



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**"Μικρο-εναπόθεση βιολογικών υλικών και πολυμερών με
laser για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων και χημικών
αισθητήρων"**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΙΑΝΝΕΖΑ ΧΑΤΖΗΠΕΤΡΟΥ

Φυσικός, ΜΔΕ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ:

ΙΩΑΝΝΑ ΖΕΡΓΙΩΤΗ

Αν. Καθηγήτρια ΕΜΠ

ΑΘΗΝΑ, Σεπτέμβριος 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ
ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

**"Μικρο-εναπόθεση βιολογικών υλικών και πολυμερών με
laser για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων και χημικών
αισθητήρων"**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΑΡΙΑΝΝΕΖΑ ΧΑΤΖΗΠΕΤΡΟΥ

Φυσικός, ΜΔΕ

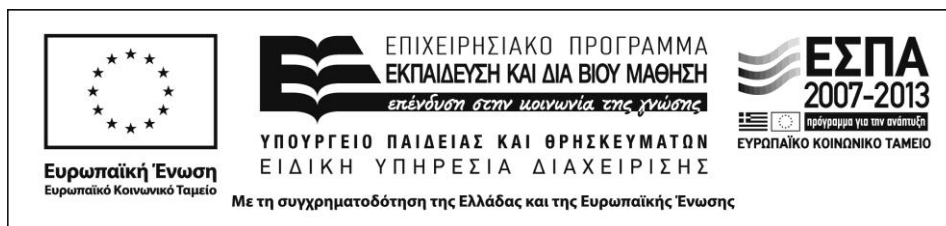
ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

1. Ι. ΖΕΡΓΙΩΤΗ, Αν. Καθηγήτρια
(Επιβλέπων)
2. Α. ΣΕΡΑΦΕΤΙΝΙΔΗΣ, Καθηγητής
3. Δ. ΤΣΟΥΚΑΛΑΣ, Καθηγητής

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

1. Ι. ΖΕΡΓΙΩΤΗ, Αν. Καθηγήτρια
2. Α. ΣΕΡΑΦΕΤΙΝΙΔΗΣ, Καθηγητής
3. Δ. ΤΣΟΥΚΑΛΑΣ, Καθηγητής
4. Ι. ΡΑΠΤΗΣ, Αν. Καθηγητής
5. Σ. ΚΟΥΡΚΟΥΛΗΣ, Καθηγητής
6. Ε. ΓΟΓΓΟΛΙΔΗΣ, Ερευνητής
7. Σ. ΧΑΤΖΑΝΔΡΟΥΛΗΣ, Ερευνητής

ΑΘΗΝΑ, Σεπτέμβριος 2015



Ευχαριστίες.....	1
Εισαγωγή	3
Abstract.....	5
Κεφάλαιο 1: Τεχνική εκτύπωσης με laser	9
1.1 Χρήση στρώματος απορρόφησης του παλμού του laser κατά την εφαρμογή της τεχνικής LIFT	12
1.2 Χρήση της τεχνικής LIFT για εκτύπωση βιομορίων	13
1.3 3D Εκτύπωση βιομορίων με laser.....	17
1.4 Αρχή λειτουργίας της τεχνικής εκτύπωσης με laser	18
1.5 Μελέτη του μηχανισμού εκτύπωσης με laser	19
Αλληλεπίδραση παλμών laser με υλικά.....	19
Ακτινοβολήση με ns παλμούς laser.	23
Ακτινοβολήση με fs παλμούς laser.....	23
Εξίσωση διάδοσης θερμότητας.....	24
Πειραματική διάταξη απεικόνισης της χρονικής εξέλιξης του μηχανισμού εκτύπωσης με laser.	27
Πειραματική διάταξη απεικόνισης της διαδικασίας εκτύπωσης	30
1.6 Μηχανισμοί εξέλιξης του φαινομένου δημιουργίας πίδακα υγρού	32
Συμπεράσματα.....	43
Αναφορές.....	44
Κεφάλαιο 2.Ανάπτυξη βιο-αισθητήρων με την τεχνική εκτύπωσης με laser (LIFT).....	49
2.1 Ανάπτυξη χωρικών βιοαισθητήρων.....	51
Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα.....	52
Πειραματική διάταξη μέτρησης	55
Εφαρμογή για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων	58
2.2.....Ανάπτυξη αμπερομετρικού αισθητήρα για την ανίχνευση φαινολικών ενώσεων.	66
Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα.....	67
Πειραματική διάταξη μέτρησης	69
Απευθείας ακινητοποίηση του ενζύμου (λακκάση) στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων	70
Αμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα παρουσία φαινολικών ενώσεων.....	73
2.3 Μηχανισμοί απευθείας ακινητοποίησης βιομορίων	77
Φαινόμενα που επικρατούν κατά την πρόσκρουση υγρής σταγόνας σε στερεή επιφάνεια	77
Μηχανισμοί διαβροχής υδρόφοβων επιφανειών με μικρο και νανο τραχύτητα, κατά την πρόσκρουση σταγόνων με υψηλές ταχύτητες	78
Συμπεράσματα.....	82
Αναφορές.....	84

