VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV FYZIKÁLNÍHO INŽENÝRSTVÍ
INSTITUTE OF PHYSICAL ENGINEERING

PŘÍPRAVA VYSOCE DEFINOVANÝCH NANOPORÉZNÍCH STRUKTUR S VYUŽITÍM V MEMBRÁNOVÉ BIOSENSORICE

FABRICATION OF WELL DEFINED NANOPOROUS STRUCTURES WITH APPLICATION IN MEMBRANE SENSING

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE Kateřina Fabianová
AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE Ing. Jakub Sadílek
SUPERVISOR

BRNO 2016

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

Zadání bakalářské práce

Ústav:	Ústav fyzikálního inženýrství
Studentka:	**Kateřina Fabianová**
Studijní program:	Aplikované vědy v inženýrství
Studijní obor:	Fyzikální inženýrství a nanotechnologie
Vedoucí práce:	**Ing. Jakub Sadílek**
Akademický rok:	2015/16

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Příprava vysoce definovaných nanoporézních struktur s využitím v membránové biosensorice

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Studium biochemických procesů je v současné době jedním s nejrychleji rostoucích vědních oborů. Pro precizní detekci procesů probíhajících v živých systémech je často třeba připravit vhodné platformy pro simulaci a studium těchto dějů. Bakalářská práce bude zaměřena především na zvládnutí technik výroby a ověření aplikovatelnosti vysoce definovaných nanoporézních a membránových struktur v oblasti biosensoriky.

Cíle bakalářské práce:

1. Rešerše problematiky biodetekce na nanoporézních strukturách.
2. Příprava substrátů s vysoce definovanými nanoporézními strukturami.
3. Ověření funkčnosti připravených systémů.

Seznam literatury:

KUMAR, Karthik, Andreas B. DAHLIN, Takumi SANNOMIYA, Stefan KAUFMANN, Lucio ISA a Erik REIMHULT. Embedded Plasmonic Nanomenhirs as Location-Specific Biosensors [online]. 2015-11-25 [cit. 2015-11-25]. DOI: 10.1021/nl403445f. ISBN 10.1021/nl403445f.

KUMAR, Karthik, Lucio ISA, Alexander EGNER, Roman SCHMIDT, Marcus TEXTOR a Erik REIMHULT. Formation of Nanopore-Spanning Lipid Bilayers through Liposome Fusion: the origin, evolution, and impact of doi moi [online]. 2015-11-25 [cit. 2015-11-25]. DOI: 10.1021/la2019132. ISBN 10.1021/la2019132. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la2019132

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2015/16

V Brně, dne

L. S.

prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc. ředitel ústavu	doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D. děkan fakulty

Abstrakt
Tato bakalářská práce se zabývá přípravou plasmonického biosensoru založeného na vysoce definovaných porézních strukturách vytvořených v nitridu křemíku obsahujících kovové nanomenhiry. Tyto porézní struktury byly připraveny pomocí metody reaktivního iontového leptání nitridové vrstvy skrze dočasnou masku připravenou elektronovou litografií následované depozicí kovové vrstvy tvořící finální nanomenhiry pomocí magnetronového naprašování a napařování. Práce shrnuje finálně dosažené výsledky a předkládá úspěšný návrh postupu výroby sensoru bez kovové kontaminace nosného povrchu.

Summary
Theme of this bachelor thesis is focused on preparation of the metal nanomenhir structures situated in highly oriented matrix of silicon nitride nanopores based plasmonic biosensor. Porous structures were prepared by reactive ion etching of silicon nitride film using electron beam lithography prepared temporary mask as a template. Deposition of metals was handled by magnetron sputtering and evaporation and results was compared. Finally, this work assumes reached results including successful approach of sensor preparation without contamination of surrounding surface by heavy metal ions.

Klíčová slova
Biosensor, LSPR, plasmonika, EBL, RIE, naprašování, napařování, PECVD

Keywords
Biosensor, LSPR, plasmonics, EBL, RIE, sputtering, evaporation, PECVD

FABIANOVÁ, K.*Příprava vysoce definovaných nanoporézních struktur s využitím v membránové biosensorice.* Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2016. 54 s. Vedoucí Ing. Jakub Sadílek.

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Ing. Jakuba Sadílka, a že veškeré podklady, ze kterých jsem čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Kateřina Fabianová

Ráda bych zde poděkovala především svému vedoucímu Ing. Jakubu Sadílkovi za odborné vedení a všeobecné rady k této práci. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Radimu Zahradníčkovi za pomoc s obtížnými začátky. Velké díky patří také mé rodině a přátelům za psychickou podporu.

Analýzy vzorků byly provedeny ve Sdílené laboratoři přípravy a charakterizace nanostruktur CEITEC VUT a hrazeny z projektu CEITEC - open access LM2011020.

Kateřina Fabianová

Obsah

1 Úvod **3**

2 Biosensory **4**
2.1 Mechanické biosensory . . . 4
2.2 Elektrické biosensory . . . 5
2.3 Optické biosensory . . . 6
2.3.1 Lokalizovaný povrchový plasmon . . . 7
2.3.2 Plasmonické biosensory . . . 8
2.4 Funkcionalizace sensorů . . . 8
2.5 Konstrukce biosensorů . . . 9
2.5.1 Mikrofluidika . . . 9

3 Nanokužely a nanomenhiry **11**
3.1 Extinkční spektra . . . 12
3.2 Funkcionalizace sensoru . . . 13

4 Použité metody **15**
4.1 Depozice . . . 15
4.1.1 Plazmochemická depozice z plynné fáze . . . 15
4.1.2 Magnetronové naprašování . . . 16
4.1.3 Napařování . . . 16
4.2 Leptání . . . 17
4.2.1 Reaktivní iontové leptání . . . 19
4.3 Litografie . . . 19
4.3.1 Fotolitografie . . . 20
4.3.2 Elektronová litografie . . . 21

5 Postup přípravy **24**
5.1 Depozice SiN_x . . . 24
5.2 Vytvoření masky pro leptání pomocí EBL . . . 26
5.2.1 Testy na nevodivém substrátu . . . 27
5.2.2 Vytvoření masky pro leptání SiN_x . . . 29
5.3 Vyleptání pórů v SiN_x . . . 29
5.4 Depozice zlatých nanomenhirů . . . 30
5.4.1 Testy v magnetronu . . . 31
5.4.2 Testy v termální napařovačce . . . 31
5.4.3 Testy v elektronové napařovačce . . . 32

6 Výsledky **33**
6.1 Plasmochemická depozice z plynné fáze . . . 33
6.2 Výsledky testů EBL . . . 33
6.2.1 Test dávky na skleněném substrátu . . . 33
6.3 Leptání nanopórů pomocí RIE . . . 34
6.4 Určení leptacích rychlostí RIE . . . 35
6.4.1 Vyleptání nanopórů v SiN_x . . . 36

6.5 Depozice funkčních vrstev 37
6.5.1 Depozice zlatých tenkých vrstev magnetronovým naprašováním . . 37
6.5.2 Testy v termální napařovačce 43
6.5.3 Testy v elektronové napařovačce 44

7 Závěr **48**

8 Seznam použitých zkratek **54**

1. Úvod

V poslední době došlo v biosensorice ke značnému rozvoji převážně díky výraznému pokroku v oblasti nanotechnologií. Tohoto pokroku bylo dosaženo miniaturizací detekčních elementů používaných při analýze biologických vzorků pomocí pokročilých litografických metod. Díky tomu je možné provádět rozbor při velmi nízkém množství analytu, v krátkém čase a s velmi vysokou citlivostí. Za specifických podmínek je možné detekovat i zvlášť jednotlivé molekuly. Hlavní uplatnění biosensorů založených na nanotechnologiích bude v oblasti lékařské praxe ve třetím světě nebo v domácnostech díky finanční a technické nenáročnosti jejich využití.

První část této bakalářské práce se věnuje popisu a rozřazení těchto biosensorů založených na nanotechnologických procesech a následně popisu konkrétního typu biosensoru založeného na detekci plasmonické odezvy přesně definovaných nanostruktur. Bakalářská práce se zabývá zejména snahou o vytvoření tohoto typu sensoru a optimalizací technologických procesů použitých při jeho přípravě. V další části práce jsou tedy popsány principy technologií použitých při výrobě a v poslední části je popsán přesný postup při experimentální práci a shrnuty výsledky, kterých bylo při práci dosaženo.

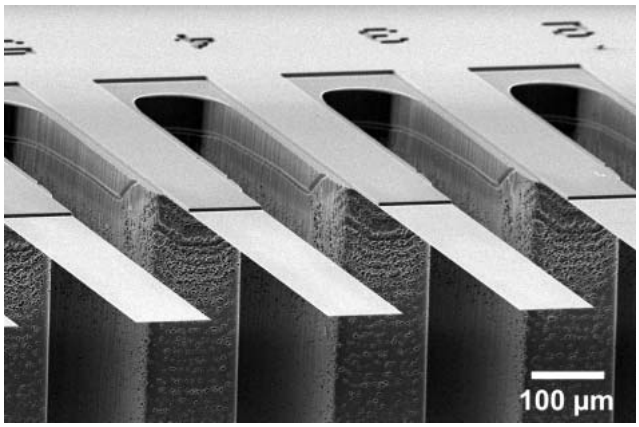
2. Biosensory

Biosensorem rozumíme analytické zařízení měřící fyzikálně-chemické změny v biologické rozpoznávací vrstvě způsobené interakcí se vzorkem obsahujícím cílené molekuly. Biorekogniční vrstva tedy slouží k selektivnímu rozpoznání hledané biologické látky z analytu. Rozpoznání látky je založené buď na principu katalyzované reakce hledané složky analytu, nebo na základě vazby vzniklé mezi sledovanou látkou a látkou v biorekogničním elementu. Tato vrstva je spojena s převodníkem sloužícím k převodu odezvy z biorekogničního elementu v měřitelný signál. Tento signál je úměrný množství detekovaných biomolekul. Podle typu převodníku dělíme biosensory na mechanické, elektrické a optické [35, 37, 41].

V poslední době se využívá minimalizace těchto sensorů do rozměrů řádově mikrometrů případně nanometrů, což umožňuje detekci jednotlivých molekul a mnohdy větší přesnost. Další text je zaměřen právě na tyto typy nanosensorů.

2.1. Mechanické biosensory

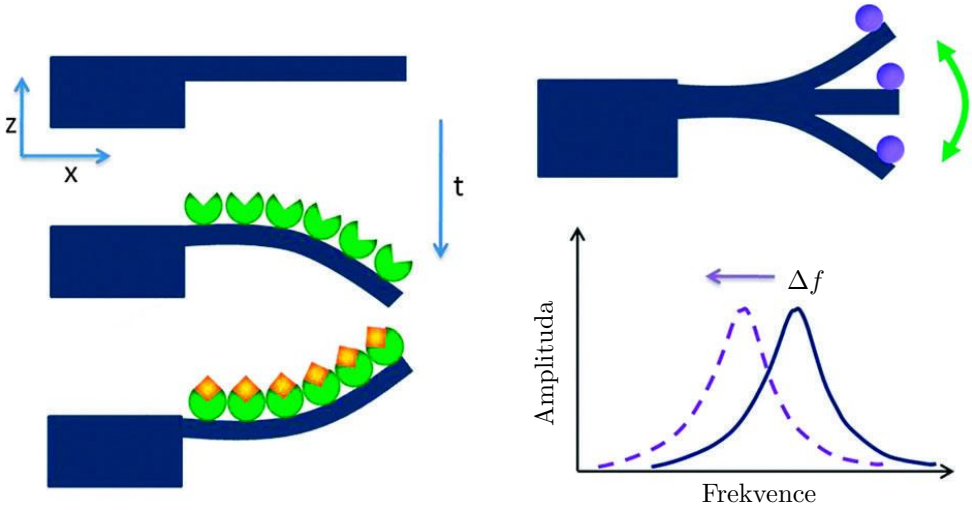
Mechanické biosensory jsou založeny na navázání cílených molekul na povrch raménka, tzv. „kantilevru“, a změně jeho mechanických vlastností. Snímek ze skenovacího elektronového mikroskopu takovéhoto kantilevru můžeme vidět na Obrázku 2.1.



Obrázek 2.1: Snímek kantileveru ze SEM. (Převzato a upraveno z [7].)

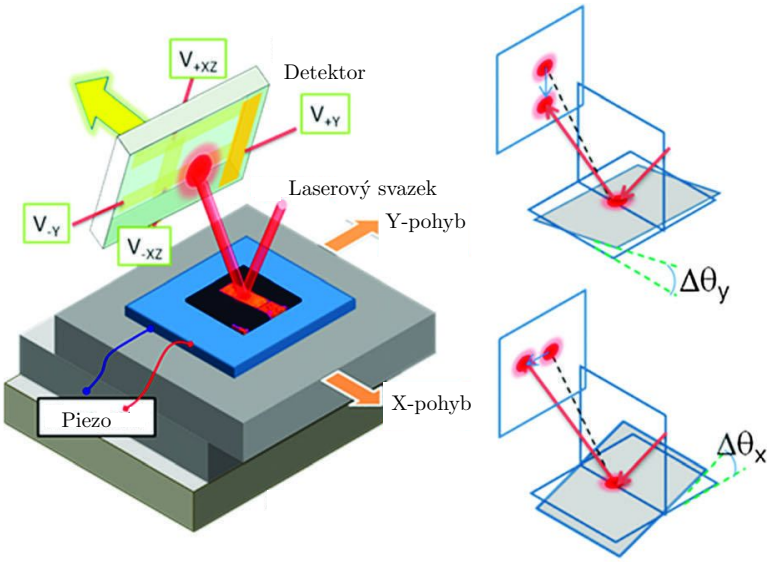
Mechanické biosensory jsou založeny převážně na dvou hlavních principech, na statické deflekci nebo na využití rezonančních modů ramének (Obr. 2.2) [37, 46]. Princip statické deflekce spočívá v navázání detekovaných molekul na jednu stranu kantilevru, což způsobí nevyvážený stres na jeho povrchu a vede k jeho průhybu (Obr. 2.2a). Použití rezonančních modů kantilevrů se uskutečňuje rozkmitáním sensoru pomocí piezoelektrického členu. Při určité frekvenci mají kmity raménka největší amplitudu, této frekvenci se říká rezonanční frekvence. Naváže-li se na kantilevr molekula, tato rezonanční frekvence se sníží z důvodu zvýšení hmotnosti kmitající části (Obr. 2.2b). Velikost změny této frekvence je závislá na hmotnosti navázané částice. Je-li hmotnost navázané molekuly srovnatelná s hmotností samotného kantilevru, je tato metoda velmi citlivá. Tyto dva principy slouží k přesné detekci hmotnosti případně koncentrace určitého druhu molekul jak v plynném tak vodném prostředí [37, 46].

K detekci průhybu kantilevru je možné použít různých metod. Jedna z nejčastěji používaných metod zjištění tohoto průhybu je založena na detekci změny vychýlení laserového svazku odraženého od povrchu nanomechanického systému pomocí polohově citlivého fotodetektoru (Obr. 2.3).



a) b)

Obrázek 2.2: Schéma principů mechanických biosensorů. (Převzato a upraveno z [37].)



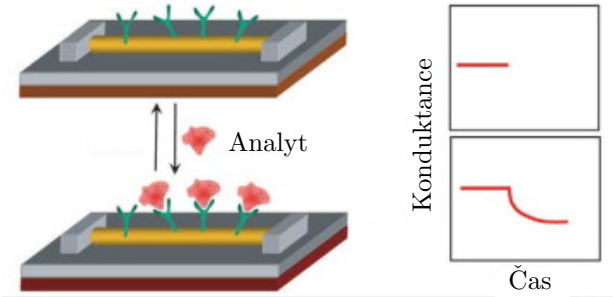
Obrázek 2.3: Znázornění funkce detekce průhybu raménka pomocí laserového svazku. (Převzato a upraveno z [37].)

2.2. Elektrické biosensory

Elektrické biosensory využívající nanostruktur fungují na principu změny elektrických vlastností vodičů nebo polovodičů po navázání biomolekul na jejich povrch, případně využívají detekce elektrických vlastností samotných zkoumaných biomolekul.

Sensory využívající změny elektrických vlastností vodičů a polovodičů k detekci molekul navázaných na jejich povrch často využívají uspořádání podle tranzistorů řízených

elektrickým polem (FET). V tranzistorech typu FET se využívá závislosti konduktance mezi dvěma elektrodami („source“ a „drain“) na napětí přivedeném na třetí elektrodu („gate“). Je-li tedy na gate elektrodu přivedeno napětí, proud protékající mezi elektrodami source a drain se změní. V případě biosensoru tohoto typu se polovodič spojující elektrody source a drain nevystaví napětí na elektrodě gate, ale přivede se k němu analyt, molekuly z analytu se naváží na tento polovodič a lokálně ovlivňují elektrický potenciál, což vede k nahromadění případně rozptýlení nosičů náboje v polovodiči, a tedy zvýšení respektive snížení konduktance mezi elektrodami source a drain (Obr. 2.4). Tento typ sensoru se využívá například k určení pH roztoků. V takovém případě se využívá navázání molekul schopných se protonizovat a deprotonizovat, čímž ovlivňují hustotu náboje v okolí polovodičového nanodrátu [28].



Obrázek 2.4: Schéma biosensoru založeného na FET konfiguraci. (Převzato a upraveno z [27].)

V nedávné době se začaly vyvíjet sensory založené na průchodu elektricky nabitých molekul skrze nanopóry. Tento sensor je tvořený membránou z izolantu, ve které jsou vytvořeny nanopóry. Tato membrána odděluje dva elektrolytické roztoky. Nabité molekuly jsou taženy skrze pór přivedeným elektrickým polem (např. princip elektroforézy). Měřením časové závislosti iontového proudu lze získat informace například o struktuře procházející molekuly. Tento princip se využívá například ke zjišťování sekvencí nukleotidů v DNA nebo aminokyselin v proteinech [42, 47].

Některé makroskopické elektroanalytické metody (např. voltametrie) využívají úpravy povrchu elektrod nanostrukturami (nanotyčinky, nanotrubičky, aj.) například ke zvýšení citlivosti měření vlivem zvětšení aktivního povrchu elektrody, nebo ke kontrole mikroprostředí v okolí elektrody [48].

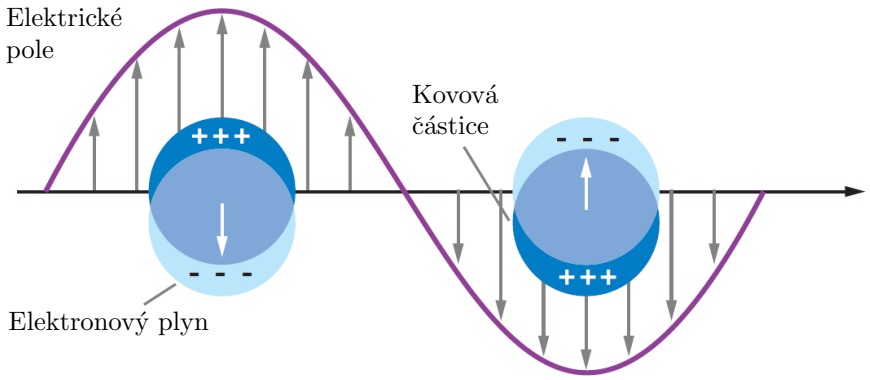
2.3. Optické biosensory

Optické sensory mohou být rozděleny do dvou hlavních skupin, sensory založené na detekci fluorescence a tzv. label-free sensory (sensory bez značení). Sensory využívající fluorescence mají buď rekogniční element nebo molekuly určené k detekci opatřené fluorescenční značkou. Samotná přítomnost fluorescenčního signálu z analytu poskytuje kvalitativní informaci o přítomnosti studované molekuly, zatímco jeho intenzita indikuje množství molekul a je tak údajem kvantitativním. Tyto metody jsou extrémně citlivé, ovšem proces značení může ovlivňovat funkci biomolekul. Oproti tomu label-free sensory umožňují detekovat molekuly v jejich přirozené formě. Významná skupina optických label-free sensorů využívá měření změny indexu lomu v blízkosti povrchu sensoru pomocí měření změny rezonanční vlnové délky lokalizovaných povrchových plasmonů (LSP)

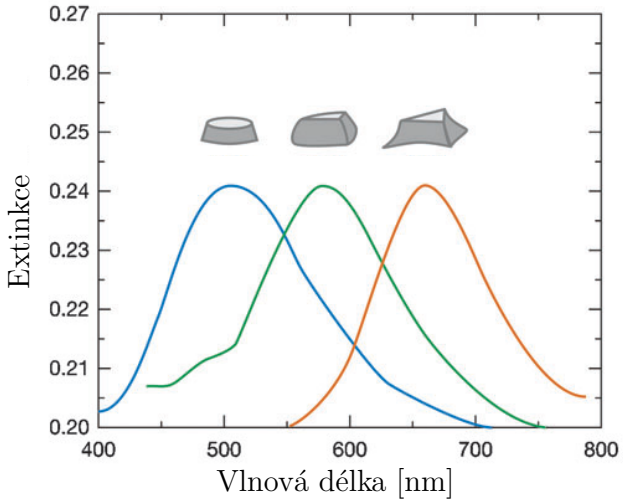
[37]. Dalšími příklady optických biosensorů jsou sensory založené na principu povrchové plasmonové rezonance (SPR) nebo sensory využívající optických vláken [26, 43].

2.3.1. Lokalizovaný povrchový plasmon

Lokalizované povrchové plasmony jsou vyvolány dopadem světla na kovové nanočástice, jejichž velikost je srovnatelná s vlnovou délkou dopadajícího světla (Obr. 2.5). Dopadající elektromagnetická vlna vyvolává kolektivní oscilace elektronového plynu uvnitř nanočástice, čímž lokálně zesílí elektromagnetické pole v blízkém okolí nanočástice (jednotky až desítky nanometrů). Vlnová délka, pro kterou nastane největší zesílení tohoto pole se nazývá rezonanční. Hodnota rezonanční vlnové délky závisí na parametrech jako je například tvar a materiál nanočástic, jejich vzájemné uspořádání a index lomu blízkého okolí nanočástic [11, 20]. Na Obrázku 2.6 vidíme porovnání extinkčního spektra pro různé tvary nanočástic. Vidíme, že rezonanční vlnová délka se mění pro různé tvary.



Obrázek 2.5: Schéma LSP. (Převzato a upraveno z [49].)



Obrázek 2.6: Ukázka závislosti extinkčního spektra na tvaru nanostruktury. (Převzato a upraveno z [49].)

Optické vlastnosti kovů popisuje Drudeho model. Vyjádření dielektrické funkce v kovu (2.1) je založeno na řešení pohybové rovnice elektronového plynu (2.2). Tato dielektrická

funkce má jak reálnou, tak imaginární složku. Frekvence $\omega_p = \sqrt{Ne^2/m\epsilon_0}$ je tzv. plasmová frekvence [16].

$$\epsilon(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2 + i\gamma\omega} \tag{2.1}$$

$$m\ddot{\vec{x}} + m\gamma\dot{\vec{x}} = -e\vec{E} \tag{2.2}$$

Má-li částice mnohem menší velikost, než je vlnová délka, můžeme využít kvazistatické aproximace pro popis interakce elektromagnetického pole s částicí. Při splnění podmínky $d \ll \lambda$ tato aproximace předpokládá, že fáze elektromagnetické vlny v okolí částice je konstantní, a tedy se dá použít výpočet pro řešení problému částice v homogenním elektrickém poli. Pro popis rozptylu viditelného světla lze tento model použít pouze pro částice menší než 100 nm. Pro větší částice je již potřeba použít složitější Mieho teorie [16, 20].

