. 253–259, 2005.

- 85 CONDE, C. P. **Sensores ópticos**. València: Editora da Universitat de València, 1996. 166 p.
- 86 STRANIK, O.; MCEVOY, H. M.; MCDONAGH, C.; MACCRAITH, B. D. Plasmonic enhancement of fluorescence for sensor applications. **Sensors and Actuators B: chemical**, v. 107, n. 1, p. 148–153, 2005.
- 87 GEDDES, C. D. **Metal-enhanced fluorescence**. New Jersey: John Wiley and Sons, 2010. 641 p.
- 88 MICROSCÓPIO confocal do laboratório multi-usuário: especificações Disponível em: <<http://www.confocal.ifsc.usp.br/especificacoes.html>>. Acesso em: 3 jun. 2015.
- 89 TÓTH, K.; LANGOWSKI, J.; KRIEGER, J. **Practical course biophysics: absorption and fluorescence spectroscopy**. Disponível em: <http://www.dkfz.de/Macromol/teaching/files/fluorescence_practical.pdf>. Acesso em: 8 jun. 2015.
- 90 SOUZA, E. R.; SIGOLI, F. A. Princípios fundamentais e modelos de transferência de energia inter e intramolecular. **Química Nova**, v. 35, n.9, p. 1841-1847, 2012.
- 91 MATTLEY, Y. **Measuring DNA absorbance with the STS-UV microspectrometer**. Disponível em: <<http://oceanoptics.com/wp-content/uploads/App-Note-Measuring-DNA-Absorbance-with-the-STS-UV.pdf>>. Acesso em: 1 jul. 2015.