

ساخت تراشه نقره سیلانکاری شده توسط آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان جهت استفاده در حسگرهای تشدید پلاسمون سطحی

محمد قربان پور

گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه محقق اردبیلی

(دریافت مقاله : ۹۳/۱۱/۱۹ - پذیرش مقاله : ۹۴/۰۵/۲۱)

چکیده

بهینه‌سازی مدت حرارت‌دهی تراشه نقره سیلانکاری شده توسط آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان در محیط آبی مورد استفاده در حسگرهای تشدید پلاسمون سطحی هدف از انجام این تحقیق بوده است. در این تحقیق تراشه نقره با ضخامت ۵۰ nm توسط محلول آبی آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان سیلانکاری شده و در زمانهای مختلف در دمای ۱۰۰°C حرارت‌دهی شد. تراشه‌های سیلان شده در نهایت با کمک روش‌های میکروسکوپ نیروی اتمی، حسگر تشدید پلاسمون سطحی و اندازه گیری زاویه تماس آب آنالیز شدند. تراشه‌های حاصل خواص نوری مناسبی جهت استفاده در حسگر تشدید پلاسمون سطحی داشتند. با افزایش مدت حرارت‌دهی زیری سطح افزایش یافته، پاسخ تشدید پلاسمون سطحی تراشه تا حدی کاهش یافت. از سوی دیگر با افزایش مدت حرارت‌دهی تراشه نقره سیلانکاری شده، پایداری شیمیایی تراشه در مقابل آب نمک ۲ مولار افزایش یافت. از سوی دیگر حرارت‌دهی تراشه سیلانکاری شده موجب افزایش آمین در دسترس تراشه نقره شد. **واژه‌های کلیدی:** تشدید پلاسمون سطحی، تراشه نقره، حرارت‌دهی، آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان، پایداری شیمیایی.

Preparation of silver chip silanized by 3- Aminopropyltriethoxysilane for Surface Plasmon Resonance sensors

M. Ghorbanpour

Chemical Engineerin Department, University of Mohaghegh Ardabili

(Received 8 Februari 2015, accepted 12 August 2015)

Abstract

The aim of this work was the optimization of annealing time of silver chip silanized by aminopropyl try ethoxy silane. Silver chip with 50 nm thickness silanized by aqueous silane was annealed in different time at 100 °C. Silanized chips were analyzed via AFM, surface Plasmon resonance sensor and contact angle measurement. Result chips had good optical property for surface Plasmon resonance sensors. By increasing the annealing time, the roughness and chemical stability of silanized chips increased, while their surface plasmon resonance response weakened. Also, annealing increased amine accessibility of chips.

Keywords: Surface Plasmon Resonance, Silver chip, 3- Aminopropyltriethoxysilane, Chemical stability.

E-mail of corresponding author: ghorbanpour@uma.ac.ir

مقدمه

کوپل شدن را می دهد اندازه گیری شده و بعنوان خروجی حسگر مورد استفاده قرار می گیرد.

تراشه حسگر معمولاً از یک زیرلایه که معمولاً اسلاید شیشه ای است تشکیل می شود که سطح آن توسط لایه ای از فلز پوشانده می شود. فلزات مختلفی می توانند بعنوان لایه حسگر فلزی استفاده شوند. تا کنون فلزاتی از قبیل آلومینیوم، پلاتین، مس، طلا و نقره بعنوان لایه نازک فلزی برای ساخت تراشه تشدیدپلاسمون سطحی استفاده شده است. از میان تمامی این فلزات، طلا و نقره گسترده ترین استفاده را دارند. طلا تغییر زاویه رزونانس بیشتری ایجاد کرده و پایداری خوبی دارد؛ ولیکن پاسخ تشدید پلاسمون سطحی آن عریضتر از نقره است و حساسیت کمتری نسبت به تراشه نقره دارد. دلیل این امر را می توان در بزرگتر بودن بخش حقیقی ثابت دی الکتریک نقره جستجو کرد. هرچند نقره پاسخ تشدید پلاسمون سطحی تیزتر و باریکتری تولید می کند ولی پایداری شیمیایی بسیار پایینی دارد و به سرعت اکسید می شود و نیاز به یک لایه محافظ دی الکتریک دارد. ولیکن استفاده از لایه محافظ می تواند تاثیر منفی بر روی پاسخ تشدیدپلاسمون سطحی تراشه داشته باشد [۴،۵].

