

Fabricación y Caracterización de Sustratos Plasmónicos Basados en Nanobastones de Oro

Resumen: Se fabricaron sustratos plasmónicos mediante el recubrimiento controlado de superficies de vidrio y películas delgadas de oro con nanobastones de oro. Estos sustratos nanoestructurados poseen resonancias ópticas en el rango visible e infrarrojo cercano del espectro electromagnético, y producen grandes intensificaciones de campo, llamados puntos calientes, en regiones muy localizadas de su superficie. El control de estas propiedades ópticas y la posibilidad de sintonizar la respuesta espectral de un sustrato son fundamentales para el diseño y construcción de sensores moleculares ultrasensibles y de sondas de microscopía óptica de altísima resolución.

Se sintetizaron nanobastones de oro utilizando métodos de crecimiento mediado por semillas, con un preciso control de sus dimensiones finales. Se obtuvieron suspensiones monodispersas y con alta eficiencia. Se modificaron químicamente superficies de vidrio y películas de oro para adsorber nanobastones de oro. Se controló la densidad de recubrimiento superficial mediante el tiempo de inmersión de los sustratos en la solución coloidal. Se caracterizaron los sustratos fabricados mediante espectros de extinción e imágenes de microscopía electrónica. Se obtuvieron recubrimientos homogéneos con bandas de absorción dadas por el acoplamiento de las resonancias de los nanobastones con el material del sustrato.

Palabras Claves: Sustratos plasmónicos; Nanobastones de oro; Plasmones superficiales.

Abstract: Plasmonic devices were fabricated by controlled coverage of glass surfaces and gold thin films with gold nanorods. These nanostructured substrates have optical resonances in the visible and near infrared range of the electromagnetic spectrum, and they produce large field enhancement, called hot spots, in highly localized regions of its surface. The control of these optical properties and the ability to tune the spectral response of a substrate are fundamental to design and to build ultrasensitive molecular sensors and probes for high resolution optical microscopy.

Gold nanorods were synthesized using seed mediated growth methods, with precise control of its final dimensions. Mono-dispersed colloids were obtained with high efficiency. Glass surfaces and gold thin films were chemically modified to adsorb gold nanorods. Surface coverage density was controlled through the immersion time of the substrates in the colloidal solution. Produced substrates were characterized by extinction spectra and electron microscopy images. Homogeneous coverages were obtained with absorption bands given by the coupling of the nanorods resonances with the substrate material.

Keywords: Plasmonic substrates; Gold nanorods; Surface plasmons.

Marina V. Gutiérrez⁽¹⁾, Alberto F. Scarpettini^(1,2)

⁽¹⁾Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Delta, San Martín 1171, Campana, Argentina.

⁽²⁾Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina.

Mail: mgutierrez@frd.utn.edu.ar

INTRODUCCIÓN

Las partículas metálicas de tamaño nanométrico exhiben propiedades ópticas muy diferentes a las de las partículas de mayor tamaño, y son utilizadas hoy en día en aplicaciones de gran interés, por ejemplo, sensores sensibles y eficientes [Kabashin et al. (2009), Liu et al. (2011)], espectroscopia de una única molécula [Kinkhabwala et al. (2009), Yuan et al. (2013)], microscopia de resolución nanométrica [Bragas y Martínez (2000), Scarpettini et al. (2009)], terapias fototérmicas contra el cáncer [Huang et al. (2008), Bardhan et al. (2011)], etc.

En presencia de un campo electromagnético oscilante de luz que incide en la nanopartícula metálica, se produce en ella una oscilación colectiva de electrones en resonancia con la frecuencia de luz, llamada resonancia de plasmón superficial localizado (LSPR, Localized Surface Plasmon Resonance). Se transfiere así una gran cantidad de energía a la nanopartícula, que en parte es absorbida y en parte dispersada, y el campo eléctrico es confinado e intensificado en zonas muy localizadas cerca de su superficie. Esta condición va a depender del tamaño, morfología, estructura, propiedades dieléctricas del metal, y del medio en que se encuentra [Kreibig y Vollmer (1995)].

