



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΔΠΜΣ «ΜΙΚΡΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ & ΝΑΝΟΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΩΤΟΝΙΚΟΥ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΑ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ LIFT

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Νικόλαος Ι. Κόρακας

Επιβλέπουσα: Ι. Ζεργιώτη

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια ΕΜΠ

Αθήνα Ιούλιος 2015

Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στον τομέα Φυσικής της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών του Ε.Μ.Π., από τον Σεπτέμβριο του 2014 έως τον Ιούλιο του 2015. Την τριμελή συμβουλευτική επιτροπή αποτέλεσαν η επιβλέπουσα Αναπλ. Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. Ιωάννα Ζεργιώτη, ο Καθηγητής Ε.Μ.Π. Ιωάννης Ράπτης και ο Καθηγητής Ε.Μ.Π. Δημήτρης Τσουκαλάς. Κατά το χρονικό διάστημα που εργάστηκα για την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, είχα την ευκαιρία να συνεργαστώ με ένα μεγάλο αριθμό από τα μέλη του τομέα Φυσικής καθώς και αρκετούς εξωτερικούς συνεργάτες.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπλ. Καθηγήτρια Ε.Μ.Π κα. Ιωάννα Ζεργιώτη, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αναθέτοντας μου την παρούσα μεταπτυχιακή εργασία, για τη βοήθεια που μου παρείχε σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων και για την άψογη συνεργασία που είχαμε.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την Μαρία Μασαούτη για τον χρόνο που διέθεσε για να μου λύσει οποιαδήποτε απορία καθώς και για τις οδηγίες που μου παρείχε.

Ιδιαίτερη αναφορά θα ήθελα να κάνω στην Μαριανέζα Χατζηπέτρου με την οποία συνεργάστηκα στα πειράματα της μεταπτυχιακής μου εργασίας και να την ευχαριστήσω για την βοήθεια που μου προσέφερε, τις συμβουλές που μου έδωσε καθώς και για την ενθάρρυνση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Γιώργο Τσέκενη από την ακαδημία Αθηνών καθώς και όλα τα άτομα με τα οποία συνεργάστηκα και ήταν δίπλα μου όποτε τα χρειάστηκα, Φιλήμονα Ζαχαράτο, Γιάννη Θεοδωράκο, Μαρίνα Μακρύγιαννη και Σίμο Παπάζογλου.

Table of Contents

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	1
1.1 Τεχνικές Εναπόθεσης Μικροσυτοιχιών	1
1.1.1 Ink Jet Printing	1
1.1.2 Εναπόθεση μέσω ακίδων (Dip Pen Nanolithography)	3
1.1.3 Εναπόθεση Μέσω Αντλίας	4
1.1.4 Εναπόθεση με laser (MAPLE)	5
1.1.5 Εναπόθεση με laser (LIFT)	6
1.2 Αισθητήρες.....	8
1.2.1 Χαρακτηριστικά ενός αισθητήρα	9
1.2.2 Χαρακτηριστικά ιδανικού αισθητήρα	10
1.3 Βιοαισθητήρες.....	12
1.3.1 Βιουποδοχείς.....	13
1.3.2 Μορφό-Μετατροπέας.....	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	24
2.1 Πειραματική Διάταξη.....	24
2.2 Υπόστρωμα δότης	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	30
3.1 Αλληλεπίδραση Ύλης με Φως	30
3.2 Θεωρητική προσέγγιση του μηχανισμού εναπόθεσης υγρών μέσω της τεχνικής εκτύπωσης LIFT .	39
3.3 Κατάρρευση της Φυσαλίδας	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	54
4.1 Απταμερή: Τα βιομόρια ανιχνευτές	54
4.2 Τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια και η Thiol-Ene αντίδραση.....	57
4.2.1 Αλκένια-Αλκίνια.....	57
4.2.2 Οι Αντιδράσεις Thiol-Ene , Thiol-yne.	58
4.3 Μετρήσεις –Αποτελέσματα.....	59
4.3.1 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια- Με πιπέτα και photoactivation.	59
4.3.2 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια- Με LIFT και photoactivation.	65

4.3.3 Βαθμονόμηση του σήματος φθορισμού σε ακινητοποιημένα απταμερή μέσω της διαδικασίας εκτύπωσης LIFT και photoactivation.....	67
4.3.4 Ανίχνευση της μυκοτοξίνης Ochratoxin A (OTA), μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Εναπόθεση απταμερών με πιπέτα.....	69
4.3.5 Ανίχνευση της μυκοτοξίνης Ochratoxin A (OTA), μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Εναπόθεση απταμερών μέσω της τεχνικής εκτύπωσης με laser (LIFT).....	71
4.3.6 Δημιουργία βιοδομών με μεγάλη χωρική διακριτική ικανότητα.....	73
4.3.7 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκίνια- Με LIFT και photoactivation.....	77
4.4 Σύνοψη αποτελεσμάτων.....	79

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

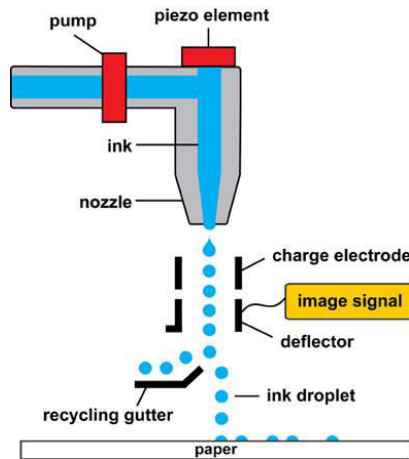
1.1 Τεχνικές Εναπόθεσης Μικροσυστοιχιών

Οι διαστάσεις των προηγμένων δομών, όπως αυτών της μικροηλεκτρονικής, τα τελευταία χρόνια τείνουν να μειωθούν σημαντικά, ενώ παράλληλα διατηρείται η ποιότητα, η πολυλειτουργικότητα και η αξιοπιστία τους. Οι τεχνολογικές αυτές απαιτήσεις οδήγησαν στην ανάπτυξη νέων τεχνικών με τις οποίες μπορεί να γίνει εναπόθεση υλικών πολύ μεγάλου εύρους και σε διαφορετικές επιφάνειες.

1.1.1 Ink Jet Printing

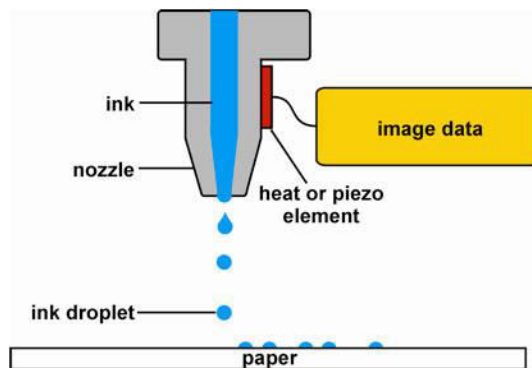
Η τεχνική εναπόθεσης ψεκασμού μελάνης (ink jet) είναι μια διαδικασία αρκετά εύκολη και γρήγορη. Σε αυτή την διαδικασία υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου και διαχείρισης της ποσότητας εκτύπωσης στο υπόστρωμα, με επαναληψιμότητα και έλεγχο της κλίμακας της δομής. Υπάρχουν δύο διαφορετικές μέθοδοι της μεθόδου ψεκασμού μελάνης για την εκτύπωση υγρών δειγμάτων. Ο συνεχής (continuous inkjet-CIJ) και ο βηματικός (drop on demand-DOD) ψεκασμός.

Στο συνεχή ψεκασμό μελάνης (εικόνα 1.1), μια αντλία υψηλού κενού είναι υπεύθυνη να κατευθύνει την μελάνη από το θάλαμο στο ακροφύσιο, παράγοντας συνεχή ροή μελανιού. Ένας πιεζοηλεκτρικός κρύσταλλος είναι υπεύθυνος για την διακοπή της συνεχούς ροής μέσω ακουστικών κυμάτων. Αφού οι σταγόνες εξέλθουν από το ακροφύσιο, περνάνε μέσα από ένα μεταβαλλόμενο ηλεκτρικό πεδίο το οποίο της φορτίζει μέσω στατικού ηλεκτρισμού. Στην συνέχεια περνάνε μέσω ενός σταθερού ηλεκτρικού πεδίου το οποίο εκτρέπει την σταγόνα ανάλογα με τη φόρτιση της εκάστοτε σταγόνας. Σε περίπτωση που το στατικό φορτίο της σταγόνας που εξέρχεται είναι μηδενικό, τότε οδηγείται στο υπόστρωμα αποδέκτη. Μεταβάλλοντας το στατικό φορτίο της σταγόνας, εκτρέπεται από την αρχική πορεία της και οδηγείται μέσω ενός διάκενου προς ανακύκλωση. Με αυτό τον τρόπο γίνεται η επιλογή των εναποτιθέμενων σταγόνων.



Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας του συνεχούς ψεκασμού μελάνης [1]

Στο βηματικό ψεκασμό μελάνης (DOD-εικόνα 1.2) η εναπόθεση γίνεται είτε μέσω θερμικών θαλάμων (thermal DOD inkjet), είτε μέσω πιεζοηλεκτρικού κρυστάλλου (piezoelectric DOD inkjet). Η τεχνολογία των θερμικών θαλάμων είναι πολύ διαδεδομένη στους οικιακούς εκτυπωτές. Ένα πολύ μικρό θερμαντικό στοιχείο που βρίσκεται κοντά στο ακροφύσιο δημιουργεί μια φυσαλίδα μελάνης η οποία με την σειρά της δημιουργεί ένα jet μελάνης το οποίο οδηγείται έξω από το ακροφύσιο και εκτυπώνεται πάνω στο υπόστρωμα. Εξαιτίας όμως της ανάγκης βρασμού ενός πολύ μικρού μέρους της μελάνης υπάρχει περιορισμός στα υλικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν.

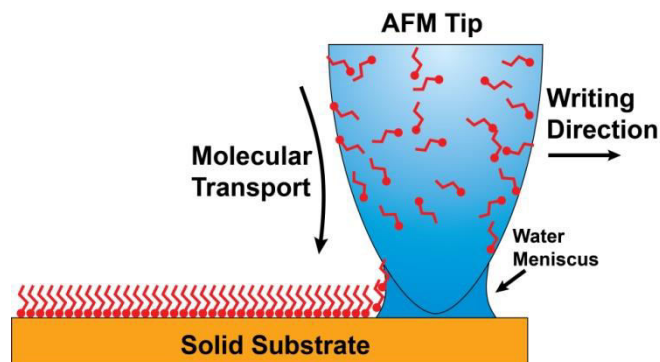


Εικόνα 1.2 Σχηματική απεικόνιση αρχής λειτουργίας βηματικού ψεκασμού μελάνης [1]

Σε βιομηχανικά συστήματα, συνήθως γίνεται χρήση της τεχνικής εκτύπωσης ψεκασμού μελάνης μέσω πιεζοηλεκτρικού κρυστάλλου. Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής βασίζεται στην μεταβολή του όγκου της κοιλότητας όπου βρίσκεται η μελάνη, κατά την εφαρμογή ηλεκτρικής τάσης. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την δημιουργία κυμάτων πίεσης, τα οποία οδηγούν στη δημιουργία σταγόνων μελάνης. Η χρήση πιεζοηλεκτρικών κρυστάλλων υπερτερεί στην εκτύπωση μεγαλύτερου εύρους υλικών.

1.1.2 Εναπόθεση μέσω ακίδων (Dip Pen Nanolithography)

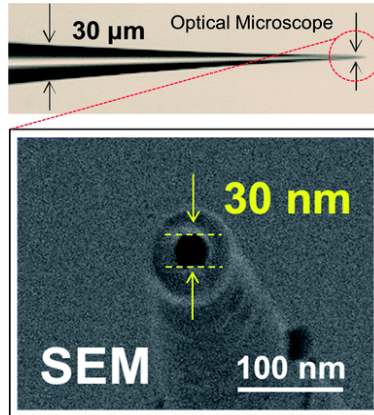
Η τεχνική Dip Pen Nanolithography (DPN) παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1999 από την ομάδα του Mirkins και αποτελεί σήμα κατατεθέν της Nanoink. Η εναπόθεση με την τεχνική αυτή γίνεται είτε μέσω της εμφύσησης μιας ακίδας AFM (εικόνα 1.3) στο υγρό προς εναπόθεση είτε μέσω μιας νάνο-πιπέτας (εικόνα 1.4).



Εικόνα 1.3 Σχηματική απεικόνιση εναπόθεσης με ακίδα [1]

Και στις δύο περιπτώσεις η ακίδα και η νάνο-πιπέτα έρχονται σε επαφή με το υπόστρωμα σχηματίζοντας σταγονίδια του υγρού. Τυπική δύναμη επαφής του προβόλου με το υπόστρωμα είναι 1nN . Μετά την εμφύσηση της ακίδας στο υγρό τριχοειδή φαινόμενα επικρατούν, με αποτέλεσμα τη μεταφορά του υγρού από την ακίδα στην επιφάνεια αποδέκτη. Η τεχνική DPN είναι υψηλής απόδοσης, ευέλικτη και ευπροσάρμοστη για την κατασκευή συστοιχιών σε

νανομετρική κλίμακα. Το μειονέκτημα της χρήσης ακίδας έναντι της νάνο-πιπέτα είναι ο περιορισμός του ελέγχου της ροής του υγρού προς εναπόθεση.

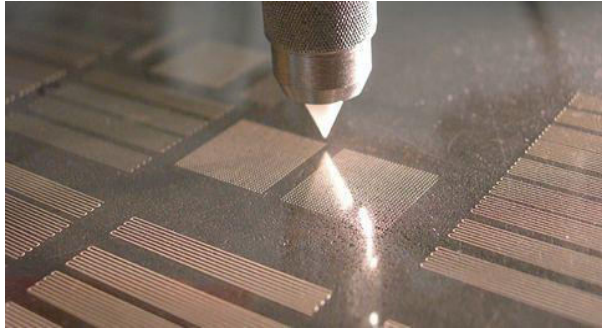


Εικόνα 1.4 Απεικόνιση της nano pipette από οπτικό μικροσκόπιο και από SEM [2]

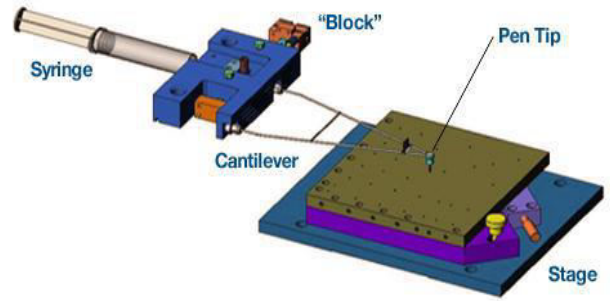
Ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για τα χαρακτηριστικά των εναποτιθέμενων σταγόνων είναι το μέγεθος της ακίδας ή της νάνο-πιπέτας αντίστοιχα. Η μικρότερη δυνατή διάμετρος της ακίδας καθώς και της νάνο-πιπέτας είναι 10nm. Με την χρήση της ακίδας είναι δυνατό να εναποτεθούν σταγόνες διαμέτρου ακριβώς ίσης με το μέγεθος της ακίδας ενώ αντίθετα με τη νάνο-πιπέτα (10 nm), το μέγεθος της μικρότερης δυνατής εναποτιθέμενης σταγόνας είναι της τάξης των 40 nm.

1.1.3 Εναπόθεση Μέσω Αντλίας

Η χρήση αντλίας ως μέθοδος εναπόθεσης προϋποθέτει, τη συνεχή ροή μελάνης στο υπόστρωμα. Τα βασικότερα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου είναι ότι δεν χρειάζεται αύξηση της θερμοκρασίας του υγρού και επίσης ο πολύ μικρός όγκος που μπορεί να εναποτεθεί. Οι δύο πιο γνωστές αντλίες εναπόθεσης ονομάζονται nScrypt και MicroPen και οι οποίες είναι κατοχυρωμένες με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας.



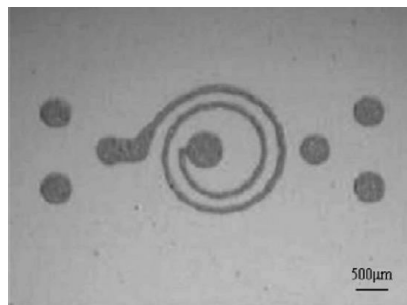
Εικόνα 1.5 εικόνα από την αντλία εναπόθεσης smart pump



Εικόνα 1.6 Σχηματική απεικόνιση του MicroPen [3]

1.1.4 Εναπόθεση με laser (MAPLE)

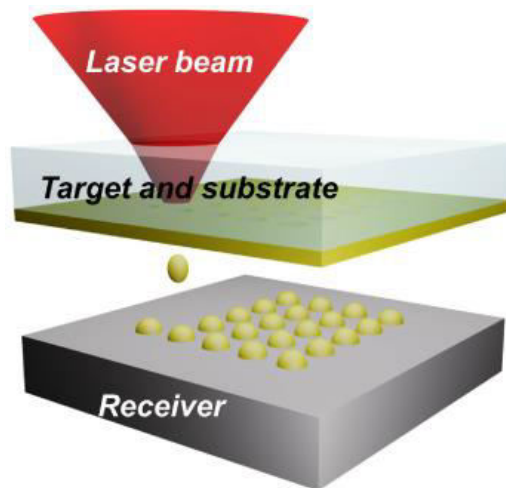
Η τεχνική MAPLE παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1999 από την ομάδα του Pique et al. Στην πραγματικότητα η τεχνική αυτή είναι ένα είδος LIFT την οποία τεχνική θα αναλύσουμε πιο λεπτομερώς παρακάτω. Η διαφορά έγκειται στο ότι η ενέργεια του laser απορροφάται απευθείας από το υλικό που είναι προς εναπόθεση. Πάνω σε ένα στρώμα από quartz εναποθέτουμε ένα στρώμα φωτοευαίσθητου πολυμερούς και το τοποθετούμε πολύ κοντά στο υπόστρωμα πάνω στο οποίο θέλουμε να εναποθέσουμε. Στην συνέχεια ένας παλμός laser εστιάζεται στον στόχο και ένα μέρος του πολυμερούς αποσυντίθεται, εναποθέτοντας το υλικό στο υπόστρωμα. Το υλικό που εναποτίθεται δεν εξαερώνεται, εφόσον η ενέργεια που απαιτείται για την αποσύνθεση του υλικού είναι πολύ μικρότερη από αυτή που χρειάζεται για να εξαερωθεί.



Εικόνα 1.7 Πηγίο κατασκευασμένο με την τεχνική MAPLE [3]

1.1.5 Εναπόθεση με laser (LIFT)

Η τεχνική της άμεσης εκτύπωσης με laser (laser induced forward transfer-LIFT) είναι μια τεχνική που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτύπωση στερεών και υγρών δειγμάτων. Με την τεχνική αυτή τα υλικά εκτυπώνονται ελεγχόμενα πάνω σε ένα υπόστρωμα υποδοχής από ένα laser. Το υπόστρωμα υποδοχής τοποθετείται παράλληλα, σε μικρή απόσταση, (300 μm) σε ένα στόχο στο οποίο πρώτα έχει γίνει επίστρωση του υλικού που θα εναποτεθεί. Η βασική αρχή της απεικονίζεται στην εικόνα 2.8

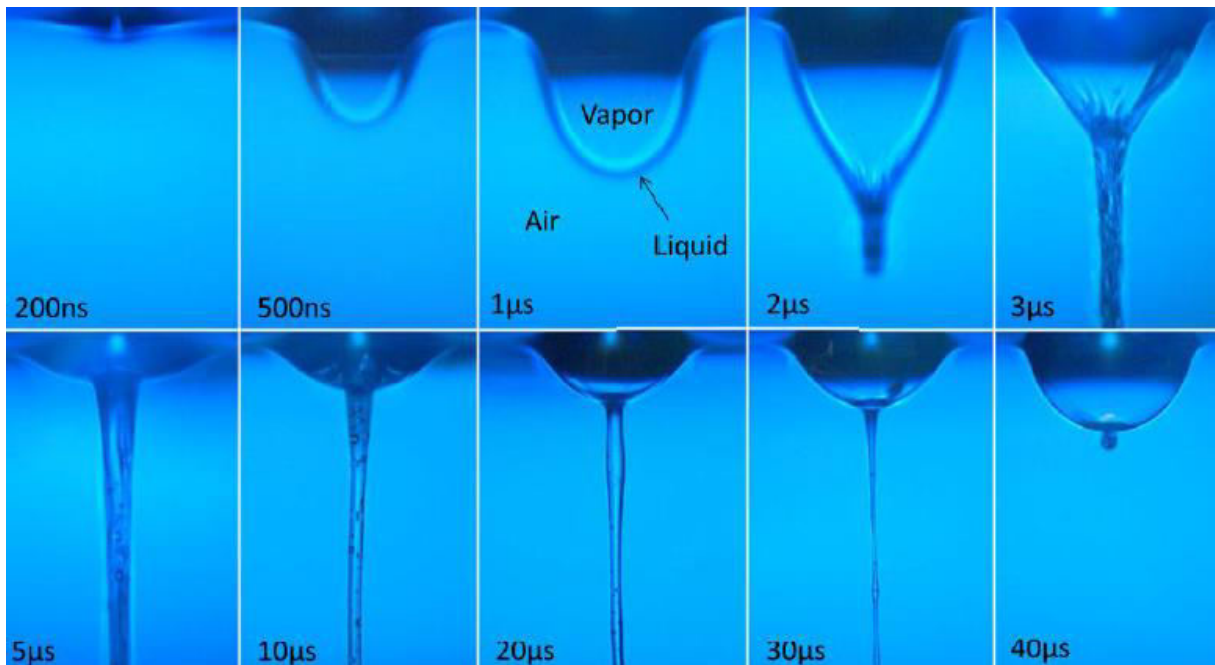


Εικόνα 1.8 Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής LIFT [4]

Το προς εκτύπωση υλικό αρχικά εναποτίθεται με την μορφή λεπτού υμενίου σε ένα υπόστρωμα δότη το οποίο επιτρέπει την διέλευση της δέσμης του laser (quartz). Η δέσμη του laser απεικονίζεται στην διεπιφάνεια του διαφανούς υποστρώματος του δότη και του στρώματος του λεπτού υμενίου και προκαλεί την μερική εξάτμιση του υλικού/στόχου με αποτέλεσμα να ωθεί το υπερκείμενο υλικό, με την μορφή jet, στο υπόστρωμα του αποδέκτη [εικόνα 1.8]. Σε επόμενο κεφάλαιο παρουσιάζεται αναλυτικά η διαδικασία εναπόθεσης (για υγρά δείγματα) και τους μηχανισμούς που την διέπουν. Στην παρούσα εργασία θα ασχοληθούμε με την τεχνική LIFT μόνο για υγρά δείγματα, εφόσον ο βασικός διαλύτης των βιομορίων είναι το νερό.

Η εξασφάλιση της λειτουργικότητας των βιολογικών υλικών, μετά την εκτύπωση με Laser, γίνεται μέσω ενός επιπρόσθετου στρώματος απορρόφησης της οπτικής ακτινοβολίας, το οποίο

τοποθετείται ανάμεσα στο βιολογικό υλικό προς εναπόθεση και το quartz. Το υπόστρωμα αυτό απορροφά την οπτική ακτινοβολία του παλμού του laser, προστατεύοντας τα βιομόρια από πιθανή έκθεση. Μέχρι τώρα, στη βιβλιογραφία, ως απορροφητικά υποστρώματα για εκτύπωση βιομορίων, χρησιμοποιούνται βίο-συμβατά μέταλλα όπως το τιτάνιο.



Εικόνα 1.9 Φωτογραφική απεικόνιση του jet συναρτήσει του χρόνου, κατά την τεχνική εναπόθεσης με την τεχνική LIFT [5]

Η διάρκεια παλμού του laser είναι ένας βασικός παράγοντας που επηρεάζει την εκτύπωση υλικών. Για ns παλμούς, τα φαινόμενα που επικρατούν είναι κυρίως θερμικά, με αποτέλεσμα την χρήση μεταλλικών στρωμάτων απορρόφησης στο υπόστρωμα δότη. Για fs παλμούς, όπου τα θερμικά φαινόμενα περιορίζονται, είναι απαραίτητη η χρήση στρωμάτων απορρόφησης, τα οποία αποδομούνται κατά την ακτινοβολήση με laser (πχ. Triazene). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι για την εκτύπωση υλικών με laser μέσω της τεχνικής LIFT, γίνεται χρήση παλμικών laser.

Η τεχνική LIFT έχει περιγραφεί σε πολλά άρθρα ως ιδανική τεχνική για την εναπόθεση βιολογικών δειγμάτων για διάφορες εφαρμογές. Δίνει την δυνατότητα εφαρμογής στην μηχανική ιστών εφόσον το υλικό που εναποτίθεται μπορεί να έχει τόσο μικρές διαστάσεις όσο και ένα κύτταρο. Επίσης δίνει την δυνατότητα εναπόθεσης βιολογικών υλικών σε αισθητήρες εφόσον είναι μια τεχνική μη επαφής και δεν επηρεάζει το υπόστρωμα του αισθητήρα.

1.2 Αισθητήρες

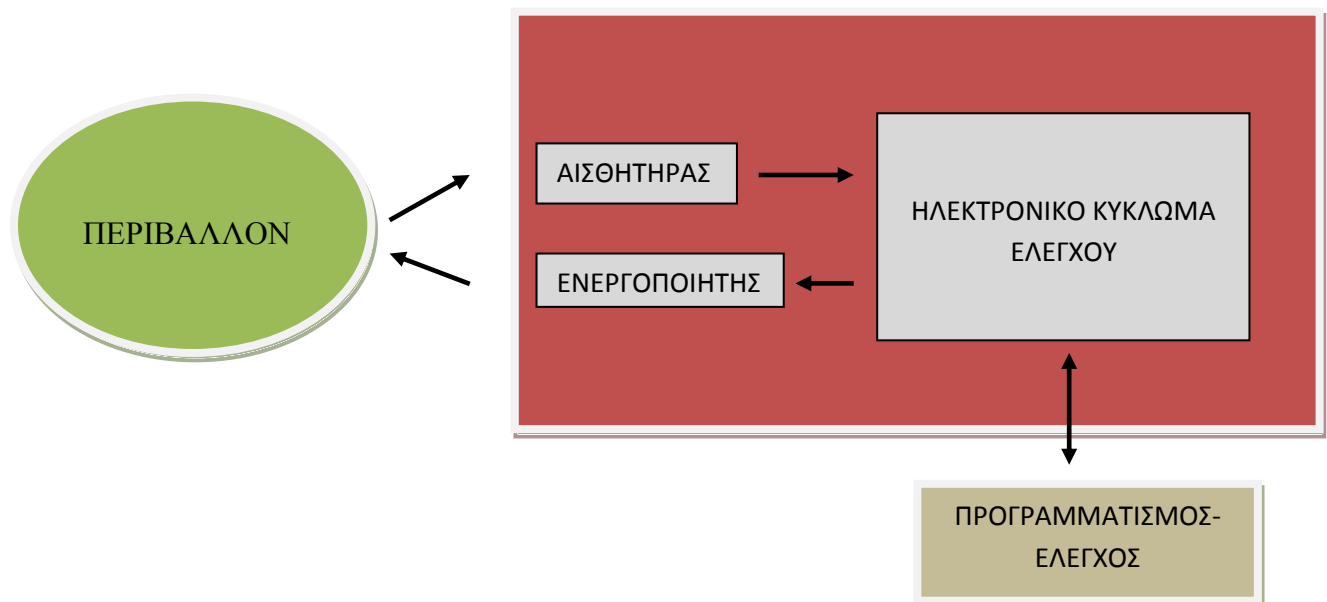
Εισαγωγή

Αισθητήρας είναι μια φυσικό-ηλεκτρομηχανική ή χημικό-ηλεκτρομηχανική δομή που μετατρέπει ένα φυσικό ή χημικό μέγεθος σε ένα βαθμονομημένο ηλεκτρικό μέγεθος (τάση, ρεύμα, συχνότητα, κ.λ.π.).

Τα βασικά είδη Αισθητηρίων, ανάλογα με την απόκριση τους και τα κυκλώματα ανάγνωσης τους είναι:

- Αισθητήρες μεταβαλλόμενης αντίστασης
- Αισθητήρες μεταβαλλόμενης τάσης
- Αισθητήρες μεταβαλλόμενου ρεύματος
- Αισθητήρες μεταβαλλόμενης χωρητικότητας

Οι αισθητήρες είναι ο συνδετικός κρίκος των ηλεκτρονικών (Η/Υ, Smartphones, συστήματα αυτοματισμού, κτλ) με το εξωτερικό φυσικό περιβάλλον.