سیلان دار کردن سطوح جامد بطور وسیعی برای تثبیت حسگر بیولوژیک بر روی بسترها بکار می رود. سیلانها ملکولهای مونومر برپایه سیلیکون است. ملکول سیلان با حداقل یک اتم کربن پیوندی، ارگانوسیلان نامیده می شود. ارگانوسیلانهایی که علاوه بر یک یا دو گروه واکنش دهنده سیلانی حاوی گروههای عاملی آلی نیز هستند توانایی اتصال به ترکیبات آلی دیگر را دارند و از این رو مصارف بسیار زیادی دارند [۶].

سیلانی که بطور شیمیایی بر روی یک سطح غیر آلی جذب شده، از طریق گروه عاملی که در سیلان وجود دارد سطحی برای واکنشهای بیشتر تامین می کند. معمولاً سطح اصلاح شده سیلانی توسط انباشت ترکیبات سیلانی بر روی بستر سیلیکا، شیشه یا اکسید آلومینیوم آماده می شود.

تشدیدپلاسمون سطحی یکی از حساس ترین روشها در ساخت نانوزیست حسگرها است. این زیست حسگرها مزایایی همچون حساسیت بالا، آنی بودن و عدم نیاز به علامت گذاری دارند. بدلیل مزایا و حساسیت بالا، این حسگرها در کاربردهای مختلفی از قبیل شناسایی بیولوژیک، تشخیص پزشکی و آنالیز غذا کاربرد یافته اند. تشدیدپلاسمون سطحی از امواج حاصل از دانسیته بار الکترونی موجود در سطح لایه نازک فلزی ناشی می شود. این امر هنگامی رخ می دهد که نور از سطح یک لایه نازک فلزی تحت شرایط خاصی منعکس شود. تشدید یکی از نتایج انتقال انرژی از فوتونهای نور ورودی به پلاسمونهای موجود در سطح است و با ضریب شکست ماده دی الکتریک موجود بر روی سطح لایه نازک فلزی مرتبط است. از حسگرهای تشدیدپلاسمون سطحی می توان برای مشاهده برهمکنشهای رخ داده در سطح لایه نازک فلزی استفاده کرد [۱،۲].

حسگرهای تشدیدپلاسمون سطحی رفراکتومترهای لایه نازک هستند که تغییرات ضریب شکست اتفاق افتاده در یک سطح لایه نازک فلزی دارای پلاسمون سطح را اندازه گیری می کند. در این روش پلاسمون سطح تهییج شده توسط یک موج نور در میان لایه نازک فلزی انتشار یافته و میدان میرای آن، نمونه در تماس با لایه نازک فلزی را جستجو می کند. با تغییر ضریب شکست دی الکتریک موجود بر روی سطح فلز، ثابت انتشار پلاسمون سطح تغییر کرده و در نتیجه شرایط کوپل شدن موج نور (یعنی زاویه کوپل شدن، طول موج کوپل شدن، شدت و فاز آن) با پلاسمون سطح تغییر می کند [۱-۳]. در حسگرهای تشدیدپلاسمون سطحی با مدولاسیون زاویه ای، از موج نور تکفام برای تهییج پلاسمون سطح استفاده می شود. تهییج پلاسمون سطح بعنوان یک چاه در طیف زاویه ای نور منعکس شده آشکار می شود. زاویه ورودی که قویترین

اتصالات میان ملکول‌های سیلان کاملتر و بیشتر باشد، امکان نفوذ آب و یا بافر مورد استفاده حین سنجش بر روی سطح نقره کمتر شده و در نتیجه احتمال تخریب و اکسیداسیون این لایه کمتر می‌شود. بر اساس تحقیقات انجام شده، حرارت‌دهی باعث تضعیف پاسخ تشدید پلاسمون سطحی می‌شود. بنابراین کنترل مدت حرارت‌دهی نکته کلیدی در سیلانکاری سطح نقره است.

مواد و روش تحقیق

اسید سولفوریک غلیظ، ایزوپروپانول، کلرید سدیم، تولوئن و هیدروژن پر اکسید از شرکت مرک و آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان از شرکت سیگما-آلد ریچ خریداری شد. در این تحقیق، در تمامی مراحل شستشو از آب سه بار تقطیر استفاده شد.