En particular, en este trabajo utilizamos nanobastones de oro (NBOs) como bloques constructores de estructuras más complejas, atractivos por su simplicidad y por poseer una resonancia plasmónica en el eje transversal con absorción en la región visible del espectro electromagnético, y una resonancia plasmónica en el eje longitudinal con absorción en la región del rojo e infrarrojo cercano, que puede sintonizarse a través de las dimensiones del nanobastón [Nusz et al. (2009)].

Es posible diseñar y construir dispositivos nanoestructurados con resonancias plasmónicas en longitudes de onda deseadas, sintetizando NBOs de dimensiones

adecuadas y colocándolos en la superficie del sustrato, para obtener resultados precisos y confiables. Mediante el empleo de superficies metálicas nanoestructuradas es posible amplificar la señal óptica emitida por moléculas individuales en diversas técnicas espectroscópicas, por ejemplo en la denominada espectroscopía Raman intensificada por superficie (SERS).

METODOLOGÍA

Materiales e Instrumentación

Los siguientes productos químicos fueron utilizados sin modificaciones. El tetracloroaurato de hidrógeno trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, > 99,9%), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, > 98%), borohidruro de sodio (NaBH_4 , > 98%), ácido 5-bromosalicílico (> 90%), nitrato de plata (AgNO_3 , > 99%), (3-amino-propyl)trimethoxysilane (APTMS, > 97%), poly(sodium 4-styrenesulfonate) (PSS, $M_w \sim 70000$) y ácido 11-mercaptoundecanoico (MUA, > 98%) fueron comprados a Sigma Aldrich. El ácido ascórbico (> 99,7%) fue comprado a Biopack. En todos los casos se utilizó agua ultrapura Milli-Q.

Los espectros de extinción de los coloides y los sustratos fueron obtenidos con un espectrofotómetro UV-visible Optizen Pop de Mecasys. Las imágenes de los NBOs sobre sustratos fueron obtenidas con un microscopio electrónico de barrido (SEM) Zeiss Supra 40.

Síntesis de Nanobastones de Oro

Nos basamos en protocolos conocidos de síntesis de NBOs desarrollados en los últimos años [Jana et al. (2001), Nikoobakht y El-Sayed (2003), Ye et al. (2012)]. En una primera etapa se prepara la solución semilla

partiendo de la mezcla de 5 ml de HAuCl_4 0,5mM con 5ml de CTAB 0,2M. Se diluyen 0,6ml de NaBH_4 0,01M en agua Milli-Q hasta completar 1ml, luego se agrega a la solución bajo agitación fuerte durante 2 minutos hasta que se observa cambio de color de amarillo a marrón. La solución se deja en reposo durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Para la solución de crecimiento se mezclan 0,9 g de CTAB junto a 0,11 g del aditivo 5-bromosalicílico, disolviendo en 25 ml de agua caliente (60°C). La solución es enfriada a 30°C y se agregan 1,2 ml de AgNO_3 4mM, permaneciendo en reposo durante 15 minutos. Luego se agregan 25ml de solución HAuCl_4 1 mM mientras se agita lentamente durante 15 minutos. Finalmente se adicionan 0,2 ml de ácido ascórbico 0,064mM y, pasados 30 segundos, 0,04 ml de la solución semilla preparada previamente.

La solución se deja reposar durante un día a temperatura ambiente. Se purifica por centrifugación a 8500 rpm durante 25 minutos, se remueve el sobrenadante y se redispersa en agua Milli-Q. Se repite con dos centrifugados adicionales a 8000 rpm durante 20 minutos, removiendo el sobrenadante y redispersando en agua Milli-Q.

Recubrimiento del Sustrato

Se cortaron portaobjetos comerciales de vidrio de 1 mm de espesor en trozos de 25 x 10 mm aproximadamente. Estos sustratos de vidrio son lavados previamente con agua ultrapura, sumergidos en ácido fluorhídrico durante 10 segundos y sonicados durante 30 minutos.