Κεφάλαιο 3 Ανάπτυξη χημικών αισθητήρων με την τεχνική εκτύπωσης με λείζερ (LIFT).....	89
3.1 Ανάπτυξη αγωγιμομετρικού αισθητήρα για την ανίχνευση υγρασίας και αλκοολών	89
Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα.....	90
Πειραματική διάταξη μέτρησης	91
Χαρακτηρισμός υποστρωμάτων αισθητήρα	92
Εκτύπωση νανοσύνθετων άνθρακα/πολυμερούς	93
Απόκριση του αισθητήρα	94
Συμπεράσματα	99
Αναφορές	100
Κεφάλαιο 4 Χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, ως τεχνικής χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών	103
4.1 Εισαγωγή στις καταστάσεις διαβροχής επιφανειών	105
4.2 Τεχνικές ανάπτυξης υπερυδρόφοβων επιφανειών.....	107
Λιθογραφία.....	107
Electrospinning.....	108
Τεχνική εναπόθεσης πολλαπλών στρωμάτων (Layer-by-layer -LbL).....	109
Εγχάραξη.....	109
4.3 Πειραματική διάταξη χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών.....	110
4.4 Χαρακτηρισμός υπερυδρόφοβων επιφανειών περιόδων δομών με την τεχνική LIFT.....	111
4.5 Χαρακτηρισμός υπερυδρόφοβων επιφανειών τυχαίας μορφολογίας με την τεχνική LIFT (4-5).....	117
Συμπεράσματα.....	122
Αναφορές.....	123
Συμπεράσματα-Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	127
Δημοσιεύσεις σε συνέδρια	131
Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτές.....	133

Ευχαριστίες

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή έλαβε χώρα στο τομέα Φυσικής του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, στο τμήμα Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών επιστημών από τον Ιούλιο του 2011 έως το Σεπτέμβριο του 2015. Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή της παρούσας διατριβής αποτέλεσαν οι: Αν. Καθηγήτρια Ιωάννα Ζεργιώτη, Καθηγητής Αλέξανδρος Σεραφετινίδης και Καθηγητής Δημήτριος Τσουκαλάς.

Κατά τη διάρκεια αυτής της διδακτορικής διατριβής είχα την ευκαιρία να συνεργαστώ με ένα μεγάλο αριθμό επιστημόνων οι οποίοι συνετέλεσαν στην διεξαγωγή της διατριβής.

Συγκεκριμένα από το τομέα Φυσικής θα ήθελα να ευχαριστήσω αρχικά την επιβλέπουσά μου Αν. Καθηγήτρια Ι. Ζεργιώτη, η οποία μου ανέθεσε την παρούσα Δ.Δ. και βοήθησε στην ολοκλήρωσή της με την ενθάρρυνση και την καθοδήγηση της.