Τα μέρη που αποτελούν έναν αισθητήρα είναι:

- Μετατροπέας: Μετατρέπει το μακροσκοπικό μέγεθος σε ηλεκτρικά μετρήσιμο σήμα (αδύναμο)
- Κύκλωμα οδήγησης: Ενισχύει και βαθμονομεί το αδύναμο σήμα του μετατροπέα, αντισταθμίζει θερμοκρασιακή εξάρτηση, μετατρέπει το ηλεκτρικό σήμα, μεταδίδει τα δεδομένα
- Κέλυφος: Ειδικών προδιαγραφών ανάλογα με την χρήση

1.2.1 Χαρακτηριστικά ενός αισθητήρα

Σημαντικό ρόλο στην επιλογή του κατάλληλου αισθητήρα έχουν τα χαρακτηριστικά του γνωρίσματα, το περιβάλλον και η εφαρμογή που θα χρησιμοποιηθεί. Τα χαρακτηριστικά αυτά καθορίζονται από το μετρούμενο μέγεθος και το σήμα εξόδου του αισθητήρα. Διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες τα στατικά και τα δυναμικά χαρακτηριστικά. Κάθε εφαρμογή απαιτεί την επιλογή του αισθητήρα με την καλύτερη ανταπόκριση στα επιθυμητά χαρακτηριστικά.

Τα στατικά χαρακτηριστικά των αισθητήρων ισχύουν όταν το σύστημα του μετρούμενου μεγέθους και του αισθητήρα βρίσκεται σε ισορροπία, δηλαδή ο αισθητήρας δεν αντιλαμβάνεται κάποια μεταβολή του φυσικού μεγέθους. Τα χαρακτηριστικά αυτά παρουσιάζονται παρακάτω:

- Η ακρίβεια (accuracy) η οποία είναι η απόκλιση της πραγματικής τιμής της μετρούμενης ποσότητας από την τιμή που δίνει ο αισθητήρας. Ουσιαστικά αντιπροσωπεύει την ανακρίβεια της μέτρησης. Η ακρίβεια μπορεί να εκφραστεί ως απόλυτη τιμή του σφάλματος μέτρησης είτε ως ποσοστό της κλίμακας εισόδου είτε ως ποσοστό της κλίμακας εξόδου.
- Η ευαισθησία (sensitivity) δείχνει την ανταπόκριση του αισθητήρα σε μια δεδομένη μεταβολή του μετρούμενου μεγέθους. Ομοίως, η ευαισθησία διασταύρωσης (cross- sensitivity) αναφέρεται στη συνεισφορά άλλων, μη επιθυμητών παραμέτρων που επηρεάζουν την απόκριση του αισθητήρα.

- Η αξιοπιστία (reliability) ενός αισθητήρα είναι η ικανότητά του να πληροί τις τεχνικές προδιαγραφές όταν χρησιμοποιείται σε εφαρμογές κάτω από καθορισμένες συνθήκες. Εκφράζει δηλαδή την σταθερότητα και την εγκυρότητα των σημάτων εξόδου του αισθητήρα. Αναφέρεται και ως χρόνος λειτουργίας της συσκευής.
- Η επαναληψιμότητα του αισθητήρα μας καθορίζει την ικανότητα του να δίνει την ίδια τιμή για κάθε μέτρηση όταν το μετρούμενο μέγεθος δεν μεταβάλλεται.
- Το εύρος ενός αισθητήρα μας δείχνει την ελάχιστη και την μέγιστη τιμή που μπορεί να μετρήσει.
- Το στατικό σφάλμα (static error) το οποίο έχει σταθερή τιμή και υπεισέρχεται στη μέτρηση σε όλο το εύρος των τιμών εισόδου. Γνωρίζοντας την τιμή του μπορεί να αντισταθμιστεί και να μην επηρεάσει την ακρίβεια του συστήματος.
- Η υστέρηση (hysteresis) εκφράζει την απόκλιση της τιμής εξόδου για συγκεκριμένη τιμή του σήματος εισόδου, όταν η κατεύθυνση της μεταβολής στην είσοδο αντιστραφεί. Το σφάλμα που παράγεται με αυτόν τον τρόπο επηρεάζει την ακρίβεια της συσκευής. Παράγοντες που προκαλούν φαινόμενο υστέρησης είναι συνήθως η τριβή, η μηχανική τάση και οι αλλαγές στη δομή των χρησιμοποιούμενων υλικών.
- Η νεκρή ζώνη είναι το μέγιστο εύρος τιμών εισόδου για τις οποίες η τιμή εξόδου δεν μεταβάλλεται.
- Το κατώφλι που είναι η ελάχιστη τιμή του σήματος εισόδου για την οποία το σήμα εξόδου του αισθητήρα είναι μη μηδενικό.
- Ως διακριτική ικανότητα ορίζεται η απαιτούμενη ελάχιστη μεταβολή του σήματος εισόδου, ούτως ώστε να μεταβληθεί το σήμα εξόδου του αισθητήρα.

1.2.2 Χαρακτηριστικά ιδανικού αισθητήρα

Σύμφωνα λοιπόν με όσα αναφέρθηκαν προηγουμένως η βέλτιστη λειτουργία ενός αισθητήρα επιτυγχάνεται όταν τα χαρακτηριστικά του λαμβάνουν ιδανικές τιμές, οι οποίες παρουσιάζονται συνοπτικά στον πίνακα 1.1

Χαρακτηριστικά	Ιδανική τιμή
Απόκριση	Γραμμική και χωρίς θόρυβο
Χρόνος απόκρισης	Μηδέν
Εύρος συχνοτήτων	Άπειρο
Αρχική τιμή εξόδου	Μηδέν
Χρόνος ως το 90% της μεγίστης τιμή	Μηδέν
Ένδειξη πλήρους κλίμακας	Βαθμονομημένη μέγιστη έξοδος
Περιοχή λειτουργίας	Άπειρη
Ευαισθησία	Υψηλή και σταθερή
Διακριτική ικανότητα	Άπειρη

Πίνακας 1.1 Ιδανικές τιμές χαρακτηριστικών ενός αισθητήρα

Επί του πρακτέος όμως δεν μπορεί να κατασκευαστεί ένας ιδανικός αισθητήρας αφού υπάρχουν παράμετροι όπως για παράδειγμα κατασκευαστικές ατέλειες, το περιβάλλον λειτουργίας, διάφορα τμήματα του κυκλώματος κ.α. που το καθιστούν αδύνατο. Αυτό λοιπόν που επιδιώκεται είναι η όσο το δυνατόν καλύτερη προσέγγιση των ιδανικών τιμών βελτιώνοντας ορισμένα χαρακτηριστικά που είναι υπεύθυνα για την αλλοίωση του σήματος εξόδου. Μερικά από αυτά αναφέρονται παρακάτω:

- Έλλειψη γραμμικότητας
- Μεγάλη απόκριση
- Μικρή περιοχή λειτουργίας και επομένως περιορισμένο εύρος μετρήσεων και χαμηλή ευαισθησία
- Θόρυβος, μεταφέρει λανθασμένη πληροφορία και περιλαμβάνεται στο σήμα εξόδου
- Υστέρηση, η οποία λόγω της απόκλισης τιμών που προκαλείται παράγει συστηματικό σφάλμα
- Παρεμβολή, η οποία αναφέρεται σε ευαισθησία της εξόδου σε εξωτερικές συνθήκες όπως είναι η ακτινοβολία, η υγρασία και η θερμοκρασία

- Γήρανση, που μπορεί να οδηγήσει σε μεταβολή του σήματος εξόδου σε σχέση με τον χρόνο

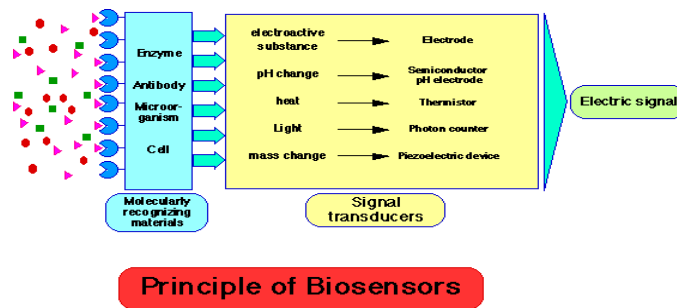
Η απότομη αύξηση της νανοτεχνολογίας την τελευταία δεκαετία όπως επίσης και οι εξαιρετικά ενδιαφέρουσες ιδιότητες που παρουσιάζουν τα νανουλικά έχουν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση των τιμών των χαρακτηριστικών που αναφέραμε προηγουμένως όπως επίσης και το μεγάλο εύρος εφαρμογών τους.

1.3 Βιοαισθητήρες

Μια μεγάλη κατηγορία αισθητήρων είναι οι βιοαισθητήρες. Η χρήση των βιοαισθητήρων έχει αυξηθεί τα τελευταία χρόνια εξαιτίας του γεγονότος της ανάγκης ανίχνευσης ουσιών όπως τοξίνες, βαρέα μέταλλα, αντιβιοτικά και μυκοτοξίνες σε φαγητά, στο περιβάλλον και σε κλινικές μελέτες.

Οι βιοαισθητήρες αποτελούνται από δύο βασικές συνιστώσες: τον **βιουποδοχέα** (bio-receptor) και τον **μόρφο-μετατροπέα** (transducer). Ο βιουποδοχέας είναι κατάλληλο βιολογικό μόριο το οποίο μπορεί να αλληλεπιδράσει επιλεκτικά και στοχευμένα με ένα συγκεκριμένο αναλύτη. Ο μορφο-μετατροπέας μετατρέπει το γεγονός της πρόσδεσης-αλληλεπίδρασης του βιουποδοχέα με τον αναλύτη σε μετρήσιμο σήμα (ηλεκτρικό, οπτικό, μηχανικό, κ.ά.). Τις δύο συνιστώσες συμπληρώνει ένας επεξεργαστής του μετρούμενου σήματος για την εξαγωγή συμπερασμάτων και την επικοινωνία ή/και παρουσίαση των αποτελεσμάτων.

Ένας σημαντικός παράγοντας για τη υλοποίηση και τη λειτουργία ενός βιοαισθητήρα είναι η ακινητοποίηση των βιολογικών μορίων, που συνιστούν τον βιουποδοχέα, πάνω στην επιφάνεια (πεδίο δράσης) του μορφο-μετατροπέα. Η ακινητοποίηση μπορεί να επιτευχθεί είτε με φυσική προσρόφηση (adsorption) ή με χημική προσκόλληση (chemical adhesion) των μορίων πάνω στην επιφάνεια.



Εικόνα 1.10 Σχηματική απεικόνιση βιοαισθητήρα[6]

1.1.1 Βιουποδοχείς

Το πρώτο στάδιο για την ανάπτυξη των βιοαισθητήρων είναι, η αναγνώριση και στοχευμένη ανίχνευση του υπό εξέταση αναλύτη η οποία επιτυγχάνεται με την χρήση κατάλληλων βιουποδοχέων όπως ένζυμα, αντισώματα και νουκλειικά οξέα. Μία από τις κύριες παραμέτρους που καθορίζουν την ευαισθησία και επιλεκτικότητα ενός βιοαισθητήρα είναι ουσιαστικά η επιλεκτικότητα και εκλεκτικότητα του βιουποδοχέα που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των εκάστοτε αναλυτών. Τα ένζυμα αποτελούν το συνηθέστερο τύπο βιουποδοχέα στις εφαρμογές βιοαισθητήρων. Τα τελευταία χρόνια όμως έχει παρατηρηθεί αυξανόμενο ενδιαφέρον στην χρήση αντισωμάτων και πρωτεϊνών ως βιουποδοχείς λόγω των χαρακτηριστικών ιδιοτήτων τους. Συγκεκριμένα:

- **Ένζυμα:** Ένα ένζυμο διαθέτει τρισδιάστατη δομή η οποία ενσωματώνει μόνο ένα συγκεκριμένο υπόστρωμα. Ένα ένζυμο έχει προέλθει από μια πρωτεΐνη η οποία έχει συντεθεί στο κύτταρο από αμινοξέα με βάση την κωδικοποίηση του DNA. Τα ένζυμα δρουν ως καταλύτες βιοχημικών αντιδράσεων οι οποίες πραγματοποιούνται στο κύτταρο, τα αποτελέσματα των οποίων ανιχνεύονται από τον μορφομετατροπέα. Για να διατηρηθεί υψηλή η δραστηριότητα των ενζύμων, η θερμοκρασία και το pH του περιβάλλοντος πρέπει να διατηρηθούν σε κατάλληλα επίπεδα.
- **Αντισώματα:** Τα απλούστερα αντισώματα περιγράφονται συνήθως ως μόρια με δύο όμοια σημεία στα οποία μπορούν να προσκολληθούν αντιγόνα. Σε αντίθεση με τα ένζυμα

τα οποία δρουν ως καταλύτες, τα αντισώματα προσελκύουν αντιγόνα αφαιρώντας τα από το βιολογικό σύστημα.

- **Πρωτεΐνες:** Οι πρωτεΐνες – βιουποδοχείς είναι πρωτεϊνικά μόρια τα οποία αναπτύσσουν δυνάμεις συνάφειας με ορμόνες, αντισώματα, ένζυμα και άλλα βιολογικά ενεργά στοιχεία τα οποία δρουν ως βιουποδοχείς.
- **Άλλοι βιουποδοχείς:** Στην θεωρία, οποιοδήποτε βιομόριο το οποίο διαθέτει την δυνατότητα αναγνώρισης του αναλύτη μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν βιουποδοχέας. Στην πράξη, ολόκληρα κύτταρα έχουν χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό.

1.1.2 Μορφο-Μετατροπέας

Ο μορφο-μετατροπέας είναι το κομμάτι του βιοαισθητήρα, στο οποίο πραγματοποιείται η μετατροπή του γεγονότος της πρόσδεσης-αλληλεπίδρασης του βιουποδοχέα με τον αναλύτη σε ένα μετρήσιμο σήμα. Τυπικά, αυτό επιτυγχάνεται μετρώντας την μεταβολή ενός χαρακτηριστικού μεγέθους, η οποία λαμβάνει χώρα κατά την αντίδραση του βιουποδοχέα με τον αναλύτη. Ακολουθεί μια σύντομη αναφορά στους συνηθέστερους τύπους μορφο-μετατροπέων ανεξάρτητα από τη κατηγορία στην οποία αυτοί ανήκουν.

Αισθητήρες Χωρητικότητας

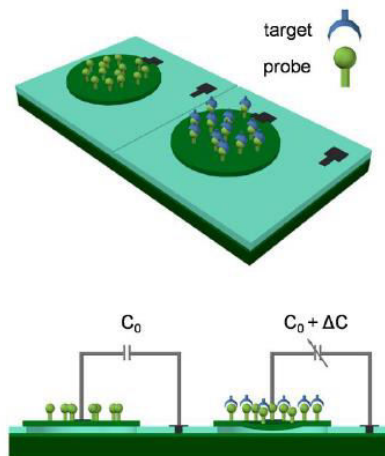
Οι αισθητήρες χωρητικότητας αποτελούνται από δύο παράλληλους οπλισμούς και ο τύπος που μας δίνει την χωρητικότητα πυκνωτή είναι:

$$C = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{A}{d} \quad (1.1)$$

Όπου ϵ_r η σχετική διηλεκτρική σταθερά του μέσου μεταξύ των οπλισμών, ϵ_0 η σχετική διηλεκτρική σταθερά του κενού, A η επιφάνεια των οπλισμών και τέλος d είναι η μεταξύ τους απόσταση. Είναι προφανές από τον παραπάνω τύπο ότι μόνο με τρεις τρόπους μπορεί να αλλάξει η χωρητικότητα μιας τέτοιας διάταξης:

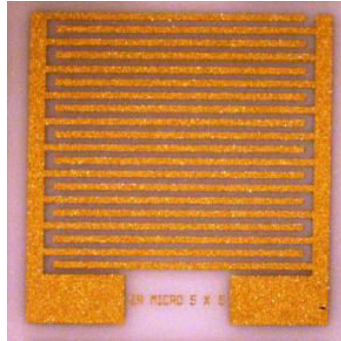
- Αλλάζοντας την επιφάνεια A
- Μεταβάλλοντας την απόσταση d μεταξύ των οπλισμών
- Μεταβάλλοντας την σχετική διηλεκτρική σταθερά ϵ_r του υλικού μεταξύ των οπλισμών

Μέχρι στιγμής οι βιολογικοί αισθητήρες τύπου χωρητικότητας βασίζονται είτε σε μεταβολές της απόστασης μεταξύ των οπλισμών είτε της διηλεκτρικής σταθεράς του υλικού. Στην πρώτη περίπτωση ανήκουν οι δομές όπου ένας από τους δύο οπλισμούς έχει την δυνατότητα να κινείται, είναι δηλαδή εύκαμπτος. Συνήθως ο οπλισμός αυτός είναι κάποια μικροδοκός ή μεμβράνη (εικόνα 1.11) επικαλυμμένη με το χημικά ευαίσθητο στρώμα και λειτουργεί σε δυναμική ή στατική παραμόρφωση. Αυτοί οι αισθητήρες είτε συντονίζονται στην ιδιοσυχνότητα τους και μεταβάλλοντας την μάζα αντιδρώντας με τον αναλύτη μεταβάλλεται και η ιδιοσυχνότητα τους είτε αλλάζει η χωρητικότητα τους λόγω της στατικής παραμόρφωσης του εύκαμπτου οπλισμού που οφείλεται σε αλλαγές στην επιφανειακή τους τάση. Η αιτία των μεταβολών της επιφανειακής τάσης για τους χημικούς αισθητήρες είναι η διόγκωση του πολυμερούς όταν απορροφά έναν αναλύτη ενώ για τους βιοαισθητήρες η κατάσταση είναι πιο πολύπλοκη και σχετίζεται με τις δυνάμεις που ασκούνται μεταξύ των βιομορίων.

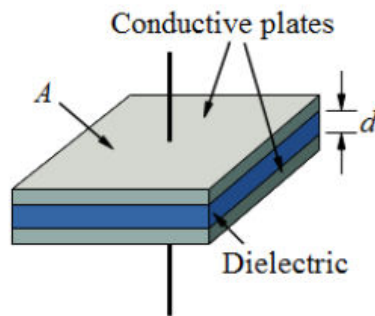


Εικόνα 1.11 Απεικόνιση αισθητήρα χωρητικότητας με μεμβράνες [7]

Στην δεύτερη περίπτωση αισθητήρων τύπου χωρητικότητας ανήκουν οι ηλεκτροχημικοί αισθητήρες. Η αρχή λειτουργίας τους βασίζεται στο γεγονός ότι όταν γίνει βιολογική αντίδραση αλλάζουν οι ηλεκτρικές ιδιότητες του ευαίσθητου στρώματος με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η χωρητικότητα του πυκνωτή. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν τα εμπλεκόμενα ηλεκτρόδια (εικόνα 1.12) και η αισθητήρες παράλληλων πλακών (εικόνα 1.13)



Εικόνα 1.12 Απεικόνιση αισθητήρα χωρητικότητας με εμπλεκόμενα ηλεκτρόδια [8]



Εικόνα 1.13 Απεικόνιση αισθητήρα χωρητικότητας παράλληλων πλακών [9]

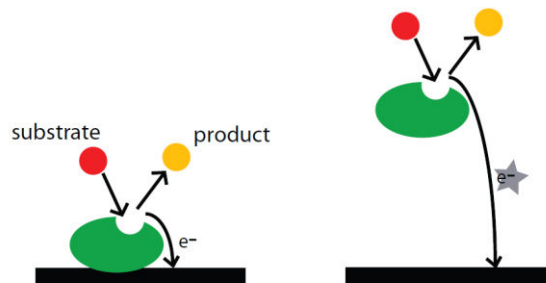
Αμπερομετρικοί αισθητήρες

Οι αμπερομετρικοί αισθητήρες καταγράφουν δεδομένα συνεχών μετρήσεων που προκύπτουν από την οξείδωση ή την μείωση ηλεκτροενεργών ειδών σε βιομηχανικές αντιδράσεις. Το ρεύμα που καταγράφεται χρησιμοποιείται για την ποσοτικοποίηση των ειδών που συμμετέχουν στην αντίδραση. Συνήθως οι μετρήσεις των αμπερομετρικών αισθητήρων καταγράφονται σε σταθερό

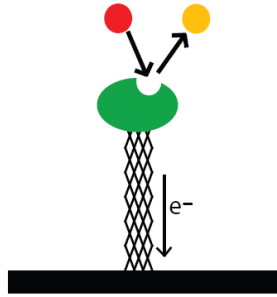
δυναμικό. Οι αισθητήρες στους οποίους γίνεται μέτρηση ρεύματος κατά την διάρκεια ελεγχόμενων διακυμάνσεων του δυναμικού λέγονται βολτομετρικοί.

Η απόκριση ενός αμπερομετρικού αισθητήρα εξαρτάται εκτός από τις προδιαγραφές του αισθητήρα και από την συγκέντρωση των βιομορίων στόχων. Σε πολλές περιπτώσεις για την ανίχνευση οξειδοαναγωγικών αντιδράσεων χρειάζεται η μεσολάβηση επιπλέον διαλυμάτων, εφόσον πολλά βιομόρια στόχοι δεν είναι σε θέση να κάνουν οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις.

Στις περισσότερες περιπτώσεις οι αμπερομετρικοί αισθητήρες ανιχνεύουν ενζυμικές αντιδράσεις, όπου το ένζυμο λειτουργεί ως ηλεκροκαταλύτης. Ηλεκτρόνια μεταφέρονται άμεσα από το ηλεκτρόδιο στο ακινητοποιημένο μόριο και αντίστροφα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να επιβραδύνεται η μεταφορά ηλεκτρονίων όσο μεγαλώνει η απόσταση του ενζύμου από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου (εικόνα 1.14) ,άρα μειώνεται και η ευαισθησία του αισθητήρα. Η λύση στο πρόβλημα αυτό δόθηκε με την χρήση μεσολαβητών. Οι μεσολαβητές είναι αγώγιμα μόρια, τα οποία έχουν σκοπό την μείωση της απόστασης του ενζύμου με το ηλεκτρόδιο. Ως μεσολαβητές χρησιμοποιούνται τα τελευταία χρόνια CNTs, τα οποία μεταφέρουν ηλεκτρόνια μεταξύ ενζύμου και ηλεκτροδίου (εικόνα 1.15).



Εικόνα 1.14 Απεικόνιση μεταφοράς ηλεκτρονίων σε αμπερομετρικούς αισθητήρες χωρίς την χρήση μεσολαβητών [10]



Εικόνα 1.15 Απεικόνιση μεταφοράς ηλεκτρονίων σε αμπερομετρικούς αισθητήρες με χρήση CNTs ως μεσολαβητές [8]

Ποτενσιομετρικοί αισθητήρες

Οι ποτενσιομετρικοί αισθητήρες μετρούν την συσσώρευση δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας σε σύγκριση με τον ηλεκτρόδιο αναφοράς, όταν δεν υπάρχει ροή ρεύματος. Ουσιαστικά με αυτούς τους αισθητήρες γίνεται καταμέτρηση ιόντων σε ηλεκτροχημικές αντιδράσεις.

Αγωγιμότητας

Σε αυτή την περίπτωση, ο καθορισμός του ρυθμού της βιολογικής αντίδρασης πραγματώνεται μετρώντας τις διαφοροποιήσεις στην αγωγιμότητα η οποία προκαλείται από τη μετακίνηση ιόντων. Πολλές βιολογικές αντιδράσεις στις οποίες χρησιμοποιείται ένζυμο ως βιουποδοχέας, καταλήγουν στην διαφοροποίηση της συνολικής συγκέντρωσης ιόντων.

Φωτομετρικοί

Στη φωτομέτρηση μετράται το φως το οποίο εκπέμπεται από φθορίζοντα μόρια με τα οποία είναι προσδεμένα ένα εκ των αντιδραστηρίων ή των προϊόντων της βιολογικής αντίδρασης. Για την ανίχνευση του εκπεμπόμενου φθορισμού χρησιμοποιούνται είτε οπτικές ίνες, είτε με απευθείας ακτινοβολήση του δείγματος και ανίχνευση των σήματος με την βοήθεια κάμερας.

Πιεζοηλεκτρικοί

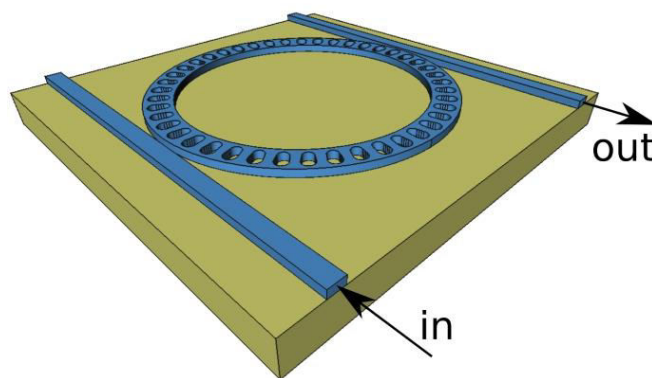
Οι πιεζοηλεκτρικές συσκευές και οι συσκευές ακουστικών συχνοτήτων αξιοποιούν επιφάνειες οι οποίες είναι ευαίσθητες στις αλλαγές της μάζας που βρίσκεται στην επιφάνειά τους. Αυτού του τύπου οι μόρφο-μετατροπείς αξιοποιούνται σε βιολογικές αντιδράσεις αναγνώρισης οι οποίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή της μάζας των βιοϋποδοχέων και την προσκόλληση ή αποκόλληση του αναλύτη. Στη συγκεκριμένη μέτρηση, η αλλαγή της μάζας εκφράζεται με αλλαγή στο ηλεκτρικό φορτίο.

Θερμοκρασιακοί

Όλες οι χημικές αντιδράσεις συνοδεύονται από απορρόφηση (ενδόθερμες αντιδράσεις) ή έκλυση θερμότητας (εξώθερμες αντιδράσεις). Επομένως είναι δυνατό να μετρηθούν μεταβολές στη θερμοκρασία και να συσχετιστούν με την βιολογική αντίδραση αναγνώρισης μεταξύ του βιοϋποδοχέα και του αναλύτη.

Micro Ring Resonator (MRR)

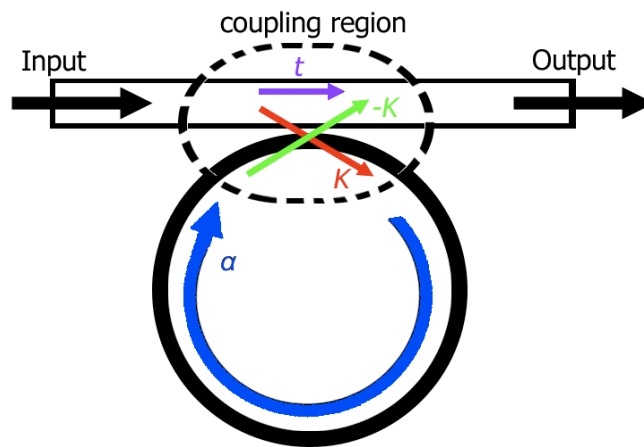
Το MRR είναι ένα σύνολο κυματοδηγών στο οποίο τουλάχιστον ένας κυματοδηγός είναι κλειστός βρόχος και γειτνιάζει με άλλους δύο κυματοδηγούς οι οποίοι έχουν το ρόλο της εισόδου και εξόδου του φωτός [εικόνα 1.16].



Εικόνα 1.16 Σχηματική απεικόνιση ενός MRR

Η λειτουργία των MRR βασίζεται στα οπτικά φαινόμενα της συμβολής και της ολικής εσωτερικής ανάκλασης. Η λειτουργία του MRR μπορεί να ειπωθεί ότι στην πράξη είναι ένα φίλτρο φωτός που επιτρέπει μόνο συγκεκριμένες συχνότητες να παραμείνουν. Αρχικά το φως εισέρχεται μέσα στον κυκλικό βρόχο μέσω του κυματοδηγού εισόδου. Στη συνέχεια και αφού το φως έχει εισαχθεί στον βρόχο, λόγω του φαινομένου της συμβολής μόνο πολύ λίγες συχνότητες φωτός θα ενισχυθούν, ενώ οι υπόλοιπες μέσω της καταστρεπτικής συμβολής θα εξαλειφθούν. Το φαινόμενο αυτό συμβαίνει μετά από πολλαπλές κυκλικές διαδρομές του φωτός αυξάνοντας ταυτόχρονα και την ένταση του φωτός των ενισχυόμενων συχνοτήτων. Τέλος, μέσω του κυματοδηγού εξόδου το φως εξέρχεται από το οπτικό μας σύστημα.