Para adsorber NBOs directamente sobre vidrio, se modifica químicamente la superficie del sustrato por inmersión del mismo en una solución diluida 1:100 de aminosilanos (APTMS) durante 1 hora en

ambiente oscuro. El aminosilano se enlaza covalentemente al silicio formando una monocapa de carga positiva hacia el exterior, debido al grupo amino [Scarpettini y Bragas (2010)]. El sustrato es retirado y enjuagado con abundante agua. En una segunda etapa se lo sumerge en solución de poliestireno sulfonato (PSS) durante 1 hora, el cual se deposita electrostáticamente sobre la monocapa de aminosilano, con carga negativa hacia el exterior. Luego se lo retira, se lava con abundante agua y se lo introduce en la solución coloidal de NBOs, cargados positivamente debido a la bicapa del surfactante, uniéndose así a la capa superficial de PSS [Niidome et al. (2004), Ferhan et al. (2010)]. Los sustratos son retirados a distintos tiempos. Se realiza el estudio de dinámica de recubrimiento a través de estadística de conteo de NBOs en imágenes SEM y análisis de los espectros de extinción [Gutiérrez et al. (2015)].

Se fabricaron además sustratos plasmónicos más complejos, adsorbiendo NBOs sobre películas delgadas de oro. Los sustratos de vidrio fueron sometidos al mismo procedimiento de limpieza anterior, y se les depositó una fina película de oro mediante la técnica de sputtering (presión de 0,07 mbar, corriente de 30 mA durante 250 segundos).

Se sumerge el sustrato de oro en solución etanólica de ácido 11-mercaptoundecanoico 103M durante 1 hora, en ambiente oscuro y temperatura ambiente, formándose una monocapa autoensamblada de grupos tioles [Gole et al. (2004)]. Se retira y se lava con abundante agua. Luego, el sustrato se sumerge en la solución coloidal purificada de NBOs, en ambiente oscuro y temperatura ambiente y es retirado en tiempos distintos para evaluar el grado de recubrimiento y agregación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Utilizando el protocolo descrito en la sección anterior, se obtuvieron NBOs monodispersos con una eficiencia superior al 90%. En la figura 1.a se puede observar el espectro de extinción correspondiente a la solución acuosa, obteniéndose nanobastones con una resonancia plasmónica transversal en 515 nm y una resonancia plasmónica longitudinal en 670 nm. En la figura 1.b presentamos una imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM) donde el coloide fue depositado sobre un sustrato por evaporación del solvente, observándose una población de NBOs de tamaño y forma similares, con un tamaño promedio de 56 nm de largo y 23 nm de ancho, y una relación de aspecto de 2,4. En una muy baja proporción se pueden observar nanopartículas de forma esferoide de 37 nm de tamaño promedio.

Se recubrieron exitosamente sustratos de vidrio con NBOs utilizando dos monocapas moleculares alternando el signo de la carga superficial, siendo la última capa de carga negativa. Los NBOs se adhieren electrostáticamente por poseer carga positiva debido al surfactante que lo rodea. Se estudió la dinámica de recubrimiento de NBOs sobre sustratos de vidrio a partir del conteo de nanopartículas en imágenes SEM y contrastando con las amplitudes de los picos en los espectros de extinción.

En la figura 2 se pueden observar espectros de extinción de los NBOs sobre sustratos de vidrio fabricados con distinto tiempo de inmersión. A medida que el tiempo es mayor se observa un crecimiento del pico (plasmón longitudinal), debido al incremento de NBOs adsorbidos. En tiempos superiores podemos observar la aparición de un nuevo pico mucho más ancho a longitudes de onda mayores respecto del pico