2.3.2. Plasmonické biosensory

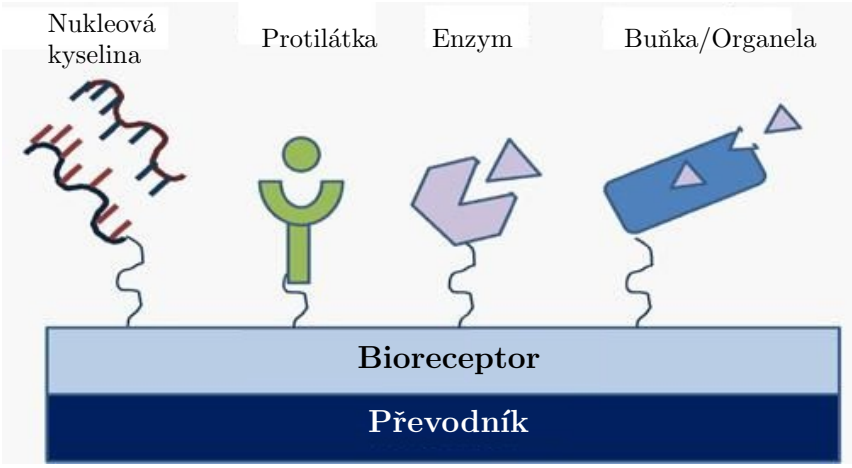
Jestliže se těsně k povrchu plasmonické struktury přiblíží biomolekula, dojde lokálně ke změně indexu lomu v blízkosti struktury, a tedy i výsledné rezonanční vlnové délky světla. Čím více částic se vyskytuje v okolí částice (nebo lépe naváže na její povrch), tím více se poloha rezonanční vlnové délky změní. Těchto změn se následně využívá i při biodetekci. LSP lze také využít pro zesílení elektrického pole v blízkosti nanostruktur, čehož se využívá například v metodě povrchem zesílené Ramanovy spektrometrie [3, 8]. Pro plasmonické biosensory se používají různé tvary a uspořádání nanočástic (např. prstence [17], póry [2]).

2.4. Funkcionalizace sensorů

Nejvýznamnější součástí sensorů pracujících v oblasti biologicky významných analytů je biorekogniční část zajišťující specifické navázání cílených molekul k povrchu převodníku. Toto navázání je zprostředkováno molekulami s více funkčními skupinami, které jsou schopné se adsorbovat a imobilizovat na povrchu převodníku (případně se na něj přímo chemicky navázat) a zároveň specificky rozeznat a navázat molekuly cílené k detekci (Obr. 2.7). Tyto molekuly jsou běžně označovány jako bioreceptory. Aplikací vrstvy bioreceptorových molekul na povrch převodníku se říká funkcionalizace sensoru.

Funkcionalizace sensoru může probíhat ve více krocích. Někdy je potřeba nejprve povrch převodníku vhodně upravit (aktivovat), aby bylo možné na něj navázat bioreceptory. V případě komplikovanějších systémů (jako je potřeba například pro detekci bakterií [6]) je často třeba nejprve navázat jeden druh molekul, sloužících jako spojovací můstek, na který se následně váže molekula schopná (v ideálním případě specificky) reagovat s cílenou molekulou.

Důležitými vlastnostmi biorekogničního elementu sensoru jsou specificita a afinita vazby mezi bioreceptorem a cílenou biomolekulou. Nedostatečná specificita může způsobit, že se na sensor budou vázat i jiné látky než studované molekuly a tím způsobovat chybnou odezvu v měření. Je proto nutné vždy vybrat vhodný způsob funkcionalizace povrchu sensoru tak, aby bylo možné předejít nespecifickým reakcím [31]. Vysoká afinita vazby mezi bioreceptorem a cílenou molekulou zaručuje pevnost této vazby, a tedy způsobí, že detekované molekuly zůstanou navázané k povrchu sensoru.



Obrázek 2.7: Příklady bioreceptorů. (Převzato a upraveno z [36].)

2.5. Konstrukce biosensorů

Jak již bylo nastíněno v úvodní kapitole, biosensor pro svoji práci nutně potřebuje kromě biorekogniční části i celou řadu podpůrných systémů. Biorekogniční element je většinou nejnákladnější a výrobně nejkomplikovanější částí biosensoru, tudíž jeho rozměry obvykle nedosahují velikosti vhodné pro manipulaci cílenou obsluhou. Navíc biorekogniční element je obvykle postaven pro práci specificky s jednou molekulou, nebo jejich skupinou, v definovaném rozpouštědle, což je v přímém kontrastu ke skutečnosti, že analyzovaná soustava je mnohdy směsí různorodých látek, často po separaci vzájemně nemísitelných. Použití biosensoru by tak nutně muselo předcházet několik procesů chemického nebo fyzikálního čistění studované látky, a tak by celý systém výrazně ztrácel na efektivitě. Problém předúpravy vzorku před měřením vedl k masivnímu rozvoji a výzkumu vysoce integrovaných řešení, sloužících k celému procesu extrakce, purifikace a charakterizace analytu přímo z primárního zdroje. Takové systémy jsou často označovány pod souhrnnou skupinu „Lab on chip“ (Laboratoř na čipu), neboť ve své podstatě nahrazují funkčně malou analytickou laboratoř. Hlavní souhrnnou charakteristikou těchto systémů je možnost jejich vysoké a zároveň relativně levné integrace pomocí v současné době užívaných planárních technik polovodičového průmyslu. Obvykle se používá velmi malé množství analyzovaných látek i látek sloužících k analýze a jejich mikromanipulace v mikronové až submikronové oblasti pomocí mikrofluidních technik.

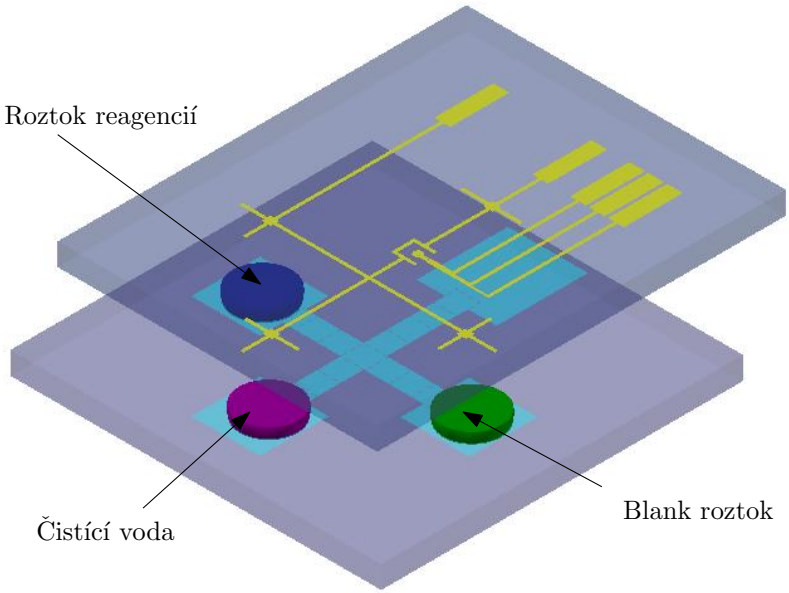
2.5.1. Mikrofluidika

Mikrofluidika se zabývá studiem a řízenou manipulací kapalin na submilimetrové úrovni. Chování kapalin v měřítku mikrometrů je výrazně odlišné od chování kapalin v makrosvětě. V mikrosvětě je chování kapalin řízeno jiný silami. Například vliv gravitačních sil je méně významný a povrchové pnutí spolu s kapilárními silami určují chování kapalin v mikrosystémech. Tohoto lze využít k pasivnímu pumpování tekutin mikrokanálky nebo například k filtrování analytů [33].

Využití mikrofluidiky při studiu biomolekul přináší mnoho výhod. Ke studii vzorku stačí malé množství analytu a je možné využít mikrofluidních systémů například k filtraci analytu případně k dalším jeho modifikacím. Jelikož v mikrofluidních systémech dochází zpravidla k laminárnímu proudění, je možné předvídat dynamiku kapalin. Při laminárním

proudění také nedochází k mísení kapalin, a tedy lze předvídat i kinetiku difuze molekul. Mikrofluidní systémy tedy umožňují přesnou kontrolu vzorku při analýze [33].

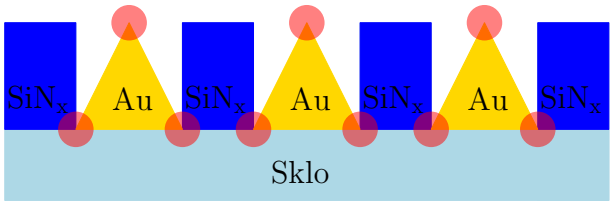
K výrobě mikrofluidních systémů lze využít různých materiálů jako je třeba křemík, který je dobře tepelně vodivý a pevný, ale na druhou stranu neprůhledný. Dalším materiálem vhodným pro mikrofluidní systémy je sklo, jehož příprava je ovšem v porovnání s jinými materiály drahá a časově náročná [52]. Velmi vhodným materiálem jsou polymery a elastomery. Typicky používanými polymery jsou například polystyren, polypropylen, PMMA (Polymethylmethakrylát) a zejména PDMS (Polydimethylsiloxan) [52]. Příklad mikrofluidního systému je znázorněn na Obrázku 2.8.



Obrázek 2.8: Příklad mikrofluidního systému laboratoře na čipu. (Převzato a upraveno z [50].)

3. Nanokužely a nanomenhiry

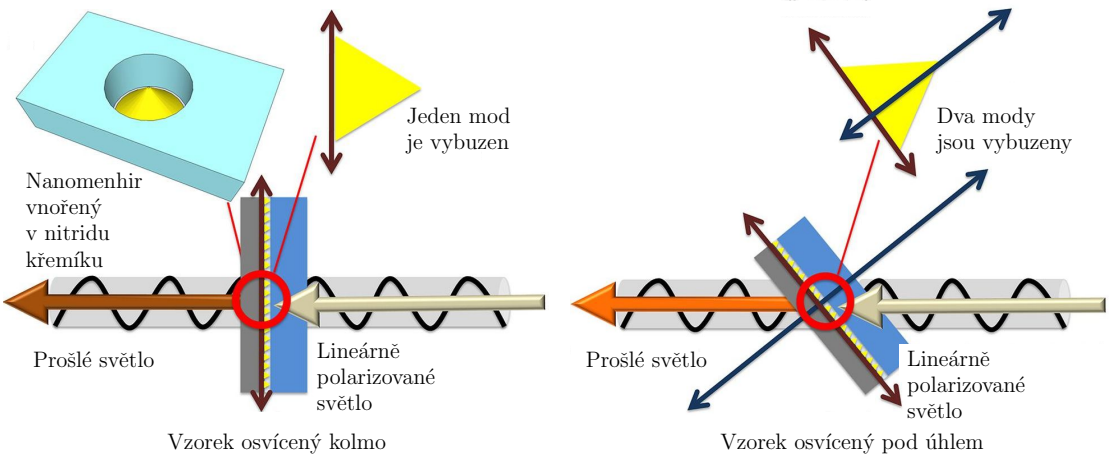
Jedna z nových metod optické biodetekce využívá asymetrie nanostruktur vnořených v nanokavitách, tzv. nanokuželů (Obr. 3.1). Ovšem depoziční metody neumožňují vytvoření takových přesně definovaných tvarů a výsledná struktura bývá deformována. Tyto útvary ve výsledku připomínají menhiry, a proto se místo termínu nanokužely používá vhodnějšího názvu nanomenhiry. Výhodou tohoto typu sensoru je, že při šikmém dopadu lineárně polarizovaného bílého světla na asymetrickou nanostrukturu vzniká více plasmonových modů. Což je rozdíl oproti obvyklejším plasmonovým biosensorům, které využívají symetrických struktur pro vznik pouze jednoho modu.



Obrázek 3.1: Nákres struktury nanomenhirů.

Pro pozorování plasmonových modů vzniklých na výše popsaných nanostrukturách, které tvoří nanomenhirové pole, se používá dopadu lineárně polarizovaného bílého spektra a následné detekce extinkčního spektra.

Při kolmém dopadu světla na pole nanostruktur je dle dipolové aproximace vyvolán jeden plasmonový mod vznikající na rozhraní mezi podstavou menhiru a substrátu (Obr. 3.2a). Osvítíme-li ovšem substrát pod úhlem, vzniká navíc i druhý plasmonový mod podél osy menhiru (Obr. 3.2b) [14]. Každý mod odpovídá zesílení evanescentního pole v určitých místech nanomenhiru (tzv. „hotspot“), která jsou znázorněna červenými kolečky na Obrázku 3.1.



a) b)

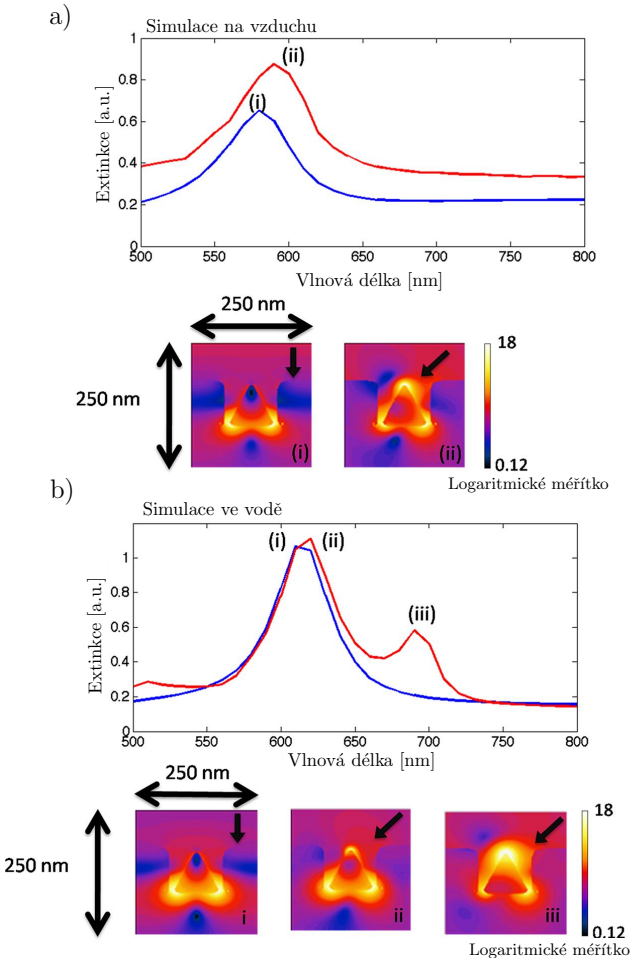
Obrázek 3.2: Schematická reprezentace detekčního principu nonomenhirové řady. a) Vzorek je kolmo osvícen lineárně polarizovanou vlnou, vzniká pouze jeden mod na podstavách menhirů. b) Vzorek je osvícen pod úhlem 45 °, dva mody jsou vyvolány: na podstavách a podél osy menhirů. (Převzato a upraveno z [14].)

Jelikož nám vznikají dva různé mody odpovídající různým místům na menhiru, jsme schopni ze změny odezvy jednotlivých modů určit, ve kterém místě v blízkosti povrchu

se změnila dielektrická funkce okolního prostředí. Této vlastnosti se využívá k detekci místa navázání supramolekulárních struktur, jako jsou například liposomy nebo lipidové dvojvrstvy. Konkrétně v tomto typu sensoru se využívá toho, že menší molekuly jsou schopny se vázat blíže k podstavě menhirů, a tedy ovlivňují změnu odezvy modu jejích „hotspotů“. A tedy za použití více platform s poli těchto nanostruktur různých geometrií jsme schopni určit velikost částic vázajících se na povrch menhirů.

3.1. Extinkční spektra

Jak bylo výše popsáno, při osvitu pod úhlem 90 ° vzniká jeden plasmonový mod a při šikmém osvitu vznikají mody dva. Tyto mody se projeví v extinkčním spektru jako excitační píky. Simulace extinkčního spektra potvrzené experimentem ukazují následující vlastnosti [14].



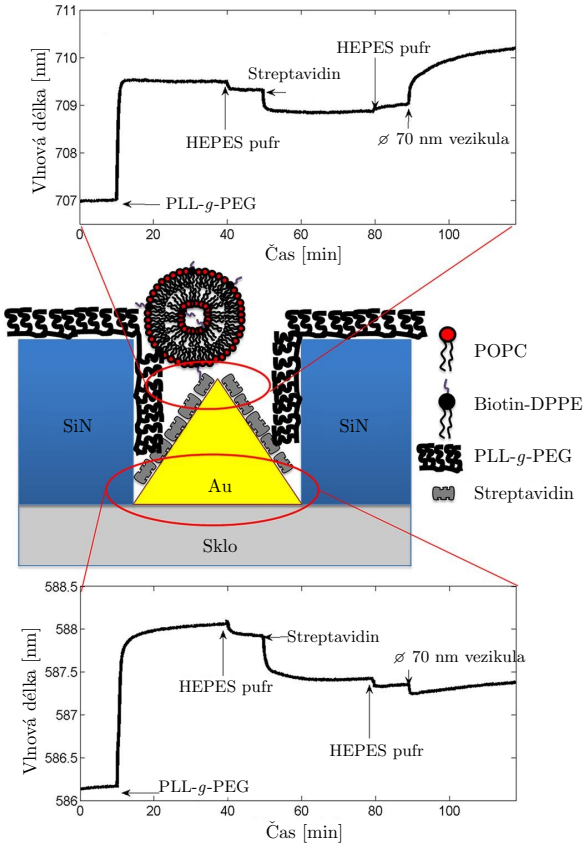
Obrázek 3.3: Výsledky simulací sensoru s nanomenhirovou řadou. Rozměry struktur: průměr základen menhirů 100 nm, výška 100 nm, zakulacení hran, aby měli poloměr ∼7 nm. a) Simulace ve vzduchu. b) Simulace ve vodě. Modrá křivka kolmý osvit, červená osvit pod úhlem 45 °. Pod grafy extinkčních spekter vloženy grafy elektrického pole příslušející jednotlivým excitačním píkům. (Převzato a upraveno z [14].)

Pro simulace byl zvolen model zlatého nanokuželu o průměru podstavy 100 nm, výškou 100 nm vnořený do stejně rozměrné válcové nanokavity s periodickou okrajovou podmínkou 250 nm.

Po simulaci osvícení sensoru v prostředí vzduchu pod úhlem 90 ° vzniká v extinkčním spektru jeden excitační pík náležející modu, jenž vzniká na podstavě kužele. Pro osvit pod úhlem 45 ° lze v extinkčním spektru také rozeznat pouze jeden pík, který ovšem vzniká překryvem dvou píků odpovídajících modům podstavy a vrcholu kužele (Obr. 3.3a). Po vložení simulací do vodného prostředí, dochází k posunu píků do vyšších vlnových délek. Jelikož toto prostředí ovlivňuje více mod vznikající na vrcholu kužele než na podstavě, dochází k separaci píků při osvitu pod úhlem 45 ° (Obr. 3.3b). Toto indikuje, že můžeme detekovat lokální změny indexu lomu v okolí nanokuželů, a tedy detekovat vazebné interakce na různých místech povrchu této struktury.

3.2. Funkcionalizace sensoru

Pro využití struktur nanomenhirů vnořených v nanokavitách pro biosensoriku je třeba povrch struktur funkcionalizovat. Pro ukázku funkcionalizace sensoru zde bude uveden příklad modifikace povrchu pro detekci lipozomů a průběh posunu excitačních píků pro oba mody během těchto procesů [14].



Obrázek 3.4: Sensor po funkcionalizaci a navázání vezikul o poloměru 70 nm spolu s grafy posunu excitačních píků. (Převzato a upraveno z [14].)

Jelikož liposomy se mohou vázat na oxidovaný nitrid křemíku a vytvářet lipidové dvojvrstvy na povrchu nosiče [15], je třeba povrch nitridu inertizovat pomocí PLL-*g*-

-PEG. Tento polymer vytváří na povrchu monovrstvu zabraňující navázání lipozomů. Následně se k povrchu přivede roztok obsahující streptavidin, který na zlatě nahradí PLL-*g*-PEG, jelikož má k němu vyšší afinitu. Na streptavidin se specificky váží biotinem funkcionalizované molekuly, mezi které se řadí i lipozomy.

Obrázek 3.4 znázorňuje finální vzhled sensoru po navázání biotinylovaného vezikula a reprezentační měření posunu excitačních píků odpovídajících plasmonovým modům na vrcholu a podstavě. Z grafů lze vyvodit, že posun excitačního píku způsobený navázáním PLL-*g*-PEG a streptavidinu je pro oba mody podobný, zatímco po navázání vezikul o průměru 70 nm se každý excitační pík posunul jinak. Vezikul se navázal v blízkosti vrcholu, a tedy ovlivnil jeho mod více než podstavový mod, který polohu píku téměř nezměnil [14].

4. Použité metody

V této kapitole jsou popsány metody použité při výrobě sensoru popsaného v předchozí kapitole.

4.1. Depozice

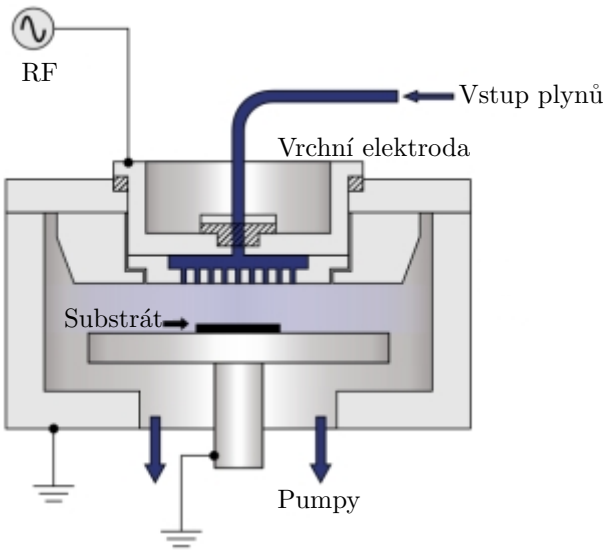
Depoziční metody jsou metody přípravy tenkých vrstev. Tenkou vrstvou nazýváme vrstvu na povrchu substrátu, která má tloušťku menší než jeden mikrometr. Podle principu, na kterém je depozice založena rozdělujeme tyto metody na chemické depozice z plynné fáze (CVD) u kterých hraje majoritní roli především chemická reakce a fyzikální depozice z plynné fáze (PVD), který je naopak založena spíše na čistě fyzikálních principech [22]. Rozhraní mezi těmito metodami je vyplněno častými metodami hybridními např. využívajících fyzikálních principů při získávání částic ovšem doplněných o chemickou reakci této částice jak už na povrchu substrátu, tak v průběhu samotného fyzikálního vzniku částice.

Pro splnění požadavku na fyzikální proces musí být obvykle zajištěn přímý přestup atomů materiálu do plynné fáze v důsledku odpaření nebo impaktu energetické částice. Zdrojem částic musí být až na výjimky taveniny nebo pevné látky (na rozdíl od CVD procesů, kde se v drtivé většině jedná o plyny), nesmí docházet k chemické reakci s povrchem substrátu ani atmosférou a tyto procesy musí být prováděny ve vysokém vakuu, nebo inerní atmosféře [25].

4.1.1. Plazmochemická depozice z plynné fáze

Jednou ze specifických metod CVD je plazmochemická depozice z plynné fáze (PECVD). CVD metody jsou založené na principu chemické reakce mezi povrchem substrátu a reaktivním plynem přiváděným do jeho blízkosti. Většina CVD metod také využívá vysoké teploty pro vytvoření správných podmínek ke vzniku reakce (většinou větší než 600 ° C). Metoda PECVD využívá plazmatu ke snížení potřebné teploty (obvykle pod 300 °). Nižší depoziční teploty se využívá například v případě, kdy by vyšší teploty mohly poškodit substrát, nebo je požadována depozice na substrát jehož katalitické vlastnosti by neumožňovaly přímou depozici, nebo by vedla na jiné produkty. Při PECVD je využíváno sníženého tlaku, tudíž PECVD má obvykle vyšší depoziční rychlost než termická CVD [10, 22, 34, 45].