Τα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής Καθηγητές Α. Σεραφετινίδη και Δ. Τσουκαλά, ευχαριστώ για την ερευνητική συνεργασία, την καθοδήγηση και την πρόσβαση στα ερευνητικά τους εργαστήρια. Τον Αν. Καθηγητή Ι. Ράπτη και τον Καθηγητή Α. Παπαγιάννη για τις συμβουλές και την βοήθεια τους σε τεχνικά θέματα, στα πλαίσια των πειραμάτων που διεξάχθηκαν για την παρούσα Δ.Δ. Τον Επ. Καθηγητή Α. Κυρίτση, τον Καθηγητή Π. Πίσση καθώς και τους Δρ. Χ. Πανδή και Β. Σημαντιράκη για την συνεργασία μας στα πλαίσια ανάπτυξης χημικών αισθητήρων. Τον Αν. Καθηγητή Σ. Κουρκουλή, την Δρ. Ε. Πάσιου και την υποψήφια διδάκτορα Ι. Δακανάλη για τη συνεργασία τους στα πλαίσια απεικόνισης της εκτύπωσης διαλυμάτων με laser.

Τον Επ. Καθηγητή Α. Παπαθανασίου της σχολής χημικών μηχανικών του Ε.Μ.Π. για τη συνεργασία μας στα πλαίσια ακινητοποίησης βιομορίων σε πρότυπες πολυμερικές επιφάνειες.

Τους ερευνητές Δρ. Σ. Χατζανδρούλη και Δρ. Β. Τσούτη του ινστιτούτου μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος καθώς και την υποψήφια διδάκτορα

Μ. Φιλιππίδου για την συνεργασία μας στα πλαίσια της ανάπτυξης βιοαισθητήρων χωρητικότητας.

Τους Ερευνητές Δρ. Ε. Γογγολίδη, Δρ. Α. Τσερέπη του ινστιτούτου μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος και τον υποψήφιο διδάκτορα Κ. Έλληνα για την συνεργασία μας στα πλαίσια της εφαρμογής της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT, για τον χαρακτηρισμό υπερυδροφобων επιφανειών.

Τον ερευνητή του Ι.Ι.Β.Ε.Α.Α., Δρ. Γ. Τσέκενη και για τη συνεργασία μας από την αρχή της διδακτορικής διατριβής στα πλαίσια ανάπτυξης βιο-αισθητήρων. Οι γνώσεις του στις διεργασίες αλληλεπίδρασης ολιγονουκλεοτιδίων αποτέλεσαν σημαντικό μέρος για τη σχεδίαση και την ανάπτυξη βιο-αισθητήρων χωρητικότητας.

Τους ερευνητές Δρ. Ε. Τουλουπάκη (C. N. R. Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Florence), και Δρ. F. Milano (C. N. R. Istituto per i Processi Chimico-Fisici, Bari) για τη συνεργασία μας στα πλαίσια ανάπτυξης ηλεκτροχημικών αισθητήρων.

Τους Σ. Ζιδρόπουλο, Ρ. Κρυπωτού, Π. Μπούσουλα, Σ. Σταθόπουλο, Μ. Παναγοπούλου, Ε. Σκοτάδη, Λ. Μανδιανό, Δ. Τσιαλούκη, Ζ. Νικιτάκη, Α. Αργυρούλη, Ε. Σπυράτου, για τη βοήθειά τους σε τεχνικά ζητήματα

Τα ενεργά και παλαιά μέλη της ομάδας του εργαστηρίου στο οποίο εργάστηκα στα πλαίσια της μεταπτυχιακής και διδακτορικής μου διατριβής, Δρ. Χ. Μπουτόπουλο, Δρ. Μ. Κάνδυλα, Μ. Μακρύγιαννη, Ι. Θεοδωράκος, Σ. Παπάζογλου, Δρ. Μ. Μασσαούτη και Δρ. Φ. Ζαχαράτο για τη συνεργασία μας όλα αυτά τα χρόνια.