تهیه تراشه نقره

ابتدا اسلایدهای شیشه‌ای با ضخامت ۱ mm در ابعاد cm^2 1×1 بریده شده و سطح آنها با استفاده از محلول پیرنها (۳۰٪ حجمی هیدروژن پر اکسید و ۷۰٪ حجمی اسید سولفوریک) در $80^\circ C$ و به مدت ۳۰ دقیقه تمیز شد؛ زیرلایه‌های شیشه‌ای تمیز شده با آب مقطر شسته شده و با جریان گاز نیتروژن خشک شدند. در ادامه بر روی اسلایدهای شیشه‌ای تمیز شده لایه نقره با ضخامت ۵۰ nm کندوپاش شد.

برای آماده سازی لایه نازک سیلانی بر روی شیشه‌های پوشانده شده از لایه نقره تراشه‌های نقره داخل محلول آبی آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان (۲٪ آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان در آب، ۱۰ mL) قرار داده شدند و به مدت یک ساعت در دمای اتاق واکنش انجام شد. پس از شستشوی تراشه‌ها با آب سه بار تقطیر تراشه‌ها داخل یک انوکلاو قرار داده شدند. در ادامه، در انوکلاو بسته شده و در یک آون با دمای $100^\circ C$ به مدت ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه حرارت‌دهی شد.

در ادامه، لایه نازک سیلانی تولیدی باید حرارت‌دهی شود تا میان ملکول‌های سیلان و بستر پیوندهای کوالانس برقرار گردد. در صورتی که لایه نازک پخته نشود لایه سیلان تشکیل شده بجای واکنش شیمیایی با سطح شیشه، جذب فیزیکی آن می‌شود.

یکی از پرکاربردترین آمینوسیلانها آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان با گروه عاملی آمین است. بواقع اتم سیلیکون در ملکول آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان به سه گروه اتوکسی قابل هیدرولیز و یک گروه پروپیل آمین متصل شده است. به دلیل حضور گروه آمین در آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان و ورود آن در واکنش سیلانکاری، بر همکنش‌های میان آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان با اکسید سیلیکون بسیار پیچیده است [۷].

در تحقیقات انجام شده روشهای مختلفی برای حفاظت از لایه نقره انجام شده است. یکی از این روشها استفاده از لایه محافظ طلا، سیلیکون و SnO_2 است [۸-۱۲]. این روش‌ها در زمینه محافظت از لایه نقره موفقیت آمیز است. ولیکن، استفاده از لایه محافظ معمولاً منجر به کاهش حساسیت تراشه می‌شود. از سوی دیگر، در این روش برای فعالسازی سطح نقره محافظت شده جهت تثبیت جزء بیولوژیک نیاز به استفاده از مواد پیوند دهنده مناسب است. این مواد پیوند دهنده باید دارای گروه عاملی مناسب برای اتصال به سطح محافظت شده در یک سوی خود و گروه عاملی مناسب برای اتصال به جزء بیولوژیک مناسب در سوی دیگر خود باشد. در این تحقیق ما بدنبال روشی برای ایجاد یک لایه محافظ سیلانی بر روی لایه نقره هستیم که این لایه دارای گروه‌های آمینی برای اتصال به جزء بیولوژیک باشد. برای محافظت نیاز است تا ملکول‌های سیلان ضمن واکنش با یکدیگر، از میان ذرات نقره کندوپاش شده نفوذ کرده با سطح شیشه پیوند کوالانس دهد. همانطور که پیشتر ذکر شد حرارت‌دهی لایه سیلان شده برای کندانس شدن و اتصال بهتر ملکول‌های سیلان به یکدیگر و زیر لایه شیشه‌ای ضروری است. هر اندازه

آنالیزها

سطحی آن می‌شود [۱۲]. از سوی دیگر برای انجام واکنش کندانس شدن دمای حرارت‌دهی باید بیش از 80°C باشد. بنابراین در فرآیندهای سیلانکاری دماها و زمان‌های حرارت‌دهی کمتر مطلوبتر است. دمای حرارت‌دهی در این تحقیق 100°C انتخاب شد. پس از سیلانکاری هیچ گونه تغییری در شکل ظاهری نمونه‌ها ایجاد نشد.