Schéma reaktoru pro PECVD je znázorněno na Obrázku 4.1. Do komory je přiváděn reaktivní plyn a plyn pro vznik plazmatu pomocí distribučního zařízení tzv. „sprchy“, která zajišťuje uniformitu depozice na substrát. Pomocí radiofrekvenčního zdroje výkonu připojeného na pracovní elektrodu vytváříme plazma, které tvoří chemicky vysoce reaktivní částice (radikály a ionty) a zároveň dodává energii částicím na povrchu, čímž podporuje jejich povrchovou difuzi a nukleaci [10]. Po kontaktu reaktivních částic s povrchem dochází ke vzniku nových chemických vazeb, a tak k růstu vrstvy. Je-li reaktor uspořádán navíc s možností připojení dodatečného potenciálu k pracovní elektrodě nesoucí substráty, je povrch deponované vrstvy navíc bombardován i energetickými ionty, které mohou výrazně ovlivňovat cílové složení vrstvy [34].



Obrázek 4.1: Schéma reaktoru pro PECVD. (Převzato a upraveno z [29].)

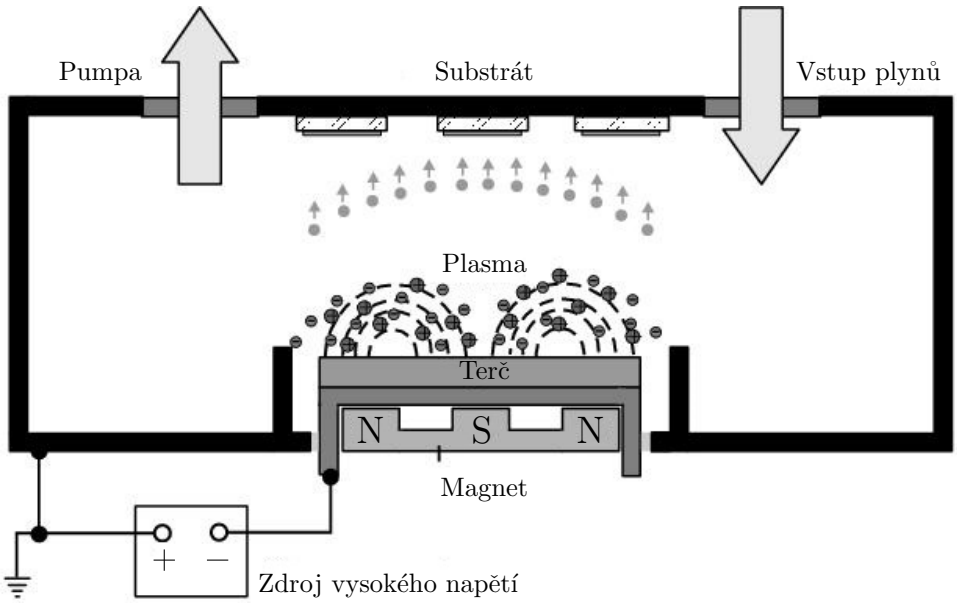
4.1.2. Magnetronové naprašování

Příkladem typické PVD metody použité následně v realizaci experimentální části této práce je magnetronové naprašování. Zdrojem naprašovaných částic je v tomto případě magnetron [22]. Základem magnetronu je permanentní magnet, který nad terčem udržuje magnetické pole schématicky znázorněné na Obrázku 4.2. K terči je přiváděn snadno ionizovatelný obvykle chemicky inertní plyn (většinou argon), ze kterého se pomocí zdroje stejnosměrného napětí (DC) nebo radiofrekvenčního zdroje (RF) vytváří plazma, které slouží jako zdroj iontů, které dopadají na povrch terče. Nabité částice v plazmatu (především elektrony) jsou magnetickým polem udržovány v blízkosti povrchu, aby zvyšovaly hustotu plazmatu a tudíž dosažení vyšší depoziční rychlosti než bez magnetického pole [45].

Odprášené atomy opouštějí magnetron, zatímco elektricky nabité částice jsou zpravidla udržovány magnetickým polem v blízkosti terče. Energie se kterou dopadají na substrát ovšem závisí na tlaku v komoře, který určuje střední volnou dráhu atomů, energii primárních částic udanou především výkonem zdroje (potenciálovým rozdílem) a vzdáleností substrátu od magnetronového zdroje [24]. S těmito parametry poté úzce souvisí rychlost depozice.

4.1.3. Napařování

Napařování je metoda PVD založená na odpařování žádaného materiálu z taveniny. Tento proces je uskutečněn buď průchodem proudu tavícím kalíškem, dopadem elektronového svazku nebo laserového paprsku nebo případně jinou metodou dodávající materiálu dostatečnou energii pro jeho zahřáti na teplotu tání/varu. Proti tomuto zdroji částic je zpravidla umístěn držák se substrátem, na kterémm probíhá kondenzace odpařených částic. Proces využívá vakua v rozmezí 10^{-3} až 10^{-9} Pa. Při tomto tlaku mají částice velkou střední volnou dráhu oproti vzdálenosti substrátu od zdroje a tedy se částice převážně pohybují v přímém směru a dopadají nejvíce na povrch substrátu, který je umístěný přímo proti tomuto zdroji [45].



Obrázek 4.2: Schéma magnetronového naprašování: Ionty vytvořené plazmatem jsou urychlovány směrem k terči, kde dochází k odprášení materiálu, který kondenzuje na povrchu substrátu (Převzato a upraveno z [24].)

Elektronové napařování

Je-li odpařování materiálu způsobováno dopadem elektronového svazku mluvíme o takzvaném elektronovém napařování (Electron Beam Physical Vapor Deposition - EBPVD).

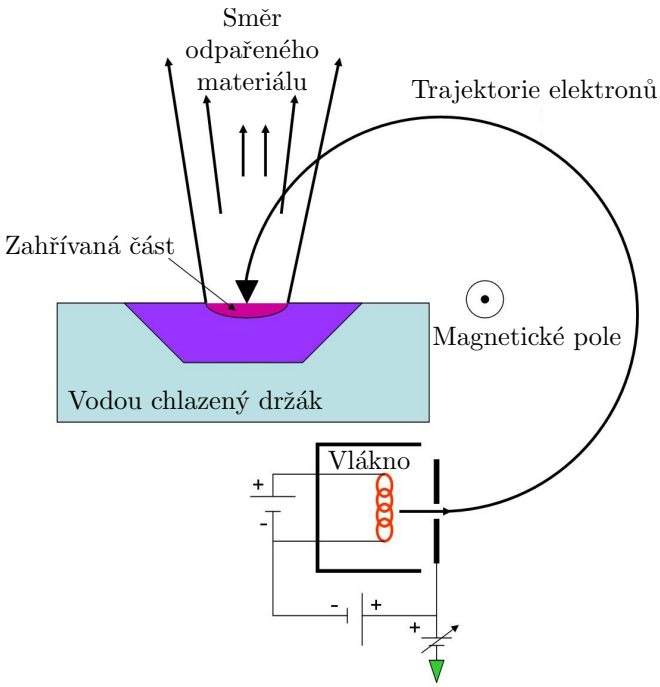
Elektronový odpařovací zdroj je tvořen kalíškem s evaporantem, který je ochlazován vodou, a odpařován svazkem elektronů. Zdroj elektronů je tvořen katodou (např. žhaveným wolframovým vláknem), ze které jsou extrahovány elektrony a urychlovány k anodě. Urychlovací napětí mezi anodou a katodu může nabývat hodnot od jednotek kilovoltů až po 20-30 kV. Magnetické pole poté vychyluje elektrony a fokusuje svazek elektronů na povrch evaporantu (Obr. 4.3) [21, 22, 45].

Výhodou elektronového odpařovacího zdroje je vysoký měrný výkon a dobrá kontrola odpařovací rychlosti. Další výhodou je, že se odpařuje pouze povrch evaporantu, jelikož zbytek kalíšku je chlazen vodou. Díky tomu nedochází ke kontaminaci odpařovaného materiálu materiálem kalíšku[21, 22, 45].

4.2. Leptání

Leptání je fyzikální nebo chemický proces odstraňování částic z povrchu pevné látky. Leptací metody lze rozdělit podle skupenství leptací látky na mokré leptání, je-li leptadlem kapalina, a suché leptání, je-li leptadlem plyn případně plazma. Suché leptání lze dále rozdělit podle podstaty procesu na fyzikální a chemické, případně kombinované leptání [22, 44, 45].

Procesy chemického mokrého leptání jsou založeny na reakci materiálu vrstvy vystavené vhodnému roztoku leptadla. V případě chemických leptadel užívaných v mikro- a nanovýrobě jsou těmito, až na výjimky, roztoky silných kyselin a zásad, případně doplněné o podpůrné složky zajišťující rovnoměrný průběh, případně upravující interakci leptadla a povrchu materiálu (úprava smáčivosti, odstranění nativní vrstvy oxidu apod.).



Obrázek 4.3: Schéma elektronového odpařovacího zdroje (Převzato a upraveno z [4].)

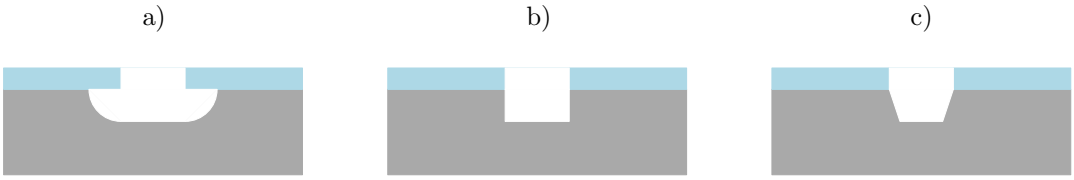
Výjimečně jsou k tomuto leptání užívány soli a komplexní organické molekuly. Vzhledem k hlavnímu zaměření práce je jako příklad uvedeno leptání SiN_x v koncentrované kyselině trihydrogenfosforečné (4.1).

$$3Si_3N_4 + 27H_2O + 4H_3PO_4 \longrightarrow 4(NH_2)_3PO_2 + 9H_2SiO_3 \tag{4.1}$$

Chemickým suchým leptáním se nazývají procesy, kdy dochází k chemické reakci mezi molekulami na povrchu leptaného materiálu a molekulami plynu v okolí substrátu a následné difuzi produktů reakce do prostoru. Při fyzikálním leptání dochází k odprašování částic z povrchu vlivem dopadu částic s vysokou kinetickou energií (např. iontovým svazkem).

Pro popis jednotlivých metod leptání používáme následující parametry. Prvním parametrem je rychlost leptání, která určuje množství materiálu odstraněného z povrchu substrátu za jednotku času. Rychlost leptání se definuje pro určitý směr a udává se v jednotkách $nm \cdot s^{-1}$.

Dalším parametrem je směr leptání, který určuje profil vyleptaného povrchu. Jestliže je rychlost leptání ve všech směrech stejná, leptání nazýváme izotropní. Má-li leptání různou rychlost pro různé směry, nazýváme leptání anizotropním (Obr. 4.4).



Obrázek 4.4: Příklady profilu a) izotropního leptání b) a c) anizotropního leptání.

Důležitým parametrem leptání je selektivita. Selektivita je určena rozdílnými rychlostmi leptání pro různé materiály [22]. Toho se využívá, jestliže je požadováno leptání jen určité části povrchu. Povrch je překrytý tzv. dočasnou maskou, která je obvykle inertní

k leptadlu nebo je leptána pomaleji nežli materiál pod ní, případně alespoň musí vydržet po dobu nezbytně nutnou pro leptání povrchu.

Porovnáme-li vlastnosti chemického a fyzikálního leptání, platí obecně, že chemické leptání je rychlé, velmi dobře selektivní a až na výjimky izotropní, zatímco fyzikální leptání je pomalejší, s nízkou selektivitou, zato převážně směrové. Kombinací fyzikálního a chemického leptání lze dosáhnout vysoké leptací rychlosti, vysoké selektivity a směrovosti leptání.

4.2.1. Reaktivní iontové leptání

Jednou z nejvýznamnějších fyzikálně-chemických metod suchého leptání je reaktivní iontové leptání (RIE).

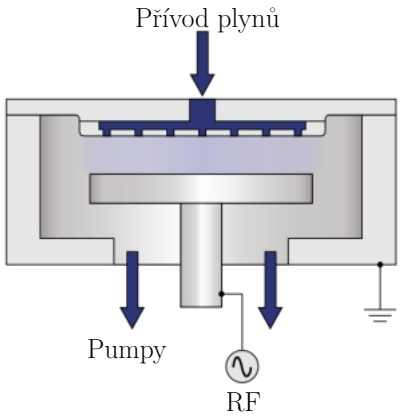
Metoda RIE je plazmochemický proces probíhající obvykle v kapacitně vázaném doutnavém výboji radiofrekvenčního plazmatu. V důsledku působení silného střídavého elektrického pole a nízké koncentrace plynu v mezielektrodovém prostoru dochází k ionizaci atomů (a molekul) plynu a tudíž následně k tvorbě radikálů, iontů a specifické emisi záření (obvykle ve viditelné oblasti). Rozdíl v hmotnosti elektronů a iontů (nabitých částic v plazmatu) předurčuje jejich výrazně rozdílnou reakci na působení vysokofrekvenčního elektrického pole. Elektrony, vzhledem ke své výrazně nižší hmotnosti jsou schopny účinně reagovat na působení VF pole a dosáhnou tak snadno povrchu pracovní elektrody, zatímco výrazně těžší ionty nikoli. V důsledku tohoto jevu (a kapacitního oddělení aktivní elektrody) dochází v mezielektrodovém prostoru k tvorbě stejnosměrného potenciálu označovaného často jako předpětí, nebo „Self bias“. Ionty jinak neschopné reakce na VF pole, získají energii pomocí působení mezielektrodového předpětí a na povrchu substrátu umístěného na pracovní elektrodu dopadají směrově.

Neboť v metodě RIE je užíváno reaktivních plynů, vznikající radikály a ionty jsou obvykle schopny přímé reakce se substrátem, v důsledku čehož je zaručena vysoká rychlost reakce a značná selektivita, při zachování žádaného anizotropního profilu leptání.

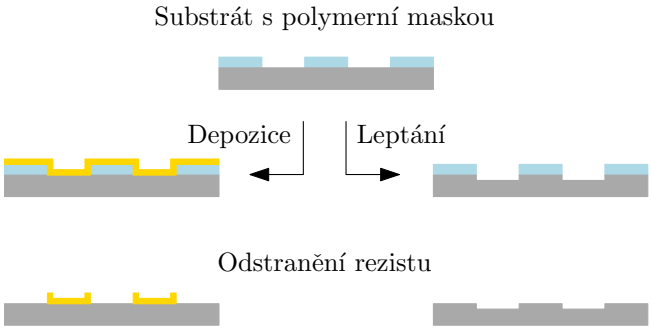
Reaktor s rovnoběžnými rovinnými elektrodami je nejčastější uspořádání pro RIE (Obr. 4.5). Horní elektroda je uzemněna a je v ní integrován systém distribuce plynů tzv. „sprcha“. Na dolní elektrodu, která zároveň slouží jako držák substrátu, je připojen kapacitně oddělený a přizpůsobený vysokofrekvenční zdroj. Procesní tlak se typicky pohybuje v rozmezí $10^0 - 10^1$ Pa [45]. V závislosti na tlaku v komoře (a tak na střední volné dráze), použitých plynech a výkonu elektrického generátoru je běžná hodnota vznikajícího potenciálového rozdílu elektrod 100 - 800 V.

4.3. Litografie

Z pohledu mikro- a nanotechnologií se litografií míní výroba malých struktur, jejichž velikost se pohybuje v řádech mikrometrů respektive nanometrů. Většina litografických metod se nepoužívá přímo k výrobě finálních struktur, ale pouze k výrobě takzvaných dočasných masek, které slouží jako šablona k vytvoření finálních struktur například pomocí některé z leptacích nebo depozičních metod (Obr. 4.6). Mezi tyto metody patří i optická a elektronová litografie, jejichž principy jsou aplikovány v experimentální části práce a proto budou popsány podrobněji v dalším textu.



Obrázek 4.5: Schéma reaktoru pro RIE. (Převzato a upraveno z [32].)



Obrázek 4.6: Využití litografických metod k výrobě finálních struktur.

Optická a elektronová litografie jsou založené na principu změny strukturních vlastností látky (většinou polymerní látky) po expozici světelným nebo elektronovým svazkem.

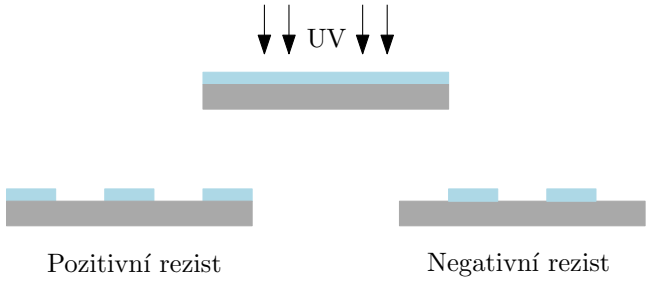
4.3.1. Fotolitografie

Optická litografie, jinak také fotolitografie, využívá fotocitlivých polymerů, nazývaných „fotorezisty“ [19]. Tento polymer je zpravidla nanesen na povrch substrátu pomocí metody spincoatingu (rotačního lakování) a vytváří na povrchu tenkou uniformní vrstvu o tloušťě stovek nanometrů až jednotek mikrometrů. Spincoating je metoda vytváření tenkých vrstev, kdy se na substrát nanese zředěný polymer a následnou rotací substrátu při vysokých otáčkách dochází k rozprostření polymeru po povrchu substrátu. Tloušťka nanesené vrstvy závisí na rychlosti otáčení, na poměru, v jakém byl polymer zředěn, a na viskoelastických vlastnostech samotného polymeru.

Následně je třeba nanesenou vrstvu vystavit záření vhodné vlnové délky. Často se využívá ultrafialového světla, především pro jeho vysokou energii a krátkou vlnovou délku a známou absorbci v molekulách s konjugovaným systémem dvojných vazeb. Fotolitografie využívající UV záření je často také označována jako UV litografii (UVL). Typicky se obraz na povrch substrátu přenáší pomocí prosvícení binární masky (masky disponující pro vlnovou délku záření průchozími a neprůchozími oblastmi) přímo na povrch rezistu. Tento způsob přenosu obrazu je velmi efektivní s vysokou produktivitou, proto je obvykle nasazován v již zaběhnuté technologii. Pro prototypovou výrobu a přípravu samotných binárních masek pak byly vyvinuty i metody expozice polymeru UV laserovým svazkem

(DWL), kdy laserový svazek je vychylován a skenuje po povrchu, čímž osvicuje pouze požadované oblasti na fotorezistu [22].

Vytvoření struktur ve fotorezistové masce se dokončí vyvoláním rezistu v chemické látce, která odstraní buď část, která byla exponována UV světlem (v případě tzv. pozitivního rezistu), nebo část, která nebyla exponována (negativní rezisty). Schéma výsledku po vyvolání pozitivního a negativního rezistu je znázorněno na Obrázku 4.7.



Obrázek 4.7: Rozdíl mezi pozitivním a negativním rezistem.

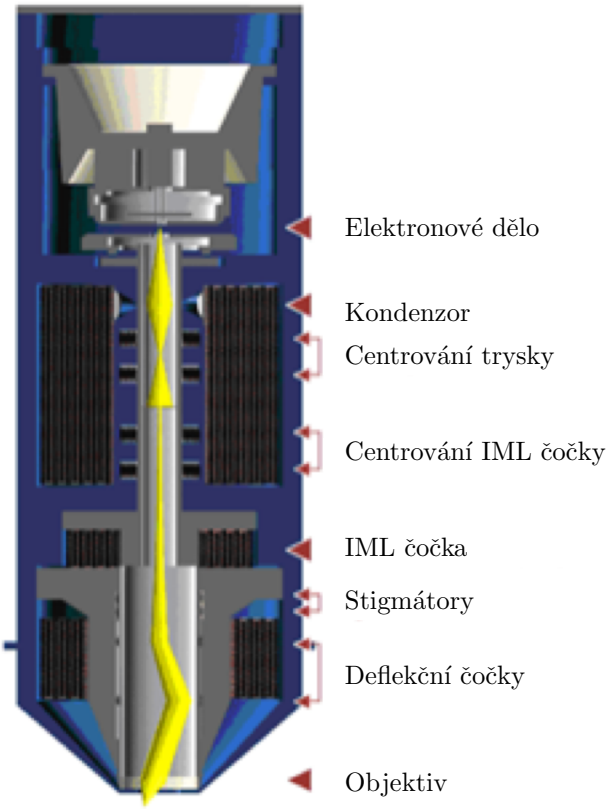
Výhodou UV litografie je její rychlost, ovšem velikost nejmenších prvků, které jsme schopni vytvořit, se pohybuje u nejlepších dostupných technologiií řádově v rozmezí desítek nanometrů. Oproti tomu pomocí elektronové litografie je možno dosáhnou rozlišení struktur velkých jen několik jednotek nanometrů [30, 39, 40].

4.3.2. Elektronová litografie

S rostoucími požadavky na rozlišení vlnová délka světla, byť v UV oblasti, již nevyhovuje. Pro experimentální účely může být však velmi úspěšně nahrazena metodou využívající místo fokusovaného světelného svazku, svazek elektronový. Elektrony mají stejně jako světlo i vlnový charakter (4.2), ovšem v případě elektronů jsme schopni dosáhnout menších vlnových délek než má Extrémní UV (EUV), proto má elektronová litografie vždy vyšší rozlišení než-li optická [18, 22].

$$\lambda = \frac{h}{p} = \frac{h}{mv}\sqrt{1 - \frac{v^2}{c^2}} \tag{4.2}$$

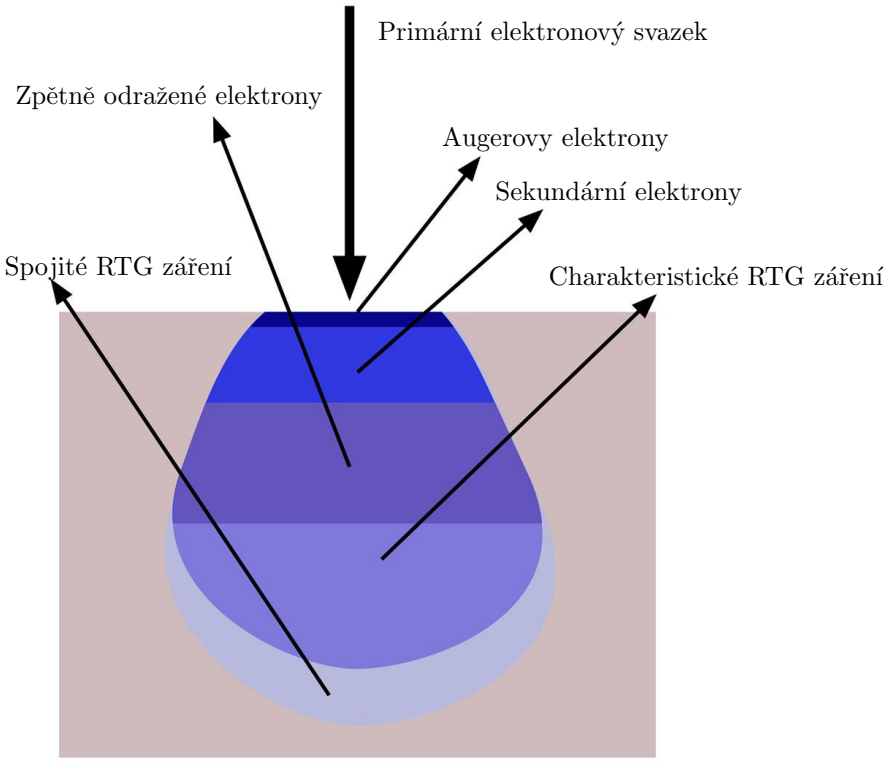
Obdobně jako v případě optické litografie i litografie elektronová disponuje možností osvitu negativního a pozitivního motivu v závislosti na použitém elektronovém rezistu.