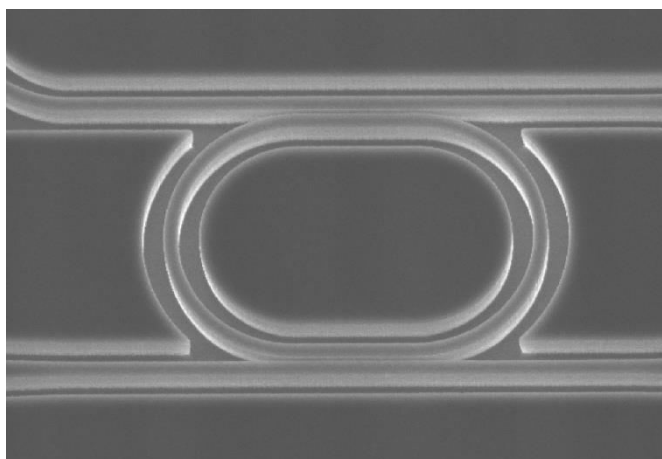
Το σημαντικό στην κατανόηση της λειτουργίας των MRR είναι το πώς γίνεται η σύζευξη του φωτός μεταξύ των κυματοδηγών αφού αυτοί δεν βρίσκονται σε επαφή. Όταν μια δέσμη φωτός διαδίδεται μέσω ενός κυματοδηγού, μέρος της δέσμης θα συζευχθεί με το κυκλικό οπτικό αντηχείο το οποίο είναι πλησίον του ευθύγραμμου κυματοδηγού [εικόνα 1.17].



Εικόνα 1.17 Σχηματική απεικόνιση της σύζευξης φωτός μεταξύ δύο κυματοδηγών

Ο λόγος αυτής της σύζευξης από απόσταση εξηγείται λόγω της κυματικής φύσης του φωτός. Για να γίνει αυτή η σύζευξη θα πρέπει ο ευθύγραμμος κυματοδηγός να είναι πολύ κοντά με το κυκλικό βρόχο. Τρεις είναι οι παράγοντες που επηρεάζουν την οπτική σύζευξη. Η απόσταση μεταξύ των κυματοδηγών, το μήκος σύζευξης και τέλος, οι δείκτες διάθλασης του κυματοδηγού και του κυκλικού αντηχείου σε σχέση με το δείκτη διάθλασης του ενδιάμεσου υλικού. Ο δείκτης διάθλασης του ενδιάμεσου υλικού είναι πολύ σημαντικός παράγοντας όσο αφορά την σύζευξη

και μπορεί να είναι είτε πολύ μεγάλος είτε πολύ μικρός ανάλογα με την εφαρμογή, αλλά πάντα μικρότερος από αυτόν των κυματοδηγών ώστε να πραγματοποιείται το φαινόμενο της ολικής εσωτερικής ανάκλασης. Για να μεγιστοποιήσουμε τη σύζευξη του φωτός θα πρέπει να τοποθετήσουμε τον κυματοδηγό όσο το δυνατόν πιο κοντά, αφού όσο μικρότερη η απόσταση τόσο μεγαλύτερη και η σύζευξη που συμβαίνει. Επίσης ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει τη σύζευξη όπως σημειώθηκε και παραπάνω είναι το μήκος σύζευξης, το οποίο αντιπροσωπεύει το ενεργό μήκος τόξου που είναι διαθέσιμο για τη σύζευξη. Για το λόγο αυτό τα MRR φτιάχνονται στην πράξη πεπλατυσμένα στις περιοχές που γίνεται η σύζευξη ώστε αυτή να αυξάνεται. Αυτό γίνεται κατανοητό στην **εικόνα 1.18** όπου φαίνεται ένα πραγματικό MRR μέσα από οπτικό μικροσκόπιο. Το μήκος σύζευξης έχει μεγιστοποιηθεί ώστε να αυξάνεται η σύζευξη μεταξύ του ευθύγραμμου κυματοδηγού και του κυκλικού δακτυλιδιού.



Εικόνα 1.18 Φωτογραφία micro ring resonator από οπτικό μικροσκόπιο

Για την κατανόηση της λειτουργίας του MRR θα πρέπει πρώτα να γίνει κατανοητή η έννοια της διαφοράς οπτικού δρόμου η οποία για το κυκλικό δακτυλίδι δίνεται:

$$OPD=2\pi r n_{eff}$$

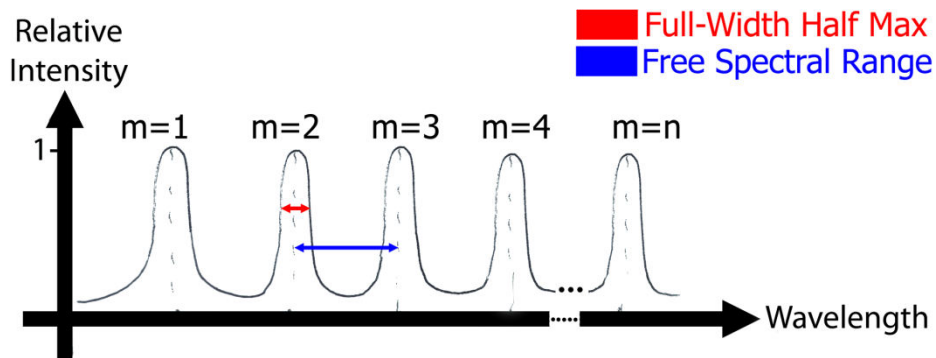
όπου r η ακτίνα του δακτυλιδιού και n ο δείκτης διάθλασης του κυματοδηγού.

Για να πραγματοποιηθεί ενισχυτική συμβολή θα πρέπει να ισχύει η παρακάτω συνθήκη, δηλαδή:

$$OPD = m\lambda_m$$

όπου λ_m είναι το μήκος κύματος συντονισμού και το m ο αριθμός λειτουργίας του κυκλικού αντηχείου.

Σύμφωνα με τα παραπάνω για να έχουμε το φαινόμενο της ενισχυτικής συμβολής, θα πρέπει η περιφέρεια του κύκλου να είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος. Σαν αποτέλεσμα αυτού, μόλις το φως μπει μέσα στο κυκλικό δακτυλίδι, μόνο τα μήκη κύματος που είναι ακέραια πολλαπλάσια της περιφέρειας του δακτυλιδιού θα εξαχθούν από αυτό [εικόνα 1.19].



Εικόνα 1.19 Φάσμα εκπομπής που απεικονίζει πολλαπλούς τρόπους συντονισμού

Στα πειράματα τα δικά μας μέσω των MRR μπορούμε και μετράμε μετακίνηση των παραπάνω κορυφών σε σχέση με ένα διάλυμα αναφοράς. Στην δική μας περίπτωση το διάλυμα αναφοράς είναι ένα υδατικό διάλυμα με απταμερή. Η μετακίνηση αυτή οφείλεται στην διαφορά του δείκτη διάθλασης που προκαλείται όταν η προς ανίχνευση ουσία προσκολληθεί στα απταμερή. Έτσι μπορούμε να γνωρίζουμε την ύπαρξη της ουσίας που θέλουμε να ανιχνεύσουμε.

[1] <http://www.dp3project.org/technologies/digital-printing/inkjet>

[2] An, S., Stambaugh, S., Low-volume liquid delivery and nanolithography using a nanopipette combined with a quartz tuning fork-atomic force microscope.

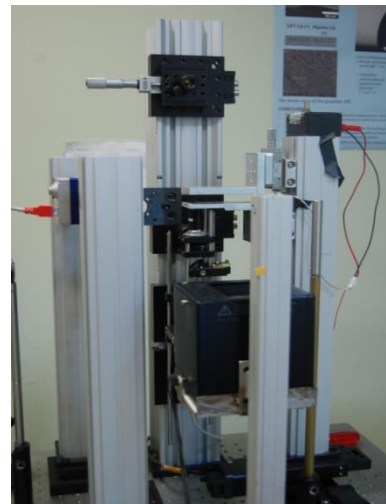
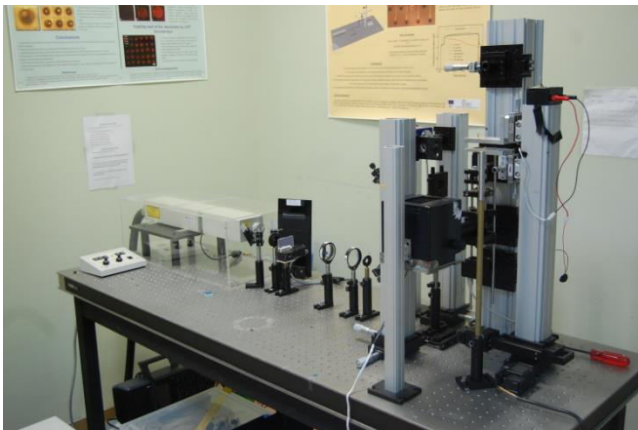
[3] Hon, K., Li, L., & Hutchings, I. (2008). Direct writing technology—Advances and developments. *CIRP Annals - Manufacturing Technology*, 57(2), 601–620. doi:10.1016/j.cirp.2008.09.006

-
- [4] Tseng, M. L., Chang, C. M., Chen, B. H., Huang, Y.-W., Chu, C. H., Chung, K. S., ... Tsai, D. P. (2012). Fabrication of plasmonic devices using femtosecond laser-induced forward transfer technique. *Nanotechnology*, 23(44), 444013. doi:10.1088/0957-4484/23/44/444013
- [5] Brown, M. S., Kattamis, N. T., & Arnold, C. B. (2011). Time-resolved dynamics of laser-induced micro-jets from thin liquid films. *Microfluidics and Nanofluidics*, 11(2), 199–207. doi:10.1007/s10404-011-0787-4
- [6] <http://www.jaist.ac.jp/~yokoyama/biosensor.html>
- [7] Tsouti, V., Boutopoulos, C., Andreakou, P., Ioannou, M., Zergioti, I., Goustouridis, D., ... Chatzandroulis, S. (2010). Detection of DNA mutations using a capacitive micro-membrane array. *Biosensors & Bioelectronics*, 26(4), 1588–92. doi:10.1016/j.bios.2010.07.119
- [8] <http://www.ermicrosensor.com/>
- [9] <https://en.wikipedia.org>
- [10] Grieshaber, D., MacKenzie, R., Vörös, J., & Reimhult, E. (2008). Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. *Sensors*, 8(3), 1400–1458. doi:10.3390/s8031400

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.1 Πειραματική Διάταξη

Για την διεξαγωγή των πειραμάτων LIFT σχεδιάστηκε και αναπτύχθηκε στα εργαστήρια LASER του τομέα Φυσικής (εικόνα 2.1α) ένα σύστημα μικρομηχανικής με προσαρμοσμένο σύστημα μικροσκοπίου (εικόνα 2.1β). Ο σχεδιασμός περιελάμβανε την καταγραφή των απαιτήσεων σε οπτικά και βάσεις στήριξης. Η ανάπτυξη αναφέρεται στην τοποθέτηση των οπτικών διατάξεων στα οπτικά τραπέζια καθώς και στη διαδικασία της ευθυγράμμισης.

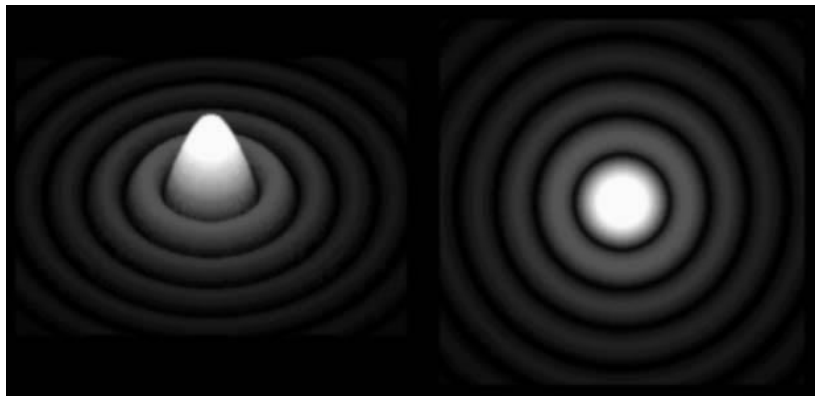


Εικόνα 2.1 Διάταξη πειράματος LIFT υγρών, στο εργαστήριο του τμήματος φυσικής, στο ΕΜΠ

Η πειραματική διάταξη περιλαμβάνει ένα παλμικό Nd:YAG laser (LITRON) με διάρκεια παλμού 10ns και κύρια αρμονική στα 1064nm. Για την εκτύπωση των βιολογικών υλικών χρησιμοποιήθηκε η τρίτη αρμονική (355nm) και η τέταρτη αρμονική (266nm) και αυτό επιτεύχθηκε με κρύσταλλο υποτριπλασιασμού και υποτετραπλασιασμού του μήκους κύματος αντίστοιχα. Η δέσμη μόλις εξέλθει από το laser διέρχεται μέσα από έναν εξασθενητή, ο οποίος είναι προσαρμοσμένος σε περιστροφική βάση και ελέγχεται από ένα πρόγραμμα Lab View. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να αλλάζουμε κατά βούληση την ενέργεια του παλμού. Στη συνέχεια

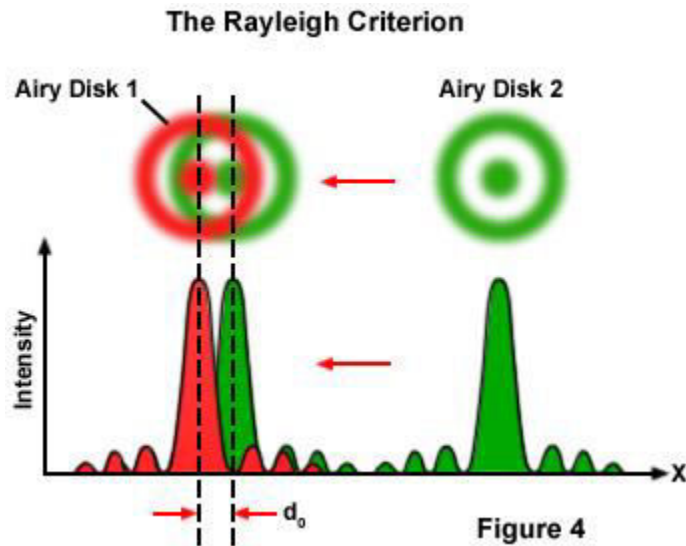
η δέσμη κατευθύνεται σε ένα σύστημα φακών που λειτουργεί ως τηλεσκοπική διάταξη, μεγεθύνοντας τη δέσμη κατά δύο φορές. Η τηλεσκοπική διάταξη αποτελείται από έναν αποκεντρωτικό φακό UV ($f=100\text{mm}$) και έναν συγκεντρωτικό φακό UV ($f=200\text{mm}$).

Μέσω δύο κατόπτρων η διευρυμένη δέσμη κατευθύνεται σε μια μάσκα, στην οποία καθορίζεται το σχήμα και οι διαστάσεις της δέσμης πάνω στον στόχο. Καθώς διέρχεται η δέσμη του laser από τη μάσκα, προσπίπτει σε αντικειμενικό φακό με αριθμητικό άνοιγμα $NA=0,32$. Η μεγέθυνση της δέσμης έχει ως αποτέλεσμα να μπορεί να διακριθεί το προφίλ της δέσμης με μεγαλύτερη λεπτομέρεια, έχει όμως έναν βασικό περιορισμό που οφείλεται στο φαινόμενο της περίθλασης, εφόσον η δέσμη διέρχεται από οπτικά πεπερασμένων διαστάσεων (μάσκα). Όταν μια δέσμη διέρχεται από ένα άνοιγμα πεπερασμένων διαστάσεων τότε λαμβάνει χώρα το φαινόμενο της περίθλασης, και αυτό έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργείται μια σειρά από ομοαξονικούς κώνους. Το 84% της έντασης της ακτινοβολίας περιέχεται στον κεντρικό δίσκο (εικόνα 2.2), επομένως μπορεί να θεωρηθεί προσεγγιστικά ότι όλη η ακτινοβολία περιέχεται σε αυτόν.



Εικόνα 2.2 Αναπαράσταση δακτυλιδιών Airy [1]

Η διακριτική ικανότητα του συστήματος, δηλαδή η ελάχιστη απόσταση διαχωρισμού δύο σημείων δίνεται από το κριτήριο Rayleigh (εικόνα 2.3), το μέγιστο της έντασης ενός δίσκου Airy να συμπίπτει με το πρώτο ελάχιστο του δευτέρου.



Εικόνα 2.4 Αναπαράσταση του κριτηρίου Rayleigh [2]

Η ελάχιστη δυνατή αυτή απόσταση d δίνεται από την εξίσωση 2.1:

$$d = \frac{0.62\lambda}{NA} \quad (2.1)$$

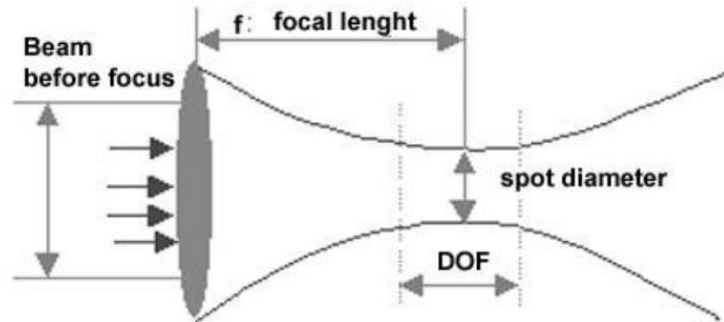
Όπου λ το μήκος κύματος της ακτινοβολίας που εκπέμπει το laser και NA το αριθμητικό άνοιγμα του φακού.

Για την βελτίωση της διακριτικής ικανότητας, πρέπει να ληφθεί υπόψη το ελάχιστο μέγεθος εστίασης (**εξίσωση 2.2**) του γκαουσιανού παλμού του laser και το βάθος πεδίου.

$$2W_0 = \frac{2\lambda}{\pi NA} \quad (2.2)$$

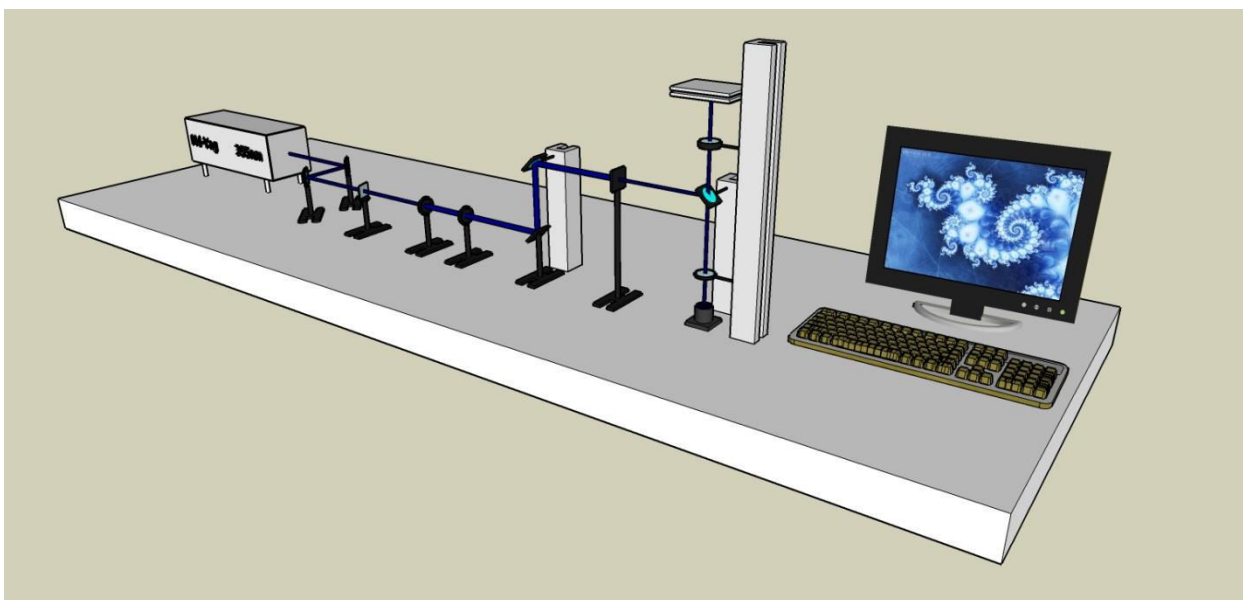
Βάθος πεδίου είναι το εύρος των θέσεων του αντικειμένου γύρω από τη θέση ακριβούς εστίασης για τις οποίες δεν μπορούμε να διακρίνουμε μεταβολή στην οξύτητα του ειδώλου. Εφόσον η περίθλαση περιορίζει την διακριτική ικανότητα σε d , στο σχήμα 2.5 φαίνεται ότι η οξύτητα του ειδώλου δεν θα μεταβληθεί αν βρίσκεται μέσα στο εύρος DOF, το οποίο δίνεται:

$$DOF = \frac{2\pi W_0^2}{\lambda} \quad (2.3)$$



Εικόνα 2.5

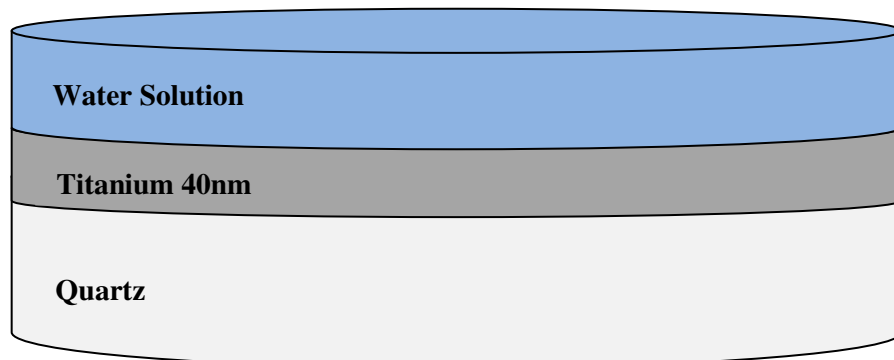
Στη συνέχεια η δέσμη laser οδηγείται στον στόχο, με πυκνότητα ενέργειας ικανή να μεταφέρει την επιθυμητή ποσότητα υλικού στο υπόστρωμα. Το υπόστρωμα τοποθετείται παράλληλα, σε μικρή απόσταση από τον στόχο για να γίνει η εναπόθεση. Η θέση του υποστρώματος αυτού ελέγχεται από σταθμό μικρομηχανικής που έχει αναπτυχθεί στον τομέα Φυσικής του ΕΜΠ (εικόνα 2.6). Ένας στόχος τοποθετείται πάνω σε ηλεκτρονικά ελεγχόμενο (κατά x-y) μοτέρ, επιτρέποντας κίνηση 25x25 mm και έχοντας διακριτική ικανότητα κίνησης 1μm. Ένα πρόγραμμα LabView έχει αναπτυχθεί για να συγχρονιστεί η κίνηση κατά x-y με το laser. Η μεταφορά του υγρού υλικού γίνεται με τέτοιο τρόπο ώστε μια συγκεκριμένη ποσότητα υλικού να εναποτίθεται από ένα και μόνο παλμό. Η απόσταση μεταξύ του λεπτού στρώματος του υλικού προς εναπόθεση και του δέκτη είναι της τάξης των εκατοντάδων μικρομέτρων (300 μm).



Εικόνα 2.5 Πειραματική διάταξη LIFT στο εργαστήριο ΕΜΠ στον τομέα Φυσικής

2.2 Υπόστρωμα δότης

Όλα τα πειράματα εναπόθεσης που θα περιγραφούν στη συνέχεια της εργασίας πραγματοποιήθηκαν με την επίστρωση 10 μL του αντίστοιχου διαλύματος κάθε πειράματος πάνω στο στρώμα τιτανίου πάχους 40nm. Σκοπός αυτού του κεφαλαίου είναι να υπολογιστεί το πάχος του υλικού που επιστρώνεται στον στόχο.



Η ακτίνα του στόχου μετρήθηκε στα 12,5 mm και έτσι μπορούμε μέσω του παρακάτω τύπου να υπολογίσουμε το πάχος του στρώματος του υγρού.

$$V = \pi\rho^2h \Rightarrow h = 20\mu\text{m}$$

[1] <https://260h.pbworks.com/w/page/59034275/Heisenberg%20Uncertainty%20Principle>

[2] <http://zeiss-campus.magnet.fsu.edu/articles/basics/resolution.html>

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Η διαδικασία της μεταφοράς του βιοϋλικού από το υπόστρωμα του δότη προς το υπόστρωμα του αποδέκτη ξεκινάει με έναν παλμό laser ο οποίος απεικονίζεται πάνω στο φιλμ του τιτανίου. Στην περίπτωση μας πρόκειται για έναν παλμό ο οποίος προέρχεται από ένα Nd-Yag laser στα 266 nm και 355nm, με τη βοήθεια κρυστάλλου υποτριπλασιασμού και υποτετραπλασιασμού του μήκους κύματος της κεντρικής αρμονικής η οποία είναι στα 1064nm. Το τιτάνιο τοποθετείται στο λεγόμενο image plane, το οποίο απέχει από τη μάσκα λίγο πιο μακριά σε σύγκριση με την εστιακή απόσταση. Η μάσκα μας μπορεί να είναι είτε κυκλική είτε τετραγωνική. Συνήθη μεγέθη για το spot size είναι από 15μm-100μm. Είναι πολύ σημαντικό το φιλμ που θα επιστρώσουμε πάνω στο quartz να είναι αδιαφανές στην ακτινοβολία που θα χρησιμοποιήσουμε, έτσι ώστε να απορροφηθεί και να παραμείνει το βιοϋλικό μας λειτουργικό.

3.1 Αλληλεπίδραση Ύλης με Φως

Στα πειράματα που διεξάγονται χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον μόρια DNA τα οποία είναι πολύ ευαίσθητα στην ακτινοβολία UV, καθώς και στην αύξηση της θερμοκρασίας. Η απορρόφηση φωτονίου με μήκος κύματος στην περιοχή της υπεριώδους ακτινοβολίας είναι πιθανό να προκαλέσει καταστροφή της αλυσίδας του μορίου του DNA όταν οι συνθήκες δεν ελέγχονται. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να μην μπορεί να προσδεθεί πάνω του ο προς ανίχνευση αναλυτής. Ένας σημαντικός παράγοντας είναι το πάχος του τιτανίου που χρησιμοποιείται αφού η απορρόφηση της ακτινοβολίας, όταν αυτή πέσει πάνω σε ένα υλικό, διέπεται από τον νόμο Beer-Lambert $I=I_0e^{-ad}$. Διαπιστώνεται ότι όσο αυξάνεται το πάχος του υλικού d μειώνεται εκθετικά και η ένταση της ακτινοβολίας που διαπερνάει το στρώμα τιτανίου. Για 40 nm Ti που χρησιμοποιούνται και με συντελεστή απορρόφησης $a=1,0167 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-1}$ στα 355nm (Johnson and Christy 1974) προκύπτει ότι μόνο το 1,7% της αρχικής έντασης ακτινοβολίας εξέρχεται από το στρώμα του τιτανίου.

Εκτός από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, τη λειτουργικότητα του μορίου του DNA μπορούν να επηρεάσουν επίσης και θερμικά φαινόμενα, όπως η απότομη και μεγάλη αύξηση της

θερμοκρασίας του υδάτινου διαλύματος μέσα στο οποίο βρίσκεται το μόριο. Για αυτό το λόγο θα πρέπει να ληφθεί υπόψη το μήκος θερμικής διάχυσης L . Η αρχική ακτίνα της φυσαλίδας R_0 σχετίζεται με το χαρακτηριστικό μήκος διάχυσης, που λαμβάνεται από την διαφορική εξίσωση της θερμότητας.