شکل ۱ مورفولوژی سطح تراشه نقره اولیه و سیلان شده را نشان می‌دهد. همانطور که از این شکل نمایان می‌شود حرارت‌دهی نمونه‌ها بمدت ۱۰ دقیقه پس از سیلانکاری تغییر قابل توجهی در شکل ظاهری نمونه‌های تهیه شده ایجاد نکرده است. در نمونه‌های ۴۰ و ۶۰ دقیقه، تا حدی اندازه ذرات موجود بر روی سطح و ارتفاع آنها بیشتر شده است. جدول ۱ متوسط زبری سطح تراشه نقره اولیه و سیلان شده را نشان می‌دهد. با رجوع به این جدول مشاهده می‌شود تمامی نمونه‌ها دارای زبری نزدیک به هم هستند و با افزایش مدت حرارت‌دهی زبری سطح به مقدار کوچکی افزایش می‌یابد. این تغییرات از حرکت ذرات نقره کندوپاش شده بر روی سطح و بهم چسبیدن آنها ناشی می‌شود. ولی بدلیل کم بودن دمای حرارت‌دهی مقدار این جابجایی‌ها محدود است.

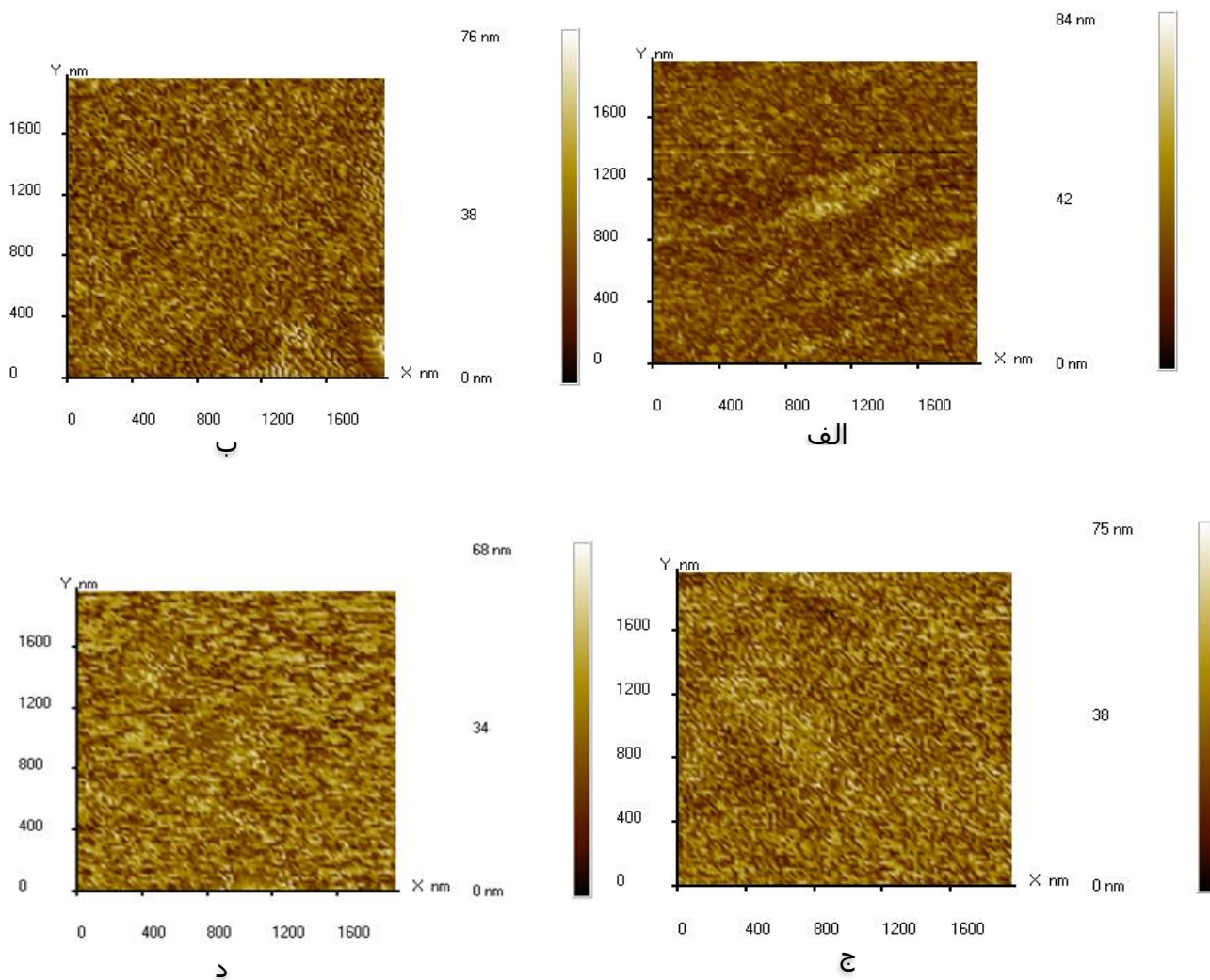
تاثیر مدت حرارت‌دهی بر روی پاسخ تشدید پلاسمون سطحی نمونه‌های پوشانده شده از آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان در شکل ۲ نشان داده شده است. بطور قابل توجهی، تمامی نمونه‌های سیلان شده ویژگی تشدید پلاسمون سطحی خود را پس از سیلانکاری حفظ کردند هر چند با کمی تغییر حرارت‌دهی موجب تغییر در زاویه تشدید پلاسمون سطحی و کاهش شدت بازتابش کمینه یا همان عمق تشدید پلاسمون می‌شود. کاهش شدت بازتابش کمینه موجب افزایش عرض نمودار پاسخ تشدید پلاسمون نمونه می‌شود. این امر موجب کاهش حساسیت تراشه بدلیل دشوار تر شدن خواندن زاویه رزونانس می‌شود. بنابراین افزایش دمای حرارت‌دهی اثری منفی بر پاسخ تشدید پلاسمون سطح تراشه‌ها دارد.