Obrázek 4.8: Uspořádání přístroje pro EBL (Převzato a upraveno z [38].)

Uspořádání přístroje pro EBL lze viděl na Obrázku 4.8. Z katody jsou extrahovány elektrony a pomocí anody jsou urychlovány (uvnitř elektronového zdroje). Tento svazek elektronů poté prochází systémem čoček sloužícím k jeho fokusaci. Tento systém obsahuje kromě čoček pro fokusaci svazku také tzv. „beam blanker“ sloužící k odklonění svazku ze vzorku, dále deflekční cívky určené k vychylování svazku po vzorku a apertury sloužící k ořezání svazku [22, 40]. Takto upravený svazek tedy dopadá na povrch vzorku a interaguje s materiálem, kde modifikuje jeho chemické složení.

Při dopadu primárního elektronového svazku na povrch substrátu dochází v důsledku interakce svazku s atomy rezistového laku a substrátu mimo jiné k dopředným rozptylům primárních elektronů, jejich zpětnému odrazu z materiálu substrátu a vzniku sekundárních elektronů. V důsledku tohoto jevu nedochází k deponování dávky elektronů pouze v bodě teoretické stopy svazku, ale i také k jejímu rozprostření do blízkého okolí. Pokud je v blízkosti exponována jiná struktura, dávka potřebná pro tuto strukturu bude odlišná (nižší) o dávku deponovanou již v předchozím elementu. Naopak pokud je skenována struktura větší plochy, dávka uvnitř této plochy je součtem všech zapisovaných bodů a jim příslušným rozptýleným elektronům. Toto vede ke skutečnosti, že dávka ve středu struktury je výrazně odlišná od dávky na jejím okraji. Tento jev je v literatuře obvykle nazýván vnějším, resp. vnitřním proximity efektem (Obr 4.9). Kompenzace tohoto nežádoucího jevu při výrobě ucelených struktur je jednou z nejnáročnějších částí návrhu dočasné masky nové struktury.

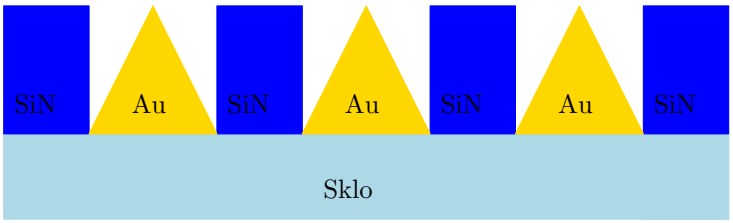


Obrázek 4.9: Znázornění interakce primárních elektronů se substrátem.

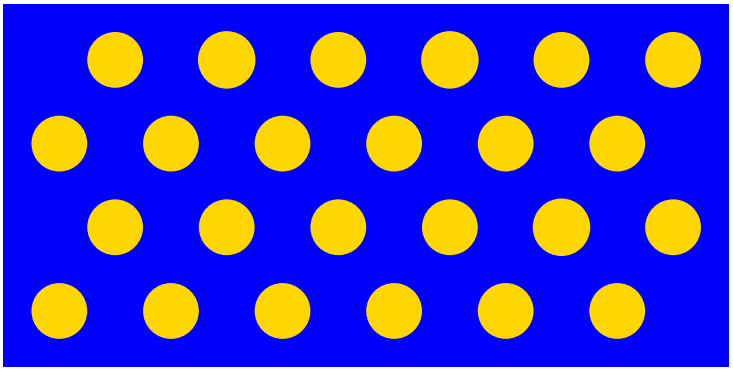
Při shrnutí výhod a nevýhod elektronové litografie, lze konstatovat že EBL je forma velmi přesné litografie, která je ovšem limitovaná „proximity efektem“ a velmi nízkou produktivitou v porovnání s jinými litografickými metodamy [18].

5. Postup přípravy

Jedním z cílů bakalářské práce bylo vyrobit biosensor pracující na principu popsaném v kapitole 3. Předkládaný návrh počítá s vysoce orientovanou soustavou nanopórů ve vrstvě nitridu křemíku na, pro viditelné vlnové délky, transparentním substrátu. V každém ze zmíněných pórů je umístěn zlatý menhir o základně rozměrově přibližně odpovídající šířce nanopóru a výšce definované především tloušťkou samotné nitridové vrstvy (Obr. 5.1). Nanopóry budou uspořádány do regulárních hexagonálních polí (Obr. 5.2), přičemž bude variována jejich geometrie (průměr děr a mezistředová vzdálenost). Hexagonální matice byla zvolena především pro celkově větší zaplnění povrchu.



Obrázek 5.1: Nákres struktury biosensoru.



Obrázek 5.2: Hexagonální pole nanopórů v nitridu křemíku se zlatými menhiry.

Postup přípravy struktur se skládá z následujících kroků:

- depozice SiN_x na skleněný substrát,
- vytvoření dočasné masky pro leptání SiN_x litografickými technikami,
- vyletání nanopórů pomocí RIE,
- depozice zlatých menhirů,
- odstranění dočasné masky.

5.1. Depozice SiN_x

Na nitrid křemíku byl s ohledem na skutečnost potenciální výroby samonosné membrány kladen výrazný požadavek na celkově co nejnižší stres ve vrstvě. Vzhledem k tomuto požadavku je možné narůstat nitrid křemíku prakticky pouze dvěma způsoby, a to depozicí ve vysokoteplotním reaktoru za sníženého tlaku metodou LPCVD, nebo plasmochemicky

metodou PECVD za teplot výrazně nižších (do 100 °C). V průběhu řešení Bc. práce, nebylo zpočátku možné provádět depozice SiN_x (stechiometrie u PECVD není zaručena chemickou reakcí, x tedy uvádí nespecifické složení směsi) metodou PECVD, přestože by se jevila jako metoda vhodnější a to především z důvodu opožděné instalace zařízení umožňujících tyto procesy v prostorech CF NANO CEITEC VUT. Alternativa ve formě depozice v komerčních zařízeních včetně LPCVD reaktorů, nakonec musela být zavržena a to především z důvodu možné kontaminace těchto provozů jen obtížně odstranitelnými polovodičovými jedy (např. ionty sodíku a draslíku) obsaženými v požadovaných skleněných substrátech, navíc vzhledem k poměrně značnému tepelnému namáhání substrátů v průběhu procesu LPCVD, hrozilo i selhání integrity v průběhu depozice, a tak možné poškození zařízení. Pro testování výroby nanoporézního substrátu byl do doby vyřešení problému s depozicemi zvolen komerční substrát.

Ihned po uvedení zařízení pro PECVD depozici SiN_x (PlasmaPro Cobra 180, Oxford Instruments Inc.) byly zahájeny testy depozicí nitridových vrstev aplikovatelné pro výrobu nízkostresových membrán a funkčních celků, včetně depozice na substráty transparentní v UV/VIS oblasti spektra. Během prvních pokusů o depozice byla zjištěna velmi nízká depoziční rychlost, při které zároveň intenzivně docházelo k zanášení ICP části depozičního reaktoru a to natolik, že po jediné depozici nebylo možné proces opakovat, a celý vzorek byl pokryt drobnými částicemi. Po konzultaci s garantem přístroje tak byla práce přerušena až do odstranění problému, což celé situaci přidalo dalšího odkladu.

Po zjištění závady na zařízení bylo ve spolupráci s garantem přístroje a pod vedením vedoucího práce provedeno několik zkušebních depozicí SiN_x s variací výrobcem udaných parametrů. Pro depozici bylo užito planárních křemíkových substrátů o rozměru 10 × 10 mm s orientací (100), N-dopovaný fosforem na vodivost $\rho = 1 - 5\ \Omega \cdot \mathrm{cm}^{-1}$. Všechny substráty byly dočištěny před depozicí pomocí oplachu po 5 minut v acetonu, IPA a vodě následované vysušením tlakovým dusíkem a odstraněním organických reziduí pomocí kyslíkového plazmatu (parametry kyslíkové předúpravy uvádí Tabulka 5.1 níže).

Tabulka 5.1: Tabulka parametrů kyslíkové plasmatické předúpravy substrátů

Metoda	tlak	Q_{Ar}	Q_{O_2}	RF výkon	čas
Descum	5,3 Pa	-	20 sccm	50 W	30 s

Přístroj měl dle specifikace výrobce poskytovat opakovatelné depozice stechiometrického SiN_x s parametry uvedenými v Tabulce 5.2, avšak jak bude komentováno v kapitole 6.1, výsledkem nebyl nitrid křemíku dle očekávaných specifikací. Všem depozicím předcházela výrobcem zařízení doporučená předúprava v dusíkovém výboji. Procesy byly prováděny za teploty 100 °C.

Tabulka 5.2: Tabulka parametrů depozice SiN_x

Metoda	tlak	Q_{N_2}	Q_{SiH_4}	Q_{Ar}	RF výkon	ICP výkon	čas
Předúprava	5,3 Pa	-	20 sccm	-	50 W	250 W	30 s
SiN_x depo.	4,0 Pa	38 sccm	-	-	50 W	200 W	450 s

Pro zajištění depozice nitridu splňujícího požadované parametry byla tedy zvolena procedura získaná z literatury [13], která na stejném zařízení předkládá parametry, jež by měly plně vyhovět potřebám práce (parametry uvedeny v Tabulce 5.3). Bohužel ani v tomto případě nelze říct, že by vrstva vykazovala požadované vlastnosti a depozice

nitridu křemíku na požadované substráty tak nebyla do termínu odevzdání práce možná. Procesy byly opět prováděny za teploty 100 °C.

Tabulka 5.3: Tabulka parametrů depozice SiN_x

Metoda	tlak	Q_{N_2}	Q_{SiH_4}	Q_{Ar}	RF výkon	ICP výkon	čas
Předúprava	5,3 Pa	-	20 sccm	-	50 W	250 W	30 s
SiN_x depo.	4,0 Pa	38 sccm	-	-	50 W	200 W	450 s

5.2. Vytvoření masky pro leptání pomocí EBL

Výrobu struktur v souvislé nitridové vrstvě je možno realizovat více technikami. Pro účely této práce však byla zvolena příprava struktur reaktivním iontovým leptáním za využití dočasné masky.

Kritický rozměr připravovaných struktur byl ve všech případech zvolen <200 nm, což prakticky znemožňuje nasazení jiných technik výroby než technik využívajících elektronovou litografii. S ohledem na iontovou povahu leptání RIE byla zprvu uvažována možnost výroby tvrdé dočasné masky (maska zpravidla tvořena kovovou vrstvou s vysokou odolností odprašování), jejíž pozůstatky (byť iontové povahy) by mohly mít negativní účinek na funkčnost takového sensoru v biodetekci. Naopak byl tedy zvolen přístup využívající polymerní dočasnou masku, v tomto případě tvořenou iontovému leptání odolným rezistem s velmi vysokým rozlišením a kontrastem CSAR 62 (AR-P 6200) od firmy Allresist. Samotné rozlišení tohoto rezistového laku nemělo velmi významný vliv u struktur >100 nm, neboť obdobného nominálního rozlišení by mohl dosáhnout i lak na bázi PMMA, naopak vysoký kontrast byl v práci využit výhodně, neboť i při nutnosti zvýšit tloušťku dočasné masky, nebylo nutné významně zasahovat do procesních parametrů a ani nedošlo k výrazným změnám ve finálních strukturách.

Samotná elektronová litografie na požadovaném substrátu přináší celou řadu komplikací. Nitrid křemíku je dobrým izolantem a tak v elektronové litografii ne zcela vhodným substrátem. V důsledku jeho nízké vodivosti (vysoké dielektrické odolnosti), dochází v průběhu osvěcování dočasné masky v místě kontaktu svazku s povrchem substrátu k jevu známému jako „nabíjení“, tedy k akumulaci náboje (především zpomalené elektrony z primárního svazku a sekundární vyražené z povrchu izolantu), který pak výrazně negativně ovlivňuje dosažitelné rozlišení v důsledku odklánění svazku způsobené coulombickou interakcí. Ještě více je pak situace komplikována, je-li i substrát elektricky nevodivý, jako je tomu v případě skleněných substrátů. K zabránění tomuto negativnímu efektu, byla vrstva budoucí dočasné masky CSAR 62 překryta i vodivým polymerem Electra 92 (AR-PC 5090). Tento polymer po jeho zahřátí vytváří tenkou vrstvu cca. 20 nm s relativně vysokou vodivostí dostatečnou natolik, aby veškerý povrchově deponovaný náboj byl sveden z povrchu substrátu, zároveň je jej však možno snadno odstranit pomocí teplé deionizované vody a neovlivnit tak proces vyvolání dočasné masky.

Neboť nebylo možné připravit substrát ve formě skleněné podložky s deponovanou vrstvou nitridu křemíku, byl jako alternativa zvolen postup rozdělení optimalizačních kroků mezi litografii na nevodivém substrátu (v tomto případě sklo s velmi nízkou drsností) a optimalizaci leptání nitridu křemíku a depozice nanomenhirů na substrátu tvořeném vrstvou LPCVD nebo PECVD nitridu na plošném monokrystalickém křemíkovém

waferu (100). U obou přístupů byl zachován stejný přístup i využité materiály tak, aby mohlo být využito zjištěných parametrů přímo při přechodu na nevodivý substrát.

5.2.1. Testy na nevodivém substrátu

Testy EBL na nevodivém vzorku byly prováděny na čistém skleněném substrátu ve formě podložního mikroskopového sklíčka od firmy Menzel-Gläser typu # 5 s velmi nízkou povrchovou drsností <1 nm. Samotný substrát je tedy nejen chemicky, ale i fyzikálně poměrně netečný, tudíž většina rezistových laků, které byly pro tuto práci vyzkoušeny, disponovala jen malou nebo vůbec žádnou adhezí k substrátu, a tak i přes počátečně úspěšné nanesení vrstvy pomocí rotačního lakování, došlo k jeho celkovému odstranění v průbehu procesu vyvolání.

I v případě CSAR 62, který je jinak znám pro svou dobrou adhezi k povrchům, byla adheze k použitému substrátu velmi nízká. Ke zvýšení adheze bylo navrženo několik přístupů. Prvním byla depozice tenké vrstvy kovu (řádově několik nm), která vytvoří na povrchu zvýšenou drsnost a tak zvýšení adheze. Tato metoda, přestože byla poměrně úspěšná, kontaminovala povrch substrátu nežádoucími kovovými ionty, a tak byla vyřazena. Méně úspěšná metoda pak byla vyzkoušena ve formě depozici oxidu křemičitého pomocí metody depozice atomárních vrstev (ALD) následovaná krátkou depozicí hexamethylendisiloxanu (HMDS) jako vazné můstkové molekuly (silanovými vazbami k substráty SiO_2 a methylenovými nepolárními konci do struktury polymeru), avšak i tato byla pro svoji nespolehlivost a nízkou kompatibilitu HMDS s CSAR 62 po čase zavržena. Jako naopak velmi výhodný postup se ukázalo použití adhezního promotoru AR 300-80 stejného výrobce jako CSAR 62, který při správném využití temperovacího kroku dobře proreaguje se substrátem a umožňuje dobrou vazbu na CSAR 62. Při dodržení níže uvedených podmínek je navíc výhodou i poměrně nízká hodnota zvýšení celkové tloušťky a to maximálně o 15 nm.

Adheze rezistového laku k povrchu substrátu je navíc výrazně závislá i na povrchové kontaminaci substrátu. Před spincoatingem je třeba substrát zbavit jakékoli potenciální kontaminace, která by mohla způsobit neuniformitu naneseného laku, nebo snížit účinnost adhezního promotoru. Čištění bylo provedeno v silném nepolárním rozpouštědle trichlorethylenu (TCE), který je velmi vhodný především pro odstranění nepolárních kontaminantů nerozpustných v acetonu, a to po 5 minut v ultrazvukové lázni, následně pak obdobně 5 minut v acetonu a 5 minut v isopropylalkoholu (IPA). Odstranění remanentních zbytků IPA, bylo provedeno oplachem v tekoucí deionizované vodě a následované dosušením ofouknutím tlakovým dusíkem. Těsně před samotným spincoatingem byl vzorek na několik minut vyhřát na plotýnce o teplotě 180 °C, tak aby byla z povrchu odstraněna vrstva adsorbované vody, která by mohla výrazně změnit chemismus adhezního promotoru.

Nanášení dočasné masky se tedy skládalo z více kroků. Samotný spincoating byl zahájen nanesením adhezního promotoru AR 300-80 při otáčkách 4000 ot. za minutu (rpm) po dobu 60 s. Nalakovaný substrát byl bez prodlení přesunut na ploténku a vyhřát po dobu 10 minut při 180 °C. Po nezbytném schlazení substrátu na pokojovou teplotu byla pomocí spincoatingu nanesena i vrstva rezistu CSAR 62 (AR-P 6200.09) při rychlosti otáčení 4000 rpm po dobu 60 s a takto nalakovaný vzorek byl po dobu 8 minut při teplotě 150 °C vyhříván na ploténce. Posledním krokem bylo nanesení vrstvy vodivého polymeru Electra 92 (AR-PC 5090.02) opět po dobu 60 s při rychlosti 4000 rpm a následné vypé-

kání po dobu 5 minut při 105 °C (všechny zmiňované kroky přehledně uvádí Tabulka 5.4). Vrstva dočasné masky CSAR 62 má při takovémto nastavení otáček a zředění přibližně tloušťku 300 nm.

Tabulka 5.4: Spincoating na skleněný substrát.

	spincoating		vypékání	
AR 300-80	4000 rpm	60 s	180 °C	10 min
AR-P 6200.09	4000 rpm	60 s	150 °C	8 min
AR-PC 5090.02	4000 rpm	60 s	105 °C	5 min

Expozice elektronovým svazkem

Expozice elektronovým svazkem byla prováděna v elektronovém mikroskopu Tescan Mira3 speciálně upraveném pro litografické účely opatřeném stolkem s piezoelektrickým posuvem a interferometrickou zpětnou vazbou, který umožňuje opakovatelné polohování s odchylkou maximálně desítek nanometrů. Pro expozici bylo zvoleno urychlovací napětí 30 kV, neboť na zvoleném mikroskopu umožňuje nastavení nejmenší stopy svazku, při zároveň nejmenším proximity efektu. Dávka elektronů byla nastavena zprvu od 45 µC do 200 µC tak, aby bylo možné rozhodnout, která nastavení jsou nejvhodnější pro zajištění požadované geometrie struktur dočasné masky.

Vyvolání exponovaného rezistového laku

Jak bylo komentováno v teoretické části práce, změna chemického složení pozitivního rezistu v oblasti vystavené elektronovému svazku umožňuje jeho selektivní rozpustnost. V případě předkládané vrstvy je však ještě před procesem samotného rozpouštění exponovaných oblastí nutno odstranit vrstvu vodivého polymeru Electra 92. Tento polymer je i po temperování velmi dobře rozpustný v teplé vodě (∼60 °C). Pro snížení povrchové kontaminace je proces opakován nejméně dvakrát. Pro odstranění povrchové vlhkosti, která výrazně ovlivňuje následný proces vyvolávání je substrát nejprve ponořen do isopropylalkoholu a až následně osušen proudem tlakového dusíku. Proces shrnuje Tabulka 5.5 níže.

Tabulka 5.5: Postup odstranění vodivého polymeru Electra 92.

	čas	teplota
voda	60 s	∼60 °C
voda	60 s	∼60 °C
IPA	30 s	-

Samotný proces vyvolání probíhá nejprve v roztoku vývojky (selektivního rozpouštědla), kterým je pro případ rezistu CSAR 62 amylacetát (AR 600-546), a to po dobu jedné minuty. Následující krok má za úkol zajistit odstranění roztoku developeru z povrchu laku a to obvykle jeho zředěním v roztoku označovaném jako stoper, nebo ustalovač. Stoperem pro vývojky na bázi organických rozpouštědel je obvykle IPA a v případě rezistu CSAR 62 tomu není jinak. Samotné zastavení reakce probíhá ponořením do koncentrovaného IPA po dobu 30 sekund (Tabulka 5.6).

Výsledky tohoto testu jsou popsány v kapitole 6.2.

Tabulka 5.6: Postup vyvolání rezistu CSAR 62.

	čas
amylacetát	60 s
IPA	30 s

5.2.2. Vytvoření masky pro leptání SiN_x

Pro provádění optimalizačních procesů leptání SiN_x a depozice zlatých kuželů byla využita komerčně připravená vrstva PECVD a LPCVD nitridu křemíku na křemíkovém substrátu, neboť nebylo možné z důvodu chybějící technologie v laboratořích CEITEC vytvořit SiN_x vrstvu na skleněné podložce. Na těchto substrátech stejně jako na dříve komentovaných skleněných substrátech bylo třeba vytvořit dočasnou masku z rezistu CSAR 62.

Postup byl podobný jako při tvorbě masky na skleněném substrátu, ovšem s výjimkou skutečnosti, že pro dobrou adhezi CSAR 62 rezistového laku k povrchu nitridu křemíku nebylo nutné použít adhezního promotoru. Přestože křemíkový substrát je relativně dobře vodivý, na něm vytvořená vrstva nitridu křemíku je dobrým izolantem a pro dosažení dobrého rozlišení je tak vhodnější zabránit i drobnému nabíjení pomocí aplikace vodivého polymeru.

Příprava dočasné masky byla zahájena jako v případě jiných substrát pomocí TCE, Acetonu a IPA vždy po 5 minut v ultrazvuku. Před spincoatingem byla odstraněna adsorbovaná voda vyhřátím substrátu na plotýnce o teplotě 180 °C po dobu několika minut ($>$ 15 min). Postup spincoatingu je popsán v Tabulce 5.7.

Tabulka 5.7: Spincoating na křemíkový substrát s vrstvou SiN_x.

	spincoating		vypékání	
AR-P 6200.09	4000 rpm	60 s	150 °C	8 min
AR-PC 5090.02	4000 rpm	60 s	105 °C	5 min

Pro expozici elektronovým svazkem jsme použili urychlovací napětí 30 kV a dávku proudu, která byla zjištěna pro expozici na skleněném substrátu, jelikož vrstva nitridu křemíku s vodivým polymerem Electra 92 vykazuje obdobné chování. Následné odstranění vodivého polymeru Electra 92 a vyvolání rezistu proběhlo podle postupu uvedeného v předchozí kapitole.

5.3. Vyleptání pórů v SiN_x

Leptání nitridu křemíku bylo provedeno metodou RIE v zařízení PlasmaPro NGP 80 firmy Oxford Instruments s dočasnou maskou z elektronového rezistu CSAR 62, jejíž postup výroby byl popsán v předchozí kapitole 5.2.2.

Pro leptání struktur skrze celou tloušťku vrstvy nitridu křemíku, bylo nejprve třeba určit rychlost leptání samotného nitridu křemíku stejně jako rychlost leptání dočasné masky. Výsledkem je pak určená selektivita mezi rezistovým lakem a příslušnou vrstvou leptaného materiálu. Určení této selektivity je pak klíčovým parametrem využívaným pro nalezení minimální tloušťku dočasné masky, která zajistí konstantní krytí struktur po celou dobu procesu leptání, a aby nebyla během procesu zcela odstraněna, a tak porušena integrita motivu. V případě struktur popisovaných v této práci je pak třeba zajistit, aby

i po finálním procesu leptání byla zajištěna tloušťka rezistové dočasné masky alespoň 100 nm.