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} - \frac{1}{D} \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \quad (3.1)$$

Έτσι προκύπτει: $R_0 \approx L = \sqrt{D\tau_D} \Rightarrow R_0^2 \approx D\tau_D$ με το $D = \frac{k}{c_p \rho}$ να είναι ο συντελεστής θερμικής διαχυτότητας, το k ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας, το C_p η ειδική θερμότητα σε μονάδες μάζας και το ρ η πυκνότητα του υγρού. Με το $D = 1,59 \times 10^{-7} \frac{m^2}{s}$ για το νερό, μόνο $1,26 \mu m$ του υγρού μας επηρεάζονται θερμικά για τον χαρακτηριστικό χρόνο $\tau_D = 10 \mu s$. [1] Σε προηγούμενη παράγραφο υπολογίστηκε το πάχος του υγρού πάνω στο πλακίδιο του δότη το οποίο βγαίνει περίπου $20 \mu m$. Άρα γίνεται κατανοητό ότι μόνο ένα πολύ μικρό κομμάτι του υγρού (της τάξης του 6%) επηρεάζεται θερμικά. Το παραπάνω ποιοτικό αποτέλεσμα θα ελεγχθεί και με δύο προσομοιώσεις οι οποίες έγιναν με τη βοήθεια των υπολογιστικών προγραμμάτων Sentaurus και Mathematica. Στην περίπτωση που η ακτινοβολία laser απορροφάται από την ύλη από φωτοθερμικές (photothermal) διεργασίες, η χωρική και χρονική κατανομή της θερμοκρασίας στο μέσο μπορεί να υπολογιστεί με χρήση της εξίσωσης διάδοσης της θερμότητας, κάτι που ισχύει για τα laser με διάρκεια παλμού της τάξης των ns. Η γενικευμένη εξίσωση διάδοσης της θερμότητας κατά τον άξονα διάδοσης της ακτινοβολίας laser δίνεται από την σχέση [2]:

$$\rho(T)C_p(T) \frac{\partial T(x,t)}{\partial t} - \frac{\partial}{\partial x} \left(K(T) \frac{\partial T(x,t)}{\partial x} \right) = Q(x,t) \quad (3.2)$$

Όπου ρ η πυκνότητα μάζας, C_p η ειδική θερμοχωρητικότητα, και K η θερμική αγωγιμότητα. Το αριστερό μέρος της εξίσωσης περιγράφει την θερμοκρασιακή εξέλιξη στο μέσο εξαιτίας της θερμικής του αγωγιμότητας, ενώ ο παράγοντας περιγράφει την $Q(x,t)$, δηλαδή τον ρυθμό

παροχής θερμότητας από το Λείζερ. Για υλικά με ομογενείς οπτικές ιδιότητες αυτός ο όρος μπορεί να γραφεί :

$$Q(x, t) = I_L \cdot (1 - R) \cdot q(t) \cdot a(T) \cdot e^{-a(T)x} \quad (3.3)$$

Όπου $a(T)$ ο συντελεστής απορρόφησης, R η ανακλαστικότητα του τιτανίου σε θερμοκρασία δωματίου, $q(t)$ η χρονική εξέλιξη του παλμού και I_L η πυκνότητα ενέργειας του παλμού. Στις περισσότερες περιπτώσεις η εξίσωση (3.2) είναι μια μη γραμμική μερική διαφορική εξίσωση στην οποία είναι αρκετά δύσκολη ή και αδύνατη η εύρεση μιας αναλυτικής λύσης. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιήθηκε το υπολογιστικό πρόγραμμα Sentaurus (<http://www.synopsys.com/home.aspx>) το οποίο χρησιμοποιεί τη μέθοδο των πεπερασμένων στοιχείων για να μας δώσει μια προσεγγιστική λύση πολύ κοντά στην πραγματικότητα. Το μοντέλο προσομοίωσης περιλαμβάνει τρία διαφορετικά στρώματα τα οποία απεικονίζονται στην **Εικόνα 3.1**. Η χρονική διάρκεια του παλμού laser προσδιορίστηκε πειραματικά σε $\tau_{FWHM} = 8$ ns. Το χωρικό προφίλ θεωρήθηκε ομοιόμορφο (top hat), γεγονός το οποίο εξασφαλίζεται από τις τεχνικές ομογενοποίησης της δέσμης και βέλτιστης προβολής της μάσκας. Το σύνολο των φυσικών παραμέτρων που εισήχθησαν στο πρόγραμμα για τα τρία στρώματα εμφανίζεται στον **Πίνακα I**. Για το στρώμα του τιτανίου που εμφανίζει την ισχυρή απορρόφηση στη δέσμη laser έγινε χρήση των εξαρτώμενων από τη θερμοκρασία θερμικών σταθερών. Η ειδική θερμοχωρητικότητα και θερμική αγωγιμότητα για το τιτάνιο δίνονται από την **Εξίσωση 3.4** και την **Εξίσωση 3.5**, αντίστοιχα, οι οποίες προέκυψαν από προσαρμογή σε πειραματικά δεδομένα [3]:

Εξίσωση 3.4

$$300 \text{ K} < T < 1106 \text{ K}: C_p = 405.6 + 5.0757 \times 10^{-1}T - 2.781 \times 10^{-4}T^2 + 8.750 \times 10^{-8}T^3$$

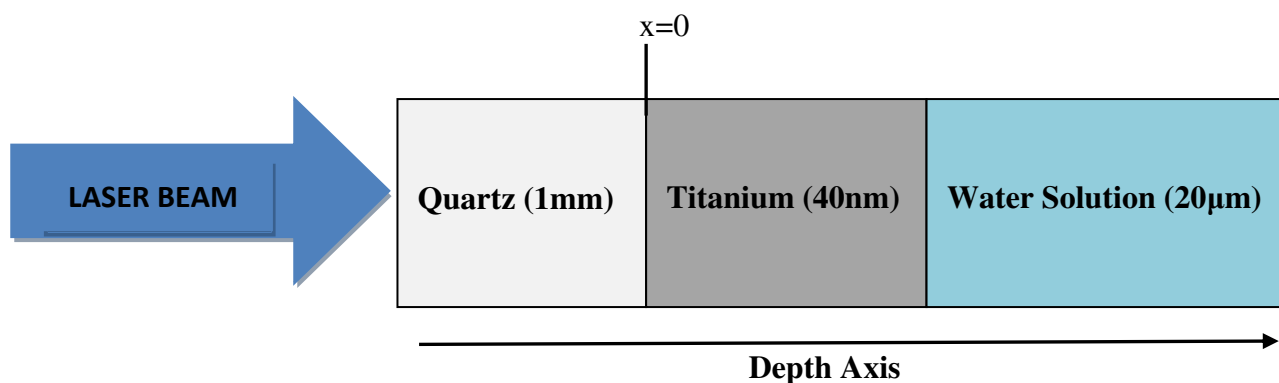
$$1202 \text{ K} < T < 1910 \text{ K}: C_p = -1689.3 + 5.230T - 3.920 \times 10^{-3}T^2 + 9.826 \times 10^{-7}T^3$$

$$1106 \text{ K} < T < 1150 \text{ K}: C_p = -5601.47727 + 5.72955T$$

$$1150 \text{ K} < T < 1202 \text{ K}: C_p = 8677.01923 - 6.68654T$$

Εξίσωση 3.5

$$300 \text{ K} < T < 1800 \text{ K}: k = 30.16166 - 0.04165T + 5.31968 \times 10^{-5}T^2 - 2.57651 \times 10^{-8}T^3 + 4.7387 \times 10^{-12}T^4$$

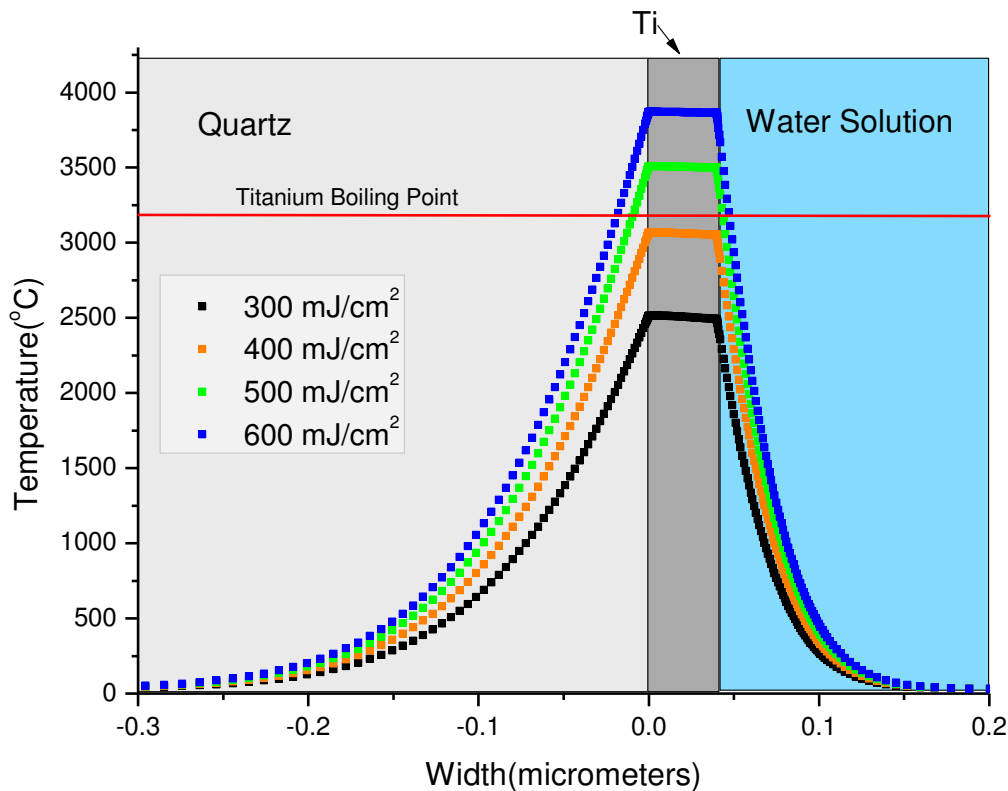


Εικόνα 3.1: Σχηματική αναπαράσταση του μοντέλου προσομοίωσης της θερμοκρασιακής εξέλιξης στο υποστρώματος δότη.

Υλικό	ρ (gr/cm ³)	a (cm ⁻¹)	R	C _P (J/K Kg)	k (W/K cm)
Quartz	2.203	10 ⁻⁵	0.040	703	0.0138
Τιτάνιο	4.520	5.96 · 10 ⁵	0.256	Εξίσωση 4	Εξίσωση 5/100
Νερό	1	0.0020885	0.02	4183	5.8 · 10 ⁻³

Πίνακας I: Οπτικές και θερμικές ιδιότητες των στρωμάτων του υποστρώματος δότη

Στην **Εικόνα 3.2** εμφανίζεται η χωρική κατανομή της θερμοκρασίας για το στρώμα του τιτανίου για τις πυκνότητες ενέργειας 300 mJ/cm², 400 mJ/cm², 500 mJ/cm² και 600 mJ/cm². Η μέγιστη θερμοκρασία επιτυγχάνεται για την χρονική στιγμή $t = 13$ ns.



Εικόνα 3.2: Η εξέλιξη της θερμοκρασίας κατά μήκος των τριών στρωμάτων για την χρονική στιγμή $\tau = 13$ ns στην οποία επιτυγχάνεται η μέγιστη θερμοκρασία στο στρώμα τιτανίου ($\lambda = 355$ nm, $\tau = 8$ ns).

Μπορεί εύκολα να διακριθεί πως στο στρώμα τιτανίου πάχους 40 nm παρουσιάζεται πρακτικά μια σταθερή κατανομή της θερμοκρασίας, γεγονός το οποίο οφείλεται στο μικρό του πάχος και τη σχετικά μεγάλη θερμική του αγωγιμότητα. Επίσης παρατηρείται και το αποτέλεσμα που υπολογίστηκε και πιο πριν ποιοτικά, ότι δηλαδή μόνο ένα πολύ λεπτό στρώμα του υγρού επηρεάζεται θερμικά και σύμφωνα με την παραπάνω προσομοίωση είναι κοντά στα 0.15 μm . Γίνεται φανερό ότι η μέγιστη θερμοκρασία που επιτυγχάνεται στο στρώμα του τιτανίου είναι περίπου 2500 °C για τα 300 mJ/cm². Για τη συγκεκριμένη πυκνότητα ενέργειας η ελάχιστη θερμοκρασία είναι 2400 °C στην διεπιφάνεια τιτανίου-υγρού. Η θερμοκρασία αυτή θα χρησιμοποιηθεί και ως συνοριακή συνθήκη ακριβώς παρακάτω στην αναλυτική επίλυση του προβλήματος. Παρατηρείται ότι το σημείο βρασμού του τιτανίου (3287 °C) βρίσκεται ενδιάμεσα

των θερμοκρασιών που επιτυγχάνονται με πυκνότητες ενέργειας 400 mJ/cm^2 και 500 mJ/cm^2 . Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι για λόγους απλότητας, και στις δύο προσομοιώσεις, δε λήφθηκε υπόψη η δημιουργία της φυσαλίδας ανάμεσα στο στρώμα του τιτανίου και του υγρού. Για έλεγχο της ορθότητας της προσομοίωσης πραγματοποιήθηκε ένα πείραμα κατά το οποίο ακτινοβολήθηκε ένα στρώμα τιτανίου κάτω από τις συγκεκριμένες συνθήκες που περιγράφονται στην προσομοίωση και εξήχθησαν τα παρακάτω αποτελέσματα. [εικόνα 3.3]



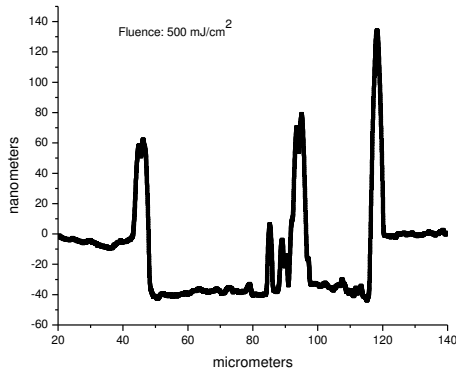
Εικόνα 3.3

400 mJ/cm^2

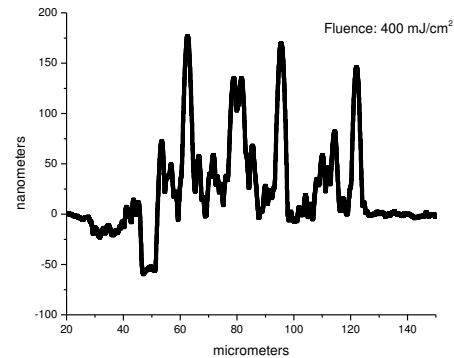
500 mJ/cm^2

Οι εικόνες έχουν παρθεί από οπτικό μικροσκόπιο. Φαίνεται στην αριστερή μεριά της εικόνας το σημείο του στρώματος του τιτανίου που έχει ακτινοβοληθεί με πυκνότητα ενέργειας 400 mJ/cm^2 και στην δεξιά μεριά το σημείο που έχει ακτινοβοληθεί με πυκνότητα ενέργειας 500 mJ/cm^2 . Όπως ήταν αναμενόμενο από τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από την προσομοίωση που πραγματοποιήθηκε, η θερμοκρασία που αναπτύχθηκε στο στρώμα του τιτανίου με τα 500 mJ/cm^2 , δηλαδή $3400 \text{ }^\circ\text{C}$, ήταν αρκετή ώστε να εξατμιστεί το τιτάνιο και να ανοίξει τρύπα στο σημείο που απεικονίστηκε ο παλμός του laser. Αντίθετα στο σημείο που απεικονίστηκε ο παλμός με πυκνότητα ενέργειας 400 mJ/cm^2 , το τιτάνιο παρέμεινε στην θέση του, όπως φανερώνεται και στην παραπάνω εικόνα, με εξαίρεση κάποια λίγα σημεία που εξατμίστηκε, και αυτό λόγω της όχι απόλυτα ομοιογενούς δέσμης. Αυτό που παρατηρήθηκε οπτικά μπορεί να γίνει φανερό επίσης αν τοποθετηθεί το δισκίο του δότη στο προφιλόμετρο, το οποίο θα δείξει τη διαφορά ύψους που έχει

δημιουργηθεί μεταξύ της ακτινοβολημένης περιοχής και της περιοχής που έχει μείνει ανέπαφη. Τα δύο γραφήματα από το προφιλόμετρο είναι τα παρακάτω.



Εικόνα 3.4



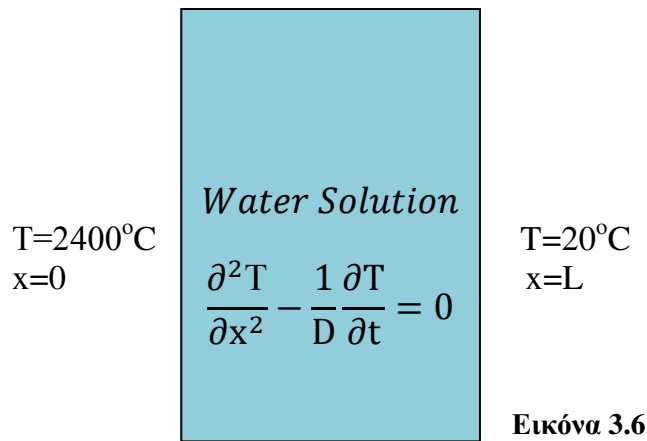
Εικόνα 3.5

Στην εικόνα 3.4 διαφαίνεται η περίπτωση του τιτανίου που έχει απεικονιστεί πάνω του παλμός με πυκνότητα ενέργειας 500 mJ/cm^2 . Παρατηρείται ακριβώς αυτό που είχαμε δει και οπτικά. Το ότι δηλαδή έχει εξατμιστεί όλο το στρώμα του τιτανίου το οποίο ήταν 40 nm . Οι κορυφές που εμφανίζονται οφείλονται σε βρωμιά που έχει επικαθίσει μέσα στην οπή που δημιουργήθηκε καθώς και σε υπολείμματα τιτανίου τα οποία ψύχθηκαν και έπεσαν προς τα πίσω μετά την εξάτμιση τους. Αντίθετα στην εικόνα 3.5 παρατηρείται η περίπτωση του τιτανίου που έχει ακτινοβοληθεί με πυκνότητα ενέργειας 400 mJ/cm^2 . Φαίνεται καθαρά ότι δεν έχει εξατμιστεί καθόλου τιτάνιο εκτός από μερικές πολύ μικρές περιοχές που όπως αναφέραμε και πιο πριν, αυτό οφείλεται στην μη ομοιογένεια της δέσμης.

Στη συνέχεια θα ελεγχθούν τα αποτελέσματα της προσομοίωσης αυτής και με έναν ακόμα τρόπο: λύνοντας αναλυτικά την εξίσωση θερμότητας μόνο για το στρώμα του υγρού.

$$\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} - \frac{1}{D} \frac{\partial T}{\partial t} = 0 \quad (3.6)$$

με το $D = \frac{k}{c_p \rho}$ όπως και πριν. Η λύση της παραπάνω (3.6) μερικής διαφορικής εξίσωσης κανονικά είναι τετριμμένη για πρόβλημα με ομογενείς συνοριακές συνθήκες, κάτι το οποίο όμως δε συμβαίνει στο πρόβλημα μας. Στην παρακάτω εικόνα απεικονίζεται το πρόβλημα που θέλουμε να λύσουμε μαζί με τις συνοριακές και την αρχική συνθήκη.



Σαν αρχική συνθήκη θεωρήθηκε ότι υπάρχει μια αρχική σταθερή κατανομή θερμοκρασιών σε όλο το πάχος του υγρού, που είναι ίση με την θερμοκρασία δωματίου δηλαδή 20°C. Συνοψίζοντας έχουμε τα παρακάτω όσο αφορά τις συνθήκες του προβλήματος.

- $T(0,t)=A=2400^\circ\text{C}$
- $T(L,t)=B=20^\circ\text{C}$
- $T(x,0)=C=20^\circ\text{C}$

Η βασική ιδέα της επίλυσης της μερικής διαφορικής εξίσωσης θερμότητας με μη ομογενείς συνοριακές συνθήκες συνοψίζεται στην αντικατάσταση

$$T(x,t)=u(x,t)+w(x,t) \quad (3.7)$$

στην οποία οι δύο νέες συναρτήσεις $u(x,t)$ και $w(x,t)$ θεωρούνται λύσεις της εξίσωσης (3.6) οπότε και η $T(x,t)$ θα είναι επίσης λύση, αφού η εξίσωση θερμότητας είναι γραμμική και ομογενής. Αν τώρα υποθέσουμε ότι η $w(x,t)$ ικανοποιεί και τις μη ομογενείς συνθήκες, όπως και η ζητούμενη λύση $T(x,t)$ τότε η νέα συνάρτηση $u(x,t)$ θα ικανοποιεί την ομογενή μορφή τους δηλαδή τις:

$$T(0,t)=0$$

$$T(L,t)=0$$

Το πρόβλημα θα έχει λοιπόν αναχθεί στο αντίστοιχο ομογενές, αν καταστεί δυνατόν να βρεθεί μια συνάρτηση $w(x,t)$ που ικανοποιεί την εξίσωση θερμότητας και τις μη ομογενείς συνοριακές συνθήκες, αλλά με ελεύθερη την αρχική συνθήκη. Αν μια τέτοια συνάρτηση έχει βρεθεί, τότε η ζητούμενη λύση $T(x,t)$ θα δίνεται από την (3.7) με $u(x,t)$ την λύση του αντίστοιχου ομογενούς προβλήματος και με αρχική συνθήκη την:

$$u(x,t)=T(x,0)-w(x,0)=C-w(x,0) \quad (3.8)$$

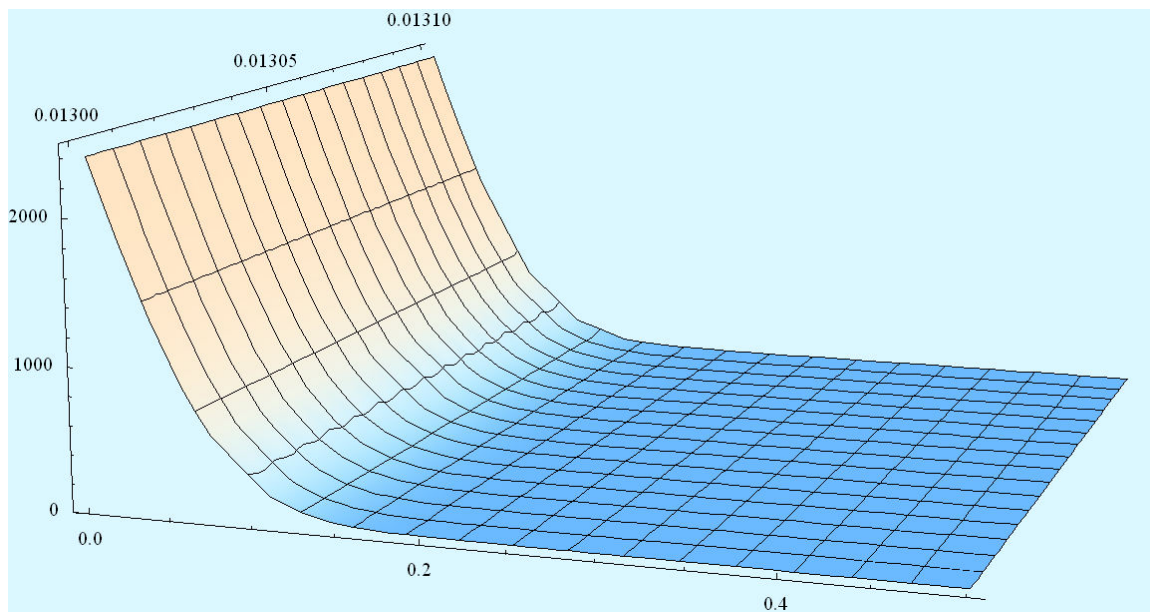
Τελικά η λύση είναι:

$$T(x,t) = \sum_{n=1}^{\infty} c_n \sin \frac{n\pi x}{L} e^{-\frac{n^2\pi^2 t D}{L^2}} + A + \frac{B-A}{L} x \quad (3.9)$$

$$\text{με } c_n = \frac{2}{L} \int_0^L \sin \frac{n\pi x}{L} \left(C - \left(A + \frac{B-A}{L} x \right) \right) dx \quad (3.10)$$

Με τις εξισώσεις πια έτοιμες μπορεί να πραγματοποιηθεί η προσομοίωση στο Mathematica για τον ίδιο χρόνο 13ns, καθώς και για την πυκνότητα ενέργειας 300 mJ/cm^2 που χρησιμοποιούμε συνήθως για την εκτύπωση των βιομορίων μας. Για λόγους απλοποίησης του προβλήματος όλοι οι θερμοδυναμικοί συντελεστές θεωρήθηκαν σταθεροί και όχι συνάρτηση της θερμοκρασίας. Βέβαια δεν αναμένεται να υπάρχει μεγάλη απόκλιση στο τελικό αποτέλεσμα. Παρακάτω ακολουθεί το διάγραμμα 3d που μας έδωσε το Mathematica[**εικόνα 3.7**]. Ο άξονας x είναι σε μm και ο άξονας y σε βαθμούς $^{\circ}\text{C}$. Παρατηρείται ότι και αυτή η προσομοίωση έδωσε

αποτέλεσμα το οποίο είναι πάρα πολύ κοντά στο προηγούμενο αποτέλεσμα. Επίσης η θερμοκρασία έχει πέσει σε φυσιολογικά επίπεδα ήδη από τα 0.2μm. Δηλαδή μόνο ένα 0.01% του συνολικού υδάτινου διαλύματος καταστρέφεται.



Εικόνα 3.7: Η εξέλιξη της θερμοκρασίας κατά μήκος του στρώματος του υγρού για $\tau=13\text{ns}$.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι η λειτουργικότητα των βιομορίων δεν επηρεάζεται καθόλου σύμφωνα με τις παραπάνω προσομοιώσεις. Αυτό το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο και με αυτά που παρατηρούμε στην πράξη, αφού τα βιομόρια είναι πλήρως λειτουργικά μετά τη διαδικασία της άμεσης εκτύπωσης που πραγματοποιούμε.

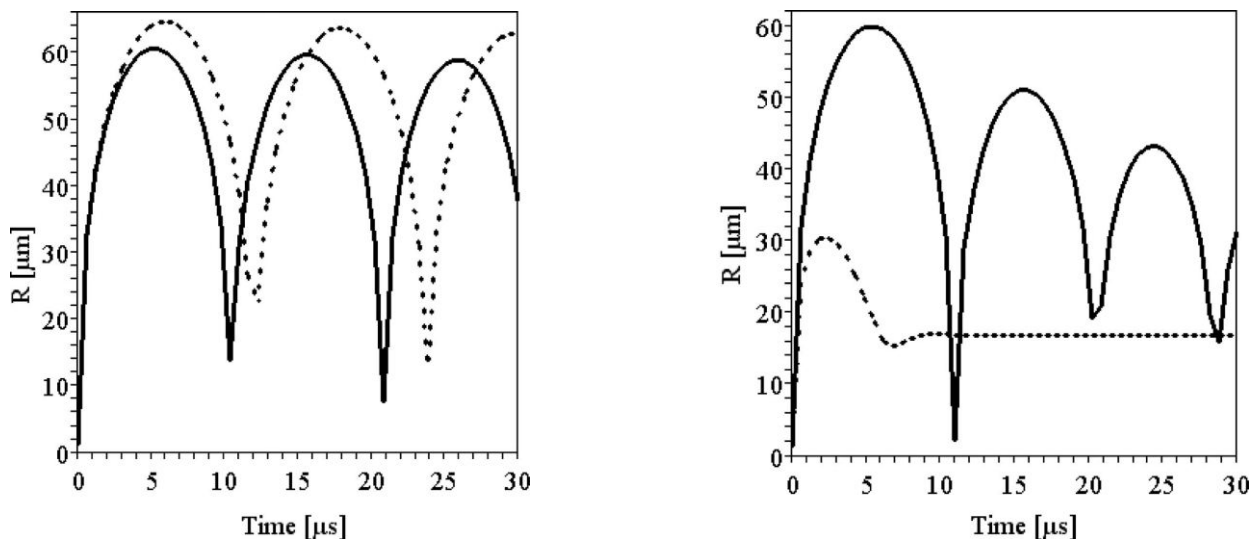
3.2 Θεωρητική προσέγγιση του μηχανισμού εναπόθεσης υγρών μέσω της τεχνικής εκτύπωσης LIFT

Η τεχνική LIFT υγρής φάσης αποτελεί μια εξαιρετικά πολύπλοκη φυσική διαδικασία μιας και ανακύπτει από ένα συνδυασμό σύνθετων θερμομηχανικών φαινομένων στην διεπιφάνεια DRL - υγρού φιλμ. Ερευνητικές ομάδες έχουν προσεγγίσει μεμονωμένα τα φαινόμενα εμφάνισης

μηχανικών τάσεων [Shugaev et al. 2010][4] και αλλαγών φάσης [Willis et al. 2007][5] στο DRL. Πρόσφατα, έχει επιδειχθεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση για τη δημιουργία του jet με χρήση ενός μονοδιάστατου μοντέλου για την ποιοτική ερμηνεία, αλλά και ενός δυσδιάστατου υδροδυναμικού υπολογιστικού πακέτου για την προσομοίωση του jet [Mével et al. 2009][6]. Ένα βασικό εργαλείο για την περιγραφή του θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια DRL – υγρού αποτελεί η σχέση Rayleigh – Plesset [Prosperetti 1982, Xiu-Mei et al. 2008][7] η οποία περιγράφει την εξέλιξη του μεγέθους του θύλακα στον χρόνο:

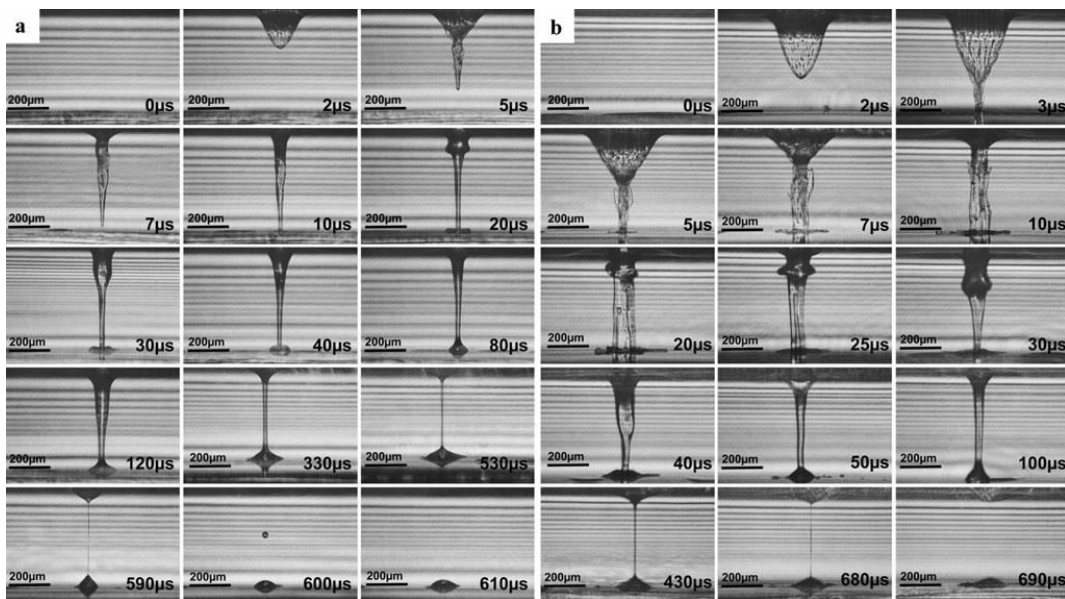
$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{kP_l}{\rho_l} \left(\frac{R_0}{R}\right)^{3\gamma} - \frac{P_l - P_u}{\rho_l} - 4\nu\frac{\dot{R}}{R} - \frac{2\sigma_l}{\rho_l R} \quad (3.11)$$

Όπου R , η ακτίνα του θύλακα, R_0 η αρχική διάμετρος του θύλακα, P_l η πίεση στο υγρό, P_u η κορεσμένη πίεση στον θύλακα, ν το κινηματικό ιξώδες, σ_l η επιφανειακή τάση και ρ_l η πυκνότητα του υγρού. Ο συντελεστής k εκφράζει το λόγο της πίεσης των αερίων στο θύλακα προς την πίεση του υγρού. Η ακριβής τιμή του μπορεί να προκύψει από προσαρμογή σε πειραματικά δεδομένα. Μια καλή προσέγγιση για την αρχική ακτίνα του θύλακα R_0 είναι να θεωρηθεί ίση με το βάθος θερμικής διάχυσης l_t , το οποίο στην περίπτωση του νερού είναι 1.26 μm .