تغییرات حاصل از سیلانکاری بر روی مورفولوژی و پاسخ تشدید پلاسمون سطحی تراشه نقره پیش و پس از سیلانکاری توسط دستگاه میکروسکوپ نیروی اتمی (Nanoeducator, Russia) و اسپکترومتر تشدید پلاسمون سطحی (Nano SPR, Iran) اندازه گیری شد. زاویه تماس آب باروش ارایه شده در استاندارد ASTM D 724-99 اندازه گیری شد. این آنالیز بر روی حداقل ۳ نقطه متفاوت از سطح هر تراشه انجام شد.

پایداری شیمیایی نمونه‌ها با فرو کردن آنها در محلول آب نمک ۲ M به مدت ۱ h سنجیده شد. برای بررسی تغییرات بوجود آمده، طیف تشدید پلاسمون سطحی نمونه‌ها قبل و پس از آزمایش گرفته شد. برای بررسی آمین در دسترس تراشه‌های تولید شده، ابتدا تراشه بر روی منشور دستگاه حسگر تشدید پلاسمون سطحی (Xantech, germany) قرار داده شده، سپس در نگهدارنده دستگاه بسته شد. برای شستشوی اولیه، محلول بافر فسفات با pH حدود ۷/۴ به مدت ۳۰ دقیقه از روی تراشه با جریان $50 \mu\text{L}/\text{min}$ عبور داده شد. هنگامی که خط پایه نمودار تشدید پلاسمون سطحی ثابت شد، محلول سرم آلبومین گاوی ($1 \text{ mg}/\text{mL}$ ، $250 \mu\text{L}$) بر روی تراشه تزریق شد. پس از اتمام تزریق سرم آلبومین گاوی، به مدت ۱۰ دقیقه بافر از روی تراشه عبور داده شد تا سطح شسته شود. در ادامه محلول ۱ مولار کلرید سدیم بر روی تراشه تزریق شد تا پروتئین‌هایی که اتصالات غیر کووالانس دارند از سطح جدا شوند.

نتایج

حرارت‌دهی موجب تغییر در ساختار لایه نازک نقره پوشش داده شده بر روی شیشه شده و در نتیجه آن تأثیری منفی بر روی خواص تشدید پلاسمون سطحی دارد. مشخص شده است که حرارت‌دهی نانولایه نقره، بالاخص در دماهای بالا، موجب تضعیف پاسخ تشدید پلاسمون



شکل ۱. تصاویر میکروسکوپ نیروی اتمی سطح لایه نقره اولیه (الف) و سیلان شده با آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان و حرارت دهی شده به مدت ۱۰ (ب)، ۴۰ (ج)، ۶۰ دقیقه (د).