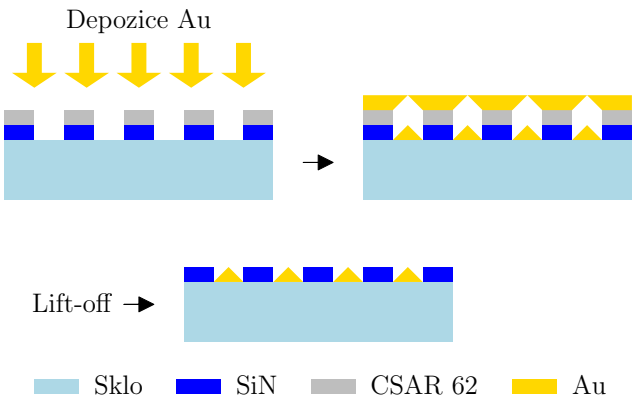
Rychlost leptání byla určena pomocí měření a fitování zbývající tloušťky leptané vrstvy za pomocí UV/VIS optické reflektometrie (Spectroscopic reflectometer Ocean Optics NanoCalc 2000). Vzorky pro toto měření byly leptány vždy po jinou dobu při konstantním nastavení procesu RIE a to v párech obsahujících vždy po 3 vzorcích se substrátem s odhaleným povrchem SiN_x a se 3 substráty krytými pomocí CSAR 62 rezistového laku. Časové závislosti zbývající tloušťky rezistového laku a SiN_x byly vyneseny do grafu a proloženy očekávanou lineární závislostí. Určená směrnice přímky je pak přímo leptací rychlost a poměr mezi směrnicemi přímek odpovídajícími rezistovému laku a SiN_x je pak selektivitou leptání.

Jestliže víme tloušťku vrstvy nitridu a rychlost, se kterou se leptá, můžeme určit čas potřebný pro vyleptání pórů v nitridu. Jestliže bychom leptali déle než je tento čas, může se stát, že se začne leptat i substrát pod vrstvou.

5.4. Depozice zlatých nanomenhirů

Nejjednodušším a nejčastěji používaným způsobem tvorby zlatých nanokuželových řad je za využití nanoimprintových technik [51]. Tyto techniky ovšem předpokládají, že v okolí kuželů nemůže být jiný materiál, neboť se jedná o monolitický otisk matrice. Pokud by tedy materiál v okolí nanokuželů byl potřeba, jako je to v případě předkládané struktury, materiál by musel být selektivně deponován, nebo deponován skrze odolnou dočasnou masku. takový postup je nejen neefektivní, ale vyžaduji i technologie, které nebyly v průběhu řešení práce dostupné. Další způsob výroby zlatých nanokuželů, který již počítá s jejich vnořením do nanopórů, je technika založená na pomalé depozici zlata ($1-2$ Ås^{-1}), kdy dochází k samouzavírání póru a tedy se postupně zmenšuje plocha na dně póru, kam se materiál deponuje (Schéma zobrazeno na Obrázku 5.3.) [5, 9, 12]. Přestože depozicí vzniká kuželovitý útvar, nelze jej geometricky snadno popsat a tak je využíváno spíše označení nanomenhir. Pro použití těchto struktur jako aktivní části plasmonického biosensoru lze předpokládat průměrnou geometrii a tedy i jistou definovanou odezvu.

V rámci řešení úkolu bylo navrženo ponechání dočasné masku z elektronového rezistu CSAR 62 na povrchu vzorku i během depozice, aby bylo možné odstranit deponované zlato z nežádoucích oblastí technikou lift-off.



Obrázek 5.3: Schéma procesu samouzavírání pórů při pomalé depozici zlata s následným procesem lift-off.

V článcích [5, 9, 12] využívali a popisovali tento postup samouzavírání pórů za využití napařovacích technik. Jelikož elektronová napařovačka BESTEC v CEITEC NANO laboratořích neumožňovala z počátku práce deponovat zlato, vyzkoušeli jsme tento postup v zařízení s magnetronovým zdrojem stejného výrobce.

5.4.1. Testy v magnetronu

Částice opouštějící magnetronový zdroj mají jiné vlastnosti než částice opouštějící odpařovaný povrch v napařovacích zařízeních. Částice z magnetronu mají obvykle vyšší kinetickou energii a dopadají tak na povrch substrátu často přímo rovně. Zatímco v napařovacích zařízeních jsou částice často nízkoenergetické, a tak dosedají na povrch substrátu často i pod úhlem nebo mohou následně difundovat po povrchu a tak jsou schopny vytvářet zúžení póru. Abychom se takovýchto vlastností dosáhlo v magnetronu, je třeba v depoziční komoře udržovat vyšší tlak, který způsobí, že částice vyletující z magnetronového zdroje se po cestě ke vzorku budou častěji srážet s molekulami plynu v komoře a přitom ztrácet část své kinetické energie.

Depoziční rychlost

Rychlost depozice v magnetronu je závislá na tlaku v komoře, na průtoku plynu, ze kterého se nad povrchem magnetronového terče vytváří plasma, a přímo úměrně závislá na výkonu zdroje udržující aktivní plasma. V případě zlata i titanu, který byl použit jako adhezní mezivrstva, bylo využito inertního plynu argonu a zdroje stejnosměrného napětí k vytvoření plasmatu. Na cílovou depoziční rychlost má tak vliv více faktorů. Pro jejich omezení byl zafixován průtok argonu magnetronovým zdrojem na hodnotě 30 sccm a variován byl pouze dodaný výkon zdroje a tlak v komoře.

Samotné určení depoziční rychlosti pak bylo založeno na depozici materiálu při nastavených parametrech vždy po konstantní čas na zkušební vzorky s dočasonou maskou připravenou pomocí optické litografie (Heidelberg DWL66FS). Tato dočasná maska byla poté odstraněna ve vhodném rozpouštědle a tloušťka zbývající vrstvy deponovaného materiálu byla určena pomocí AFM (Bruker Dimension Icon). Výsledné hodnoty tlouštěk deponovaných vrstev byly následně vyneseny do grafu jako závislost depoziční rychlosti na dodaném výkonu vždy pro konstantní tlak.

Depozice menhirů

Po úspěšném určení depozičních rychlostí, bylo možné zahájit pokusné depozice za účelem nalezení nejvhodnější rychlosti, která by mohla mít za následek samouzavírání póru, a tak i výsledně depozici nanomenhiru požadovaného tvaru v nanopóru. K dosažení úplné depozice nanomenhiru je při této technice, vždy nutné nadeponovat alespoň stejnou tloušťku funkční vrstvy jako je tloušťka SiN_x nanopórů.

5.4.2. Testy v termální napařovačce

Vzhledem k dočasné nedostupnosti zlata a podpůrného vybavení elektronové napařovačky od firmy BESTEC, nebylo možné provádět depozice metodou napařování v prostorech CF NANO výzkumného centra CEITEC. Jako alternativa byla tedy zvolena depozice pomocí konvenční napařovačky Balzers v prostorech fakulty elektrotechniky a komunikačních

technologií Vysokého učení technického v Brně. Přestože je toto zařízení vybaveno turbomolekulární vývěvou a zařízením pro odplynění komory, tlak při depozici není možné uvést z důvodu poruchy hlavní vakuové měrky. Depoziční rychlost byla kontrolována pomocí proudu napařovadla v referenci k hodnotě depoziční rychlosti udávané krystalovým měřičem tloušťky deponované vrstvy umístěném na držáku vzorku (výsledná tloušťka deponované vrstvy i její rychlost by měla být v dobré shodě).

5.4.3. Testy v elektronové napařovačce

Přestože z počátku nebylo možné elektronovou napařovačku BESTEC pro účely požadované v této práci vůbec použít a to především z důvodu chybějícího zlata jako deponovaného materiálu, zjištěné výsledky konvenční termální napařovačky předurčili alespoň testovací depozici jiného materiálu v napařovačce přítomném. Pro své známé vlastnosti a optimalizovanou proceduru napařování byl nakonec zvolen jako vhodný testovací materiál hliník. Depozice samotná byla vedena obdobně jako by tomu bylo v případě depozice zlata a to při depoziční rychlosti 1,0 $\text{Å}\cdot\text{s}^{-1}$ měřené na krystalovém oscilátoru při známé kalibraci skutečně deponované tloušťky materiálu.

V závěrečné fázi předkládané práce bylo umožněno provést depozici zlata i v elektronové napařovačce. Experimentální proces byl navržen obdobně jako v případě jinak dobře optimalizovaných procesů depozice hliníku a železných slitin. Samotná depozice byla držena při obdobné depoziční rychlosti 1,0 $\text{Å}\cdot\text{s}^{-1}$ jako v případě dříve prováděné depozice hliníku, aby bylo možno zajistit jisté možnosti srovnání sloužící pro budoucí optimalizace.

6. Výsledky

Tato kapitola se věnuje popisu a vyhodnocování výsledků postupů popsaných v kapitole 5. V kapitole je kladen důraz především na popis nastavení zařízení, jejich změnách v průběhu optimalizace a výsledků plynoucích z těchto experimentů.

6.1. Plasmochemická depozice z plynné fáze

Pro vytvoření vhodného optického prostředí v blízkosti plasmonického nanomenhiru bylo třeba deponovat na povrchu skleněného transparentního substrátu vrstvu nízkostresového SiN_x. Toho mělo být dosaženo procesem ICP-CVD (odnož PECVD) za pomocí zařízení Oxford Instriments PlasmaPro 100 Cobra 180, disponujícího možností depozice vrstev nitridu křemíku z plynného prekurzoru silanu (SiH_4) a molekulárního dusíku.

Jak již bylo komentováno v kapitole 5.1, pro poruchy na přístroji, byly depozice odsunuty až do úplné nápravy.

Na počátku bylo s ohledem na komfort měření deponováno přímo na křemíkové planární substráty, neboť orientační výsledky měření vrstev pak byly získatelné výrazně snadněji. Všechny vzorky s širokou variací nastavení depozičního zařízení (směšovací poměr prekurzorových plynů, teplota depozice, typ tranzientního disku, výkon RF i ICP zdrojů apod.) byly všechny získané vrstvy nitridu křemíku výrazně bohaté na křemík ve svém složení a index lomu, často pro fitování reflektometrického spektra překračoval hodnoty 2,5 a byl tak daleko za hranicí požadovaných 2,04. Nepříznivé složení vrstvy bylo ověřeno i metodami spektroskopické elipsometrie, infračervené spektrometrie s fourierovou transformací a metodou rentgenové fotoelektronové spektroskopie. Problém se až do termínu odevzdání této práce nepodařilo vyjasnit a odstranit.

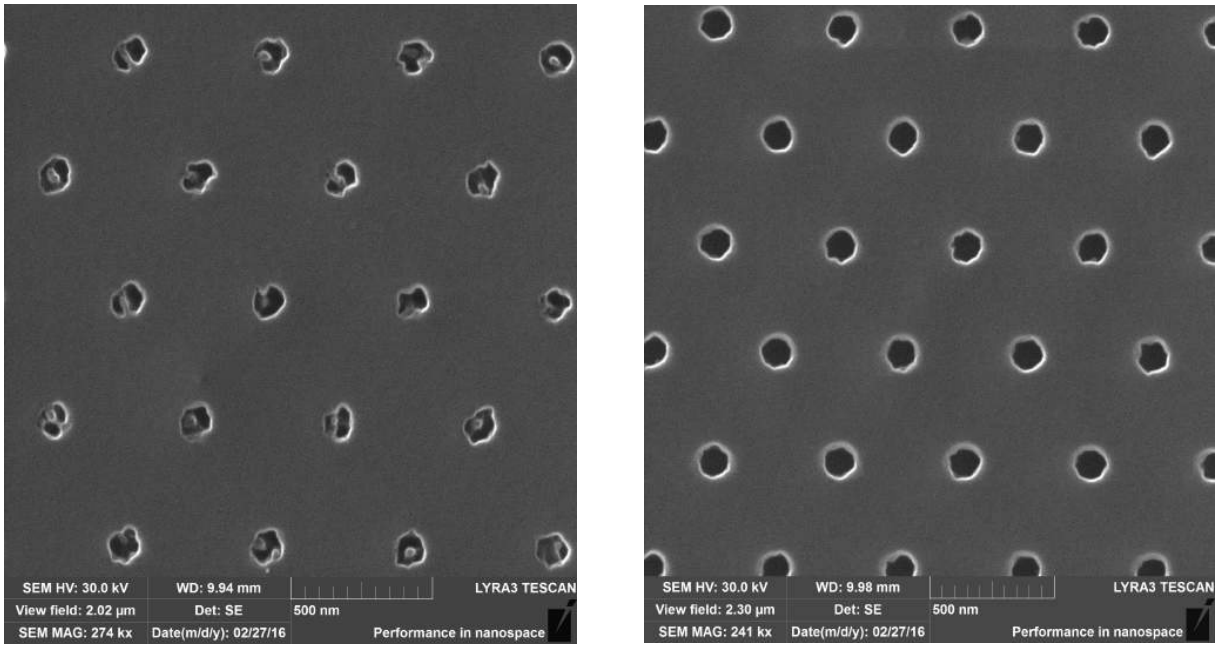
6.2. Výsledky testů EBL

Pro vytvoření nanoporézních struktur v nitridu křemíku bylo třeba nejprve vytvořit dočasnou masku na povrchu substrátu. K tomuto účelu byl použit elektronový dříve komentovaný rezist CSAR 62. Jelikož jsme neměli možnost připravit skleněné substráty s vrstvou nitridu křemíku, které jsou potřeba k výrobě finálního sensoru, testy EBL byly vedeny na nevodivém substrátu podobných vlastností jako je například sklo.

6.2.1. Test dávky na skleněném substrátu

Jak bylo již zmíněno v kapitole 5.2, na skleněný substrát byly naneseny celkově tři vrstvy a to adhezní promotor, přibližně 300 nm elektronového rezistu CSAR 62 a vodivý polymer Electra 92. Takto připravený vzorek byl exponován elektronovým svazkem v elektronovém mikroskopu Tescan Mira3 při urychlovacím napětí 30 kV a dávce variující od 45 µC do 200 µC. Poté byl vzorek vyvolán podle postupu v kapitole 5.2).

Aby se mohla zjistit vhodná dávka pro expozici, bylo potřeba vložit vzorek do elektronového mikroskopu a porovnat tvary jednotlivých struktur pro různé dávky. Ovšem vzorek je nevodivý a v elektronovém mikroskopu by se nabíjel, a proto bylo potřeba jej pokrýt vodivou vrstvou. Jelikož se jednalo pouze o testovací vzorek, nebylo nutné vyhýbat se kovům, a proto se na vzorek nadeponovalo několik nanometrů chromu.



a) b)

Obrázek 6.1: Test dávky pro póry o průměru 100 nm a rozteči 500 nm. Příkladem výsledku nedostatečné dávky (90 µC) je struktura na levém obrázku, struktury připravené adekvátní dávkou (126 µC) pak na pravém obrázku.

Takto upravený vzorek jsme pozorovali v elektronovém mikroskopu Lyra3 od firmy Tescan. Obrázek 6.1 ukazuje rozdíl mezi nízkou a dostatečnou dávkou. Není-li dávka dostatečná, rezist nezmění vlastnosti v celém objemu, který byl exponován, a tak tvar pórů po vyvolání není pravidelný a exponovaný rezist není všechen odstraněn. Jestliže bude dávka příliš vysoká, může dojít k rozšíření exponované oblasti a narušení i okolního rezistu. Za správnou dávku je pak považována taková dávka, která je co nejmenší, ale zároveň struktury mají pravidelné tvary a velikosti definované v návrhu. Přehled vhodných dávek pro jednotlivé struktury je uveden v Tabulce 6.1.

Tabulka 6.1: Přehled vhodných dávek pro EBL na skle pro jednotlivé geometrie struktur.

Průměr	Rozteč	Vhodná dávka
100 nm	500 nm	126 µC
150 nm	500 nm	108 µC
200 nm	500 nm	90 µC
100 nm	1000 nm	144 µC
150 nm	1000 nm	126 µC
200 nm	1000 nm	108 µC

6.3. Leptání nanopórů pomocí RIE

Jak bylo popsáno v kapitole 5 pro umístění nanomenhiru do nanopóru je kritické, aby byla vyleptána celá mezní tloušťka vrstvy a zároveň, aby na povrchu zbyla alespoň 100 nm tlustá vrstva polymerní dočasné masky. Vzhledem k těmto skutečnostem byla optimalizo-

vána i leptací rychlost všech procesů. Výsledky byly aplikovány pro dosažení nanoporézní vrstvy požadovaných vlastností.

6.4. Určení leptacích rychlostí RIE

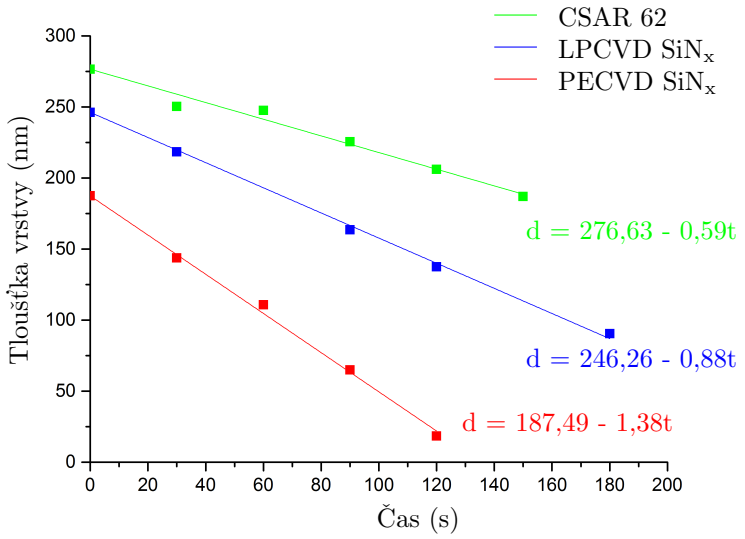
Leptací rychlost RIE byla určena podle postupu popsaném v kapitole 5.3. Jelikož byly použity substráty s nitridem křemíku připraveným různými metodami, pro každý typ byla hodnota leptací rychlosti stanovena separátně. V první části práce byl použitý nitrid křemíku vyroben komerčně metodou PECVD, později však pro jeho nedostatek musely být pokusy přesunuty na nitrid vyrobený komerčně LPCVD metodou (CVD metoda za sníženého tlaku). Současně byla zjištěna i leptací rychlost dočasné masky z rezistu CSAR 62.

Leptání metodou RIE bylo provedeno v zařízení PlasmaPro NGP 80 od firmy Oxford Instruments. Na pracovní elektrodu (spodní elektroda) opatřenou grafitovým držákem byl umístěn substrát. Složení reakční atmosféry bylo tvořeno především plyny CHF_3 společně s O_2 a udržuje se konstantní tlak 7,3 Pa. Na pracovní elektrodu byl dodán výkon 150 W, které při nastavených parametrech udal předpětí o hodnotě 425 V. Parametry optimalizovaného procesu leptání souhrně uvádí Tabulka 6.2.

Tabulka 6.2: Nastavení RIE pro leptání SiN_x

Q_{CHF_3}	Q_{O_2}	Tlak	Výkon	DC bias
50 sccm	5 sccm	7,3 Pa	150 W	425 V

Pro zjištění leptací rychlosti při takovémto nastavení, byly vzorky se studovanou vrstvou na povrchu ponechány účinkům leptání po konstantní čas (desítky sekund). Následně byla zjištěna změna tloušťky vrstvy pomocí optické reflektometrie. Hodnota tloušťka byla stanovena nejméně třikrát na každém vzorku a výsledná hodnota byla určena jako aritmetický průměr. Na Obrázku 6.2 jsou uvedeny grafy závislostí aritmetického průměru tloušťky vrstvy na době leptání. Záporně vzaté směrnice těchto závislostí vyjadřují rychlost leptání konkrétního materiálu (Tabulka 6.3).



Obrázek 6.2: Grafy závislostí tloušťky vrstvy d na čase leptání t.

Tabulka 6.3: Rychlosti leptání v RIE

PECVD SiN_x	LPCVD SiN_x	CSAR 62
1,38 $nm \cdot s^{-1}$	0,88 $nm \cdot s^{-1}$	0,59 $nm \cdot s^{-1}$

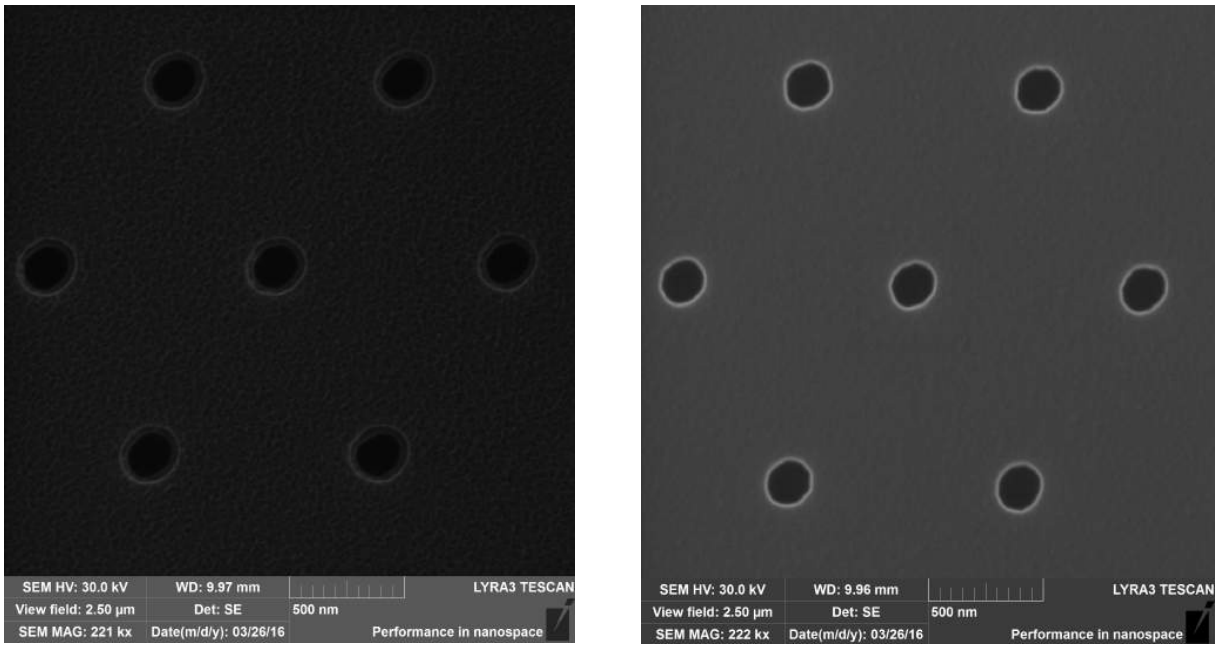
6.4.1. Vyleptání nanopórů v SiN_x

Při známé rychlosti leptání SiN_x a rezistu CSAR 62, bylo provedeno leptání skrze dočasnou masku vytvořenou postupem popsaným v kapitole 6.2 a vytvořena tak porézní strukturu v SiN_x. Před samotným zahájením procesu leptání nitridové vrstvy je však vhodné odstranit případná organická rezidua vývojky, případně redepozity rezistového laku. Pro tento proces byla zvolena variace metody Descum kyslíkovou plazmou (nastavení v Tabulce 6.4). Poté jsme vyleptali díry v RIE s nastavením podle Tabulky 6.2 s časem určeným známou tloušťkou vrstvy SiN_x.

Tabulka 6.4: Nastavení RIE pro čištění vzorků v kyslíkovém plazmatu.