Εικόνα 3.8: Η εξάρτηση της χρονικής εξέλιξης της ακτίνας του θύλακα αερίων από τις ρεολογικές ιδιότητες του υγρού για $\rho_l = \rho_w$ και α) $\nu_l = \nu_w$, $\sigma_l = 6 \sigma_w$ (συνεχόμενη γραμμή), $\sigma_l = 0.2 \sigma_w$ (διακεκομμένη γραμμή) β) $\sigma_l = \sigma_w$, $\nu_l = \nu_w$ (συνεχόμενη γραμμή), $\nu_l = 100 \nu_w$ (διακεκομμένη γραμμή). [Mével et al. 2009]

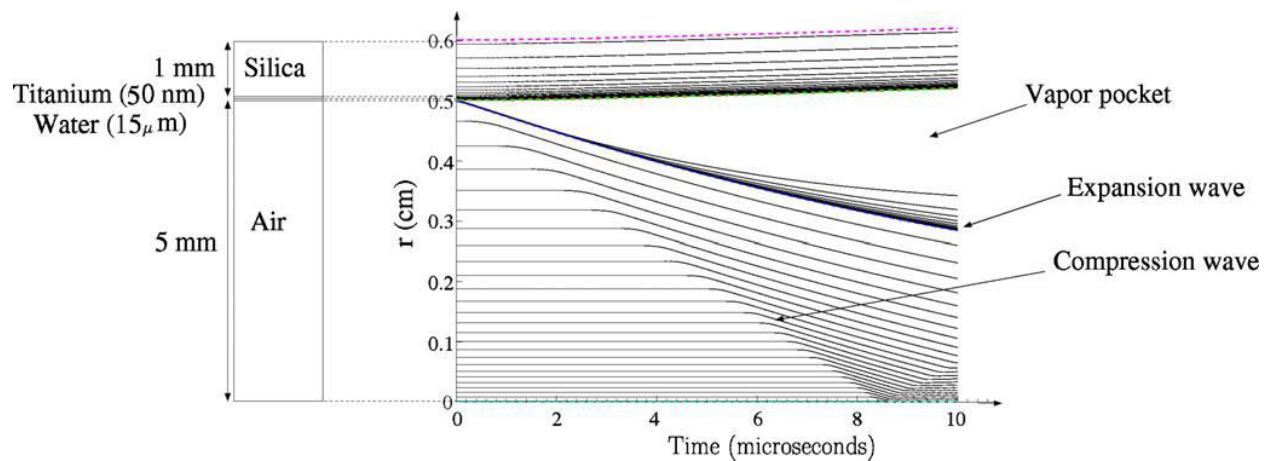
Ποιοτικά αποτελέσματα για την εξάρτηση του θύλακα αέρα από τις ρεολογικές ιδιότητες ενός υγρού μπορούν να εξαχθούν υπολογίζοντας την χρονική εξέλιξη της ακτίνας του θύλακα αερίων. Μία τέτοια προσέγγιση έγινε από τους [Mézél et al.2009][6] εισάγοντας τις τιμές πυκνότητας (ρ_w), κινηματικού ιξώδους (ν_w) και επιφανειακής τάσης (σ_w) του νερού στην **Εξίσωση 3.11**. Η επίδραση της μεταβολής του ιξώδους εμφανίζεται στην **Εικόνα 3.8**. Η αύξηση του συντελεστή ιξώδους αυξάνει τις δυνάμεις συνοχής στο υγρό και οδηγεί σε μείωση του μεγέθους της ακτίνας του θύλακα. Παράλληλα, αποσβένει και τη χρονική ταλάντωση του μεγέθους του θύλακα [**Εικόνα 3.8β**]. Η αύξηση της επιφανειακής τάσης οδηγεί επίσης σε θύλακες με μικρότερη ακτίνα. Παρόλα αυτά, ο παράγοντας της επιφανειακής τάσης εμφανίζεται να έχει μειωμένη επίδραση και στο μέγεθος του θύλακα αλλά και στην ταλάντωση του στο χρόνο [**Εικόνα 3.8α**]. Παρατηρώντας πραγματικές φωτογραφίες από τη χρονική εξέλιξη του φαινομένου της εναπόθεσης υγρού διαλύματος με τη χρήση της άμεσης εκτύπωσης με Laser μπορούμε να δούμε ότι η χρονική μεταβολή της ακτίνας της φυσαλίδας που περιγράφηκε με το παραπάνω μοντέλο συμπίπτει σε αρκετά μεγάλο βαθμό με την πραγματικότητα.



Εικόνα 3.9: Χρονική απεικόνιση του φαινομένου της διαδικασίας LIFT. Η ροή ενέργειας του λέιζερ ήταν α) 1.6 J/cm^2 και β) 2.7 J/cm^2 . Το κενό μεταξύ δότη και αποδέκτη ήταν περίπου 450 μm . [8]

Αν συγκρίνουμε τη χρονική εξέλιξη της ακτίνας του θύλακα μεταξύ του θεωρητικού μοντέλου [**εικόνα 3.8α**] με το πώς εξελίσσεται στην πραγματικότητα [**εικόνα 3.9**], βλέπουμε ότι

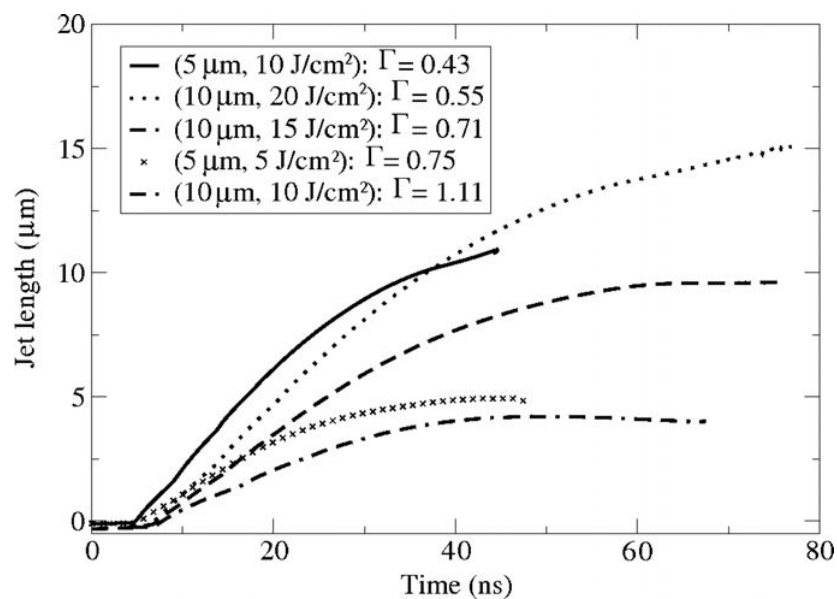
υπάρχει και στις δύο περιπτώσεις το πρώτο μέγιστο της ακτίνας περίπου στα 5μs και αμέσως μετά κατάρρευση μέχρι να πάρει μια ελάχιστη τιμή κοντά στα 10μs. Το μοντέλο επίσης προβλέπει άλλο ένα μέγιστο της ακτίνας σε χρόνο περίπου ίσο με 25μs και το βλέπουμε στην εικόνα 3.9β. Δυστυχώς το συγκεκριμένο στιγμιότυπο λείπει από την εικόνα 3.9α, καθώς και τα στιγμιότυπα που απαθανατίζουν το δεύτερο μέγιστο στα 17μs. Παρατηρώντας προσεκτικά όμως τις φωτογραφίες πριν και μετά από αυτή την στιγμή φαίνεται όντως να συμφωνεί και σε αυτή την περίπτωση το θεωρητικό μοντέλο με την πραγματική χρονική εξέλιξη της ακτίνας του θύλακα. Σε προσομοιώσεις 1D που πραγματοποιήθηκαν παρατηρήθηκε ότι δημιουργείται ένα κύμα συμπύκνωσης το οποίο ταξιδεύει προς την κάτω μεριά της επιφάνειας του υγρού. Μεταγενέστερα αυτό το κύμα παράγει ένα κύμα αραίωσης στο στρώμα του τιτανίου. Μόλις το κύμα συμπύκνωσης αλληλεπιδράσει με την κάτω επιφάνεια του υγρού δημιουργείται ένα κύμα αραίωσης από ανάκλαση στο υγρό που επεκτείνει τη διεπιφάνεια υγρού/αέρα. Αυτό το κύμα αραίωσης που δημιουργήθηκε από την ανάκλαση αναμένεται να αλληλεπιδράσει πάλι με το στρώμα του τιτανίου και ούτω καθεξής, με συνεχώς μειούμενη ένταση λόγω φυσικών απωλειών[**εικόνα 3.10**]. [1]



Εικόνα 3.10

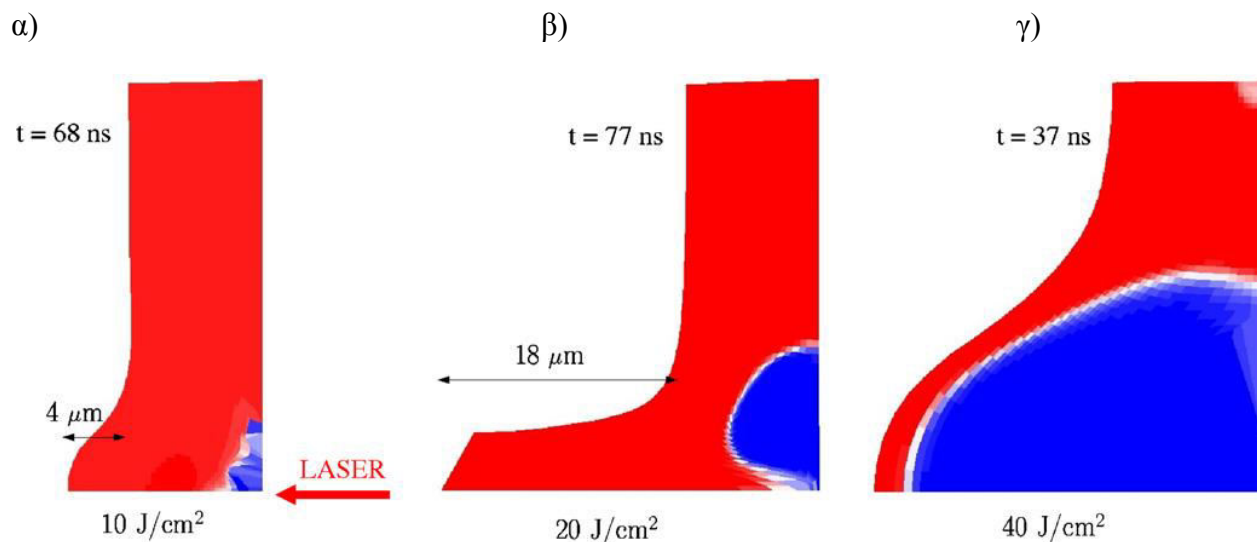
Ο μηχανισμός εναπόθεσης μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις διαφορετικές περιοχές ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του laser. Οι περιοχές αυτές ονομάστηκαν ως οριακή περιοχή (sub-threshold regime), περιοχή jet (jet regime) και βίαιη περιοχή (plume regime) [Young et al. 2002][9]. Σύμφωνα με τους Pearson et al. [Pearson et al. 2004][10] κρίσιμη παράμετρο για τη

δημιουργία ή όχι ενός jet από θύλακα πίεσης αποτελεί ο κρίσιμος παράγοντας Γ (standoff distance). Ο παράγοντας Γ είναι μέγεθος αδιάστατο και εκφράζει τον λόγο του πάχους του φιλμ προς τη μέγιστη ακτίνα του θύλακα πίεσης. Ως εκ τούτου, γίνεται αντιληπτό πως το πάχος του υγρού φιλμ, η πυκνότητα ενέργειας του laser και οι ρεολογικές ιδιότητες του υγρού είναι οι τρεις βασικοί παράγοντες που καθορίζουν τη δημιουργία του jet. Για παράδειγμα οι [Mézél et al.2009][6] προσομοίωσαν τη συμπεριφορά ενός υδατικού διαλύματος για διάφορες πυκνότητες ενέργειας και πάχη φιλμ. Η εξάρτηση του συντελεστή Γ από το πάχος του φιλμ και την πυκνότητα ενέργειας εμφανίζεται στην **Εικόνα 3.11**.



Εικόνα 3.11: Γράφημα που αναπαριστά την εξέλιξη του jet σαν συνάρτηση του χρόνου και του συντελεστή Γ (standoff distance). [Mézél et al. 2009][6]

Η τιμή $\Gamma = 0.71$ εμφανίζεται να είναι η οριακή τιμή για τη δημιουργία του jet. Για μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή Γ το jet καταρρέει προς το υγρό φιλμ (sub-threshold regime). Για τιμές μικρότερες από 0.55 ο θύλακας εμφανίζεται να εκτονώνεται βίαια οδηγώντας στην plume regime. Τα αποτελέσματα των δυσδιάστατων προσομοιώσεων για την sub-threshold regime, jet regime και plume regime εμφανίζονται στις **Εικόνα 3.12α**, **Εικόνα 3.12β** και **Εικόνα 3.12γ**, αντίστοιχα.

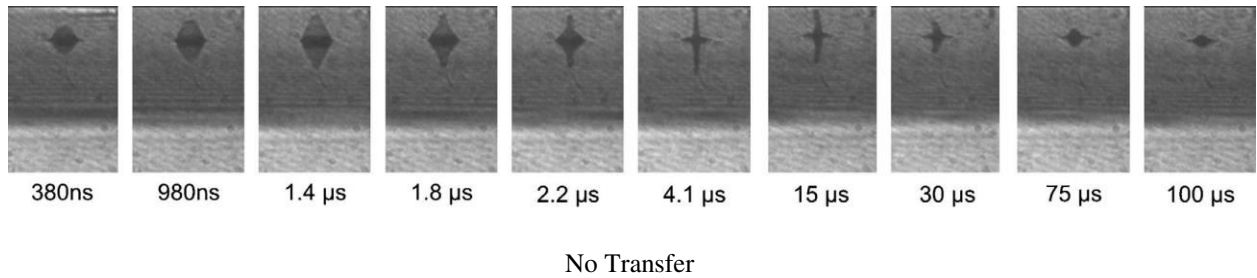


Εικόνα 3.12: Προσομοίωση της δημιουργίας του jet για τρεις διαφορετικούς συνδυασμούς πειρατικών συνθηκών α) $10 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma = 1.11$ (sub-threshold regime) β) $20 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma = 0.55$ (jet regime) γ) $40 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma < 0.55$ (plume regime) [Mézel et al. 2009][6].

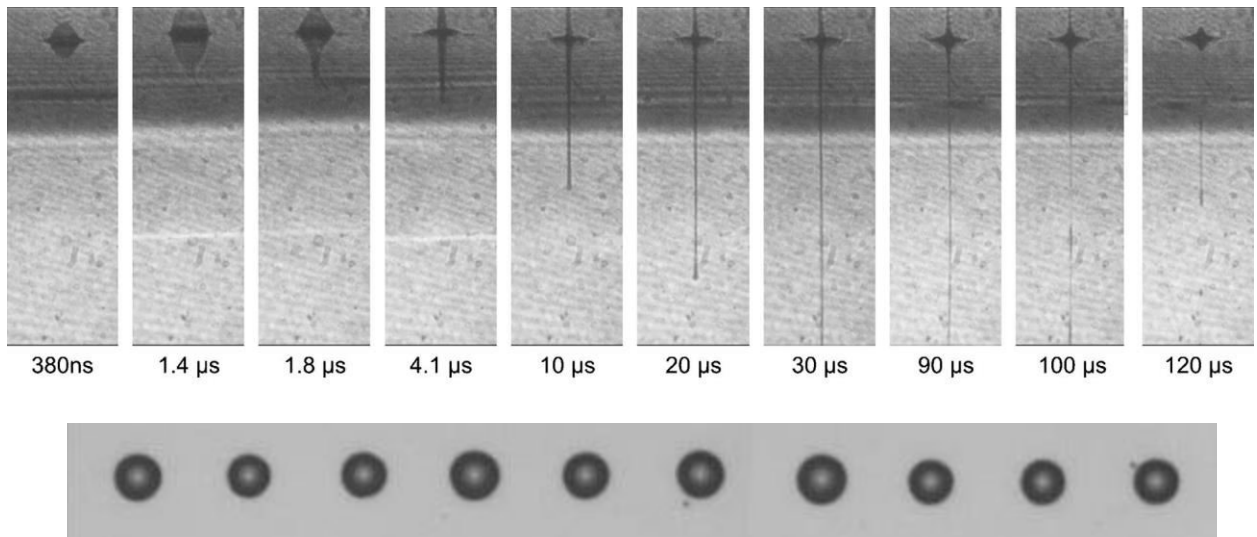
Στην εργασία των Duocastella et al. [Duocastella et al. 2009][11] για την εναπόθεση ενός πρότυπου διαλύματος γλυκερόλης (50% γλυκερόλη / 50% H₂O), οι τρεις αυτές περιοχές έχουν μελετηθεί και συσχετίζεται με τα αποτελέσματα των εναποθέσεων [Εικόνα 3.13]. Η πρώτη περιοχή (sub-threshold regime) εντοπίζεται για χαμηλή πυκνότητα ενέργειας laser, όπου η θέρμανση του DRL τιτανίου οδηγεί στη δημιουργία ενός θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια τιτάνιο-υγρό. Η εκτόνωση του θύλακα πίεσης, οδηγεί στον σχηματισμό ενός jet το οποίο όμως δεν υπερνικά τις δυνάμεις συνοχής του υγρού και καταρρέει πίσω στην επιφάνεια του υγρού στα πρώτα 100 μs [Εικόνα 3.13α]. Η δεύτερη περιοχή εντοπίζεται για ενδιάμεσες πυκνότητες ενέργειας laser (jet regime). Στην περιοχή αυτή η πίεση στον θύλακα που σχηματίζεται στην διεπιφάνεια DRL – υγρού ξεπερνά την επιφανειακή τάση και τις δυνάμεις συνοχής και προκαλεί την κατάρρευση του υγρού με τη μορφή ενός κατευθυντικού jet. Σαν αποτέλεσμα, ομοιόμορφες σταγόνες σχηματίζονται στο υπόστρωμα δέκτη [Εικόνα 3.13β]. Η ταχύτητα εκτόξευσης για την περιοχή αυτή κυμαίνεται από 25 m/s έως και 150 m/s. Οι δύο αυτές περιοχές εναπόθεσης μπορούν να συσχετιστούν με τους μηχανισμούς εκτόνωσης ενός θύλακα πίεσης στα όρια μιας διεπιφάνειας νερού-αέρα [Pearson et al. 2004][10]. Η τρίτη περιοχή εναπόθεσης (plume regime)

λαμβάνει χώρα για υψηλές πυκνότητες ενέργειας και οδηγεί στην εναπόθεση ανομοιομορφων σταγόνων που συνοδεύονται από περιφερειακά σταγονίδια [Εικόνα 3.13γ]. Τα αποτελέσματα αυτά της εναπόθεσης οφείλονται στη βίαιη και μη κατευθυντική εκτόνωση του θύλακα πίεσης. Η ταχύτητα εκτόξευσης για την περιοχή αυτή ξεπερνά τα 200 m/s.

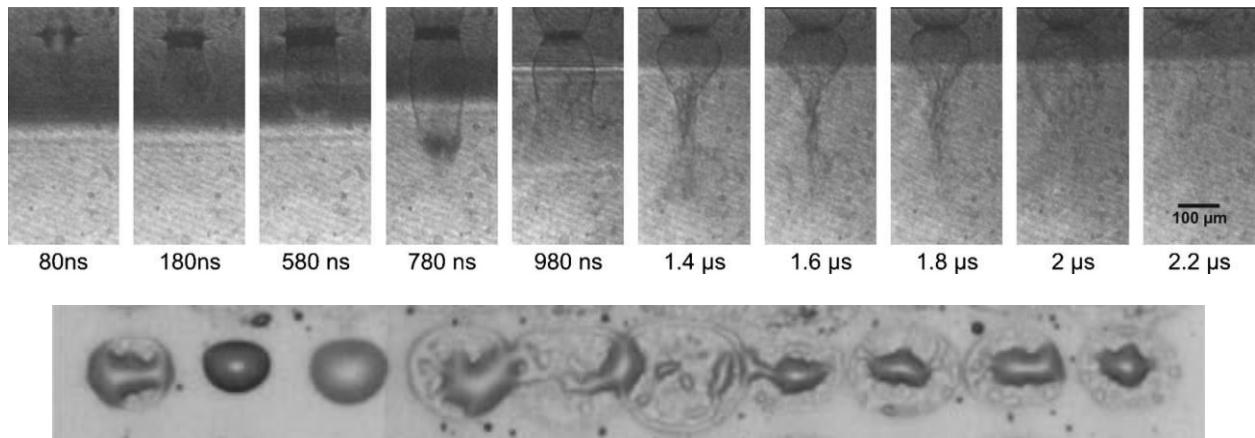
α)



β)

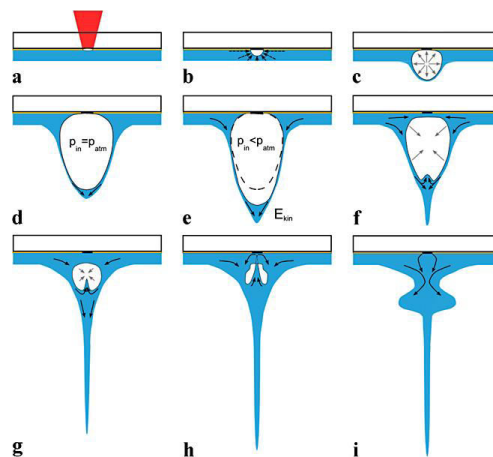


γ)



Εικόνα 3.13: Απεικόνιση της διαδικασίας LIFT υγρής φάσης για διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας laser α) 1 J/cm^2 (sub-threshold regime) β) 2.4 J/cm^2 (jet regime) γ) 10 J/cm^2 (plume regime) [Duocastella et al. 2009][11].

Για να δημιουργηθεί το jet του υγρού θα πρέπει η ενέργεια του παλμού να είναι πάνω από ένα κατώφλι ενέργειας. Από την ενέργεια αυτή και πάνω πληρούνται οι προϋποθέσεις ώστε να γίνει εξάχνωση του δότη, στην περίπτωσή μας, του τιτανίου. Με την πρόσπτωση των φωτονίων πάνω στο υπόστρωμα, το τιτάνιο απορροφάει την ακτινοβολία και εξαχνώνεται τοπικά. Επίσης εξαχνώνεται και ένα μικρό κομμάτι του μεταφερόμενου υλικού, όπως είδαμε παραπάνω.[εικ.3.14a]



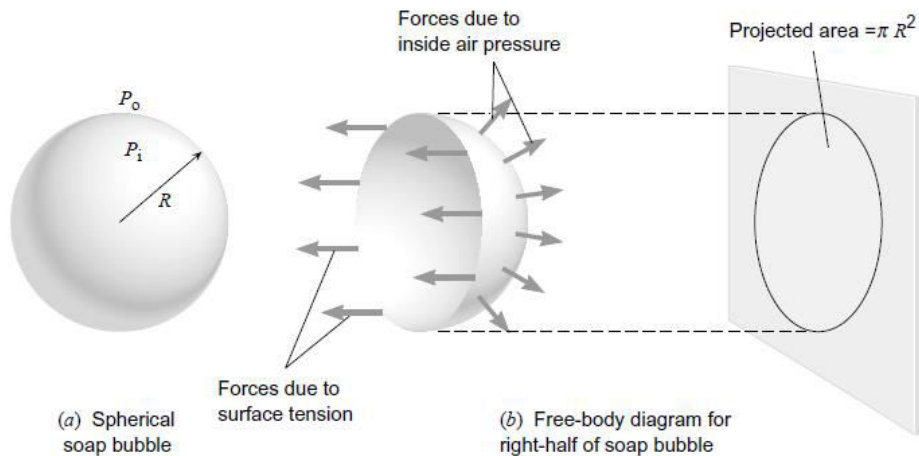
Εικ.3.14: Σχηματική απεικόνιση των δυνάμεων που αναπτύσσονται κατά την διαδικασία του LIFT[8]

Στη συνέχεια δημιουργείται μια φυσαλίδα η οποία έχει πολύ υψηλή πίεση ατμών και η οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες θα εκτονωνόταν σφαιρικά. Δεν μπορεί όμως να εκτονωθεί προς την πλευρά του υποστρώματος δότη αφού μπλοκάρεται εντελώς προς αυτήν την κατεύθυνση. Αντίθετα προς την πλευρά που βρίσκεται ο αποδέκτης, η επιφανειακή τάση του υγρού που τείνει να μειώσει την επιφάνεια της φυσαλίδας και το βάρος του υπερκείμενου υγρού δεν αρκούν ώστε να αποτρέψουν τη διόγκωση της φυσαλίδας. Οι δυνάμεις αυτές δείχνονται με βέλη [εικ.3.14b]. Η συνισταμένη των δυνάμεων αυτών, δηλαδή από τη μία μεριά η υψηλή πίεση ατμών που τείνει να διογκώσει τη φυσαλίδα και από την άλλη οι μικρότερης εντάσεως δυνάμεις οι οποίες αντιτίθενται σε αυτήν τη διόγκωση, οδηγούν σε μια διαρκώς διογκούμενη φυσαλίδα ατμού.[εικ.3.14c].