جدول ۱. اثر حرارت دهی بر روی زبری متوسط تراشه های نقره سیلانکاری شده.

زبری متوسط سطح (nm)	مدت حرارت دهی (min)
۸/۵	۰
۸/۴۲	۱۰
۹/۲۵	۲۰
۱۰/۴۸	۴۰
۱۰/۸۱	۶۰

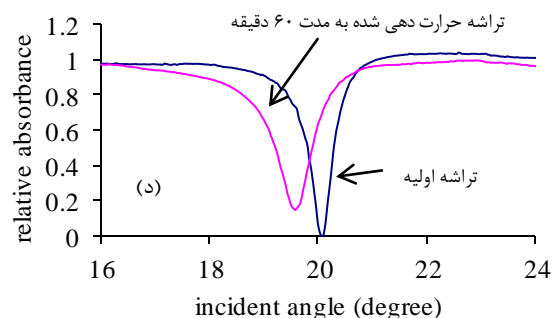
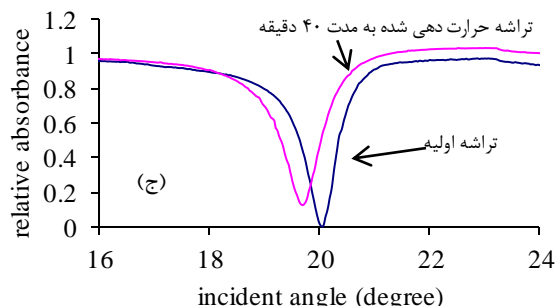
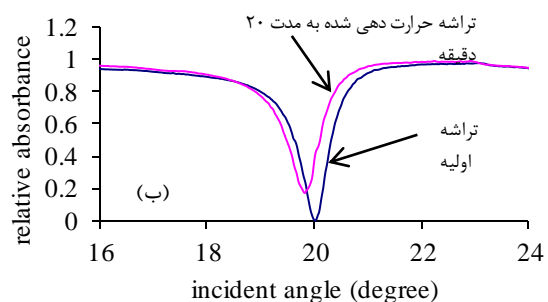
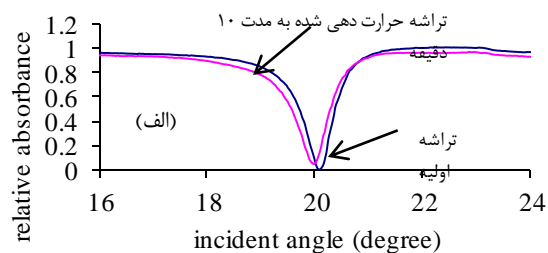
این نتایج با تغییرات مورفولوژیک تراشه ها مطابق است (شکل ۱). بر اساس گزارشات موجود افزایش زبری موجب تضعیف پاسخ تشدید پلاسمون سطح می شود [۱۲].

جدول ۲ زوایای تماس تراشه اولیه و تراشه های سیلان شده حرارت دهی شده در زمانهای مختلف را نشان می دهد. مشاهده می شود که سیلانکاری موجب کاهش زاویه تماس تراشه نقره اولیه از ۷۲ درجه به محدوده ۵۸/۲۸-۶۲/۷۳ می شود. مقادیر زاویه تماس نهایی بدست آمده با مقادیر گزارش شده در مراجع (۴۲ تا ۶۸ °) مطابقت دارد [۱۵-۱۳]. به نظر می رسد تفاوت در زاویه نمونه های سیلان

جدول ۲. زاویه تماس بدست آمده برای تراشه‌های نقره سیلان
حرارت‌دهی شده در زمانهای مختلف.

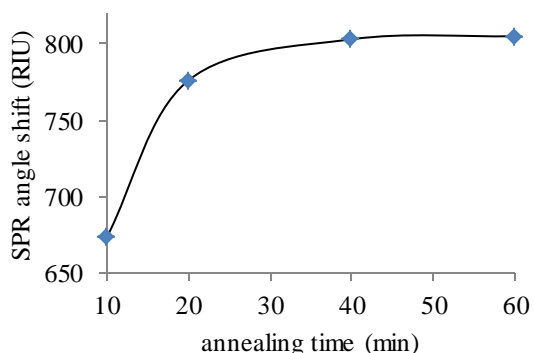
مدت حرارت‌دهی (دقیقه)	زاویه تماس (°)
تراشه نقره	$72/27 \pm 0/7$
۱۰	$62/73 \pm 0/98$
۲۰	$58/28 \pm 1/68$
۴۰	$58/66 \pm 0/93$
۶۰	$58/57 \pm 0/66$