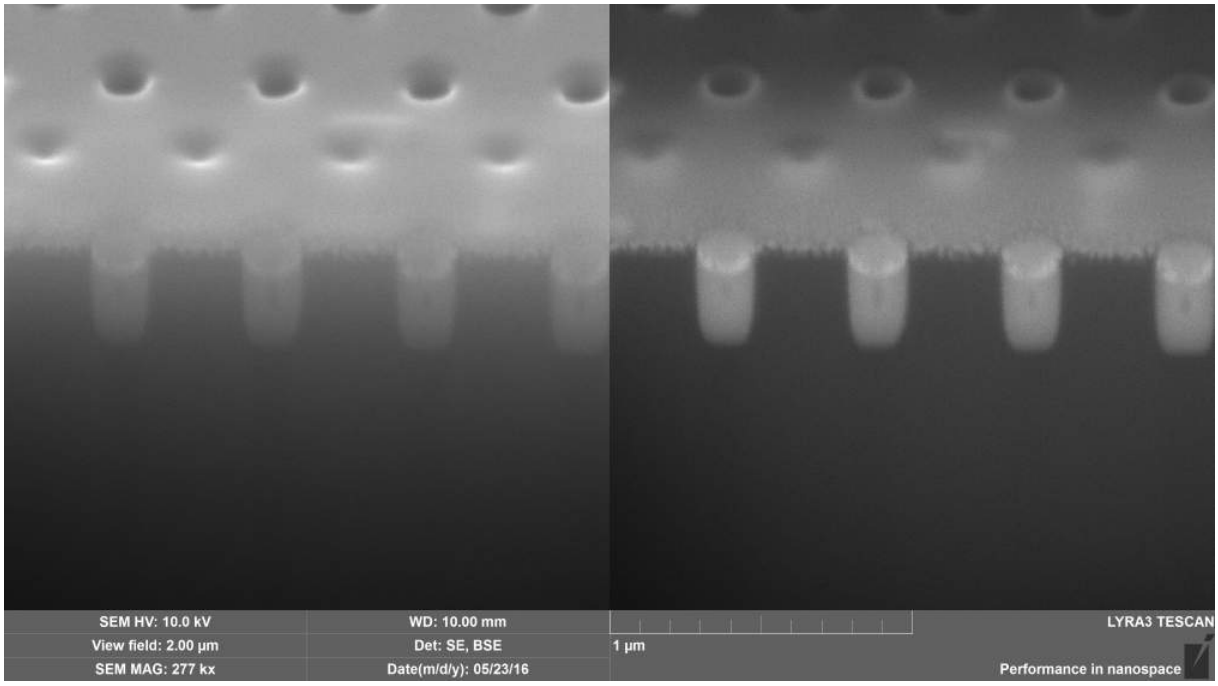
Q_{O_2}	Tlak	Výkon	DC bias	čas
20 sccm	40 Pa	25 W	57 V	60 s

Takto připravené struktury byly pozorovány v elektronovém mikroskopu Tescan Lyra3. Nejprve s naneseným rezistem a poté po odstranění rezistu v rozpouštědle NEP (N--Ethyl-2-pyrrolidon). Výsledky pozorování jsou zobrazeny na Obrázku 6.3.



a) b)

Obrázek 6.3: Výsledky pozorování struktur po vyleptání v RIE a) před odstraněním rezistu a b) po jeho odstranění.



Obrázek 6.4: Výsledky pozorování profilu vyleptaných pórů o průměru 200 nm a rozteči 500 nm v komerčně vyrobeném LPCVD nitridu o tloušťce ∼250 nm. Nalevo je snímek z SE detektoru a napravo je snímek z BSE detektoru.

Na Obrázku 6.4 je pak uveden profil děr vyleptaných do LPCVD nitridu. Řez byl proveden odprašováním pomocí fokusovaného iontového svazku (FIB) v elektronovém mikroskopu Tescan Lyra3. Pro zajištění ostrého a lépe viditelného řezu, byla oblast před odprašováním selektivně předeponována vrstvou FEBID platiny. Na snímku z BSE (zpětně odražených elektronů) detektoru lze pozorovat kontrast platiny nadeponované uvnitř nanopórů a na povrchu vzorku. Snímky jsou focené pod úhlem 55 °.

6.5. Depozice funkčních vrstev

Dalším krokem přípravy plasmonického biosensoru popsaného v kapitole 5 je tvorba zlatých menhirů uvnitř pórů ve vrstvě nitridu. První pokusy výroby menhirů byly vedeny v zařízení s magnetronovým zdrojem.

6.5.1. Depozice zlatých tenkých vrstev magnetronovým naprašováním

Princip funkce magnetronového naprašování byl popsán v kapitole 4.1.2.

Depozice titanu magnetronovým naprašováním

Pro zajištění stability zlaté tenké vrstvy na povrchu substrátu, je obvykle nutné povrch předeponovat materiálem, jehož adheze k substrátu je vyšší než zlaté vrstvy a poslouží tak jako adhezní mezivrstva. V případě vzorků deponovaných v rámci této práce bylo použito depozice tenké vrstvy titanu přímo v magnetronu. Při nastavení uvedeném v Tabulce 6.5

je rychlost depozice titanu 0,33 Å·s^{-1} a tedy za čas 91 s se na vzorku vytvoří vrstva 3 nm titanu.

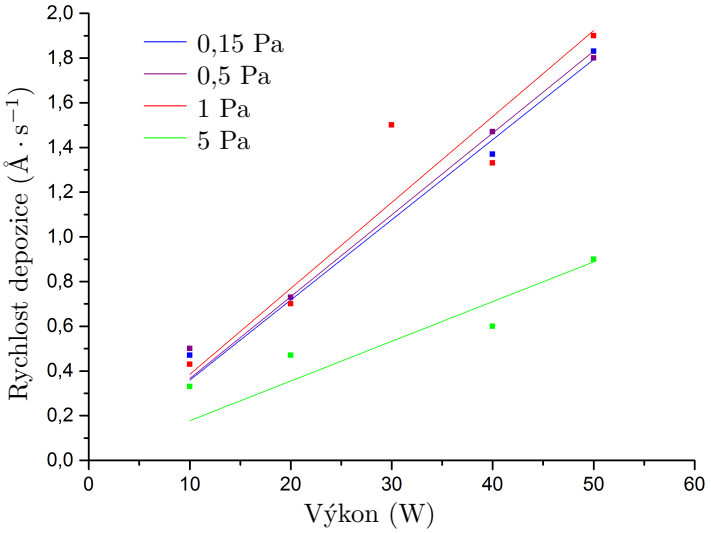
Tabulka 6.5: Nastavení magnetronu pro depozici 3 nm titanu.

	Q_{Ar}	tlak	výkon	čas	tloušťka
Titan	30 sccm	0,5 Pa	60 W	91 s	3 nm

Optimalizace depoziční rychlosti zlata magnetronovým naprašováním

Pro zajištění dobře řiditelné depozice zlaté tenké vrstvy, byla nejprve zjištěna závislost depoziční rychlosti na nastavení magnetronu. Depoziční rychlost zlata v magnetronu je přímo úměrná výkonu dodaného zdrojem. Pro každou hodnotu tlaku se tato závislost mění, proto je potřeba zjistit směrnici této závislosti pro každý tlak zvlášť.

Pro každý tlak v komoře bylo použito několik nastavení výkonu na zdroji a určena depoziční rychlost. Změření depoziční rychlost určitého nastavení probíhá v několika krocích. Testovací vzorek je tvořený rezistovou maskou, ve které jsou připraveny vhodné testovací struktury. Po depozici je tento rezist odstraněn společně s přebytečnou vrstvou zlata na něj nadeponovanou. Topografii takto vytvořených struktur pozorujeme v mikroskopu atomárních sil (AFM) a určíme tloušťku nadeponované vrstvy zlata. Tloušťka byla vydělena časem depozice, a tak získána rychlost depozice zlata pro konkrétní nastavení. Všechny testu pro různé nastavení tlaků a výkonů zdroje byly vedeny při průtoku argonového plynu o hodnotě 30 sccm a po čas 300 s. Výsledky testů zanesené do grafu závislosti depoziční rychlosti na výkonu zdroje lze vidět na Obrázku 6.5.



Obrázek 6.5: Grafy závislostí depozičních rychlostí v magnetronu na výkonu zdroje.

Na grafech lze vidět, že pro tlaky menší než 1 Pa je závislost depoziční rychlosti na výkonu téměř stejná, ale pro případ tlaku 5 Pa je depoziční rychlost výrazně menší. Směrnice těchto závislostí jsou přehledně vidět v Tabulce 6.6.

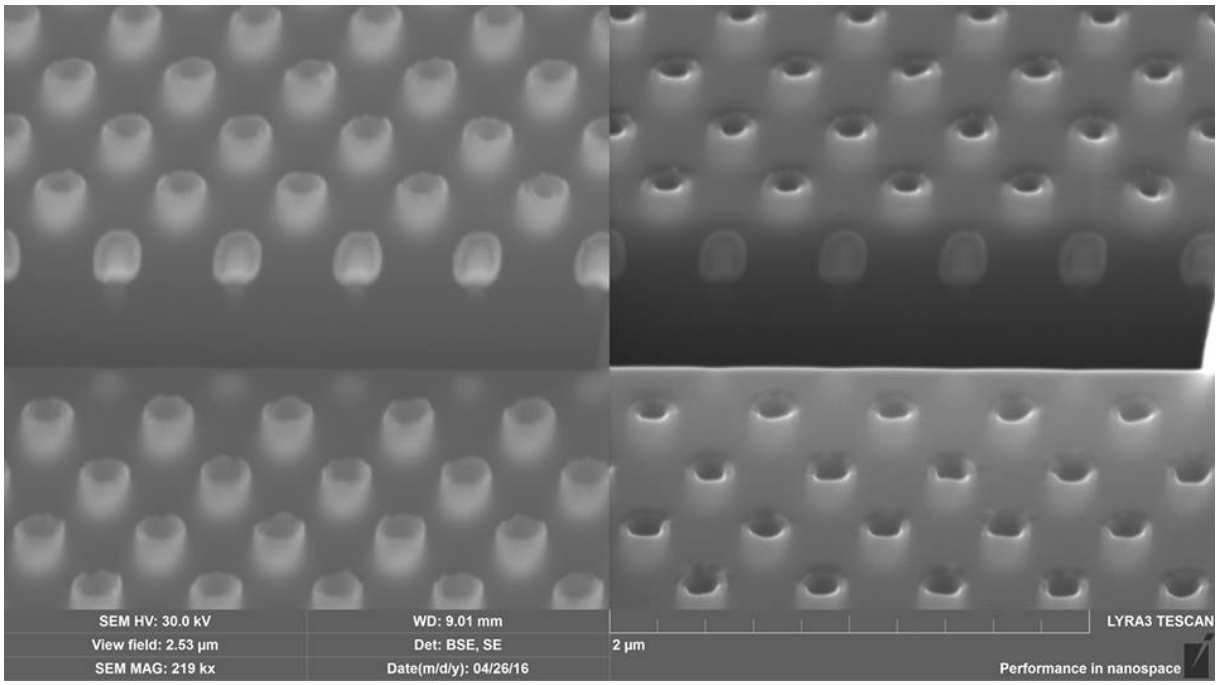
Tabulka 6.6: Směrnice závislostí depozičních rychlostí na výkonu zdroje pro konkrétní tlaky.

Tlak (Pa)	0,15	0,5	1	5
Směrnice ($Å{\cdot}s^{-1} \cdot W^{-1}$)	0,036	0,037	0,038	0,018

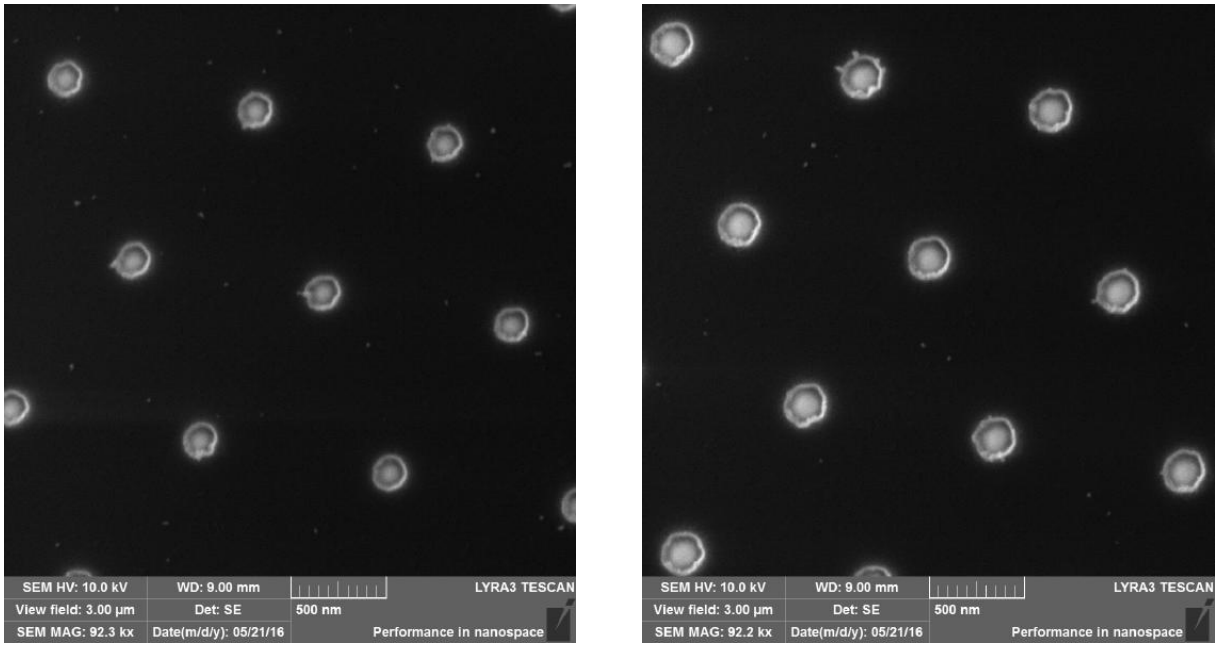
Testy depozicí nanomenhirů v magnetronu

Díky zjištěným závislostem depozičních rychlostí na výkonu zdroje bylo možné provádět testy depozicí nanomenhirů v nitridových pórech. První test byla depozice za tlaku o hodnotě 1 Pa a rychlostí přibližně 1 $Å{\cdot}s^{-1}$ po dobu dostatečnou k nadeponování vrstvy stejné tloušťky jako je tloušťka nitridu. Výsledek můžeme vidět na Obrázku 6.6. Tento snímek ukazuje řez póru fokusovaným iontovým svazkem podobně, jako bylo popsáno v kapitole 6.3, ovšem bez depozice platiny. Na snímku lze vidět, že na dně pórů byla nadeponována malá vrstva zlata a stěny pórů jsou výrazně pokryté. To vykazuje o tom, že došlo velmi rychle k uzavření póru a do prostoru póru tak depozice dále neprobíhala. Depozice na stěny pórů je pro použití plasmonického sensoru, který byl zamýšlen v této práci, nežádoucí, jelikož by to pravděpodobně značně ovlivňovalo plasmonické rezonance a celkově tvar extinkčního spektra.

Pro odklad okamžiku uzavření nanopóru, byl tlak v depoziční komoře snížen na 0,5 Pa a později na 0,15 Pa. Opět jsme deponovali za rychlosti přibližně 1 $Å{\cdot}s^{-1}$ a pozorované výsledky byly výrazně příznivější. Výsledky pro tlak 0,5 Pa zobrazují Obrázky 6.7, 6.8 a 6.9. Na snímcích lze vidět že došlo k vytvoření menhiru na dně pórů o průměru 150 a 200 nm. Menhiry v pórech o průměru 150 nm jsou nižší než ty v pórech o průměru 200 nm, což je způsobeno dřívějším uzavřením menšího póru. Na snímcích je patrná depozice i na stěny pórů. Testy při tlaku 0,15 Pa opět s depoziční rychlostí přibližně 1 $Å{\cdot}s^{-1}$ poskytly obdobný výsledek jako v případě tlaku 0,5 Pa (Výsledky na Obrázcích 6.10, 6.11 a 6.12).

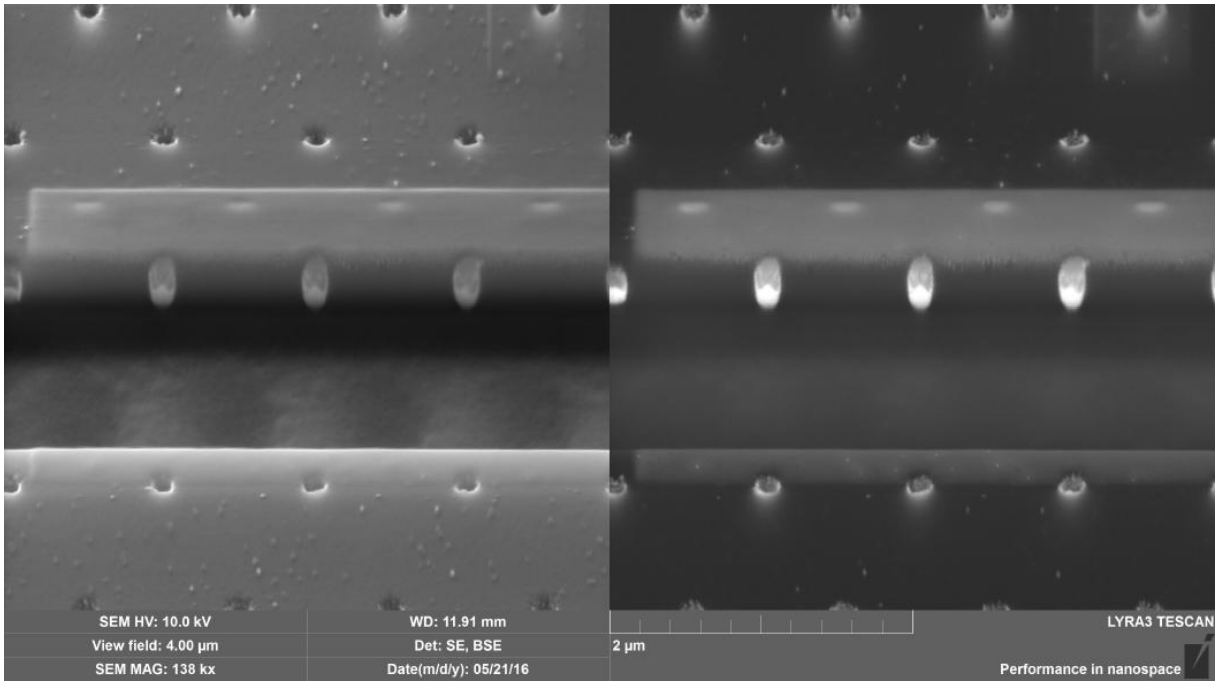


Obrázek 6.6: Snímek z elektronového mikroskopu profilu nanopórů pod úhlem 55 ° po depozici zlata v magnetronu při tlaku 1 Pa a rychlosti depozice ∼1 $Å{\cdot}s^{-1}$.

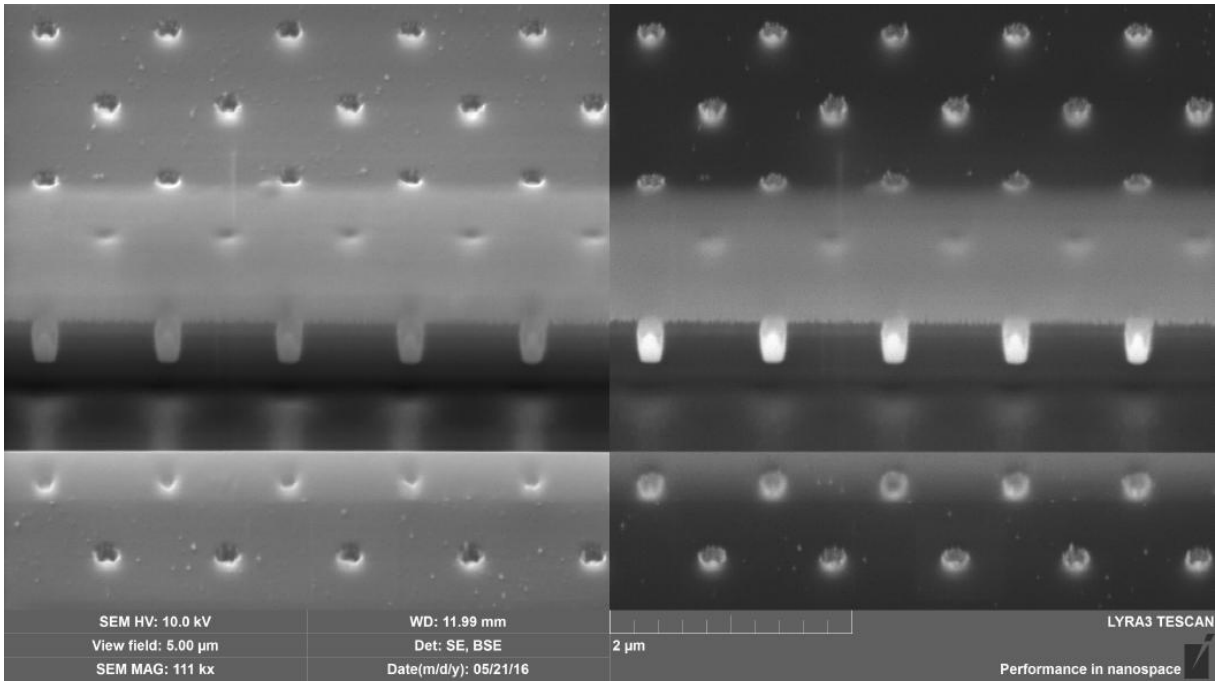


a) b)

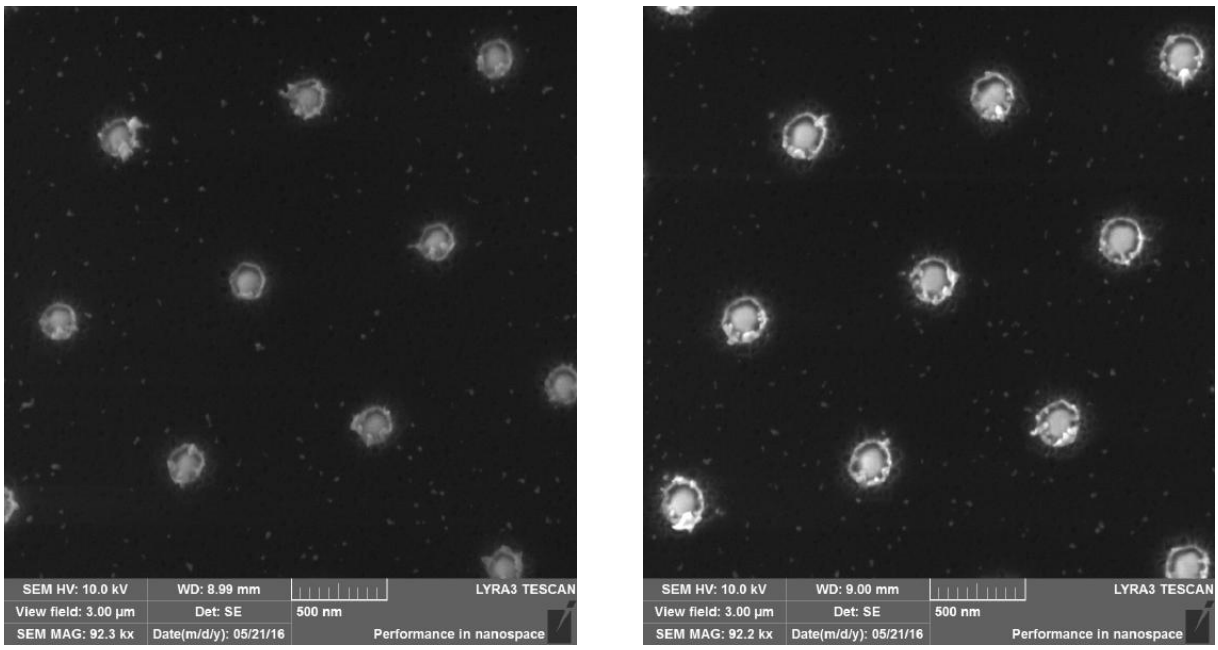
Obrázek 6.7: Snímek z elektronového mikroskopu nanopórů o průměru a) 150 nm a b) 200 nm po depozici zlata v magnetronu při tlaku 0,5 Pa a rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1}.