Λόγω των δυνάμεων συνοχής μεταξύ φιλμ τιτανίου και διαλύματος, η φυσαλίδα προσωρινά μόνο έχει γωνία επαφής μικρότερη των 90° [εικ.3.14b]. Με την πάροδο του χρόνου η γωνία επαφής συνεχώς αυξάνεται μέχρι η φυσαλίδα να αποκολληθεί από το γυάλινο πλακίδιο.[εικ.3.14c-g]. Η υψηλή ταχύτητα του διαστελλόμενου ατμού αρχικά οδηγεί σε μια διαστολή της φυσαλίδας, πριν η κινητική ενέργεια του ατμού μετατραπεί σε ροή εντός του διαλύματος. Η ροή αυτή συγκεντρώνει υγρό στην κορυφή της φυσαλίδας καθιστώντας το σημείο αυτό ένα σημείο υψηλής πίεσης που όπως θα δούμε αργότερα παίζει κύριο ρόλο στην κατάρρευση της φυσαλίδας. Καθώς η φυσαλίδα διαστέλλεται οι ατμοί ψύχονται και η πίεση μέσα σε αυτή μειώνεται. Όταν η πίεση εντός της φυσαλίδας ατμού γίνει ίση με την ατμοσφαιρική πίεση[εικ.3.14d], παρόλο που θα αναμέναμε η διαστολή να σταματήσει λόγω ισορροπίας δυνάμεων, η τελευταία συνεχίζεται λόγω της αδράνειας του κινούμενου προς τα εμπρός υλικού που υπάρχει στην κορυφή της φυσαλίδας[εικ.3.14e].[8]

Στην πραγματικότητα η εσωτερική πίεση της φυσαλίδας όταν είμαστε σε κατάσταση ισορροπίας, δε γίνεται ακριβώς ίση με την ατμοσφαιρική πίεση, αλλά είναι λίγο μεγαλύτερη αφού θα πρέπει να υπερκεράσει την επιφανειακή τάση του υγρού που τείνει να μειώσει την επιφάνεια της φυσαλίδας. Όταν η φυσαλίδα είναι σε ηρεμία, το κάθε μισό ημισφαίριο δεν έχει επιτάχυνση και βρίσκεται σε κατάσταση ισορροπίας. Σύμφωνα με τον δεύτερο νόμο του Νεύτωνα μηδενική επιτάχυνση συνεπάγεται ότι η συνισταμένη των δυνάμεων που εξασκούνται θα πρέπει να είναι μηδέν($\Sigma F=0$). Θα χρησιμοποιηθεί τώρα η σχέση ισορροπίας ώστε να εξαχθεί μια σχέση μεταξύ της εσωτερικής πίεσης, της ακτίνας της φυσαλίδας και της επιφανειακής

τάσης. Η σχέση που συνδέει την εσωτερική και την εξωτερική πίεση σε κατάσταση ισορροπίας είναι $P_i - P_{atm} = 4\gamma/R$, με R την ακτίνα της φυσαλίδας και γ την επιφανειακή τάση του υγρού. Ο υπολογισμός αυτής της σχέσης είναι απλός. Μια φυσαλίδα έχει δυο σφαιρικές επιφάνειες (την εξωτερική και την εσωτερική) και ενδιάμεσα ένα λεπτό στρώμα υγρού. Για λόγους απλότητας θα θεωρήσουμε την $P_{atm} = 0$ και το στρώμα που περιβάλλει τη φυσαλίδα πολύ λεπτό. Τώρα ας φανταστούμε ότι η φυσαλίδα είναι κομμένη στη μέση σε δύο ίσα μέρη όπως φαίνεται στην παρακάτω εικόνα.



Εικ.3.15

Στην εικόνα [3.15b] φαίνεται το δεξί μέρος της φυσαλίδας και οι δύο δυνάμεις που εξασκούνται σε αυτό το μέρος. Πρώτον έχουμε την δύναμη λόγω επιφανειακής τάσης. Αυτή η δύναμη ασκείται στο δεξί μέρος της φυσαλίδας από το αριστερό κομμάτι. Το διάνυσμα της επιφανειακής τάσης δρα προς τα αριστερά και ασκείται σε όλη την κυκλική άκρη του ημισφαιρίου. Το μέτρο της δύναμης σε κάθε μια από τις δύο επιφάνειες δίνεται από την επιφανειακή τάση γ επί την περιφέρεια του κύκλου ($2\pi R$), δηλαδή $\gamma(2\pi R)$. Η συνολική δύναμη είναι η διπλάσια από αυτή $-2\gamma(2\pi R)$ εξαιτίας της εσωτερικής και της εξωτερικής επιφάνειας του φιλμ υγρού. Το αρνητικό πρόσημο έχει μπει για να δείξει ότι το διάνυσμα της δύναμης δείχνει προς τα αριστερά στο σχήμα. Επίσης όπως αναφέρθηκε και πριν, θεωρήσαμε το φιλμ πολύ λεπτό έτσι ώστε η εσωτερική και η εξωτερική ακτίνα να είναι περίπου ίδια. Σε κάθε σημείο της επιφάνειας της φυσαλίδας η δύναμη λόγω της εσωτερικής πίεσης ατμών είναι κάθετη στην επιφάνεια όπως φαίνεται στην εικόνα [3.15b]. Όταν η δύναμη που ασκείται σε κάθε σημείο της επιφάνειας προστεθεί ώστε να βρεθεί η συνολική δύναμη λόγω της εσωτερικής πίεσης ατμών,

παρατηρείται ότι όλες οι συνισταμένες αλληλοαναιρούνται, εκτός από αυτές που δείχνουν προς τα δεξιά. Η συνολική δύναμη όλων των συνισταμένων που έχουν κατεύθυνση προς τα δεξιά είναι ίση με το γινόμενο της εσωτερικής πίεσης P_i επί την κυκλική ενεργό διατομή του ημισφαιρίου, δηλαδή $P_i(\pi R^2)$. Χρησιμοποιώντας αυτές τις εκφράσεις για τις δυνάμεις, λόγω της επιφανειακής τάσης και της εσωτερικής πίεσης ατμών, μπορούμε να γράψουμε τον δεύτερο νόμο του Νεύτωνα ως εξής:

$$\Sigma F=0$$

$$-2\gamma(2\pi R)+ P_i(\pi R^2)=0$$

Λύνοντας αυτήν την εξίσωση ως προς P_i βρίσκουμε $P_i=4\gamma/R$. Βάζοντας μέσα και την ατμοσφαιρική πίεση προκύπτει η τελική μορφή της σχέσης που συνδέει τις πιέσεις μέσα και έξω από τη φυσαλίδα με την ακτίνα και την επιφανειακή τάση:

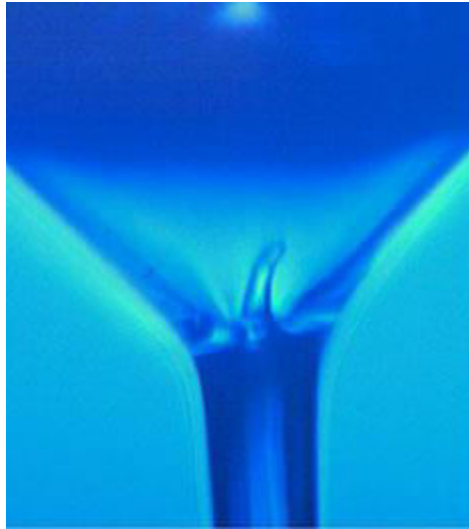
$$P_i-P_{atm}=4\gamma/R$$

Το αποτέλεσμα δείχνει ότι η διαφορά στην πίεση εξαρτάται από την επιφανειακή τάση και την ακτίνα της φυσαλίδας. Προφανώς το παραπάνω αποτέλεσμα είναι μια προσέγγιση στην περίπτωση της φυσαλίδας που σχηματίζεται κατά την διαδικασία της άμεσης εκτύπωσης με laser. Και αυτό γιατί σε αυτή την περίπτωση δεν είναι απολύτως σφαιρική. Πάντως σίγουρα είναι μια πάρα πολύ καλή προσέγγιση και δίνει μια αίσθηση για το τι ισχύει στην κατάσταση ισορροπίας όσο αφορά τις πιέσεις και την επιφανειακή τάση. [12]

Αμέσως μετά ακολουθεί κατάρρευση της φυσαλίδας η οποία συμβαίνει σύμφωνα με το φαινόμενο που ονομάζεται σπηλαίωση. Η αδράνεια, οι επιφανειακές τάσεις και η κατάρρευση της φυσαλίδας οδηγούν στον σχηματισμό του jet υγρού. Το πλευρικό υλικό που υπάρχει γύρω από τη φυσαλίδα και το οποίο κινείται με μικρότερη ταχύτητα σε σχέση με αυτό που υπάρχει στην κορυφή της, καταρρέει και αυτό μαζί με την φυσαλίδα ατμού. Έτσι τελικά δημιουργείται η σταγόνα που αποκολλάται από το υπόλοιπο υγρό το οποίο καταρρέει προς τη μεριά του δότη.

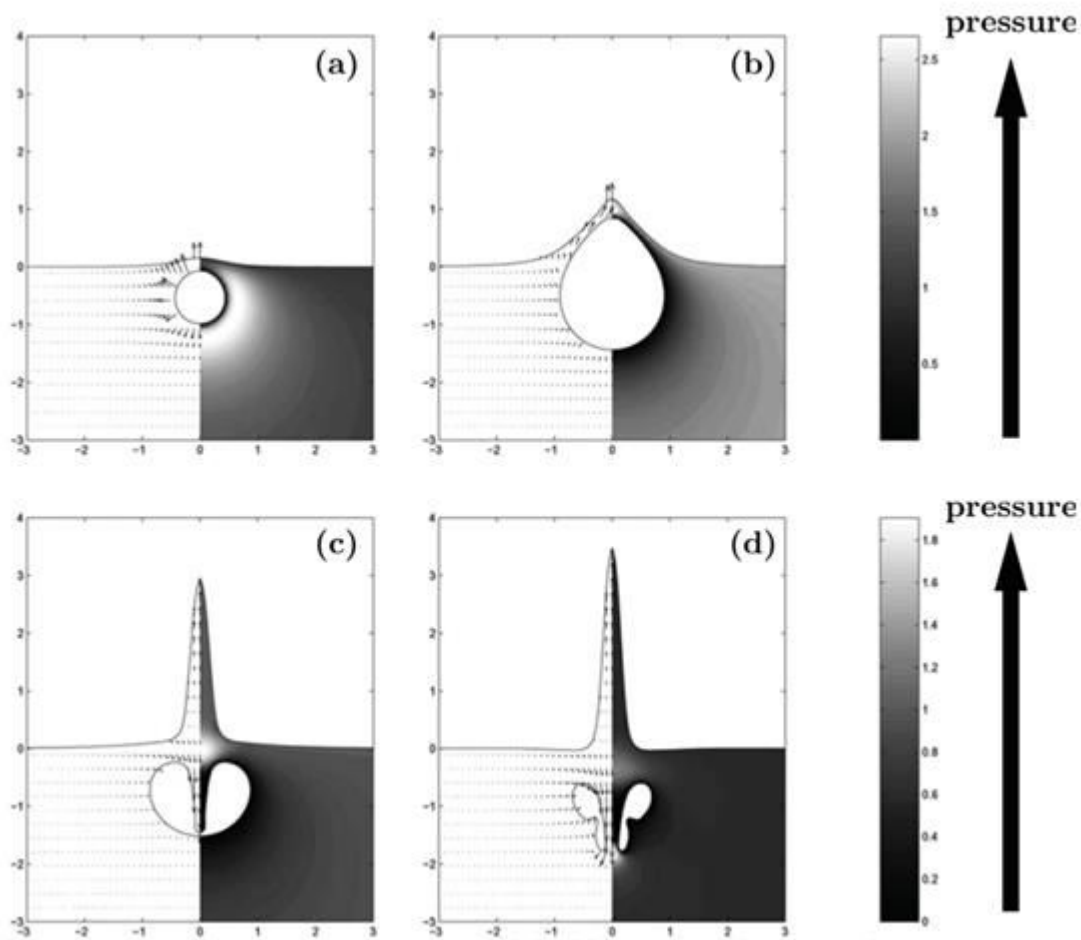
3.3 Κατάρρευση της Φυσαλίδας

Η κατάρρευση της φυσαλίδας ατμού στη διαδικασία της απευθείας εκτύπωσης υγρών με την χρήση laser φωτογραφήθηκε για πρώτη φορά το 2011 από τους Matthew S. Brown, Nicholas T. Kattamis και Craig B. Arnold [εικ.3.16][13].



Εικ.3.16: Απεικόνιση του δημιουργίας εσωτερικού jet κατά την διαδικασία κατάρρευσης της φυσαλίδας, σύμφωνα με την τεχνική εκτύπωσης με laser (LIFT) [13].

Έχουν γίνει προσομοιώσεις από τους [Pearson *et al.* 2004][10] όσο αφορά την κατάρρευση της φυσαλίδας και τη χρονική εξέλιξη της σπηλαιώσης σε φυσαλίδες οι οποίες αναπτύσσονται πολύ κοντά στην ελεύθερη επιφάνεια του υγρού. Αυτές οι συνθήκες είναι ίδιες με αυτές που επικρατούν και στα πειράματα άμεσης εκτύπωσης που πραγματοποιούμε, με τη μόνη διαφορά ότι στη δική μας περίπτωση η φυσαλίδα υποστηρίζεται από τη μια μεριά λόγω της παρουσίας του υποστρώματος δότη. Παρόλα αυτά, αυτές οι προσομοιώσεις της σπηλαιώσης μπορούν να φανούν χρήσιμες ώστε να γίνει κατανοητή η δυναμική της διαδικασίας του LIFT.

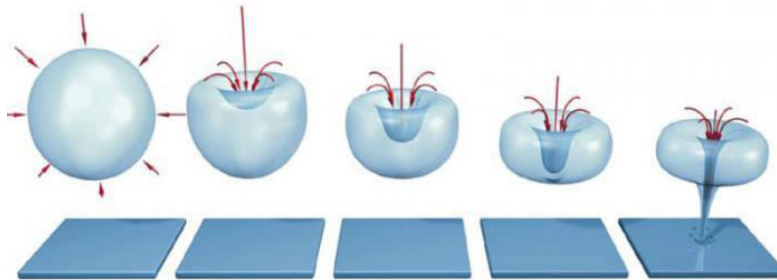


Εικόνα 3.17: Χρονική απεικόνιση δημιουργίας και κατάρρευσης φυσαλίδας κοντά σε επιφάνεια υγρού και υπολογισμός διανυσματικών ταχυτήτων (βέλη) και πιέσεων για τις διάφορες χρονικές φάσεις.[10]

Παρατηρείται στην **εικόνα 3.17a** ότι η πίεση στην κορυφή και στο κάτω μέρος της φυσαλίδας είναι διαφορετική. Αυτό φαίνεται στο δεξί μέρος της εικόνας όπου έχουμε τον χάρτη των πιέσεων. Η περιοχή κάτω από τη φυσαλίδα έχει μεγαλύτερη πίεση (άσπρο) από ό,τι αυτή στο πάνω μέρος της (μαύρο). Αυτή η βαθμίδα πίεσης έχει σαν αποτέλεσμα η φυσαλίδα να επιμηκύνεται[**εικόνα 3.17b**] καθώς επίσης και να υπάρχει ροή υγρού από το κάτω προς το πάνω μέρος της. Έτσι κάποια στιγμή η πάνω περιοχή της φυσαλίδας γίνεται περιοχή υψηλής πίεσης όπως φαίνεται στην **εικόνα 3.17b** (άσπρο χρώμα). Αυτή είναι μια τυπική κατάσταση

όπου θα δημιουργηθεί τώρα ένα δευτερογενές jet αντίθετο σε κατεύθυνση από το πρωτογενές. Αυτό διακρίνεται πολύ καθαρά στις **εικόνες 3.17c,d** .

Έτσι, στο σημείο αυτό, όπου η στατική πίεση τείνει να αυξηθεί πάνω από την πίεση ατμοποίησης θα πρέπει να επανυγροποιηθεί η μάζα του ατμού. Η μετάβαση από τη φάση του ατμού στην υγρή φάση δε γίνεται στιγμιαία, και γι' αυτό παρατηρείται μια μεταβατική περιοχή στην οποία συνυπάρχουν και οι δυο φάσεις. Η φυσαλίδα καταρρέει. Η διαδικασία δεν είναι έκρηξη προς τα έξω αλλά μια κατάρρευση-έκρηξη προς το εσωτερικό της.[**εικ.3.18**]. Λόγω της μεγάλης διαφοράς στην πυκνότητα μεταξύ της υγρής φάσης $\rho(\text{Υγρού})$ και της φάσης ατμού $\rho(\text{ατμού})$, (για το νερό σε θερμοκρασία μικρότερη των 100°C είναι $\rho\text{Υ}/\rho\alpha > 900$), το φαινόμενο της επανυγροποίησης συνοδεύεται τοπικά από σημαντική αύξηση της στατικής πίεσης κρουστικής μορφής. Η αύξηση της κρουστικής μορφής στατικής πίεσης εξηγείται ποιοτικά από το ότι κατά την επανυγροποίηση μιας φυσαλίδας ατμού, ο όγκος υγρού που αντιστοιχεί στην μάζα του ατμού είναι πολύ μικρός. Άρα με την επανυγροποίηση της φυσαλίδας σχηματίζεται ένα κενό που τείνει να καταληφθεί με ορμή από το περιβάλλον υγρό το οποίο επιταχύνεται γρήγορα υπό τη μορφή υγρού micro-jet για να γεμίσει το κενό που δημιουργήθηκε. Τότε, το micro-jet διαρρηγνύει τη φυσαλίδα με δύναμη. [**εικ.3.18**] Αυτό το δευτερογενές jet το οποίο κινείται αντίθετα από το κυρίως jet κάποια στιγμή συγκρούεται με το υπόστρωμα του δότη και αναπηδά πάνω σε αυτό προκαλώντας τη διόγκωση του υγρού στην περιοχή του δότη[**εικ.3.14i**]



Εικ 3.18: Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας δημιουργίας jet υγρού ως αποτέλεσμα της κατάρρευσης φυσαλίδας αερίων. [14]

Το φαινόμενο της κατάρρευσης φυσαλίδας για πρώτη φορά παρατηρήθηκε από τον Reynolds το 1894. Το 1917 ο Rayleigh μελέτησε την ανάπτυξη και κατάρρευση μιας σφαιρικής φυσαλίδας μέσα σε άπειρης έκτασης υγρό και έδειξε ότι αναπτύσσονται τρομερά μεγάλες πιέσεις στον κύκλο ζωής της. Η αναλυτική λύση στην περίπτωση φυσαλίδας που δεν είναι πλήρως σφαιρική και δεν υπάρχει κάποια συμμετρία είναι αδύνατη και ο μόνος τρόπος λύσης του προβλήματος είναι μέσω προσεγγίσεων κάτι που καθιστά το πρόβλημα αυτό εξαιρετικά δύσκολο και πέρα από τα όρια της πτυχιακής αυτής εργασίας.

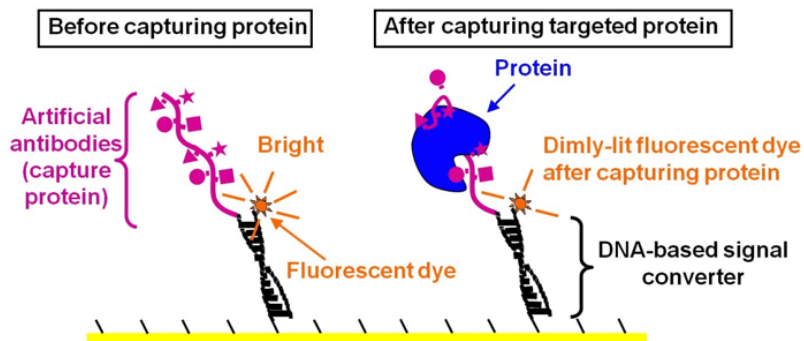
-
- [1] Mézel, C., Souquet, a, Hallo, L., & Guillemot, F. (2010). Bioprinting by laser-induced forward transfer for tissue engineering applications: jet formation modeling. *Biofabrication*, 2(1), 014103. doi:10.1088/1758-5082/2/1/014103
- [2] Theodorakos, I., Raptis, Y. S., Vamvakas, V., Tsoukalas, D., & Zergioti, I. (2014). Laser annealing and simulation of amorphous silicon thin films for solar cell applications. *SPIE Photonics West 2014-LASE: Lasers and Sources*, 8967, 89670T. doi:10.1117/12.2038557
- [3] Maglic, K. D., & Pavicic, D. Z. (2001). Thermal and Electrical Properties of Titanium between 300 and 1900 K. *International Journal of Thermophysics*, 22(6), 1833–1841. Retrieved from <http://www.springerlink.com/index/N31645U635418636.pdf>
- [4] Shugaev, M. V., & Bulgakova, N. M. (2010). Thermodynamic and stress analysis of laser-induced forward transfer of metals. *Applied Physics A*, 101(1), 103–109. doi:10.1007/s00339-010-5767-0
- [5] Willis, D., & Grosu, V. (2007). The effect of melting-induced volumetric expansion on initiation of laser-induced forward transfer. *Applied Surface Science*, 253(10), 4759–4763. doi:10.1016/j.apsusc.2006.10.046
- [6] Mzel, C., Hallo, L., Souquet, a., Breil, J., Hbert, D., & Guillemot, F. (2009). Self-consistent modeling of jet formation process in the nanosecond laser pulse regime. *Physics of Plasmas*, 16, 1–12. doi:10.1063/1.3276101
- [7] Prosperetti, A. (1982). A generalization of the Rayleigh–Plesset equation of bubble dynamics. *Physics of Fluids*, 25(1982), 409. doi:10.1063/1.863775
- [8] Unger, C., Gruene, M., Koch, L., Koch, J., & Chichkov, B. N. (2011). Time-resolved imaging of hydrogel printing via laser-induced forward transfer. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 103, 271–277. doi:10.1007/s00339-010-6030-4
- [9] Young, D., Auyeung, R., Pique, a, Chrissey, D., & Dlott, D. (2002). Plume and jetting regimes in a laser based forward transfer process as observed by time-resolved optical microscopy. *Applied Surface Science*, 197-198, 181–187. doi:10.1016/S0169-4332(02)00322-7
- [10] Pearson, A., Cox, E., Blake, J. R., & Otto, S. R. (2004). Bubble interactions near a free surface. *Engineering Analysis with Boundary Elements*, 28(4), 295–313. doi:10.1016/S0955-7997(03)00079-1
- [11] Duocastella, M., Fernández-Pradas, J. M., Morenza, J. L., & Serra, P. (2009). Time-resolved imaging of the laser forward transfer of liquids. *Journal of Applied Physics*, 106(2009), 084907. doi:10.1063/1.3248304
- [12] Sajdera, N. (2002). Surface tension. *Metal Finishing*, 100, 599–600. doi:10.1016/S0026-0576(02)82062-1
- [13] Brown, M. S., Kattamis, N. T., & Arnold, C. B. (2011). Time-resolved dynamics of laser-induced micro-jets from thin liquid films. *Microfluidics and Nanofluidics*, 11(2), 199–207. doi:10.1007/s10404-011-0787-4
- [14] <http://aetherforce.com/the-alchemy-of-cold-fusion-revealed/>

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1 Απταμερή: Τα βιομόρια ανιχνευτές

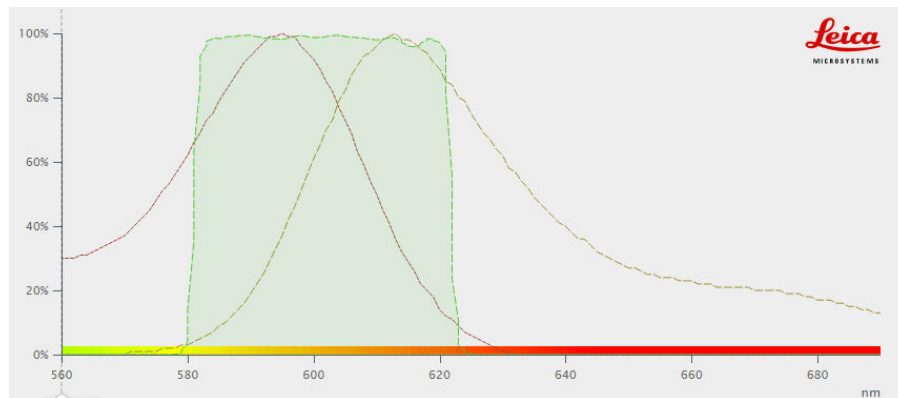
Τα απταμερή (aptamers) είναι ακολουθίες ολιγονουκλεοτιδίων ή πεπτιδίων που μπορούν να δεσμεύσουν, αναγνωρίσουν και συλλάβουν συγκεκριμένους στόχους, συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών και πεπτιδίων με υψηλή συγγένεια και εξειδίκευση. Αυτά τα μόρια μπορούν να αποκτήσουν μια ποικιλία σχημάτων λόγω της τάσης τους να σχηματίζουν έλικες και μονής έλικας βρόχους, εξηγώντας την ευελιξία τους στην δέσμευση με ποικίλους στόχους.

Απταμερή νουκλεϊνικού οξέος είναι μια ακολουθία νουκλεϊκών οξέων που έχουν επιλεγεί μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων *in vitro* ή ισοδυνάμως, SELEX κύκλων (συστηματική εξέλιξη προσδεμάτων δι' εκθετικού εμπλουτισμού) ως τα απταμερή εκείνα που συνδέονται συγκεκριμένα με διάφορους μοριακούς στόχους όπως μικρά μόρια, πρωτεΐνες, νουκλεϊκά οξέα, ακόμη και κύτταρα, ιστούς και οργανισμούς. Τα απταμερή είναι χρήσιμα σε βιοτεχνολογικές και θεραπευτικές εφαρμογές, δεδομένου ότι προσφέρουν τις ιδιότητες μοριακής αναγνώρισης. Εκτός από την αναγνώριση τους, τα απταμερή προσφέρουν πλεονεκτήματα έναντι των αντισωμάτων, δεδομένου ότι μπορούν να αναπτυχθούν εξ' ολοκλήρου σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα, παράγονται εύκολα με χημική σύνθεση, κατέχουν τις επιθυμητές ιδιότητες αποθήκευσης και προκαλούν μικρή ή καθόλου ανοσογονικότητα σε θεραπευτικές εφαρμογές.

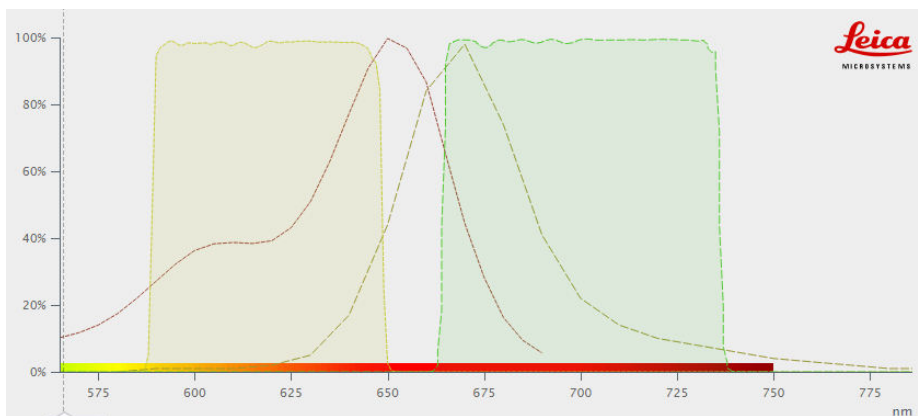


Εικόνα 4.1 Σχηματική αναπαράσταση της πρόσδεσης της πρωτεΐνης από απταμερές

Τα aptamers που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία έχουν την ακολουθία 5'-GTTGGGCACGTGTTGTCTCTCTGTGTCTCGTGCCCTTCGCTAGGCCACA-3' και στοχεύουν στην ανίχνευση της τοξίνης Ochratoxin A (OTA). Η συγκεκριμένη τοξίνη ανήκει στην οικογένεια των μυκοτοξινών και είναι μια από τις πιο διαδεδομένες τοξίνες που υπάρχουν στα φαγητά. Η ωχρατοξίνη-A δύναται να παραχθεί από έναν αριθμό μυκήτων, όπως τα είδη του γένους *Aspergillus* και *Penicillium*, σε ένα εύρος καλλιέργειών. Οι μύκητες αυτοί συναντώνται σε αποθήκες σιτηρών και υπάρχει πιθανότητα να συσσωρευτούν σε καρπούς από προηγούμενες σοδειές και σκόνη η οποία παραμένει και συσσωρεύεται σε μηχανήματα και τοίχους. Κατά την συγκομιδή, την μεταφορά, την είσοδο και την παραμονή του στις αποθήκες η νέα σοδειά μπορεί να μολυνθεί από αυτό τον μύκητα. Επίσης η συγκεκριμένη τοξίνη απαντάται σε τρόφιμα όπως είναι το γάλα και το λάδι. Μετά από έρευνες απεδείχθη η καρκινογόνος δράση της. Η ευρωπαϊκή επιτροπή ασφαλείας τροφίμων (EFSA) εκτίμησε την επικινδυνότητα της και όρισε ως μέγιστο εβδομαδιαίο ανεκτό ποσό πρόσληψης στα 120 mg/ kg σωματικού βάρους. Η OTA επιδεικνύει φυσικό φθορισμό με κορυφή εκπομπής στα (420-470) nm και κορυφή απορρόφησης στα (330-340) nm. Η ανίχνευση των παραπάνω τοξινών και το αν αυτές έχουν προσδεθεί στα απταμερή γίνεται μέσω οπτικού μικροσκοπίου. Τα απταμερή που χρησιμοποιήσαμε στην διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν επισημασμένα με δύο δείκτες φθορισμού. Ο ένας ήταν το Texas Red, ο οποίος επιλέχθηκε γιατί έχει κορυφή εκπομπής στο ορατό οπότε είναι πολύ βολικός στην χρήση του. Ο δεύτερος ήταν το Cy5 με κορυφή εκπομπής στα όρια του ορατού φάσματος και επιλέχθηκε γιατί υπήρχε η υποψία ότι το Texas Red ίσως επηρεάζει την πρόσδεση της OTA στα απταμερή. (Texas Red: φθορισμός στα 615 nm, και κορυφή του φάσματος απορρόφησης στα 589 nm και Cy5: φθορισμός στα 670 nm και κορυφή του φάσματος απορρόφησης στα 650 nm). Οι εικόνες φθορισμού που θα παρουσιαστούν καταγράφηκαν με οπτικό μικροσκόπιο Leica με χρήση των φίλτρων N3 για το Texas Red και Y5 για το Cy5. Στις εικόνες **4.2** και **4.3** βλέπουμε τις δύο κορυφές για κάθε δείκτη φθορισμού αντίστοιχα καθώς επίσης και το εύρος των μηκών κύματος της ακτινοβολίας που μπορεί να καταγράψει κάθε φίλτρο.