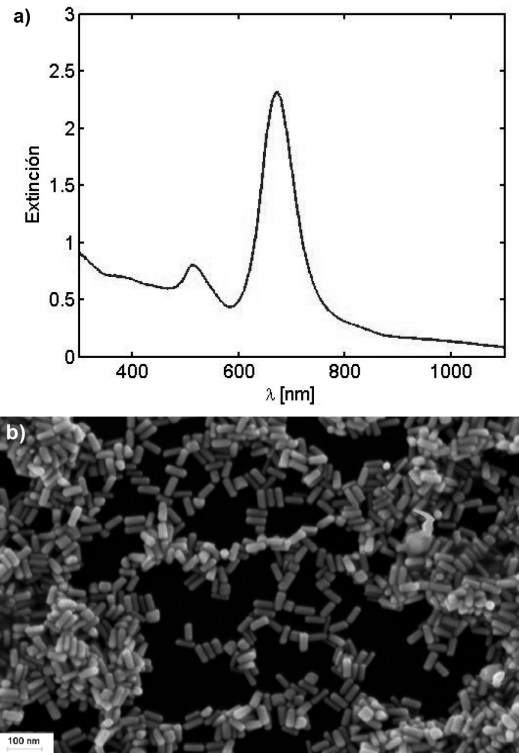


Figura 1. a) Espectro de extinción de los NBOs sintetizados. Se observa un primer pico correspondiente a la resonancia plasmónica transversal en 515 nm y un segundo pico correspondiente a la resonancia plasmónica longitudinal en 670 nm. b) Imagen de microscopía electrónica de barrido (SEM). Los NBOs sintetizados presentan monodispersión, con forma y tamaño similar y una eficiencia superior al 90%.

longitudinal, esto se debe a la formación de dímeros, trímeros y agregados más grandes, es decir, a la interacción plasmónica entre los NBOs [Khlebtsov et al. (2006), Romero et al. (2006), Perassi et al. (2011)]. Se puede observar un corrimiento de aproximadamente 50 nm en el pico longitudinal hacia longitudes de onda menores, con respecto al espectro de extinción de la solución coloidal, como consecuencia de que el medio soporte de NBOs es distinto (vidrio + aire) y el índice de refracción efectivo es menor.

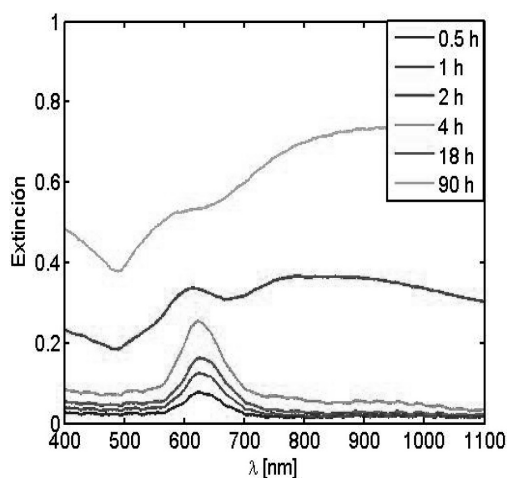


Figura 2. Espectro de extinción de NBOs sobre sustratos de vidrio para diferentes tiempos de inmersión. El pico correspondiente al plasmón longitudinal crece con el tiempo y es proporcional al número de NBOs adsorbidos sobre la superficie. A tiempos mayores domina el acoplamiento entre los nanobastones que comienzan a agregarse, manifestándose en el espectro con la aparición de un pico bien ancho a mayores longitudes de onda.

Los resultados obtenidos a través de los espectros de extinción se pueden contrastar con las imágenes SEM de la superficie de los sustratos de vidrio para cada tiempo de inmersión (figura 3). Realizando una estadística de conteo de nanobastones, tanto aislados como formando parte de agregados, se obtiene que la adsorción de NBOs sigue un crecimiento rápido al comienzo y se desacelera hasta frenarse hacia un recubrimiento de saturación, dado por una reducción de la superficie libre para nuevos nanobastones, a medida que avanza el tiempo, y por la repulsión electrostática que generan las nanopartículas adsorbidas. Por otra parte, se observan NBOs aislados a tiempos cortos, y a partir de cierta densidad crítica comienzan a aparecer agregados de dos, tres o más nanobastones, debido a cierta movilidad presente en solución, minimizando la superficie expuesta al medio a través de la formación de estos agregados [Scarpellini y Bragas (2010)].