Όσον αφορά την χρηματική ενίσχυση, η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ. Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου



Εισαγωγή

Στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση παλμών μικρής χρονικής διάρκειας (ns) με οργανικά υλικά, με σκοπό την επιλεκτική εναπόθεσή τους σε υποστρώματα αισθητήρων. Η εναπόθεση των οργανικών διαλυμάτων επιτεύχθηκε μέσω της τεχνικής εναπόθεσης με laser, LIFT. Η τεχνική LIFT χρησιμοποιήθηκε για την εκτύπωση βιολογικών διαλυμάτων, για την ακινητοποίηση των βιομορίων σε επιφάνειες αισθητήρων, για την εκτύπωση νανοσύνθετων πολυμερών αλλά και ως τεχνική χαρακτηρισμού υπερυδροφобων επιφανειών.

Ξεκινώντας με την ερευνητική μελέτη που διεξάχθηκε κατά την διάρκεια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, παρουσιάζεται η χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση μικρο-σταγόνων από υδατικό διάλυμα ολιγονουκλεοτιδίων σε αισθητήρες χωρητικότητας. Οι ολιγονουκλετιδικές αλυσίδες που χρησιμοποιήθηκαν, αποτελούσαν τα μόρια ανιχνευτές για την ανίχνευση ιόντων βαρέων μετάλλων σε υδατικά διαλύματα. Για την δημιουργία του εν λόγω αισθητήρα, έγινε εκτύπωση ολιγονουκλεοτιδίων σε υπέρλεπτες μεμβράνες πυριτίου, οι οποίες αποτελούν το εύκαμπτο ηλεκτρόδιο μίας δομής πυκνωτή. Κατά την παρουσία ιόντων βαρέων μετάλλων, προκαλούνται χημικές αντιδράσεις μεταξύ των ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, οι οποίες οδηγούν στην παραμόρφωση του εύκαμπτου ηλεκτροδίου του πυκνωτή και κατά συνέπεια στην μεταβολή την καταγραφόμενης χωρητικότητας.

Προχωρώντας στην δεύτερη εφαρμογή της τεχνικής LIFT, στην εκτύπωση βιομορίων, παρουσιάζεται η μελέτη εκτύπωσης και ακινητοποίησης του ενζύμου λακκάση, σε ηλεκτρόδια γραφίτη με σκοπό την ανάπτυξη ηλεκτροχημικού αισθητήρα. Το ένζυμο λακκάση είναι υπεύθυνο για την διεξαγωγή οξειδω-αναγωγικών αντιδράσεων παρουσία φαινολικών ενώσεων, με αποτέλεσμα την δυνατή καταγραφή μεταβολής ρεύματος που οδηγεί και στην ανίχνευση των ενώσεων αυτών. Η χρήση της τεχνικής LIFT για την απευθείας ακινητοποίηση της λακκάσης, διεύρυνε τις πιθανές εφαρμογές της χρήσης της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT, για την ακινητοποίηση βιομορίων σε επιφάνειες, εκτός της επιλεκτικής εκτύπωσής τους.

Η μελέτη των μηχανισμών εκτύπωσης υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, οδήγησε στην συνέχεια στην αποκάλυψη των φυσικών διεργασιών που οδηγούν στην ακινητοποίηση των βιομορίων. Ο συνδυασμός της υψηλής ταχύτητας πρόσκρουσης των σταγόνων που εκτυπώνονται (έως 250 m/s) με την μικρο και νανο τραχύτητα μιας επιφάνειας, είναι οι ιδιότητες που οδηγούν στην φυσική προσρόφηση των βιομορίων στην τοπογραφία των επιφανειών.