Obrázek 6.8: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 150 nm s deponovaným zlatým menhirem v magnetronu při tlaku 0,5 Pa a rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1}.

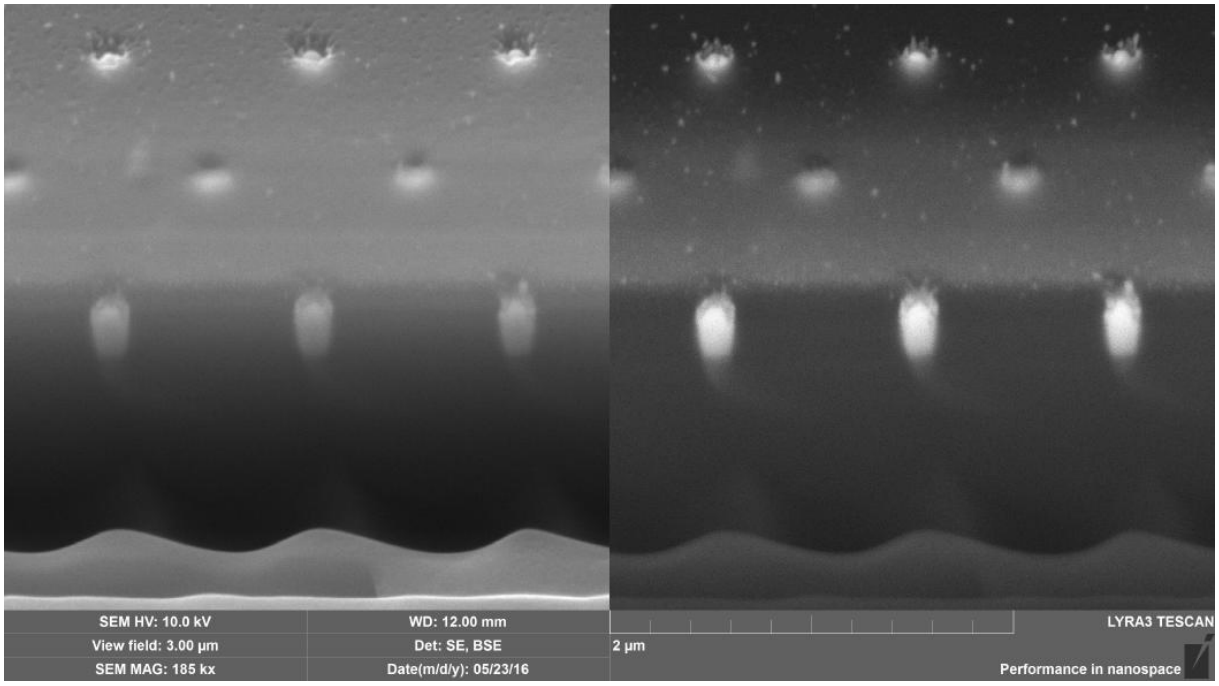


Obrázek 6.9: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 200 nm s deponovaným zlatým menhirem v magnetronu při tlaku 0,5 Pa a rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1}.

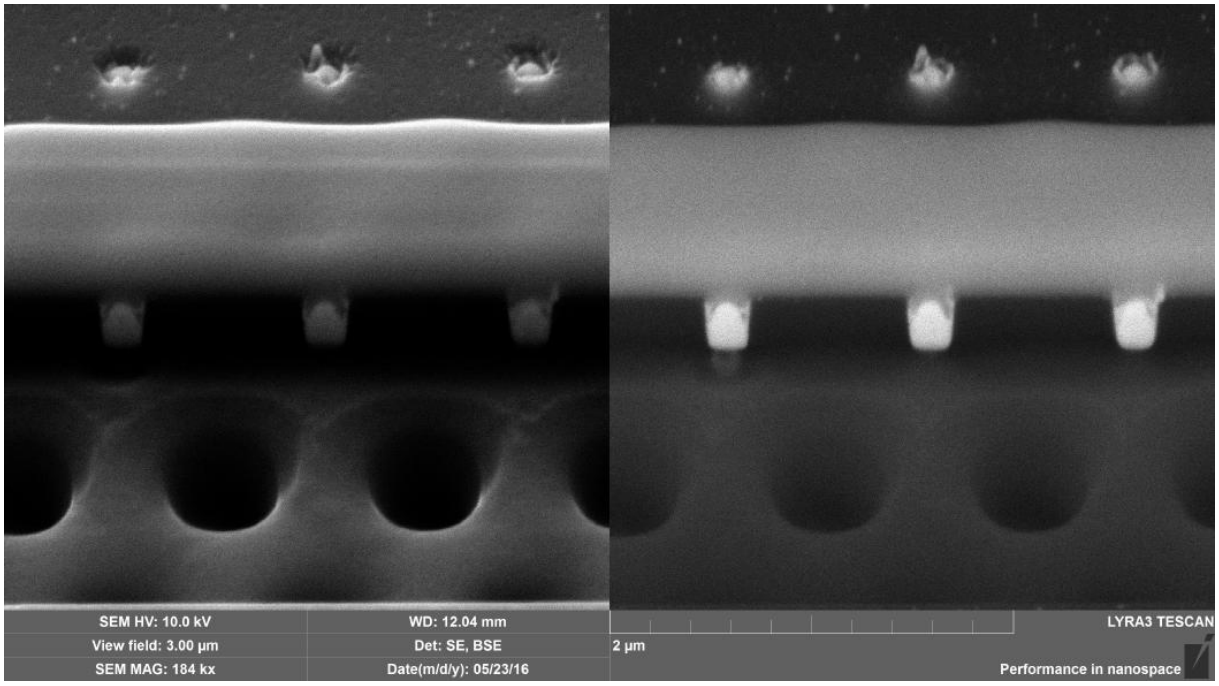


a) b)

Obrázek 6.10: Snímek z elektronového mikroskopu nanopórů o průměru a) 150 nm a b) 200 nm po depozici zlata v magnetronu při tlaku 0,15 Pa a rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1}.



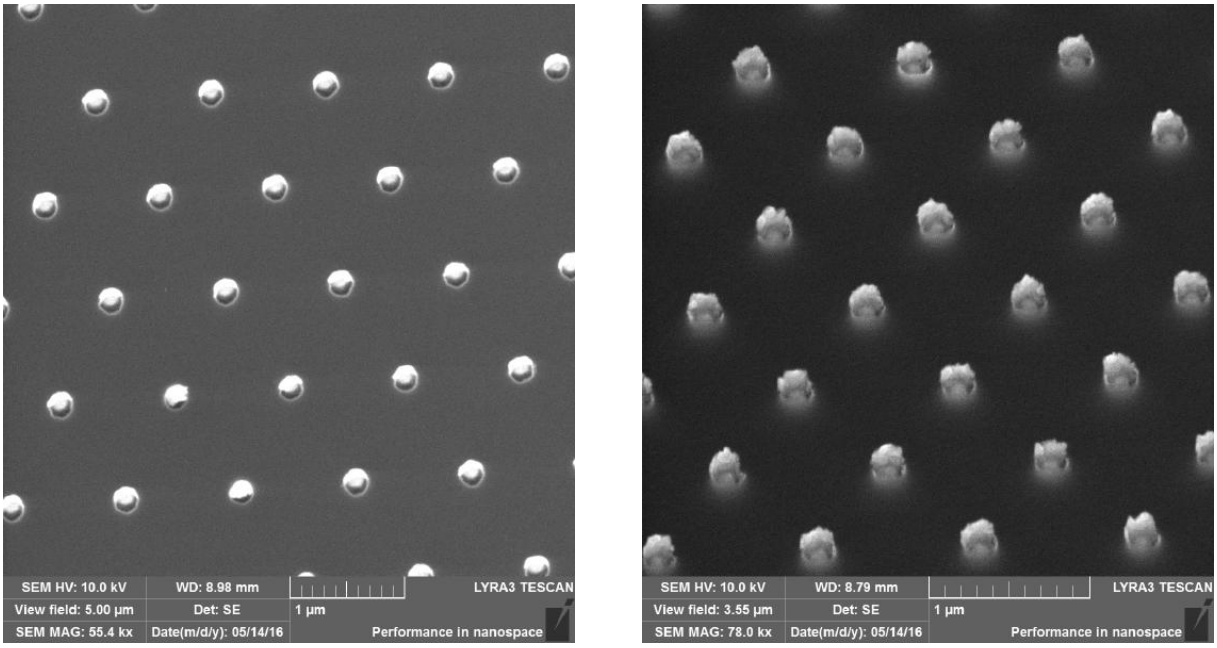
Obrázek 6.11: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 150 nm s deponovaným zlatým menhirem v magnetronu při tlaku 0,15 Pa a rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1}.



Obrázek 6.12: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 200 nm s deponovaným zlatým menhirem v magnetronu při tlaku 0,15 Pa a rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1}.

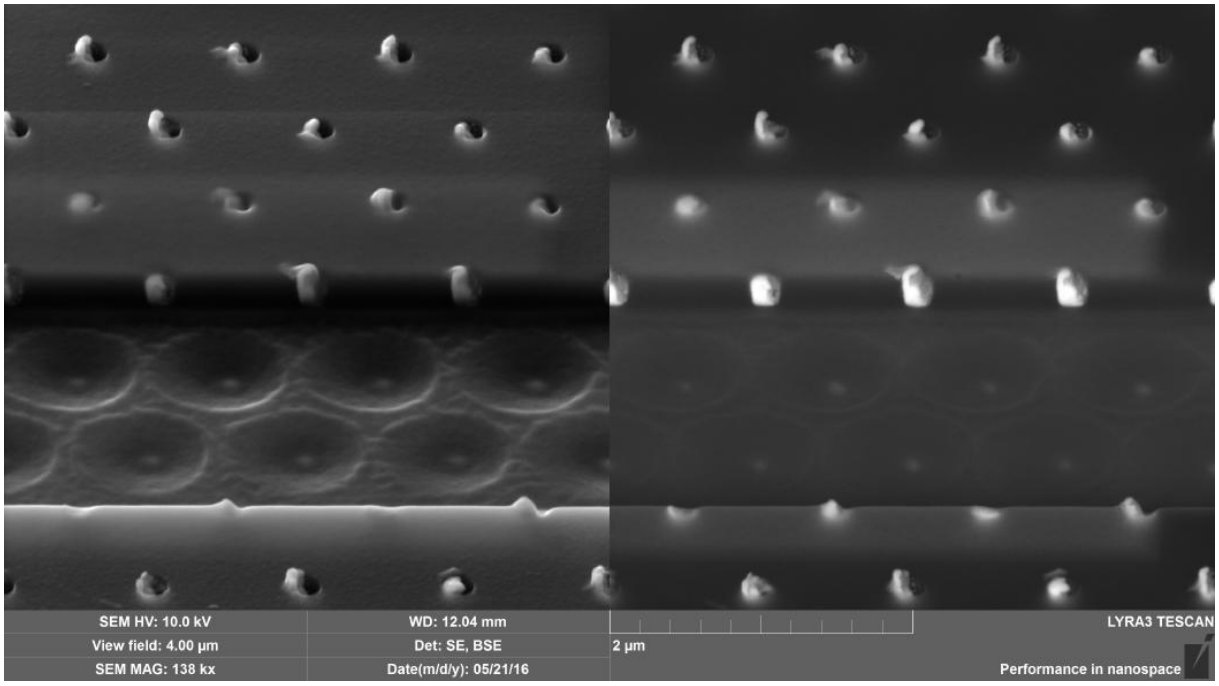
6.5.2. Testy v termální napařovačce

V termální napařovačce byla provedena depozice dvou vzorků. Při první depozici byla udržována konstantní rychlost depozice 1 Å·s^{-1}, při druhé depozici byla rychlost depozice zvýšena na 2 Å·s^{-1}. Vzorek v použitém zařízení bohužel není možno umístit přímo kolmo nad odpařovadlo tudíž ani na majoritní směr depozice. Zařízení bohužel také nedisponuje možností rotace držáku vzorků. Toto pravděpodobně mělo za následek, že se deponovaný materiál byl deponován převážně na jednu stranu stěn pórů. Přestože na Obrázcích 6.13 a 6.14 lze pozorovat náznak nanomenhiru vytvořeného při uzavírání pórů, je tento útvar z jedné strany překryt vrstvou zlata a tedy pro depozici regulárních struktur není tento postup možno použít.



a) b)

Obrázek 6.13: Snímek z elektronového mikroskopu nanopórů o průměru 200 nm po depozici zlata v termální napařovačce při rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1} a) pohled shora b) pohled pod úhlem 55 °.



Obrázek 6.14: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 200 nm s deponovaným zlatým menhirem v termální napařovačce při rychlosti depozice ∼1 Å·s^{-1}.

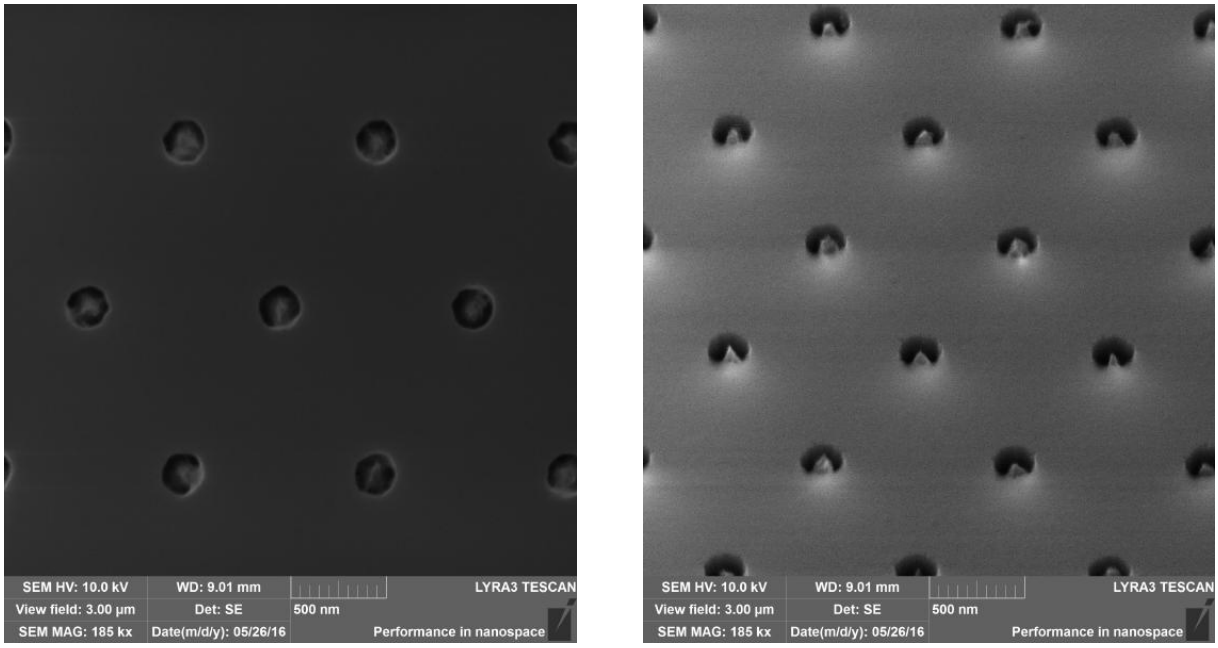
6.5.3. Testy v elektronové napařovačce

Nejprve byla v elektronové napařovačce vyzkoušena depozice hliníkové vrstvy při rychlosti přibližně 1 Å·s^{-1}. Pro depozici bylo použito urychlovací napětí elektronů 8 kV a emisní proud byl nastavován tak, aby byla udržena konstantní depoziční rychlost na vzorek 1 Å·s^{-1}. Jelikož nelze měřit tloušťku deponovanou přímo na vzorek, využívá se měření rychlosti depozice na krystalový senzor tloušťky. Poměr mezi rychlostí depozice na držák vzorku a rychlostí depozice na sensor je stejný pro určité nastavení urychlovacího napětí a vzdálenosti vzorku od napařovadla, proto je možné použít poměr zjištěný z dřívějších měření. Pro zajištění homogenní depozice byl držák koncentricky k odpařovadlu rotován s rychlostí 10 otáček za minutu. Všechny potřebné parametry depozice jsou přehledně uvedeny v Tabulce 6.7.

Tabulka 6.7: Parametry depozice v elektronové napařovačce pro hliník

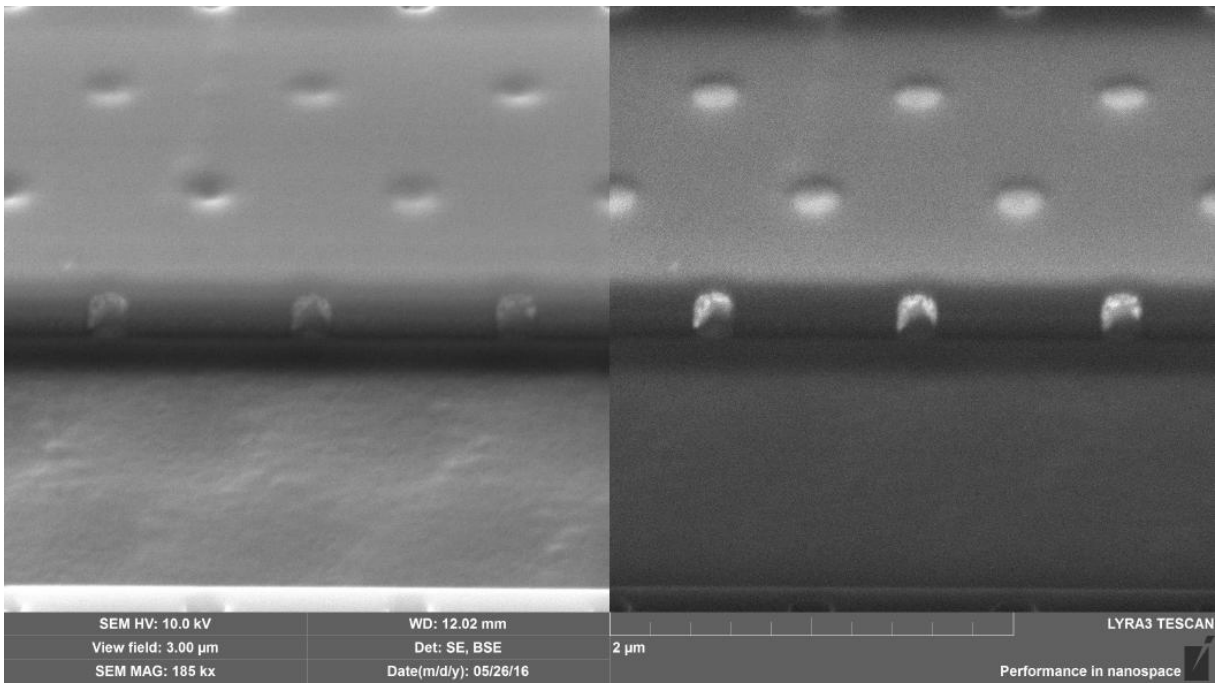
Ur. napětí	dep. rychlost	tooling factor	emisní proud	tlak	rotace	tloušťka
8 kV	∼1 Å·s^{-1}	51 %	110-190 mA	10^{-5} Pa	10 rpm	280 nm

Na Obrázcích 6.15 a 6.16 lze pozorovat výsledky depozice hliníku pro póry o průměru 200 nm s roztečí 1000 nm. Na Obrázku 6.15b lze v pórech vidět menhiry s relativně ostrým hrotem, ikdyž při pohledu shora (Obr. 6.15a) se to na první pohled tak nejeví. Tvar menhiru byl finálně potvrzen řezem struktury pomocí fokusovaného iontového svazku (Obr. 6.16).



a) b)

Obrázek 6.15: Snímek z elektronového mikroskopu nanopórů o průměru 200 nm po depozici hliníku v elektronové napařovačce při rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1} a) pohled shora b) pohled pod úhlem 55 °.



Obrázek 6.16: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 200 nm s deponovaným hliníkovým menhirem v elektronové napařovačce při rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1}.

Po doplnění zlata a vhodného lineru do napařovačky bylo možné provést depozici i zlaté vrstvy pomocí napařování obdobně jako v případě hliníku. Před depozicí zlata je

nejprve potřeba nanést na vzorek malou vrstvu (5 nm) titanu pro zajištění adheze zlata k povrchu. Nastavení pro depozici titanu je přehledně uvedeno v Tabulce 6.8.

Tabulka 6.8: Parametry depozice v elektronové napařovačce pro titan

Ur. napětí	dep. rychlost	tooling factor	emisní proud	tlak	rotace	tloušťka
10 kV	∼0,1 Å·s^{-1}	53,5 %	∼130 mA	10^{-5} Pa	-	5 nm

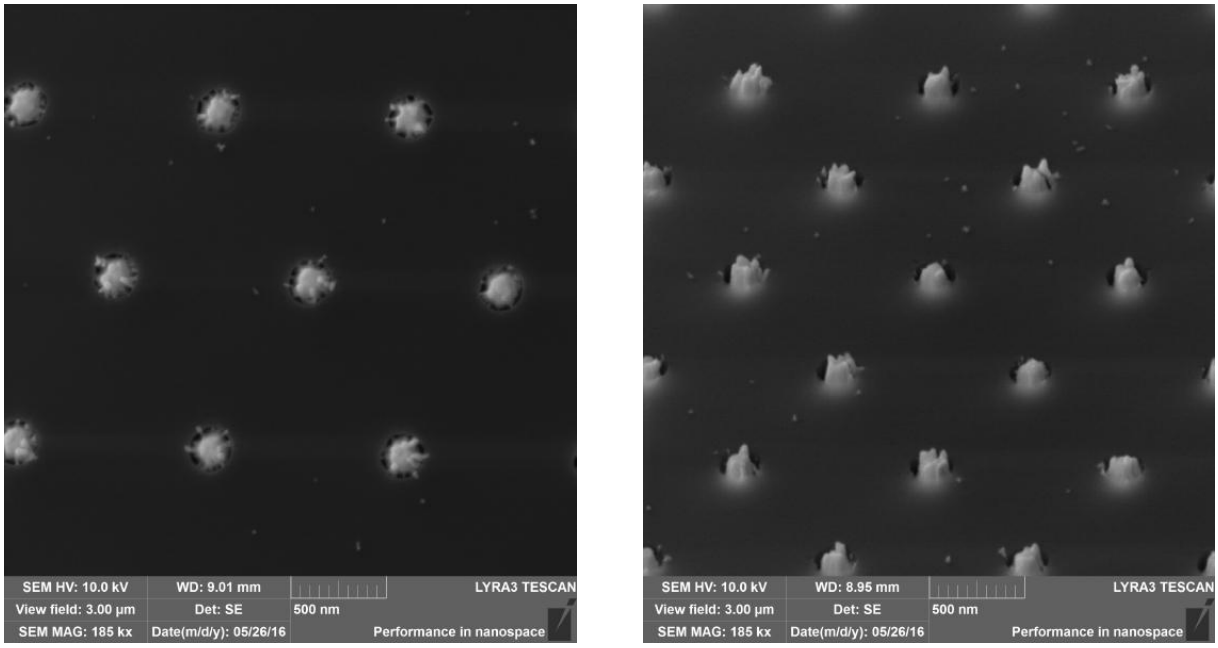
Samotná depozici zlata byla provedena při depoziční rychlosti ∼1 Å·s^{-1} s nastavením podle Tabulky 6.9.