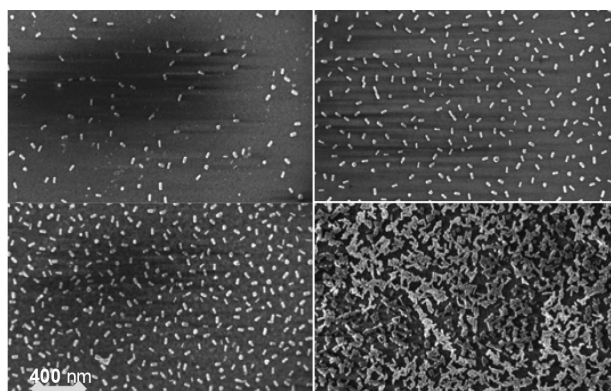


Figura 3. Imágenes SEM de NBOs sobre sustratos de vidrio, para diferentes tiempos de inmersión: (I) $t = 0,5h$; (II) $t = 1h$; (III) $t = 2h$; (IV) $t = 90h$. Se observa un aumento de la densidad superficial de nanobastones a medida que aumenta el tiempo, y la formación de agregados a tiempos grandes.

En el caso de los sustratos de vidrio recubiertos con una película delgada de oro, que a su vez fueron recubiertos con NBOs, aparecen nuevas resonancias plasmónicas debido a la presencia de la capa de oro, además de las resonancias propias de los nanobastones. Esto permite aumentar la capacidad de fabricar sustratos a medida de la molécula que se quiere estudiar, excitando y amplificando energías de vibración molecular, o simplemente generando zonas muy confinadas de campo con factores de intensificación tales que amplifiquen la señal Raman de la molécula en varios órdenes de magnitud.

Con este propósito, se realizó en una cámara de sputtering la deposición de una capa delgada de oro sobre los sustratos de vidrio limpios y sonicados. Para realizar el recubrimiento de NBOs sobre ellos, se optó por modificar químicamente la superficie del sustrato de oro con grupos tioles. Se utilizó ácido 11-mercaptoundecanoico por tener interacciones fuertes azufre-oro. Además, las interacciones hidrofóbicas entre los átomos de carbono e hidrogeno en las moléculas de tiol alquilo pueden reducir significativamente la energía superficial global promo-

viendo así la formación de una capa autoensamblada monomolecular, especialmente si la cadena alquilo contiene al menos diez átomos de carbono.

La monocapa autoensamblada de tioles se prepara por inmersión del sustrato de oro limpio en una solución diluida de tiol. El autoensamblaje se lleva a cabo rápidamente, y se producen películas ordenadas. Los sustratos de vidrio luego se sumergen en solución coloidal de NBOs y se retiran a distintos tiempos, en función del grado de recubrimiento deseado. Por ejemplo, el espectro de extinción correspondiente a 2 horas de inmersión (figura 4.a) muestra claramente dos picos, luego de restado el espectro del sustrato con la película de oro sin recubrir. El pico de la izquierda corresponde a la resonancia longitudinal de los nanobastones, donde nuevamente se observa un corrimiento hacia menores longitudes de onda, cerca de 625 nm, debido al menor índice de refracción del medio de soporte de los NBOs, que es mayoritariamente aire. A la derecha de este pico, aparece claramente un nuevo pico más ancho que corresponde al acople plasmónico entre la resonancia longitudinal y la capa de oro superficial. Este acople depende del espaciamiento entre los NBOs y la película de oro [Porto et al. (2003)]. Como esta distancia está determinada por la monocapa de tioles y la bicapa de surfactante que rodea las nanopartículas, la baja fluctuación de esta separación ocasiona este segundo pico bien definido.

En la figura 4.b se puede observar en una imagen tomada por microscopía electrónica de barrido (SEM) que el recubrimiento de NBOs sobre el sustrato de oro es homogéneo. Se comprobó además que la densidad de recubrimiento superficial de NBOs aumenta a medida que el tiempo de inmersión es mayor.