برای تخمین پایداری شیمیایی، تراشه نهایی تهیه شده به مدت ۱ ساعت در محلول آب نمک ۱ مولار قرار داده شده و پاسخ تشدیدپلاسمون سطحی آنها ارزیابی شد. در صورت کنده شدن لایه نقره یا عدم پاسخ آن جواب تست منفی است. از سوی دیگر هر اندازه تغییرات زاویه رزونانس پس از تست پایداری کمتر باشد نشانگر پایداری بهتر تراشه حاصل و ایجاد لایه محافظ بهتر بر روی نقره است. این آزمایش برای شبیه سازی پایداری تراشه‌ها حین شستشوی مکرر بهنگام استفاده از آن انجام شد. تراشه نقره سیلانکاری نشده در کمتر از ۲ دقیقه پوست پوست شده و لایه نقره از سطح جدا شد. تراشه‌های نقره حتی در صورتی که در معرض اتمسفر قرار گیرند، توسط اکسیژن، دی اکسیدکربن و رطوبت موجود در اتمسفر اکسید می‌شود. بر پایه نتایج حاصل از آزمایش پایداری (جدول ۳)، مشاهده می‌شود که سیلانکاری لایه نقره موجب بهبود پایداری تراشه می‌شود. نکته جالب اینست که تمامی نمونه‌های سیلانکاری شده دارای پایداری شیمیایی مناسبی بودند. ولیکن افزایش مدت حرارت‌دهی موجب پایداری بهتر نمونه‌ها شد. دلیل این موضوع را می‌توان در پلیمریزه شدن بهتر گروه‌های سیلانول تولید شده حین واکنش هیدرولیز گروه‌های اتوکسی دنبال کرد. این گروه‌ها می‌توانند با گروه‌های سیلانول سطحی شیشه و گروه‌های سیلانول ملکول‌های آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان دیگر حین مرحله حرارت‌دهی واکنش شیمیایی دهند. لایه نازک تولید



شکل ۲. پاسخ تشدیدپلاسمون سطحی تراشه نقره سیلان شده با آمینوپروپیل تری اتوکسی و حرارت‌دهی شده .

حرارت‌دهی شده ناشی از تعداد کمتر گروه‌های اتوکسی آبگریز و مقادیر بالاتر گروه‌های سیلانولی باشد.



شکل ۳. تغییر زاویه بدست آمده حاصل از تثبیت آلبومین سرم گاوی برای تراشه‌های نقره سیلان در حرارت‌دهی شده در زمانهای مختلف.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق تراشه نقره با ضخامت ۵۰ nm در محلول آبی آمینوپروپیل تری اتوکسی سیلان سیلانکاری شده و در زمانهای مختلف در دمای ۱۰۰ حرارت‌دهی شد. نتایج حاصل نشان دادند که تراشه‌های حاصل پاسخ تشدیدپلاسمون سطحی خود را حفظ کردند هر چند حرارت‌دهی موجب تضعیف این خاصیت در تراشه می‌شود. همچنین حرارت‌دهی زبری سطح افزایش داد هرچند تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر مورفولوژی تراشه نداشت. افزایش مدت حرارت‌دهی منجر به افزایش پایداری شیمیایی و آمین در دسترس تراشه نقره شد.

مراجع

1. J. Homola, *Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species*, Chem. Rev., 108 (2008) 462-493.
2. J. Homola, S. S. Yee, G. Gauglitz, *Surface plasmon resonance sensors: review*, Sensors and Actuators B, 54 (1999) 3-1.
3. K. R. Rogers, *Recent advances in biosensor techniques for environmental monitoring*, Analytica Chimica Acta, 568 (2006) 222-231.
4. J. d. Mol Nico, J. E. Fischer Marcel, *Surface Plasmon Resonance Methods and Protocols Series: Methods in*

شده در مدت حرارت‌دهی بالاتر زمان بیشتری برای این برهمکنشها در اختیار دارد و در نتیجه پیوندهای کوالانس بسیار زیادی می‌تواند ملکول‌های آمینو پروپیل تری اتوکسی سیلان را به یکدیگر و سطح شیشه اتصال داده و همانند یک شبکه کاملتر ذرات نقره را در بر بگیرند. این نکته لازم به ذکر است که افزایش مدت حرارت‌دهی موجب تضعیف پاسخ تشدیدپلاسمون سطحی تراشه می‌شود (شکل ۲).