Εικόνα 4.2 Γραφική Παράσταση Σχετικής Έντασης Ακτινοβολίας συναρτήσει του μήκους κύματος του φίλτρου N3 του μικροσκοπίου φθορισμού.



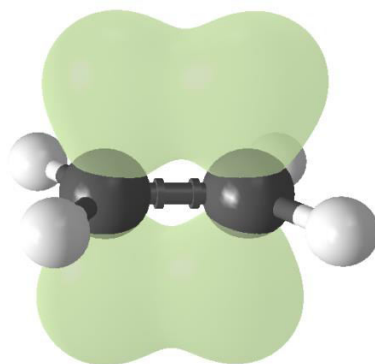
Εικόνα 4.3 Γραφική Παράσταση Σχετικής Έντασης Ακτινοβολίας συναρτήσει του μήκους κύματος του φίλτρου Y5 του μικροσκοπίου φθορισμού.

4.2 Τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια και η Thiol-Ene αντίδραση.

4.2.1 Αλκένια-Αλκίνια

Τα **αλκένια** είναι, σύμφωνα με IUPAC, ακόρεστοι αλειφατικοί (δηλαδή άκυκλοι) υδρογονάνθρακες με τουλάχιστον έναν διπλό δεσμό άνθρακα-άνθρακα (C=C). Τα αλκένια αποτελούν ιδιαίτερη χημική ομόλογη σειρά. Ο γενικός τύπος των αλκενίων είναι C_nH_{2n} ($n = 2,3, \dots$). Βάσει του τύπου αυτού, τα αλκένια είναι ισομερής θέσης με τα κυκλοαλκάνια από τα οποία, όμως, διαφέρουν πολύ στις ιδιότητες. Αυτό οφείλεται στον διαφορετικό τρόπο διάταξης του μορίου στον χώρο.

Όπως και οι απλοί ομοιοπολικοί δεσμοί, οι διπλοί δεσμοί μπορούν να περιγραφούν με όρους επικάλυψης ατομικών τροχιακών. Η διαφορά μεταξύ απλού και διπλού δεσμού είναι ότι στο πρώτο είδος έχουμε δεσμό τύπου σ και στην δεύτερη περίπτωση έναν τύπου σ και έναν τύπου π . Οι δεσμοί τύπου π προκύπτουν από την πλάγια επικάλυψη τροχιακών, με αποτέλεσμα να απαιτούν περισσότερο πλησίασμα των αρχικών ατόμων[**εικόνα 4.4**].



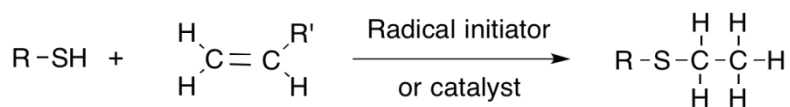
Εικόνα 4.4 Αναπαράσταση του μορίου αιθενίου. Με πράσινο χρώμα παριστάνεται ο π δεσμός.

Κάθε άτομο άνθρακα του διπλού δεσμού χρησιμοποιεί τρία (3) sp^2 υβριδικά τροχιακά για να σχηματίσει τρεις (3) σ δεσμούς με τρία (3) άτομα. Το $2p$ μη υβριδικό τροχιακό που απομένει σε κάθε άτομο άνθρακα του διπλού δεσμού χρησιμοποιείται για τη δημιουργία του π δεσμού. Αυτός ο δεσμός βρίσκεται έξω από τον κύριο C-C άξονα, με το κάθε ήμισυ του δεσμού σε κάθε πλευρά του [εικόνα 4.4]. Η περιστροφή των διπλών δεσμών εμποδίζεται από την ύπαρξη του π δεσμού, η ενέργεια διάσπασης του οποίου ανέρχεται σε 264 kJ/mol (για το αιθένιο).

Τα αλκίνια είναι ομόλογη σειρά ακόρεστων υδρογονανθράκων, που φέρουν ένα τριπλό δεσμό στο μόριό τους. Ο γενικός χημικός τύπος τους είναι C_nH_{2n-2} ($n > 1$). Όπως και οι υπόλοιποι υδρογονάνθρακες είναι γενικά υδρόφοβες ενώσεις αλλά είναι από τους πιο δραστικούς σε χημική συμπεριφορά. Διακρίνονται σε δυο κύριες υπομόλογες σειρές: τα «**εξωτερικά αλκίνια**», που έχουν το τριπλό δεσμό τους στην άκρη του μορίου τους (οπότε περιέχουν τη δομή $H-C\equiv C\dots$) και τα «**εσωτερικά αλκίνια**», που έχουν τον τριπλό δεσμό τους ενδιάμεσα στο μόριό τους (οπότε περιέχουν τη δομή $\dots C-C\equiv C-C\dots$).

4.2.2 Οι Αντιδράσεις Thiol-Ene , Thiol-yne.

Η αντίδραση Thiol-Ene είναι μια οργανική αντίδραση μεταξύ ενός μορίουθειόλης και ενός αλκενίου σχηματίζοντας ένα alkyl sulfide [εικόνα 4.5]. Αυτή η αντίδραση κατατάσσεται στην κατηγορία click-chemistry λόγω της υψηλής απόδοσης των αντιδράσεων, τον ταχύ ρυθμό και την στερεοεκλεκτικότητα.



Εικόνα 4.5 Σχηματικό διάγραμμα της αντίδρασης Thiol-Ene

Η αντίδραση οδηγεί σε μια προσθήκη αντί-Markovnikov από μια ένωση θειόλης σε ένα αλκένιο. Στην οργανική χημεία ο κανόνας του Markovnikov περιγράφει το αποτέλεσμα μερικών αντιδράσεων προσθήκης. Ο κανόνας αυτός λέει ότι το άτομο του υδρογόνου θα προσκολληθεί στον άνθρακα με τους περισσότερους δεσμούς υδρογόνου, ενώ αντίθετα το άτομο του θείου θα προσκολληθεί στον άνθρακα με τους λιγότερους δεσμούς υδρογόνου. Αυτές οι αντιδράσεις έχουν πολλές εφαρμογές στην επιστήμη των υλικών και στην βίο-ιατρική επιστήμη.

Οι αντιδράσεις προσθήκης Thiol-Ene είναι γνωστό ότι προχωρούν μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών: με προσθήκη ελευθέρων ριζών και με τις γνωστές προσθήκες Michael. Οι πρώτες μπορούν να ξεκινήσουν με φώς και θερμότητα και είναι αυτές που συμβαίνουν στα πειράματα τα δικά μας. Με τον παλμό του laser σπάμε τον δεσμό της θειόλης (S-H) και στην συνέχεια ξεκινάει η αντίδραση της πρόσδεσης των απταμερών με τα αλκένια μέσω του ατόμου του θείου. Η παραπάνω διαδικασία ονομάζεται photo activation δηλαδή ενεργοποίηση της πρόσδεσης των απταμερών στην επιφάνεια μέσω φωτός. Στην παρούσα εργασία δεν θα ασχοληθούμε με τον ακριβή μηχανισμό πρόσδεσης και πως αυτός συμβαίνει σε μοριακό επίπεδο γιατί κάτι τέτοιο ξεπερνάει τα όρια της συγκεκριμένης εργασίας.

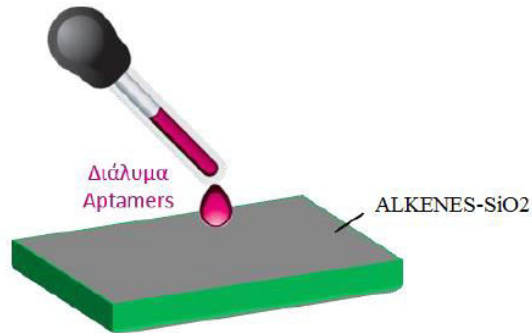
Η διαφορά της αντίδρασης Thiol-yne είναι ότι στο αλκίνιο μπορούν να προσδεθούν μέχρι και δύο απταμερή λόγω της ύπαρξης του τριπλού δεσμού άνθρακα-άνθρακα.

4.3 Μετρήσεις –Αποτελέσματα

4.3.1 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια- Με πιπέτα και photoactivation.

Η εναπόθεση των απταμερών έγινε σε τροποποιημένες επιφάνειες ALKENES. Τα aptamers που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S). Αρχικά εναποτέθηκαν διάφορες συγκεντρώσεις απταμερών στις επιφάνειες μας. Τα καλύτερα αποτελέσματα καταγράφηκαν για διάλυμα απταμερών συγκέντρωσης 5 μ M διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 8.0 . Η εναπόθεση των aptamers έγινε 24 ώρες πριν γίνει το photo activation. Τα

συγκεκριμένα απταμερή είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Texas Red. Το spot size με το οποίο έγινε το photo activation των απταμερών ήταν $44 \times 42 \mu\text{m}$. Σε αυτά τα πειράματα η ιδανική ποσότητα απταμερών που εναποτίθεται πάνω στις τροποποιημένες επιφάνειες είναι $10 \mu\text{L}$. [εικόνα 4.4]

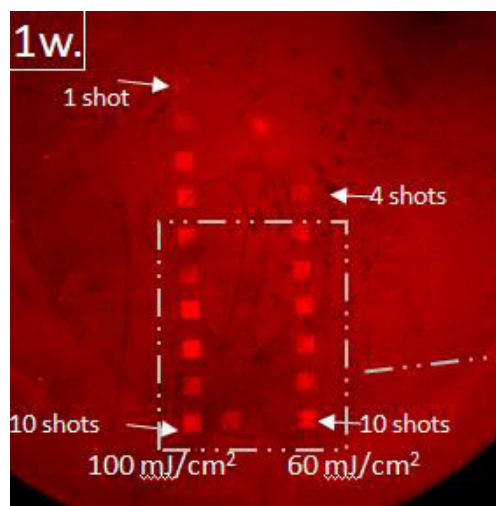


Εικόνα 4.4: Σχηματική αναπαράσταση εναπόθεσης των aptamers με πιπέτα.

Το photo activation των aptamers έγινε με δύο διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας $60 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ και $100 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ στα 266 nm (τέταρτη αρμονική). Όπως βλέπουμε και στην εικόνα 4.5 χρησιμοποιήσαμε από 1 μέχρι 10 laser pulses για να διερευνήσουμε τις κατάλληλες συνθήκες που γίνεται το photo activation. Η αριστερή στήλη είναι ο διαφορετικός αριθμός των pulses για τα $100 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ ενώ αντίθετα η δεξιά στήλη είναι αυτή με πυκνότητα ενέργειας $60 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Οι εικόνες 4.5 και 4.7 λήφθηκαν από μικροσκόπιο φθορισμού στο N3 φίλτρο και σε χρόνο έκθεσης 500 ms . Πριν γίνει η λήψη των φωτογραφιών έγινε ξέπλυμα των επιφανειών με διάλυμα TEBTS και υπερκάθαρο νερό. Παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων που πραγματοποιήσαμε για διαφορετικό αριθμό ξεπλυμάτων σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ακολουθούμε.

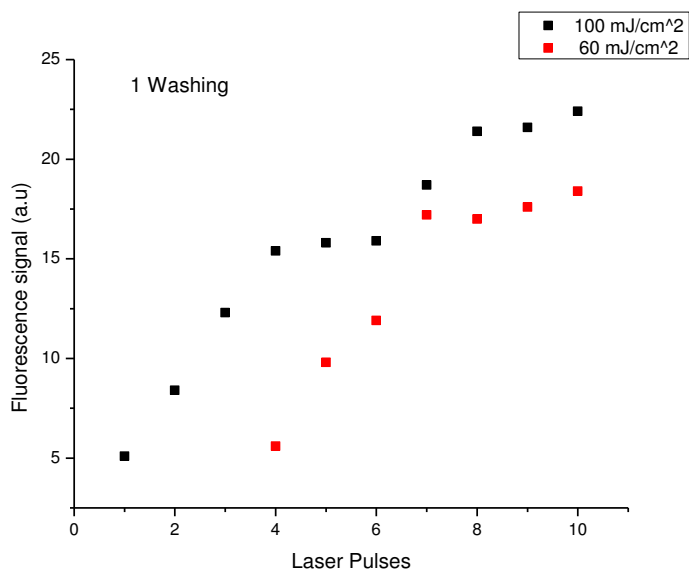
Αρχικά ακολουθήσαμε το πρωτόκολλο του ενός ξεπλύματος της επιφάνειας (3 φορές εμβάπτιση σε TETBS και ξέπλυμα με νερό) και στην συνέχεια έγινε η λήψη της εικόνας **4.5** από το μικροσκόπιο φθορισμού με το φίλτρο N3 όπως αναφέρουμε και παραπάνω.

Βλέπουμε ότι για πυκνότητα $100 \frac{mJ}{cm^2}$ έχουμε photo activation από το πρώτο laser pulse ενώ αντίθετα για $60 \frac{mJ}{cm^2}$ το πρώτο photo activation εμφανίζεται στα 4 pulses.



Εικόνα 4.5 Εικόνα από μικροσκόπιο του photo activation των Ota-Aptamers με 1 Wash

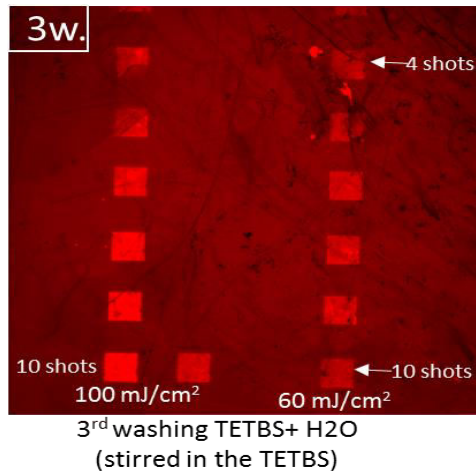
Το σήμα φθορισμού υπολογίστηκε με το πρόγραμμα Image J αφαιρώντας το mean fluorescence του background από το mean fluorescence της περιοχής που θέλουμε να μετρήσουμε. Κανονικά θα περιμέναμε όλα τα απταμερή να έχουν απομακρυνθεί από την επιφάνεια μετά το πλύσιμο εκτός από εκείνα στα οποία έχουμε κάνει photo activation. Αυτό όμως δεν συμβαίνει όπως βλέπουμε και στην **εικόνα 4.5** αφού υπάρχει και η πιθανότητα του non specific binding δηλαδή η πρόσδεση του απταμερούς στην επιφάνεια χωρίς την χρήση φωτός.



Εικόνα 4.6 Γράφημα του σήματος φθορισμού συναρτήσει των laser pulses για δυο πυκνότητες ενεργειών

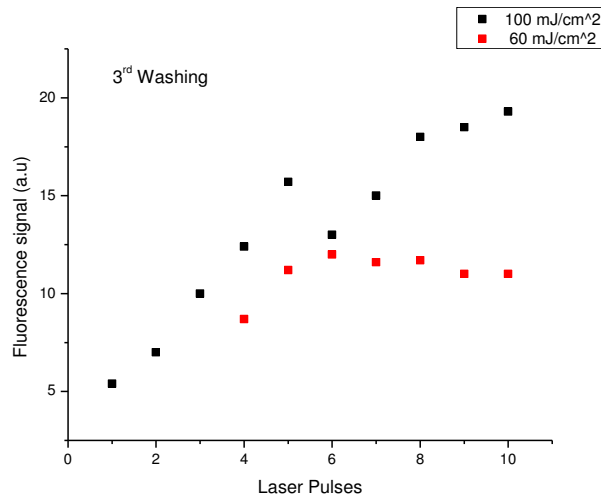
Από το παραπάνω γράφημα [εικόνα 4.6] βλέπουμε καθαρά ότι το σήμα του φθορισμού είναι μεγαλύτερο για πυκνότητα ενέργειας $100 \frac{mJ}{cm^2}$

Στην συνέχεια ακολουθήσαμε το πρωτόκολλο των 3 ξεπλυμάτων της επιφάνειας, άρα 9 φορές εμβάπτιση σε TETBS και ξέπλυμα με νερό, για να δούμε πως μεταβάλλεται το σήμα φθορισμού. Στην εικόνα 4.7 βλέπουμε το photo activation των απταμερών μας στο μικροσκόπιο φθορισμού μετά από 3 ξεπλύματα.



Εικόνα 4.7 Εικόνα από μικροσκόπιο του photo activation των Ota-Aptamers με 3 Washes

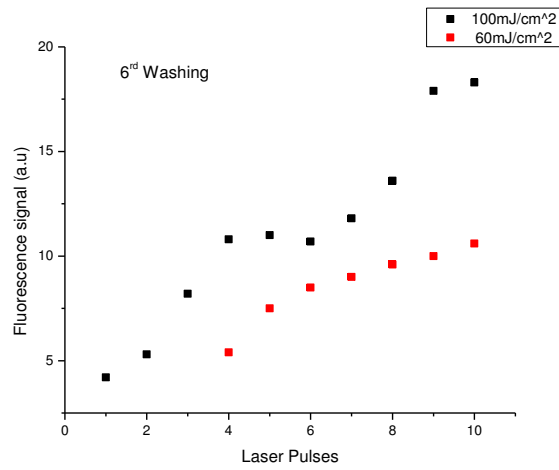
Στην εικόνα 4.8 παρουσιάζεται το γράφημα του σήματος φορισμού συναρτήσει των pulses για τα $100 \frac{mJ}{cm^2}$ και τα $60 \frac{mJ}{cm^2}$.



Εικόνα 4.8 Γράφημα του σήματος φορισμού συναρτήσει των pulses για δυο πυκνότητες ενεργειών

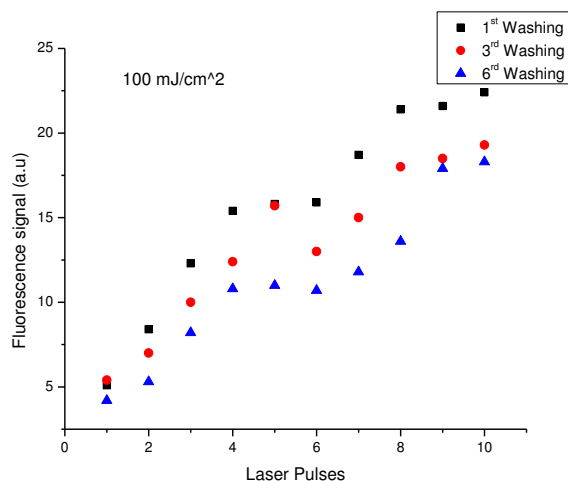
Παρατηρούμε όπως αναμέναμε το σήμα του φθορισμού να έχει μειωθεί και στις δυο πυκνότητες ενεργειών καθώς αυξήσαμε τον αριθμό των ξεπλυμάτων της επιφάνειας.

Τέλος ακολουθήσαμε το πρωτόκολλο των 6 ξεπλυμάτων της επιφάνειας για να δούμε πως μεταβάλλεται το σήμα φθορισμού. Στην εικόνα 4.10 παρουσιάζεται το γράφημα του σήματος φθορισμού συναρτήσει των pulses για τα $100 \frac{mJ}{cm^2}$ και τα $60 \frac{mJ}{cm^2}$



Εικόνα 4.10 Γράφημα του σήματος φθορισμού συναρτήσει των pulses για δυο πυκνότητες ενεργειών

Στην εικόνα 4.11 παρουσιάζεται ένα διάγραμμα σύγκρισης του σήματος φθορισμού ως προς των αριθμών των pulses για τις τρεις διαφορετικές περιπτώσεις ξεπλύματος της επιφάνειας. Η σύγκριση αυτή έγινε μόνο για πυκνότητα ενέργειας $100 \frac{mJ}{cm^2}$ όπου το σήμα είναι μεγαλύτερο.



Εικόνα 4.11 Γράφημα του σήματος φθορισμού συναρτήσει των pulses για τα $100 \frac{mJ}{cm^2}$ για τις τρεις περιπτώσεις ξεπλύματος

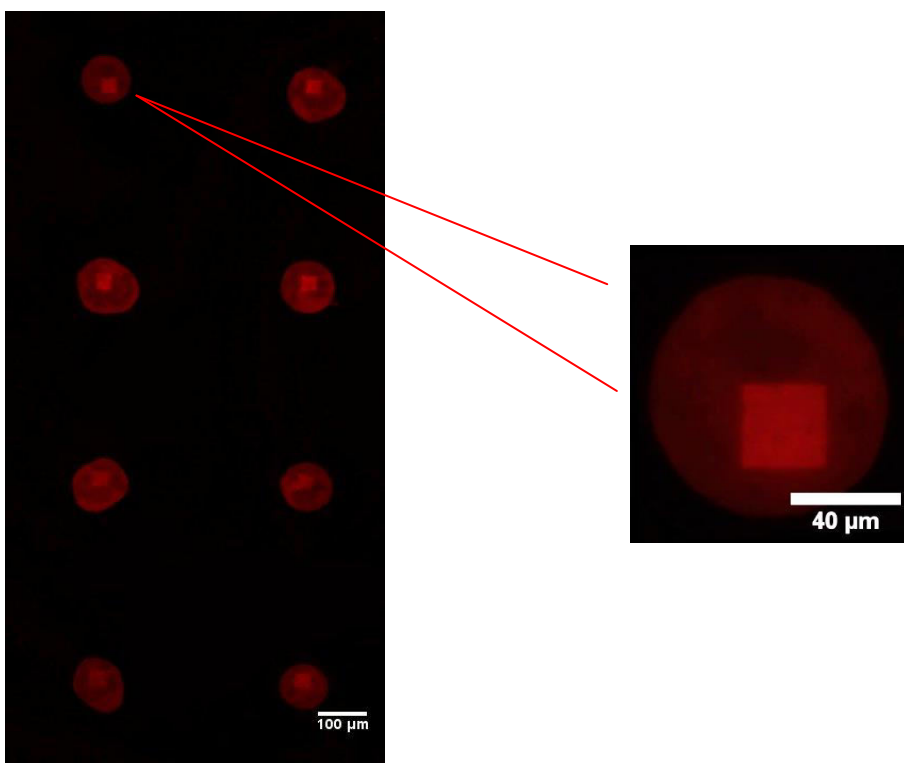
Από το γράφημα 4.11 μπορούμε να δούμε ότι όσο αυξάνεται ο αριθμός των ξεπλυμάτων της επιφάνειας, σύμφωνα με το πρωτόκολλο μας, τόσο πέφτει και το σήμα φθορισμού ακριβώς όπως το περιμέναμε αφού ο αριθμός των απταμερών μειώνεται πάνω στην επιφάνεια.

4.3.2 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκένια- Με LIFT και photoactivation.

Στο συγκεκριμένο πείραμα η εναπόθεση των απταμερών πάνω στις τροποποιημένες Si_3N_4 και SiO_2 έγινε με την τεχνική των laser LIFT. Οι επιφάνειες ήταν τροποποιημένες με ALKENES όπως και στα προηγούμενα πειράματα. Τα απταμερή ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση $5 \mu M$ διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 8.0. Τα συγκεκριμένα απταμερή είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Texas Red. Η κατάλληλη ποσότητα διαλύματος το οποίο πρέπει να εναποτεθεί πάνω στο υπόστρωμα του δότη υπολογίστηκε στο κεφάλαιο 3.2 και είναι $10 \mu L$. Το LIFT έγινε με την τέταρτη αρμονική του

Nd-Yag laser στα 266 nm με πυκνότητα ενέργειας $300 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ ανά παλμό και το spot size ήταν $(48 \times 50) \mu\text{m}$. Μετά την εναπόθεση, ακολούθησε η διαδικασία του photo activation των απταμερών η οποία έγινε και αυτή στα 266 nm με πυκνότητα ενέργειας ανά παλμό στα $100 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Ο αριθμός των laser pulses που έγινε το photo activation κυμαινόταν από 5 έως 10. Το spot size κατά την διαδικασία του photo activation κρατήθηκε σταθερό στα $(48 \times 50) \mu\text{m}$.

Μετά την διαδικασία του photo activation αφήσαμε τις επιφάνειες σύμφωνα με το πρωτόκολλο για 24 ώρες και στην συνέχεια ακολούθησε η διαδικασία του ξέπλυματος. Το ξέπλυμα των επιφανειών σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ακολουθούμε περιλαμβάνει τρεις φορές εμφύσηση της επιφάνειας σε διάλυμα TETBS και στην συνέχεια ξέπλυμα με υπερκάθαρο νερό.

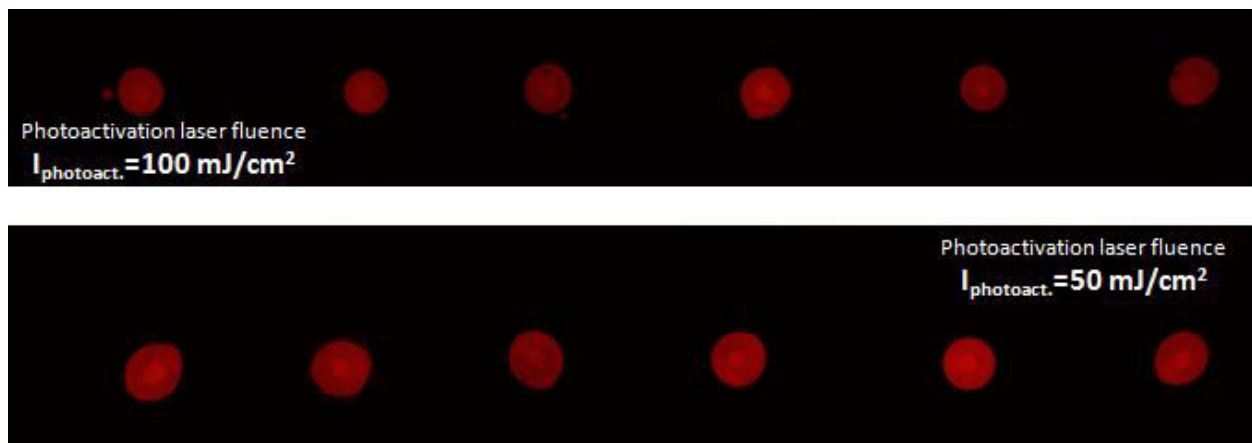


Εικόνα 4.12 Εικόνα από μικροσκόπιο του photo activation των Ota-Aptamers των οποίων η εναπόθεση έγινε με LIFT

Στην εικόνα **4.12** βλέπουμε ένα array απταμερών των οποίων η εναπόθεση έχει γίνει με την τεχνική LIFT. Η εικόνα είναι από το μικροσκόπιο φθορισμού και την έχουμε πάρει με το φίλτρο N3 σε χρόνο έκθεσης 800 ms. Μπορούμε να δούμε επίσης μέσα σε κάθε σταγόνα και το photo activation που έχουμε κάνει στα απταμερή μας και φαίνεται με το σχήμα τετραγώνου.

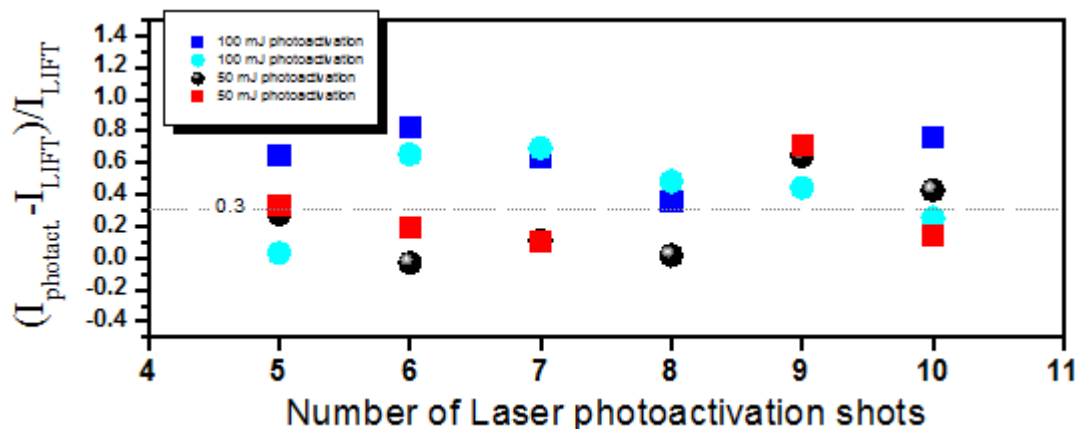
4.3.3 Βαθμονόμηση του σήματος φθορισμού σε ακινητοποιημένα απταμερή μέσω της διαδικασίας εκτύπωσης LIFT και photoactivation.