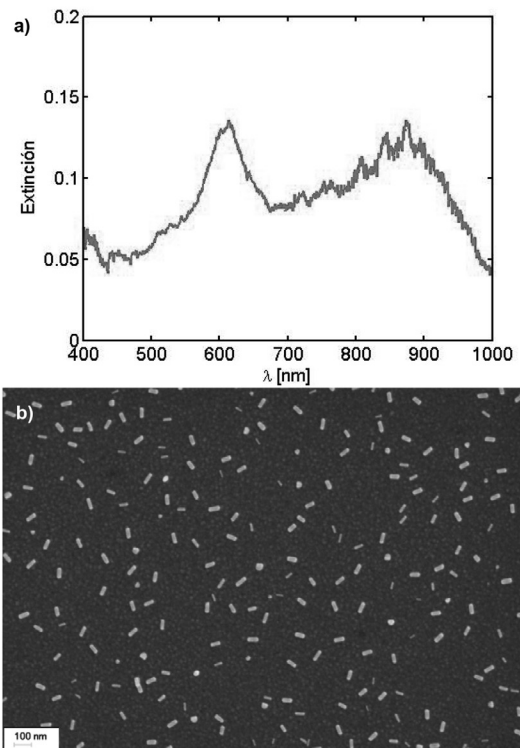


Figura 4. a) Espectro de extinción del recubrimiento realizado con NBOs sobre un sustrato de oro. b) Imagen SEM de la misma muestra.

CONCLUSIONES

Se sintetizaron NBOs monodispersos con control en su forma y tamaño, con una alta eficiencia. Se fabricaron sustratos plasmónicos a partir de estos NBOs adheridos a superficies de vidrio y oro químicamente modificadas. Se estudiaron los recubrimientos mediante espectros de extinción e imágenes de microscopía electrónica. Se observaron las resonancias plasmónicas presentes en los NBOs y en estos sustratos, como picos de extinción en los espectros, y como varían según el medio que rodea a las nanopartículas. Se observaron además picos adicionales debido al acople entre los nanobastones que forman agregados y al acople entre los nanobastones y la película de oro. Las imágenes

SEM confirmaron las evidencias que presentaron los espectros. Se observó un aumento del número de NBOs adsorbidos sobre el sustrato, correlacionado con un aumento de la amplitud del pico correspondiente a la resonancia longitudinal del nanobastón, y luego una etapa de formación de dímeros, trímeros y clusters más grandes, responsables de la aparición de un segundo pico mucho más ancho en el espectro de extinción. En el caso de recubrimientos sobre oro, se

observó un pico bien definido a mayores longitudes de onda debido al acople entre los NBOs y la capa de oro superficial.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento del subsidio PID-UTI1624 de la Universidad Tecnológica Nacional.

REFERENCIAS

Bardhan, R., Lal, S., Joshi, A., Halas, N. (2011). *Theranostic Nanoshells: From Probe Design to Imaging and Treatment of Cancer*. *Accounts of Chemical Research*, 44 (10), 936-946.

Bragas, A.V., Martínez, O.E. (2000). *Field-enhanced scanning optical microscope*. *Optics Letters*, 25 (9), 631-633.

Ferhan, A.R., Guo, L., Kim, D.H. (2010). *Influence of Ionic Strength and Surfactant Concentration on Electrostatic*

Surface Assembly of Cetyltrimethylammonium Bromide-Capped Gold Nanorods on Fully Immersed Glass. *Langmuir*, 26 (14), 12433-12442.

Gole, A., Orendorff, C.J., Murphy, C.J. (2004). *Immobilization of Gold Nanorods onto Acid-Terminated Self-Assembled Monolayers via Electrostatic Interactions*. *Langmuir*, 20 (17), 7117-7122.