جدول ۳. پایداری تراشه‌های نقره سیلان در حرارت‌دهی شده در زمانهای مختلف.

مدت حرارت‌دهی (دقیقه)	تغییر زاویه رزونانس
تراشه نقره	پاس نکرد
۱۰	0.18 ± 0.03
۲۰	0.12 ± 0.03
۴۰	0.08 ± 0.03
۶۰	0.06 ± 0.03

آمین در دسترس حاصل از حرارت‌دهی تراشه سیلانکاری شده در زمانهای مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که از این شکل مشاهده می‌شود حرارت‌دهی در زمانهای کمتر از ۴۰ دقیقه موجب افزایش آمین در دسترس تراشه می‌شود. میزان آمین در دسترس تراشه برای تراشه حرارت‌دهی شده بمدت ۶۰ دقیقه تقریباً با نمونه ۴۰ دقیقه یکسان است. بر اساس تحقیق قبلی انجام شده، گروه‌های آمین موجود در ملکول سیلان می‌تواند با گروه هیدروکسیل کناری تولید پیوند هیدروژنی کند [۱۵]. بنظر می‌رسد بر اثر پلیمریزه شدن گروه‌های هیدروکسیل موجود در ملکول سیلان حین حرارت‌دهی، گروه‌های آمین آزاد شده و می‌توانند برای تثبیت بعدی مورد استفاده قرار گیرند.

- Molecular Biology*, Humana Press (2010).
5. R. B. M. Schasfoort, A. J. Tudos, *Handbook of Surface Plasmon Resonance*, RSC Publishing (2008).
 6. G. T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Elsevier Inc, 2 (2008).
 7. J. W. Lee, S. J. Sima, S. M. Cho, J. Lee, *Characterization of a self-assembled monolayer of thiol on a gold surface and the fabrication of a biosensor chip based on surface plasmon resonance for detecting anti-GAD antibody*, *Biosensors and Bioelectronics*, 20 (2005) 1422–1427.
 8. M. Manesse, R. Sanjines, V. Stambouli, R. Boukherroub, S. Szunerits, *Preparation and characterization of antimony-doped SnO₂ thin films on silver and silver substrates for electrochemical and surface plasmon resonance studies*, *Electrochemistry Communications*, 10 (2008) 1041–1043.
 9. S. Szunerits, R. Boukherroub, *Electrochemical investigation of gold/silica thin film interfaces for electrochemical surface plasmon resonance studies*, *Electrochemistry Communications*, 8 (2006) 439-44.
 10. M. Ghorbanpour, C. Falamaki, *Micro energy dispersive x-ray fluorescence as a powerful complementary technique for the analysis of bimetallic Au/Ag/glass nanolayer composites used in surface plasmon resonance sensors*, *App. Optics*, 51 (2012) 7733-38.
 11. M. Ghorbanpour, *Optimization of Sensitivity and Stability of Gold/Silver bi-Layer Thin Films Used in Surface Plasmon Resonance Chips*, *NanoStructures*, 3 (2013) 309-313.
 12. M. Ghorbanpour, C. Falamaki: *A novel method for the production of highly adherent Au layers on glass substrates used in Surface Plasmon Resonance analysis: Substitution of Cr or Ti intermediate layers with Ag layer followed by an optimal annealing treatment*, *Nanostructure in Chemistry*, 3 (2013) 661-667.
 13. D. F. Siqueira Petri, G. Wenz, P. Schunk, T. Schimmel, Schimmel, *An Improved Method for the Assembly of Amino-Terminated Monolayers on SiO₂ and the Vapor Deposition of Gold Layers*, *Langmuir* 15 (1999) 4520-452.
 14. J. A. Howarter, J. P. Youngblood, *Optimization of Silica Silanization by 3-Aminopropyltriethoxysilane*, *Langmuir* 22 (2006) 11142-11147.
 15. M. Ghorbanpour, C. Falamai, *A novel method for the fabrication of ATPES silanized SPR sensor chips: Exclusion of Cr or Ti intermediate layers and optimization of optical/adherence properties*, *Applied Surface Science* 301 (2014) 544–550.