Η μοναδική ιδιότητα της τεχνικής LIFT, για εκτύπωση σταγόνων που προσκρούουν στην επιφάνεια του αποδέκτη με μεγάλες ταχύτητες και κατά συνέπεια πιέσεις πρόσκρουσης, έδωσε την δυνατότητα εφαρμογής της τεχνικής LIFT, ως μέθοδο δυναμικού χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών.

Τέλος, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, παρουσιάζεται και η μελέτη εκτύπωσης νανοσύνθετων πολυμερών (Nafion με νανοσωλήνες άνθρακα), για την ανάπτυξη χημικού αισθητήρα αερίων. οι ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως αναλύτες είναι αιθανόλη και υγρασία, οι οποίες ανιχνεύτηκαν με τους εν λόγω αισθητήρες με όριο ανίχνευσης για την αιθανόλη 5000 ppm και για την υγρασία σε ποσοστό 20%.

Abstract

In this PhD Thesis the interaction of nanosecond laser pulses with organic materials was investigated for the selective deposition of micro-patterns with a high spatial resolution. The selective deposition of the materials was carried out by using a novel laser printing technique named Laser Induced Forward Transfer (LIFT). LIFT was employed for studding micro-deposition and direct immobilization of biomaterials on sensor devices. Further on LIFT was also used as a characterization technique to evaluate the robustness of liquid repellent surfaces.

At the first part of this study, a capacitive biosensor for the detection of the DNA hybridization process, was developed. For the fabrication of the biosensor, oligonucleotide probes have been laser printed onto ultra-thin (500 nm thick) LTO/Si membranes which are the sensing elements. Laser printing (LIFT) ensured the deposition of the oligonucleotides with high spatial resolution, enabling the use of the sensor for multi-analyte detection. To test the bio-reactivity of the printed biomolecules a confocal fluorescent microscope was used. The biomolecular interactions induced surface stress variations which were translated as change in capacity.

Moving forward to further applications of the designed biosensor, a DNAzyme sequence was laser printed on the same capacitive micromechanical sensor array for the detection of heavy metal ions. The constructed sensor operation is based on the catalytic activity of the '8–17' DNAzyme which undergoes self-cleavage in the presence of Pb^{2+} and is capable to selectively detect the divalent cations in solution. Furthermore, the use of LIFT has proven to be excellent in achieving high spatial resolution in spotting the biological material and possibly allowing for the printing of different DNAzymes for the detection of multiple heavy metal water pollutants simultaneously.

A different approach of using a Screen printed electrode as sensing device was used for the detection of phenolic compounds. A stable and highly sensitive amperometric laccase enzyme based biosensor was developed. Laccase was successfully immobilized in active form on the surface of graphite SPE by using the LIFT technique, without any chemical modification step. The direct immobilization of the biomaterials relies on the high velocities that the liquid droplets are being transferred by means of laser printing. The liquid film impacts with high pressure at the rough substrate, resulting in a physical absorption of the bio- materials to the substrate. In this endeavor, the LIFT technique was used for both the deposition and the immobilization of the laccase enzyme onto the surface of commercial graphite SPEs.

This unique characteristic of controlling the travel velocity of the liquid material that is transferred to a receiver substrate, led to the use of LIFT as a characterization technique on liquid repellent surfaces that withstand very high impact pressures. By controlling the laser pulse fluence, a wide range of liquid travel velocities (from 10 to 200 m/s) are feasible, leading to dynamic impact pressures up to 35 MPa. The thermodynamic stability against pressure of

random and (quasi-)ordered, superamphiphobic polymeric materials was tested by LIFT technique, and the first pinning pressure threshold was estimated for the initiation of the Cassie–Baxter to Wenzel transition of drops on such surfaces. The highest pinning pressure threshold reported here was 36 atm, i.e., five times higher than previously reported in the literature for lotus-leaf-inspired surfaces, leading to the conclusion that these surfaces are ideal candidates for demanding outdoor applications, where high pressures or high drop impact velocities are present. LIFT method employing nano volume drops with high velocities is probably the only method so far capable of probing high drop impact pressures and is able to demonstrate the high pinning threshold of our optimized (quasi-)ordered, nanotextured superamphiphobic polymeric material surfaces.