Tabulka 6.9: Parametry depozice v elektronové napařovačce pro titan

Ur. napětí	dep. rychlost	tooling factor	emisní proud	tlak	rotace	tloušťka
10 kV	∼1 Å·s^{-1}	53,5 %	240-260 mA	10^{-5} Pa	10 rpm	280 nm

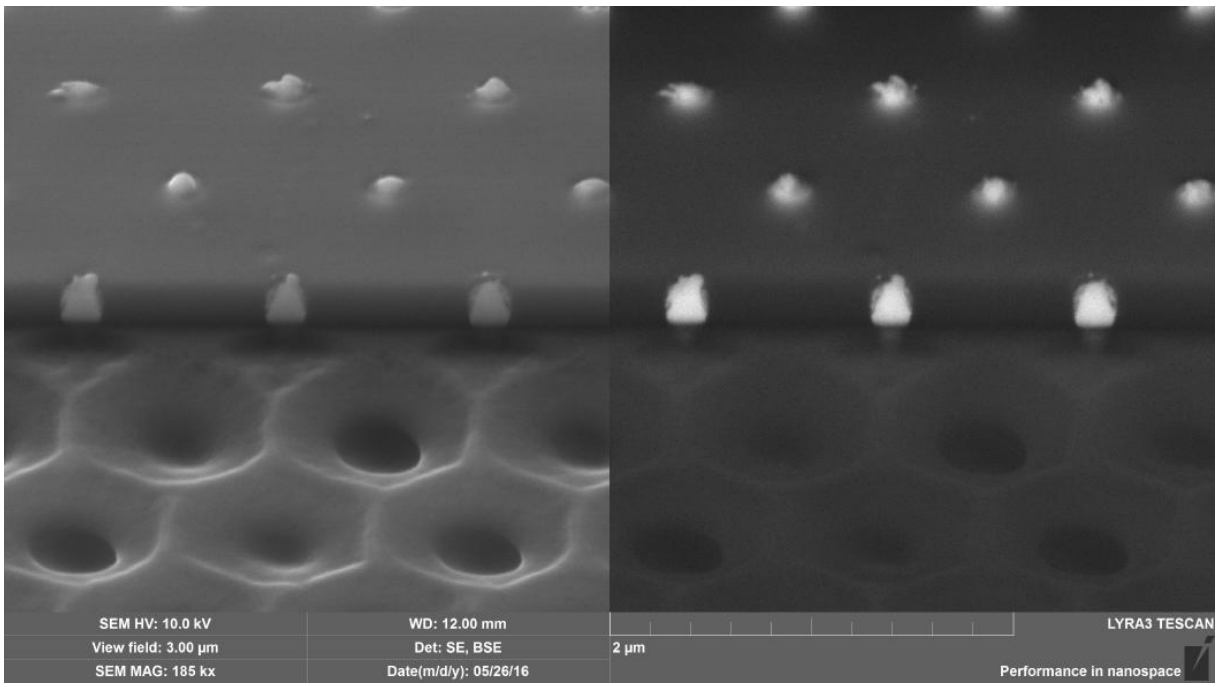
Na Obrázcích 6.17 a 6.18 lze pozorovat výsledky prvního testu depozice zlatých menhirů v elektronové napařovačce. Menhiry nemají příliš ostrou špičku, jak lze vidět na Obrázku 6.17, a jejich tvar je velmi nedokonalý. Jelikož se jednalo o první test i samotné depozice zlata v napařovačce, bylo by potřeba samotnou depozici a její parametry optimalizovat, aby nedocházelo například k výronům hmoty, které pravděpodobně způsobily deformovaný náhodný tvar menhirů. Lze také vidět, že menhiry jsou vyšší než vrstva nitridu, do které jsou vnořeny (Obr. 6.18), což vypovídá o tom, že se pór neuzavřel včas, a proto také menhir nemá ostrou špičku.

Jelikož byl tento test jediný, který bylo možné provést pro zlato v elektronové napařovačce, nebylo možné proces depozice menhirů zcela a řádně optimalizovat. Pro přesnější tvar menhirů a aby došlo ke včasnému uzavření pórů by bylo potřeba upravit depoziční rychlost a celkově optimalizovat nastavení depozice zlata, aby nedocházelo k porušení symetrie tvaru menhirů.



a) b)

Obrázek 6.17: Snímek z elektronového mikroskopu nanopórů o průměru 200 nm po depozici zlata v elektronové napařovačce při rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1} a) pohled shora b) pohled pod úhlem 55 °.



Obrázek 6.18: Snímek z elektronového mikroskopu pod úhlem 55 ° řezu nanopórem o průměru 200 nm s deponovaným zlatým menhirem v elektronové napařovačce při rychlosti depozice $\sim$1 Å·s^{-1}.

7. Závěr

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo připravit biosensor tvořený vysoce orientovaným polem nanomenhirů vnořených do kruhových nanopórů ve vrstvě nitridu křemíku na skleněném transparentním substrátu. Tohoto cíle bohužel nebylo dosaženo, jelikož do konce časového rámce práce nebylo možné nadeponovat vrstvu nitridu křemíku na skle, která by měla vhodné optické a fyzikálněchemické vlastnosti. Na druhou stranu bylo dosaženo úspěšné optimalizace výrobních procesů následujících po depozici SiN_x.

V první řadě byla optimalizována výroba dočasné masky z rezistu CSAR 62 na nevodivém substrátu a následně na nitridové vrstvě na křemíkovém substrátu. Pro optimalizace leptání SiN_x a depozicí zlata bylo použito plošného monokrystalického waferu (100) s vrstvou PECVD nebo LPCVD nitridu křemíku. Pro tyto dva druhy nitridu a samotnou dočasnou masku byla zjištěna leptací rychlost v aparatuře RIE a tloušťky vrstev před leptáním. Po dosažení optimálních parametrů leptání nitridu křemíku pomocí RIE byly vyleptány nanopóry skrze celou tloušťku nitridové vrstvy.

Vyleptané struktury byly využívány pro testy depozice zlatých nanomenhirů. Tyto testy byly celkově prováděny ve třech různých aparaturách. Zařízení pro termální napařování bylo nakonec shledáno jako nevhodné pro tvorbu menhirů, jelikož docházelo k depozici převážně na jednu stranu pórů z důvodu pro tento účel nevhodné vnitřní geometrie umístění vzorku.

V jiné metodě depozice menhirů byla použita aparatura s magnetronovým zdrojem. Pro tyto testy bylo potřeba nejprve zjistit rychlosti depozice pro různé tlaky a jejich závislosti na výkonu zdroje. Poté bylo možné nastavovat depoziční rychlost dle požadavků a předpokládaných závislostí a provést testy tvorby menhirů. Z testů vyplynulo, že při příliš vysokém tlaku (jednotky Pascalů) dochází k velmi rychlému uzavření pórů a tedy malé pravděpodobnosti tvorby nanomenhirů. Při nižších tlacích (desetiny Pascalů) se uvnitř pórů vytvořily menhiry přibližně vysoké jako samotné póry, ale docházelo přitom i k nežádoucí depozici zlata na stěny pórů, což by mohlo vést k nevhodnému narušení extinkčního spektra plasmonických struktur.

Z důvodu časové tísně bylo možné provést pouze dva testy v elektronové napařovačce, jeden s depozicí hliníku a druhý se zlatem. Při depozici hliníku byly vytvořeny relativně dobře definované menhirové struktury, jejichž tvar značně připomíná kužel. Tento výsledek splňuje požadavky na to, jak by menhirové struktury pro tento typ sensoru měly vypadat. Bohužel pro depozici zlata se nám tohoto výsledku nepovedlo dosáhnout, jelikož v aparatuře dlouho nebylo k dispozici zlato, a po jeho instalaci bylo možné provést pouze jeden test, který ukazuje, že bude potřeba ještě výrazně optimalizovat celé nastavení zařízení pro depozici zlata, jelikož došlo k porušení menhirových struktur z důvodu výronů hmoty, které pokryly povrch menhirů kousky zlata. Na druhou stranu lze ale pozorovat, že nedochází k depozici na stěny pórů, k čemuž docházelo intenzivně v případě magnetronového naprašování. Po řádné optimalizaci a úpravě procesu by měl tento způsob být vhodný pro finální výrobu struktur.

Z důvodu časové tísně a nepřízně podmínek v laboratoři nebylo možné dosáhnout výroby finálního biosensoru a tudíž nemohl být ověřen ani jeho princip funkce ve smyslu měření optické odezvy.

Literatura

[1] ADZHRI, R., M.K. MD ARSHAD, Subash C.B. GOPINATH, A.R. RUSLINDA, M.F.M. FATHIL, R.M. AYUB, M. Nuzaihan Mohd NOR a C.H. VOON. High-performance integrated field-effect transistor--based sensors. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2016, **917**, 1-18 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1016/j.aca.2016.02.042. ISSN 00032670. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000326701630280X

[2] ARTAR, A., A. A. YANIK a H. ALTUG. Fabry-Perot nanocavities in multilayered plasmonic crystals for enhanced biosensing. *Applied Physics Letters* [online]. 2009, **95**(5). DOI: 10.1063/1.3202391.

[3] CHEN, Si. *Miniaturized localized surface plasmon resonance biosensors*. 2013. ISBN 9789173858519.

[4] Electron beam physical vapor deposition. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001- [cit. 2016-05-25]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Electron_beam_physical_vapor_deposition

[5] DAS, Gobind, Edmondo BATTISTA, Gianluigi MANZO, Filippo CAUSA, Paolo Antonio NETTI a Enzo DI FABRIZIO. Large-Scale Plasmonic nanoCones Array For Spectroscopy Detection. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2015, **7**(42), 23597-23604 [cit. 2016-05-22]. DOI: 10.1021/acsami.5b06887. ISSN 1944-8244. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.5b06887

[6] FU, Junxue, Bosoon PARK a Yiping ZHAO. Limitation of a localized surface plasmon resonance sensor for Salmonella detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2009, **141**(1), 276-283 [cit. 2016-05-12]. DOI: 10.1016/j.snb.2009.06.020. ISSN 09254005. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400509004997

[7] FRITZ, Jürgen. Cantilever biosensors. *The Analyst* [online]. 2008, **133**(7), 855- [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1039/b718174d. ISSN 0003-2654. Dostupné z: http://xlink.rsc.org/?DOI=b718174d

[8] HAMMOND, Jules L., Nikhil BHALLA, Sarah D. RAFIEE a Pedro ESTRELA. Localized Surface Plasmon Resonance as a Biosensing Platform for Developing Countries. *Biosensors*. 2014, **4**(2), 172-188. DOI: 10.3390/bios4020172.

[9] ISA, Lucio, Karthik KUMAR, Mischa MÜLLER, Jan GROLIG, Marcus TEXTOR a Erik REIMHULT. Particle Lithography from Colloidal Self--Assembly at Liquid−Liquid Interfaces. *ACS Nano* [online]. 2010, **4**(10), 5665-5670 [cit. 2016-05-22]. DOI: 10.1021/nn101260f. ISSN 1936-0851. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn101260f

[10] JONES, Anthony C. a Michael L. HITCHMAN. *Chemical vapour deposition: precursors, processes and applications*. Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry, 2009. pp. xv, 582 p. ISBN 08-540-4465-5.

[11] KEJÍK, Lukáš *Použití kovových a polovodičových nanostruktur pro biodetekci*: diplomová práce. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav fyzikálního inženýrství, 2015. 67 s. Vedoucí práce Ing. Miroslav Kolíbal, Ph.D.

[12] KONTIO, Juha M., Hannu HUSU, Janne SIMONEN, Mikko J. HUTTUNEN, Juha TOMMILA, Markus PESSA a Martti KAURANEN. Nanoimprint fabrication of gold nanocones with ∼10 nm tips for enhanced optical interactions. *Optics Letters* [online]. 2009, **34**(13), 1979- [cit. 2016-05-22]. DOI: 10.1364/OL.34.001979. ISSN 0146-9592. Dostupné z: https://www.osapublishing.org/abstract.cfm?URI=ol-34-13-1979

[13] KSHIRSAGAR, Abhijeet, Pradeep NYAUPANE, Dhananjay BODAS, S.P. DUTTAGUPTA a S.A. GANGAL. Deposition and characterization of low temperature silicon nitride films deposited by inductively coupled plasma CVD. *Applied Surface Science* [online]. 2011, **257**(11), 5052-5058 [cit. 2016-06-03]. DOI: 10.1016/j.apsusc.2011.01.020. ISSN 01694332. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169433211000286

[14] KUMAR, Karthik, Andreas B. DAHLIN, Takumi SANNOMIYA, Stefan KAUFMANN, Lucio ISA a Erik REIMHULT. Embedded Plasmonic Nanomenhirs as Location-Specific Biosensors. *Nano Letters* [online]. 2013, **13**(12), 6122-6129. DOI: 10.1021/nl403445f. ISSN 1530-6984.

[15] KUMAR, Karthik, Lucio ISA, Alexander EGNER, Roman SCHMIDT, Marcus TEXTOR a Erik REIMHULT. Formation of Nanopore-Spanning Lipid Bilayers through Liposome Fusion. *Langmuir*. 2011, **27**(17), 10920–10928. DOI: 10.1021/la2019132. ISSN 0743-7463.

[16] KVAPIL, M. *Lokalizované povrchové plazmony: principy a aplikace*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2010. 59 s. Vedoucí prof. RNDr. Tomáš Šikola, CSc.

[17] LARSSON, Elin M., Joan ALEGRET, Mikael KÄLL a Duncan S. SUTHERLAND. Sensing Characteristics of NIR Localized Surface Plasmon Resonances in Gold Nanorings for Application as Ultrasensitive Biosensors. *Nano Letters*. 2007, **7**(5), 1256–1263. DOI: 10.1021/nl0701612.

[18] LEVINSON, Harry J. *Principles of lithography*. 3rd ed. Bellingham, Wash.: SPIE Press, c2010. ISBN 9780819483249.

[19] MACK, Chris A. *Fundamental principles of optical lithography: the science of microfabrication*. Hoboken, NJ, USA: Wiley, c2007. ISBN 978-0-470-72730-0.

[20] MAIER, Stefan A. *Plasmonics: fundamentals and applications*. New York, N.Y.: Springer, c2007. ISBN 978-0-387-33150-8.

[21] MATTOX, D. *Handbook of physical vapor deposition (PVD) processing: film formation, adhesion, surface preparation and contamination control*. Westwood, N.J.: Noyes Publications, c1998. ISBN 0815514220.

[22] *Micro and Nano Fabrication*. New York: Springer, 2014. ISBN 9783662443941.

[23] NEHRA, Anuj a Krishna PAL SINGH. Current trends in nanomaterial embedded field effect transistor-based biosensor. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2015, **74**, 731-743 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1016/j.bios.2015.07.030. ISSN 09565663. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S095656631530275X

[24] NGARUIYA, James Mbiyu. *Fundamental Processes in Growth of Reactive DC Magnetron Sputtered Thin Films*. Aachen, 2004.

[25] OHRING, Milton. *Materials Science of Thin Films*. 2nd ed. Burlington: Elsevier, 2001. ISBN 9780080491783.

[26] OLARU, Andreea, Camelia BALA, Nicole JAFFREZIC-RENAULT a Hassan Y. ABOUL-ENEIN. Surface Plasmon Resonance (SPR) Biosensors in Pharmaceutical Analysis. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [online]. 2015, **45**(2), 97-105 [cit. 2016-05-12]. DOI: 10.1080/10408347.2014.881250. ISSN 1040-8347. Dostupné z: http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408347.2014.881250

[27] PATOLSKY, Fernando a Charles M. LIEBER. Nanowire nanosensors. *Materials Today* [online]. 2005, **8**(4), 20-28 [cit. 2016-04-26]. DOI: 10.1016/S1369-7021(05)00791-1. ISSN 13697021. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1369702105007911

[28] PATOLSKY, Fernando, Gengfeng ZHENG a Charles M. LIEBER. Nanowire-Based Biosensors. *Analytical Chemistry* [online]. 2006, **78**(13), 4260-4269 [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1021/ac069419j. ISSN 0003-2700. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac069419j

[29] PECVD. In: *Oxford Instruments* [online]. ©2016 Oxford Instruments. [vid. 16. 4. 2016] Dostupné z: http://www.oxford-instruments.com/products/etching-deposition-and-growth/plasma-etch-deposition/pecvd

[30] PIMPIN, Alongkorn a Werayut SRITURAVANICH. Review on Micro- and Nanolithography Techniques and their Applications. *Engineering Journal* [online]. 2012, **16**(1), 37-56 [cit. 2016-04-21]. DOI: 10.4186/ej.2012.16.1.37. ISSN 01258281. Dostupné z: http://www.engj.org/index.php/ej/article/view/179/106

[31] *Recognition Receptors in Biosensors*. New York, NY: Springer New York, 2010. ISBN 978-1-4419-0918-3.

[32] RIE. In: *Oxford Instruments* [online]. ©2016 Oxford Instruments. [vid. 13. 4. 2016] Dostupné z: http://www.oxford-instruments.com/products/etching-deposition-and-growth/plasma-etch-deposition/rie

[33] SACKMANN, Eric K., Anna L. FULTON a David J. BEEBE. The present and future role of microfluidics in biomedical research. *Nature* [online]. 2014-3-12, **507**(7491), 181-189 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1038/nature13118. ISSN 0028-0836. Dostupné z: http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nature13118

[34] SADÍLEK, J. *Plazmochemická depozice vrstev z plynné fáze s využitím směsí TVS/Ar a TVS/O2*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2013. 123 s. Vedoucí diplomové práce prof. RNDr. Vladimír Čech, Ph.D..

[35] SOLER AZNAR, Maria. *Nanoplasmonic biosensors for clinical diagnosis at the point of care*. Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Bioquímica i Biologia Molecular, 2015.

[36] STRATIS-CULLUM, Dimitra N. Current Trends in Ubiquitous Biosensing. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques* [online]. 2013, **S7**, - [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.4172/2155-9872.S7-009. ISSN 21559872. Dostupné z: http://www.omicsonline.org/2155-9872/2155-9872-S7-009.digital/2155-9872-S7-009.html

[37] TAMAYO, Javier, Priscila M. KOSAKA, José J. RUZ, Álvaro SAN PAULO a Montserrat CALLEJA. *Biosensors based on nanomechanical systems*. Chem. Soc. Rev [online]. 2013, **42**(3), 1287-1311 [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1039/C2CS35293A. ISSN 0306-0012. Dostupné z: http://xlink.rsc.org/?DOI=C2CS35293A

[38] TESCAN ORSAY HOLDING, A.S. Lyra 3 FIB-FESEM Návod k obsluze. 3. Brno: -, 2013, 10 s.

[39] TENNANT, Donald Milan a Alan R BLEIER. *Handbook of nanofabrication*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier, 2010. ISBN 978-0-12-375176-8.

[40] *The Physics of Micro/Nano-Fabrication*. Springer Verlag, 2010. ISBN 9781441932211.

[41] THÉVENOT, Daniel R., Klara TOTH, Richard A. DURST a George S. WILSON. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification1International Union of Pure and Applied Chemistry. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2001, **16**(1-2), 121-131 [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1016/S0956-5663(01)00115-4. ISSN 09565663. Dostupné z: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566301001154

[42] VENKATESAN, Bala Murali a Rashid BASHIR. Nanopore sensors for nucleic acid analysis. *Nature Nanotechnology*. 2011, **6**(10), 615–624. DOI: 10.1038/nnano.2011.129.

[43] VO-DINH, Tuan a Yan ZHANG. Single-cell monitoring using fiberoptic nanosensors. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* [online]. 2011, **3**(1), 79-85 [cit. 2016-05-12]. DOI: 10.1002/wnan.112. ISSN 19395116. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/wnan.112

[44] VOSSEN, John L a Werner KERN. *Thin film processes*. New York: Academic Press, 1978. ISBN 0127282505.

[45] VOSSEN, John L a Werner KERN. *Thin film processes II*. Boston: Academic Press, c1991. ISBN 0127282513.

[46] WAGGONER, Philip S. a Harold G. CRAIGHEAD. Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection. *Lab on a Chip* [online]. 2007, **7**(10), 1238- [cit. 2016-04-24]. DOI: 10.1039/b707401h. ISSN 1473-0197. Dostupné z: http://xlink.rsc.org/?DOI=b707401h

[47] WANG, Liang, Yujing HAN, Shuo ZHOU, Guihua WANG a Xiyun GUAN. Nanopore Biosensor for Label-Free and Real-Time Detection of Anthrax Lethal Factor. *ACS Applied Materials & Interfaces* [online]. 2014, **6**(10), 7334-7339 [cit. 2016-04-26]. DOI: 10.1021/am500749p. ISSN 1944-8244. Dostupné z: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/am500749p

[48] WELCH, Christine M. a Richard G. COMPTON. The use of nanoparticles in electroanalysis: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. 2006, **384**(3), 601-619 [cit. 2016-04-26]. DOI: 10.1007/s00216-005-0230-3. ISSN 1618-2642. Dostupné z: http://link.springer.com/10.1007/s00216-005-0230-3

[49] WILLETS, Katherine A. a Richard P. VAN DUYNE. Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy and Sensing. *Annual Review of Physical Chemistry* [online]. 2007, **58**(1), 267-297 [cit. 2016-04-30]. DOI: 10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607. ISSN 0066-426x. Dostupné z: http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.physchem.58.032806.104607

[50] YU, Yuhua, Jianfeng CHEN a Jia ZHOU. Parallel-plate lab-on-a-chip based on digital microfluidics for on-chip electrochemical analysis. *Journal of Micromechanics and Microengineering* [online]. 2014, **24**(1), 015020- [cit. 2016-06-03]. DOI: 10.1088/0960-1317/24/1/015020. ISSN 0960-1317. Dostupné z: http://stacks.iop.org/0960-1317/24/i=1/a=015020?key=crossref.86a19a587a0324ef949641c6010

[51] ZHAO, Jing, Wangning SUN, Weijie SUN, et al. Rapid templated fabrication of large-scale, high-density metallic nanocone arrays and SERS applications. *J. Mater. Chem. C* [online]. 2014, **2**(46), 9987-9992 [cit. 2016-05-22]. DOI: 10.1039/C4TC01338G. ISSN 2050-7526. Dostupné z: http://xlink.rsc.org/?DOI=C4TC01338G

[52] ZHOU, Jinwen, Amanda Vera ELLIS a Nicolas Hans VOELCKER. Recent developments in PDMS surface modification for microfluidic devices. *ELECTROPHORESIS* [online]. 2010, **31**(1), 2-16 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1002/elps.200900475. ISSN 01730835. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/elps.200900475

8. Seznam použitých zkratek

BSE	Zpětně odražené elektrony
CVD	Chemická depozice z plynné fáze
DC	Zdroj stejnosměrného napětí
DWL	Litografie přímým zápisem laserovým svazkem
EBL	Elektronová litografie
EBPVD	Elektronové napařování
FEBID	Depozice indukovaná fokusovaným elektronovým svazkem
FIB	Fokusovaný iontový svazek
FET	Tranzistor řízený elektrickým polem
IPA	Isopropylalkohol
LSP	Lokalizovaný povrchový plasmon
NEP	N-Ethyl-2-pyrrolidon
PDMS	Polydimethylsiloxan
PECVD	Plazmochemická depozice z plynné fáze
PLL-g-PEG	Poly(l-lysine)-graft-poly(ethylene glycol)
PMMA	Polymethylmethakrylát
PVD	Fyzikální depozice z plynné fáze
RF	Radiofrekvenční zdroj
RIE	Reaktivní iontové leptání
SE	Sekundární elektrony
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
SERS	Surface Enhanced Raman Spectroscopy
SiN_x	Nitrid křemíku
SPR	Povrchová plasmonová rezonance
TCE	Trichlorethylen
UVL	Fotolitografie ultrafialovým světlem