- Gutiérrez, M.V., Paredes, M.Y., Scarpettini, A.F. (2015). Controlled coverage of glass substrates with metallic nanorods. *Matéria* 20 (3), 731-738.
- Huang, X., Jain, P.K., El-Sayed, I.H., El-Sayed, M.A. (2008). Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles. *Lasers in Medical Science*, 23 (3), 217-228.
- Jana, N.R., Gearheart, L., Murphy, C.J. (2001). Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods. *Journal of Physical Chemistry B*, 105 (19), 4065-4067.
- Kabashin, A.V., Evans, P., Pastkovsky, S., Hendren, W., Wurtz, G.A., Atkinson, R., Pollard, R., Podolskiy, V.A., Zayats, A.V. (2009). Plasmonic nanorod metamaterials for biosensing. *Nature Materials*, 8, 867-871.
- Khlebtsov, B., Melnikov, A., Zharov, V., Khlebtsov, N. (2006). Absorption and scattering of light by a dimer of metal nanospheres: comparison of dipole and multipole approaches. *Nanotechnology*, 17 (5), 1437-1445.
- Kinkhabwala, A., Yu, Z., Fan, S., Avlasevich, Y., Mullen, K., Moerner, W.E. (2009). Large single-molecule fluorescence enhancements produced by a bowtie nanoantenna. *Nature Photonics*, 3, 654-657.
- Kreibig, U., Vollmer, M. (1995). *Optical Properties of Metal Clusters*. Berlin: Springer-Verlag.
- Liu, N., Tang, M.L., Hentschel, M., Giessen, H., Alivisatos, A.P. (2011). Nanoantenna-enhanced gas sensing in a single tailored nanofocus. *Nature Materials*, 10, 631-636.
- Niidome, Y., Takahashi, H., Urakawa, S., Nishioka, K., Yamada, S. (2004). Immobilization of Gold Nanorods on the Glass Substrate by the Electrostatic Interactions for Localized Plasmon Sensing. *Chemistry Letters*, 33 (4), 454-455.
- Nikoobakht, B., El-Sayed, M.A. (2003). Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chemistry of Materials*, 15 (10), 1957-1962.
- Nusz, G.J., Curry, A.C., Marinakos, S.M., Wax, A., Chilkoti, A. (2009). Rational Selection of Gold Nanorod Geometry for Label-Free Plasmonic Biosensors. *ACS Nano*, 3 (4), 795-806.
- Perassi, E.M., Scarpettini, A.F., Masip, M.E., Bragas, A.V., Coronado, E.A. (2011). Understanding the Behavior of New Plasmonic Probes with Sub-Nanometric Resolution in Field Enhanced Scanning Optical Microscopy. *Journal of Physical Chemistry C*, 115 (21), 10455-10461.
- Porto, J.A., Johansson, P., Apell, S. P., López-Ríos, T. (2003). Resonance shift effects in apertureless scanning near-field optical microscopy. *Physical Review B*, 67, 085409.
- Romero, I., Aizpurua, J., Bryant, G.W., García de Abajo, F.J. (2006). Plasmons in nearly touching metallic nanoparticles: singular response in the limit of touching dimers. *Optics Express*, 14 (21), 9988-9999.
- Scarpettini, A.F., Pellegrini, N., Bragas, A.V. (2009). Optical imaging with subnanometric vertical resolution using nanoparticle-based plasmonic probes. *Optics Communications*, 282 (5), 1032-1035.
- Scarpettini, A.F., Bragas, A.V. (2010). Coverage and Aggregation of Gold Nanoparticles on Silanized Glasses. *Langmuir*, 26 (20), 15948-15953.
- Ye, X., Jin, L., Caglayan, H., Chen, J., Xing, G., Zheng, C., Doan-Nguyen, V., Kang, Y., Engheta, N., Kagan, C.R., Murray, C.B. (2012). Improved Size-Tunable Synthesis of Monodisperse Gold Nanorods through the Use of Aromatic Additives. *ACS Nano*, 6 (3), 2804-2817.
- Yuan, H., Khatua, S., Zijlstra, P., Yorulmaz, M., Orrit, M. (2013). Thousand-fold Enhancement of Single-Molecule Fluorescence Near a Single Gold Nanorod. *Angewandte Chemie International Edition*, 52 (4), 1217-1221.