Another application of LIFT technique for the printing of nanocomposite materials (Nafion with CNTs) is also presented in the framework of this thesis. The printing of these organic compounds on gold electrodes enabled the fabrication of micro sensors for the detection of ethanol and humidity, while the achieved limit of detection for each analyte was 5000 ppm for the ethanol and 20% for the humidity.

Κεφάλαιο 1: Τεχνική εκτύπωσης με laser

Σε αυτό το κεφάλαιο θα γίνει εκτενής περιγραφή βιβλιογραφικής μελέτης της έρευνας που διεξάγεται για την εκτύπωση υγρών με laser, σύμφωνα με την τεχνική LIFT. Η εκτύπωση δομών μέσω της τεχνικής LIFT, βασίζεται στην ακτινοβολήση ενός υποστρώματος δότη με ένα παλμό laser. Τοποθετώντας παράλληλα, σε μικρή απόσταση από το υπόστρωμα δότη, ένα υπόστρωμα αποδέκτη, η δομή που αποκολλάται από το υπόστρωμα δότη, μετά την ακτινοβολήσή του, κατευθύνεται στο υπόστρωμα αποδέκτη.

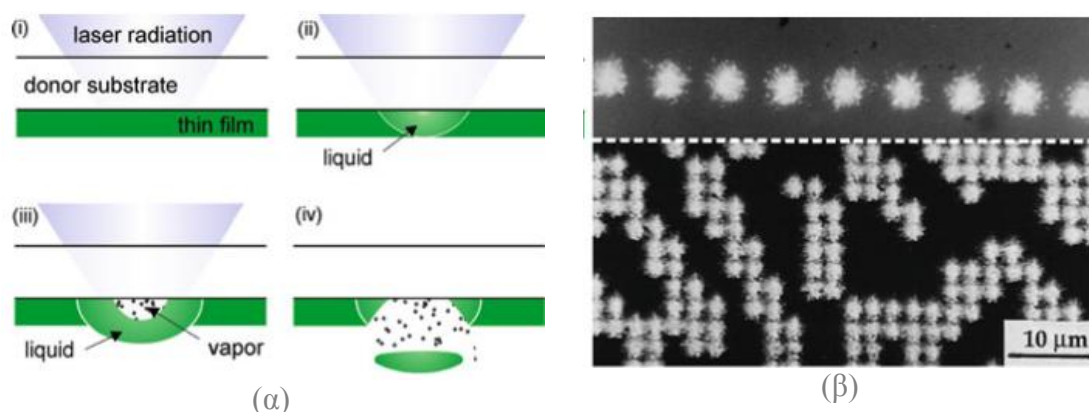
Η τεχνική LIFT αρχικά εφαρμόστηκε για την εκτύπωση ανόργανων διαλυμάτων. Εν συνεχεία, η επιτυχής εκτύπωση οργανικών υλικών τα οποία παραμένουν λειτουργικά, οδήγησε στην χρήση της τεχνικής σε μεγάλο εύρος εφαρμογών με κυρίαρχη αυτή της εκτύπωσης βιομορίων σε επιφάνειες αισθητήρων. Ακολούθως, μεγάλο μέρος της επιστημονικής κοινότητας στράφηκε στην μοντελοποίηση, προσομοίωση και την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης καθώς και την ανάλυση των φαινομένων που επικρατούν κατά την ανάπτυξη και την εξέλιξη του πίδακα υγρού. Η τάση των τελευταίων ετών αφορά τη χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT, για την εκτύπωση σε ζωντανούς οργανισμούς (in vivo), την εκτύπωση πολλαπλών τμημάτων καθώς και την χρήση της τεχνικής για την εκτύπωση μελανιών με σκοπό την προσαρμογή της τεχνικής στην βιομηχανία.