Το συγκεκριμένο πείραμα έγινε με σκοπό να δούμε την διαφορά του σήματος φθορισμού μεταξύ της περιοχής που έχουμε κάνει photo activation στα απταμερή και της περιοχής που τα απταμερή μας έχουν προσδεθεί στην επιφάνεια μόνο από την διαδικασία του LIFT. Οι επιφάνειες ήταν τροποποιημένες με ALKENES όπως και στα προηγούμενα πειράματα. Τα απταμερή ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση 5 μM διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 7.4. Το διάλυμα επίσης περιείχε 1 mM MgCl_2 . Τα συγκεκριμένα απταμερή είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Texas Red. Το LIFT έγινε με την τέταρτη αρμονική του Nd-Yag laser στα 266 nm με πυκνότητα ενέργειας $300 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ ανά παλμό.



Εικόνα 4.18 Εικόνα από το μικροσκόπιο φθορισμού του σήματος φθορισμού των απταμερών για διάφορα laser pulses και για δύο διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας.

Τα απταμερή μετά την διαδικασία του photo activation αφέθηκαν σύμφωνα με το πρωτόκολλο για 24 ώρες και μετά τα ξεπλύνουμε με TETBS και υπερκάθαρο νερό. Η εικόνα **4.18** είναι από μικροσκόπιο φθορισμού και βλέπουμε το σήμα φθορισμού των απταμερών για διάφορα laser pulses και για πυκνότητες ενέργειας $50 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ και $100 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Την εικόνα την έχουμε πάρει με το φίλτρο N3 σε χρόνο έκθεσης 500 ms. Μπορούμε να δούμε και με απλή οπτική παρατήρηση την διαφορά που υπάρχει μεταξύ του σήματος φθορισμού των περιοχών που έχουμε κάνει photo activation και αυτών που η πρόσδεση των απταμερών οφείλεται μόνο στην ενέργεια που τους έχει δοθεί από την διαδικασία του LIFT. Για να έχουμε ένα μεγαλύτερο στατιστικό δείγμα της διαφοράς του σήματος φθορισμού μεταξύ των δύο περιοχών πραγματοποιήσαμε δύο πειράματα για κάθε πυκνότητα ενέργειας και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στην εικόνα **4.19**.



Εικόνα 4.19 Διάγραμμα απόδοσης του σήματος φθορισμού μεταξύ των δύο περιοχών για τα διαφορετικά laser pulses και για δύο διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας

Μπορούμε να δούμε από το διάγραμμα **4.19** ότι η αύξηση του σήματος φθορισμού στην περιοχή που έχουμε κάνει photo activation σε σχέση με αυτήν που δεν έχει γίνει είναι περίπου στο 30%.

Επίσης βλέπουμε αυτό το ποσοστό είναι μεγαλύτερο για την πυκνότητα ενέργειας $100 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ σε σχέση με την πυκνότητα ενέργειας $50 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ όπως ήταν και το αναμενόμενο.

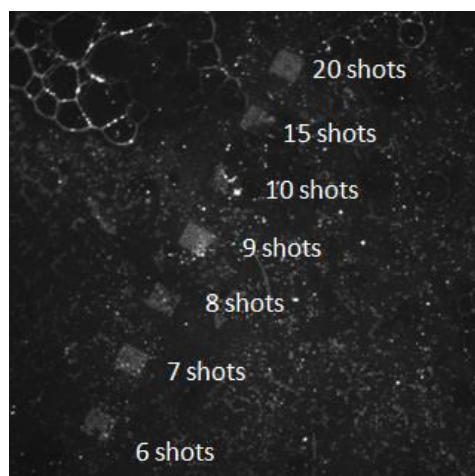
4.3.4 Ανίχνευση της μυκοτοξίνης Ochratoxin A (OTA), μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Εναπόθεση απταμερών με πιπέτα.

Ο σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος είναι να δούμε την πρόσδεση της Ochratoxin στα απταμερή όταν τους κάνουμε photo activation και η εναπόθεση τους γίνεται με πιπέτα. Οι επιφάνειες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν και σε αυτήν την περίπτωση τροποποιημένες με Alkenes. Σε αυτό το πείραμα έγινε εναπόθεση Ota-Aptamers τροποποιημένων με ελεύθερες ρίζες θειόλης (S) χωρίς κάποιον δείκτη φθορισμού. Η παραπάνω επιλογή έγινε λόγω κάποιων αποτελεσμάτων τα οποία μας είχαν δείξει ότι ο δείκτης φθορισμού ίσως επηρεάζει την πρόσδεση της ωχρατοξίνης στα απταμερή ή ακόμα ότι το σήμα φθορισμού του δείκτη ίσως επικαλύπτει το φυσικό σήμα φθορισμού της OTA. Η συγκέντρωση των απταμερών ήταν $5 \mu\text{M}$ διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 8.0 και η ποσότητα που εναποτέθηκε πάνω στην επιφάνεια ήταν $10 \mu\text{L}$.

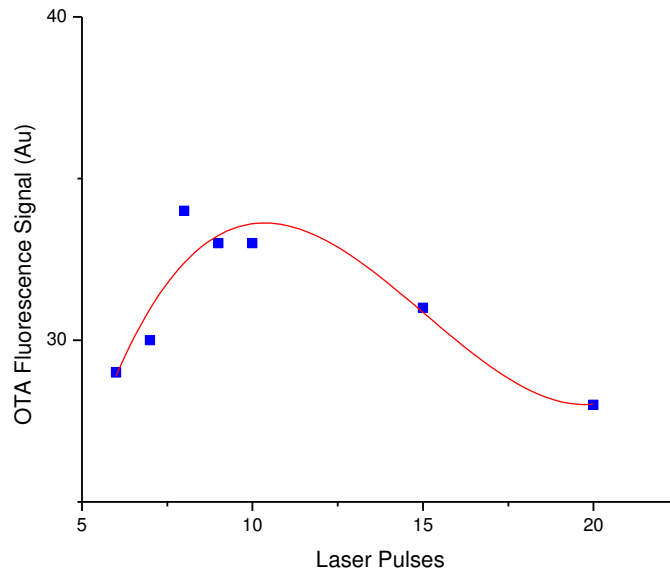
Το photo activation των απταμερών έγινε με την τρίτη αρμονική του Nd-Yag laser στα 355 nm . Ύστερα από μια σειρά πειραμάτων είδαμε ότι η κατάλληλη πυκνότητα ενέργειας για το photo activation των απταμερών στο πείραμα με τις συγκεκριμένες συνθήκες ήταν τα $200 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Όπως και στο προηγούμενο πείραμα έτσι και εδώ μεταβάλλαμε τον αριθμό των laser pulses από 6 με μέχρι 20 ώστε να δούμε την εξάρτηση της συγκέντρωσης της OTA που προσδέθηκε στα απταμερή με τον αριθμό των παλμών.

Αφού έγινε το photo activation αφήσαμε τα δείγματα όπως επιβάλει το πρωτόκολλο για 24 ώρες και μετά έγινε ξέπλυμα της επιφάνειας με διάλυμα TETBS και υπερκάθαρο νερό. Στην συνέχεια εναποθέσαμε πάνω στα απταμερή OTA σε συγκέντρωση 2.5 g/L και την αφήσαμε για μία ώρα. Τέλος έγινε ξέπλυμα της OTA με Wash Buffer και υπερκάθαρο νερό.

Στην εικόνα **4.20** βλέπουμε την πρόσδεση της ΟΤΑ στα απαμερή στα σημεία που έχει γίνει το photo activation. Η εικόνα είναι από μικροσκόπιο φθορισμού με το φίλτρο A4 και χρόνο έκθεσης 5 sec.



Εικόνα 4.20 Εικόνα από μικροσκόπιο της ΟΤΑ που έχει προσδεθεί στα απαμερή



Εικόνα 4.21 Γράφημα του σήματος φθορισμού της OTA συναρτήσει των pulses του photo activation

Στο γράφημα **4.21** παρατηρούμε ότι το φυσικό σήμα φθορισμού της OTA μεγιστοποιείται στην περιοχή όπου έχουμε κάνει το photo activation των απταμερών με 8 έως 10 laser pulses. Αυτό είναι ένα αποτέλεσμα που συμπίπτει με εκείνα του προηγούμενου πειράματος όπου το σήμα φθορισμού των απταμερών γινόταν μέγιστο για photo activation με 10 laser pulses.

4.3.5 Ανίχνευση της μυκοτοξίνης Ochratoxin A (OTA), μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Εναπόθεση απταμερών μέσω της τεχνικής εκτύπωσης με laser (LIFT).

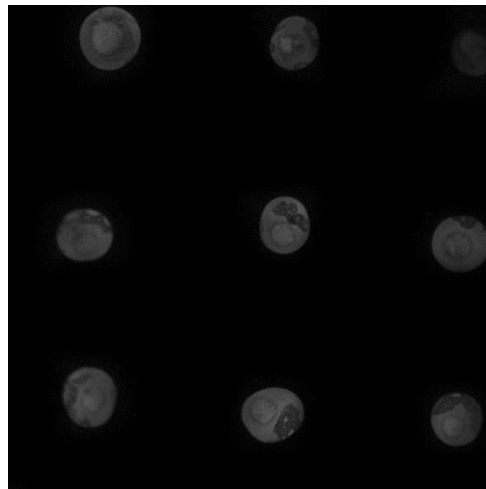
Όπως και πριν η εναπόθεση των απταμερών πάνω στις τροποποιημένες Si_3N_4 και SiO_2 έγινε με την τεχνική των laser LIFT. Οι επιφάνειες ήταν τροποποιημένες με ALKENES όπως και στα προηγούμενα πειράματα. Τα απταμερή ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση 5 μM διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 8.0. Τα συγκεκριμένα απταμερή

είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Cy5 και ο σκοπός του πειράματος είναι να δούμε την πρόσδεση της ωχρατοξίνης στα απταμερή τα οποία έχουν εναποτεθεί με την μέθοδο LIFT.

Το LIFT έγινε με την τρίτη αρμονική του Nd-Yag laser στα 355 nm. Μετά την εναπόθεση, ακολούθησε η διαδικασία του photo activation των απταμερών η οποία έγινε και αυτή στα 355 nm με πυκνότητα ενέργειας ανά παλμό στα $150 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Ο αριθμός των laser pulses που έγινε το photo activation κυμαινόταν από 2 έως 10.

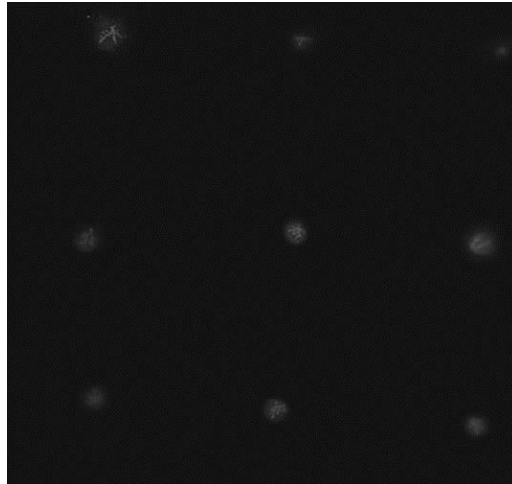
Μετά την διαδικασία του photo activation αφήσαμε τις επιφάνειες σύμφωνα με το πρωτόκολλο για 24 ώρες και στην συνέχεια ακολούθησε η διαδικασία του ξεπλύματος. Το ξεπλυμα των επιφανειών σύμφωνα με το πρωτόκολλο που ακολουθούμε περιλαμβάνει τρεις φορές εμβάπτιση της επιφάνειας σε διάλυμα TETBS και στην συνέχεια ξεπλυμα με υπερκάθαρο νερό.

Η εικόνα **4.22** δείχνει ένα array απταμερών των οποίων η εναπόθεση έχει γίνει με την τεχνική LIFT. Η εικόνα είναι από το μικροσκόπιο φθορισμού και την έχουμε πάρει με το φίλτρο Y5. Φαίνεται μέσα σε κάθε σταγόνα το photo activation που έχει γίνει στα απταμερή.



Εικόνα 4.22 Εικόνα από μικροσκόπιο φθορισμού του photo activation των Ota-Aptamers των οποίων η εναπόθεση έγινε με LIFT

Στην συνέχεια εναποθέσαμε πάνω στα απταμερή ΟΤΑ σε συγκέντρωση 1 g/L και την αφήσαμε για μία ώρα. Τέλος έγινε ξέπλυμα της ΟΤΑ με Wash Buffer και υπερκάθαρο νερό.



Εικόνα 4.23 Εικόνα από μικροσκόπιο φθορισμού της ΟΤΑ που έχει προσδεθεί στα απταμερή

Στην εικόνα **4.23** βλέπουμε την πρόσδεση της ΟΤΑ στα απταμερή στα σημεία που έχει γίνει το photo activation. Φαίνεται καθαρά ότι τα σημεία που έχει προσδεθεί η ΟΤΑ σχηματίζουν ένα array όμοιο με το array του photo activation της εικόνας **4.22**. Η εικόνα είναι από μικροσκόπιο φθορισμού με το φίλτρο A4.

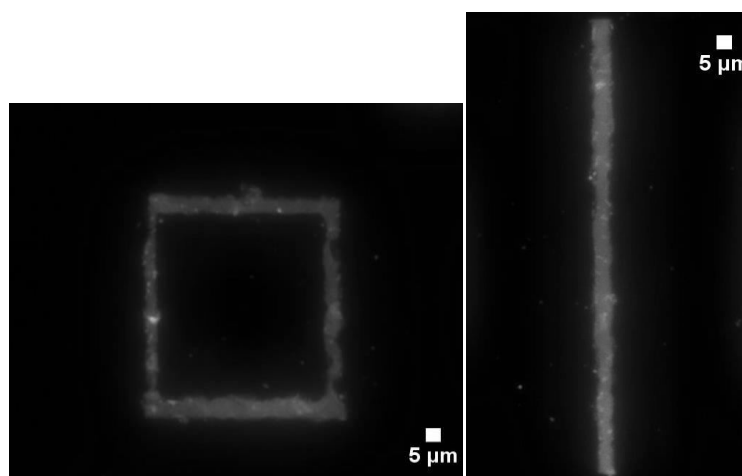
4.3.6 Δημιουργία βιοδομών με μεγάλη χωρική διακριτική ικανότητα.

4.3.6.1 Αυξάνοντας τη Χωρική Διακριτική Ικανότητα εκτύπωσης με laser (LIFT) μέσω επιλεκτικής αποδόμησης του βιοϋλικού.

Σε αυτό το πείραμα θα μελετήσουμε την ελάχιστη χωρική διακριτική ικανότητα που μπορούμε να επιτύχουμε με το σύστημα του LIFT στην επιλεκτική αποδόμηση του διαλύματος (ablation). Για τον λόγο αυτό θα εναποθέσουμε απταμερή σε χημικά τροποποιημένες επιφάνειες με ALKENES και στην συνέχεια θα κάνουμε μια κατασκευή με ablation, δηλαδή επιλεκτική αποδόμηση του διαλύματος στα σημεία που θέλουμε.

Τα απταμερή που χρησιμοποιήσαμε ήταν επισυναφτεί με δείκτη φθορισμού Cy5 και ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση 10 μM διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 7.4. Η διαδικασία του LIFT έγινε με πυκνότητα ενέργειας $300 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$.

Στην συνέχεια κάναμε επιλεκτική αποδόμηση (ablation) του διαλύματος με τα απταμερή με πυκνότητα ενέργειας $350 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$ και επανάληψη με 10 laser pulses στο ίδιο σημείο του χώρου. Ο σκοπός μας ήταν να σχηματίσουμε ένα τετράγωνο με διάλυμα απταμερών το οποίο δεν θα έχουμε αποδομήσει με όσο το δυνατόν μικρότερο πάχος πλευράς. Αυτό την κατασκευή σε σχήμα τετραγώνου έχουμε την δυνατότητα να το δούμε μέσω του μικροσκοπίου φθορισμού λόγω του δείκτη φθορισμού.

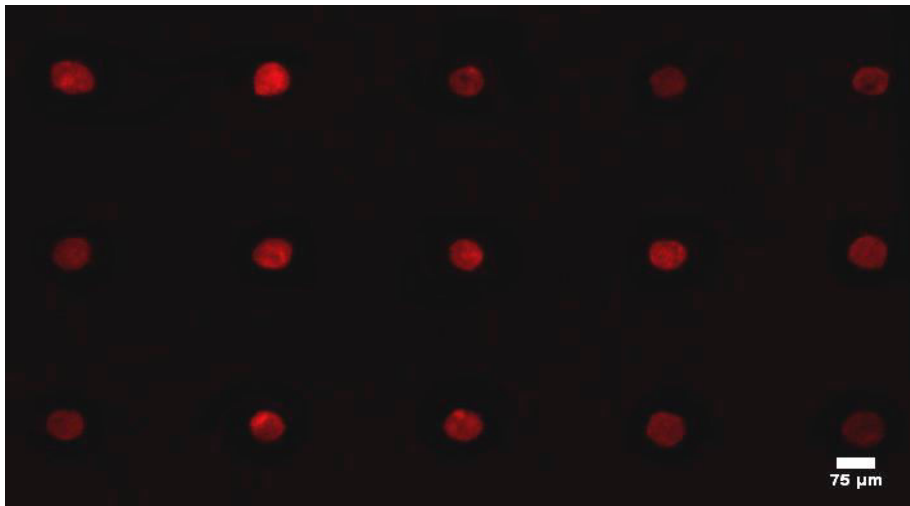


Εικόνα 4.24 Εικόνα από το μικροσκόπιο φθορισμού της τετράγωνης κατασκευής με πάχος πλευράς 5 μm

Βλέπουμε στην εικόνα **4.24** ότι το πάχος της πλευράς του τετραγώνου που κατασκευάσαμε είναι της τάξης των 5 μm . Άρα ένα χαρακτηριστικό του συστήματος LIFT είναι ότι μπορούμε να επιτύχουμε κατασκευή δομών της τάξης των λίγων μικρομέτρων.

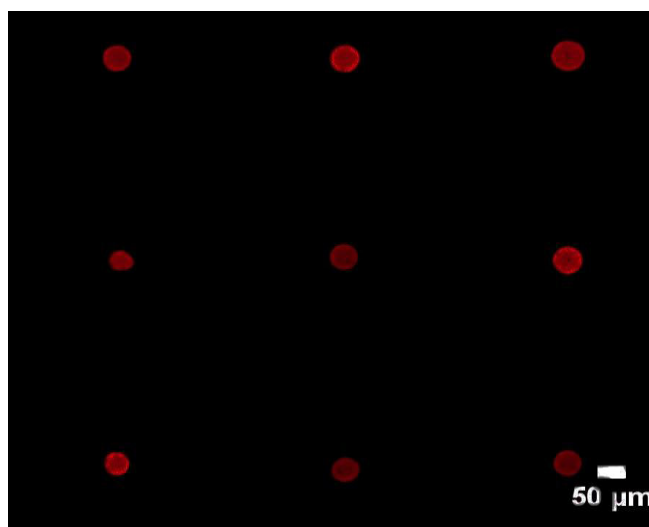
4.3.6.2 Εξάρτηση της διακριτικής ικανότητας εκτύπωσης με laser (LIFT) με την αύξηση του ιξώδους του διαλύματος προς εκτύπωση.

Σε αυτήν την σειρά πειραμάτων πραγματοποιήσαμε 4 πειράματα ώστε να αυξήσουμε το resolution της άμεσης εκτύπωσης μέσω laser LIFT. Το spot size μας ήταν στα 53-55 μm . Η πυκνότητα ενέργειας με την οποία πραγματοποιήσαμε το LIFT ήταν στα $300 \frac{\text{mJ}}{\text{cm}^2}$. Τα απταμερή ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση 5 μM διαλυμένα μέσα σε binding buffer με pH 7.4. Τα συγκεκριμένα απταμερή είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Texas Red. Στην αρχή κάναμε ένα πίνακα 10×10 όπως φαίνεται στην εικόνα **4.25**.

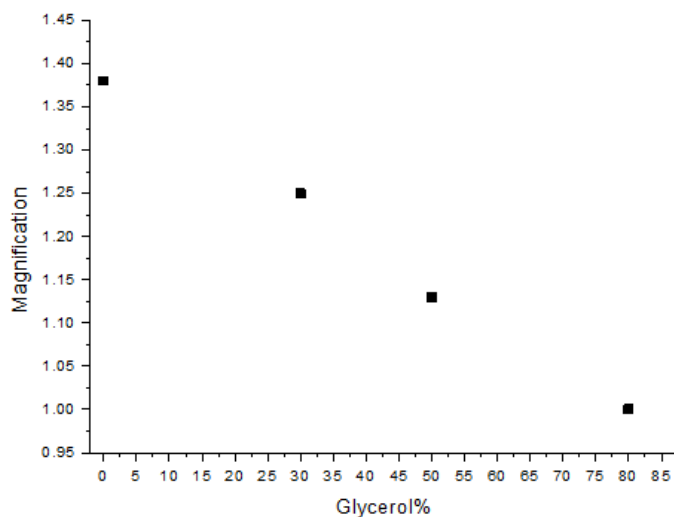


Εικόνα 4.25 Εικόνα από οπτικό μικροσκόπιο του πίνακα των droplet των απταμερών

Το μέσο drop size το μετρήσαμε με την βοήθεια του προγράμματος ImageJ και βρέθηκε 76 μm . Στην συνέχεια βάλουμε μέσα στο διάλυμα μας γλυκερόλη σε ποσοστά 30%, 50% και 80% και κάναμε ακριβώς το ίδιο array. Ο στόχος μας ήταν να μελετήσουμε την εξάρτηση που έχει το drop size όσο αυξάνουμε το ποσοστό σε γλυκερόλη και αν μπορούμε να φτάσουμε σε εκτύπωση 1 προς 1 ουσιαστικά κάνοντας το διάλυμα μας σε μορφή gel. Δηλαδή για spot size 50-50 μm να έχουμε σταγόνα διαμέτρου 50 μm . Η ποσότητα τους διαλύματος παρέμεινε σε όλα τα πειράματα σταθερή και ίση με 5 μL . Με 30% ποσοστό γλυκερόλης το μέσο drop size μετρήθηκε στα 69 μm . Είναι λογικό να μειώνεται το drop size αφού αυξάνεται το ιξώδες και τείνουμε στην περιοχή της στερεάς κατάστασης. Για 50% ποσοστό γλυκερόλης μέσα στο διάλυμα το μέσο drop size μετρήθηκε 62 μm . Με 80% ποσοστό γλυκερόλης φτάσαμε σε εκτύπωση 1 προς 1. Εδώ μετρήσαμε μέσο drop size στα 55 μm και το spot size μας ήταν στα 53-55 μm .



Εικόνα 4.26 Εικόνα από οπτικό μικροσκόπιο του πίνακα των droplet των απταμερών για 80% ποσοστό γλυκερόλης



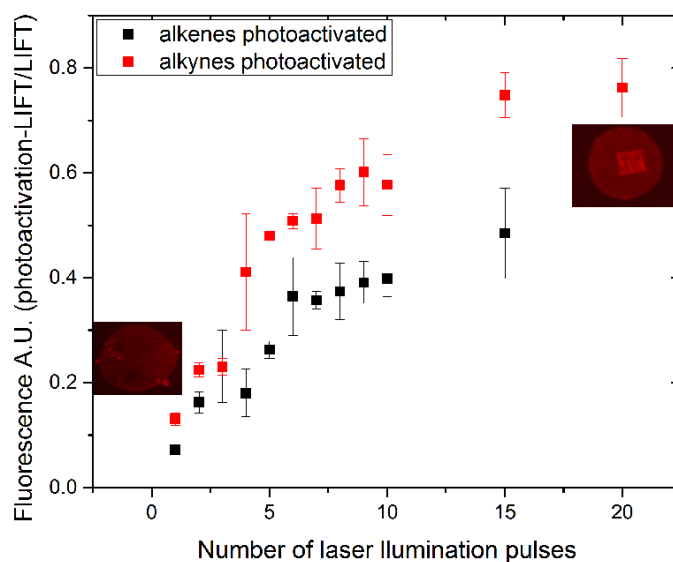
Εικόνα 4.27 Γράφημα του ποσοστού μεταβολής της διαμέτρου της σταγόνας σε σχέση με το ποσοστό γλυκερόλης

Στο γράφημα 4.27 βλέπουμε πως αλλάζει το ποσοστό μεταβολής της διαμέτρου της σταγόνας σε σχέση με το ποσοστό της γλυκερόλης που περιέχει το διάλυμα μας. Παρατηρούμε ότι για ποσοστό γλυκερόλης 80% φτάσαμε σε αναλογία εκτύπωσης με spot size 1-1. Αυτό σημαίνει ότι όσο μέγεθος έχει το spot size μας θα έχει και η σταγόνα που εκτυπώνουμε. Το spot size έχουμε την δυνατότητα να το φτάσουμε σε μέγεθος μερικών μικρομέτρων, άρα και η σταγόνα που θα εκτυπωθεί θα είναι και αυτή διαμέτρου μερικών μικρομέτρων. Βλέπουμε ότι το σύστημα LIFT έχει την δυνατότητα εκτύπωσης εξαιρετικά μικρών ποσοτήτων υγρού αρά και πολύ μεγάλη χωρική διακριτική ικανότητα.

4.3.7 Εναπόθεση απταμερών σε τροποποιημένες επιφάνειες με αλκίνια- Με LIFT και photoactivation

Στο συγκεκριμένο πείραμα η εναπόθεση των απταμερών πάνω στις τροποποιημένες Si_3N_4 και SiO_2 έγινε με την τεχνική των laser LIFT. Οι επιφάνειες ήταν τροποποιημένες με αλκίνια. Τα απταμερή ήταν τροποποιημένα με ελεύθερη ρίζα θειόλης (S) σε συγκέντρωση 5 μM διαλυμένα

μέσα σε binding buffer με pH 8.0. Τα συγκεκριμένα απταμερή είναι συνδεδεμένα με δείκτη φθορισμού Texas Red. Το πείραμα είχε ακριβώς τις ίδιες συνθήκες με αυτό της εναπόθεσης πάνω σε αλκένια ώστε να γίνει η σύγκριση των δύο επιφανειών. Στην **εικόνα 4.28** βλέπουμε την σύγκριση του σήματος φθορισμού μεταξύ των επιφανειών που έχουν τροποποιηθεί χημικά με αλκένια και αλκίνια συναρτήσει του αριθμού των παλμών του laser.



Εικόνα 4.28 Σύγκριση του σήματος φθορισμού μεταξύ των επιφανειών που έχουν τροποποιηθεί χημικά με αλκένια και αλκίνια συναρτήσει του αριθμού των παλμών του laser

Wash Buffer	10 mM NaCl, 5 mM Tris
TETBS	20 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, 5 mM EPTA+ 0,05% Tween-20
Binding Buffer	PBS 1× + 1 Mm MgCl ₂ (ph 7,4)

Πίνακας με τα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα

4.4 Σύνοψη αποτελεσμάτων

Στα πλαίσια της μεταπτυχιακής εργασίας, μελετήθηκε η χρήση της τεχνικής εναπόθεσης με laser (LIFT), για την ανάπτυξη μικροσυστοιχιών βιολογικών διαλυμάτων. Επίσης μελετήθηκαν και οι συνθήκες βίο-ενεργοποίησης τους με την χρήση ακτινοβολίας. Τα βιοϋλικά που επιλέχθηκαν ήταν ολιγονουκλεοτίδια. Τα ολιγονουκλεοτίδια εναποτέθηκαν σε επιφάνειες Si₃N₄ χημικά τροποποιημένες με αλκένια και αλκίνια. Παρατηρήθηκε μεγαλύτερη απόδοση στο σήμα φθορισμού, μετά την φώτο ενεργοποίηση των απταμερών, στις επιφάνειες που ήταν χημικά τροποποιημένες με αλκίνια. Αυτό το αποτέλεσμα ήταν κάτι τι οποίο αναμέναμε αφού σε κάθε αλκίνιο μπορούν να προσδεθούν μέχρι και δύο απταμερή, ενώ αντίθετα σε κάθε αλκένιο μόνο ένα.

Τέλος έγινε προσπάθεια για δημιουργία βιοδομών με μεγάλη χωρική διακριτική ικανότητα μέσω της επιλεκτικής αποδόμησης του βιοϋλικού καθώς και με την αύξηση του ιξώδους του βιολογικού διαλύματος ώστε να φτάσουμε σε εκτύπωση με αναλογία 1 προς 1, δηλαδή για συγκεκριμένο μέγεθος spot size η σταγόνα η οποία εναποτίθεται να έχει το ίδιο μέγεθος.