Η μελέτη φυσικών διεργασιών που επικρατούν κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη έτσι ώστε να επιτευχθεί η εκτύπωση βιομορίων, παραθέεται στο υποκεφάλαιο "μελέτη του μηχανισμού εκτύπωσης", όπου περιγράφονται οι οπτικές και θερμικές διεργασίες αλληλεπίδρασης παλμών laser με υλικά. Τέλος γίνεται επεξήγηση του φαινομένου ανάπτυξης πίδακα υγρού, οποίος κατά την επέκτασή του δημιουργεί μια σταγόνα που εναποτίθεται στο υπόστρωμα αποδέκτη.

Η τεχνική LIFT καταγράφεται για πρώτη φορά το 1971, σε πατέντα, από τους A.D. Brisbane et al.[1], όπου παρουσιάζονται η αρχή λειτουργίας και οι δυνατότητες της τεχνικής. Στην πατέντα αυτή προτείνεται η χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση πλατίνας (Pt) σε πυρίτιο, με σκοπό την εφαρμογή της στην κατασκευή μικροηλεκτρονικών διατάξεων (ηλεκτροδίων). Η πρώτη καταγραφή δημοσίευσης σε περιοδικό γίνεται το 1986 από τους J. Bohandy et al. [2] και αφορά την εκτύπωση γραμμών χαλκού, 50 μm πλάτους, σε επιφάνειες πυριτίου, με τη χρήση ArF excimer

laser. Η ίδια ομάδα, το 1988, επιτυγχάνει την εκτύπωση γραμμών χαλκού και αλουμινίου, σε επιφάνειες άμορφου πυριτίου, με τη χρήση Nd:YAG laser [3]. Ενώ τα πρώτα καταγεγραμμένα πειράματα είναι σε συνθήκες κενού, το 1991 παρουσιάζεται η πρώτη δημοσίευση, όπου γίνεται χρήσης της τεχνικής για την εκτύπωση αλουμινίου σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης [4]. Από τότε ξεκινά η έρευνα για την χρήση της τεχνικής στην εκτύπωση μεγάλου εύρους μεταλλικών υλικών (Au [4], Ti [5], W [6], Cr [7], Ni [8], Al [9], και Zn [10],) και οξειδίων (Al_2O_3 [11], In_2O_3 [12, 13], V_2O_5 [14]).

Σύμφωνα με το μοντέλο εκτύπωσης που προτάθηκε από τους J. Bohandy et al [15], ο παλμός του laser απορροφάται στη επιφάνεια ενός υποστρώματος δότη, το οποίο αποτελείται από ένα πλακίδιο χαλαζία και ένα λεπτό φιλμ του προς εναπόθεση υλικού. Κατά την απορρόφηση του παλμού του laser από το προς εναπόθεση υλικό, παρατηρείται αύξηση της θερμοκρασίας τοπικά. Καθώς η θερμοκρασία τοπικά ξεπερνά την θερμοκρασία βρασμού του προς εναπόθεση υλικού, δημιουργείται ένας θύλακας αερίων. Η εσωτερική πίεση του θύλακα αερίων είναι πολύ μεγαλύτερη από την εξωτερική, με αποτέλεσμα την φυσική επέκτασή του και την προώθηση του υλικού σε ένα υπόστρωμα αποδέκτη. Στην παρακάτω *Εικόνα 1. 1β*, παρουσιάζεται το αποτέλεσμα εκτύπωσης δομής χρωμίου από τους Zergioti et al. [16]. Στην εικόνα αυτή παρατηρούνται περιφερικά σταγονίδια μετά την εκτύπωση. Το αποτέλεσμα αυτό εξηγείται λαμβάνοντας υπόψη ότι η εκτύπωση του υλικού γίνεται σε υγρή φάση λόγω της τοπικής αύξησης της θερμοκρασίας πάνω από το σημείο βρασμού του υλικού.



Εικόνα 1. 1: (α) Σχηματική απεικόνιση του μηχανισμού εκτύπωσης με Laser, (β) Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από εκτυπωμένες δομές Cr, με laser, σε γυαλί [7].

Οι απαραίτητες συνθήκες που πρέπει να ικανοποιούνται για την δημιουργία ομοιόμορφων δομών με καλή χωρική διακριτική ικανότητα, σύμφωνα με την αρχή λειτουργίας της τεχνικής LIFT, όπως εφαρμόστηκε αρχικά [15], συνοψίζονται στα εξής: 1) το πάχος του φιλμ που δημιουργείται στο υπόστρωμα δότη, του προς εναπόθεση υλικού, δεν μπορεί να υπερβαίνει τα 100 nm, 2) το φιλμ του προς εναπόθεση υλικού πρέπει να απορροφά την ακτινοβολία του laser, 3) το υπόστρωμα δότης πρέπει να είναι πολύ κοντά - σχεδόν σε επαφή με το υπόστρωμα αποδέκτη και 4) υπάρχει μια κρίσιμη τιμή πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser πάνω από την οποία παρατηρείται η επιτυχής εκτύπωση του υλικού.

Η μορφολογία και οι διαστάσεις των εκτυπωμένων δομών, είναι άμεσα συνδεδεμένες με το παλμό του laser, τις διαστάσεις του, την χωρική κατανομή της έντασης (beam intensity distribution) καθώς επίσης και με τη χρονική διάρκεια του παλμού. Μειώνοντας τις διαστάσεις της δέσμης που προβάλλεται πάνω στο υπόστρωμα δότη, με κατάλληλα οπτικά μέσα, οδηγούμαστε σε μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα εκτύπωσης [16]. Η μείωση της χρονικής διάρκειας του παλμού, είναι επίσης ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το μέγεθος των εκτυπωμένων δομών, εφόσον περιορίζονται οι θερμικές διεργασίες κατά την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη. Αποτέλεσμα του περιορισμού των θερμικών διεργασιών είναι η εκτύπωση δομών συγκρίσιμων σε διαστάσεις με την περιοχή ακτινοβολίας του υποστρώματος δότη. Άλλοι παράγοντες που καθορίζουν την διακριτική ικανότητα εκτύπωσης είναι η φύση του υλικού προς εναπόθεση, το πάχος του υλικού προς εκτύπωση στο υπόστρωμα δότη [15] καθώς επίσης και η απόσταση μεταξύ υποστρώματος δότη και αποδέκτη [17].

Μια μεταγενέστερη παραλλαγή της τεχνικής εκτύπωσης LIFT για την εκτύπωση οργανικών ενώσεων (palladium acetate) παρουσιάζεται το 1995 από τους H. Esrom et al. [18]. Είναι η πρώτη φορά που καταγράφεται ότι η εκτύπωση του υλικού μπορεί να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με την φωτο-αποδόμηση μέρους του προς εναπόθεση υλικού.

Παρά την επιτυχή εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση μεταλλικών φιλμ, η εφαρμογή της τεχνικής για την εκτύπωση μεγαλύτερου εύρους υλικών παρουσιάζει πολλά μειονεκτήματα. Η τήξη και στερεοποίηση του υλικού που εναποτίθεται στο υπόστρωμα αποδέκτη, μπορεί να έχει επιβλαβή αποτελέσματα στις ιδιότητες του

υλικού. Επιπρόσθετα, η τήξη μετάλλων σε περιβάλλον ατμοσφαιρικής πίεσης, συχνά οδηγεί στην οξείδωσή τους.

Προχωρώντας στην εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση οργανικών υλικών, η ακτινοβολήσή τους είναι πιθανό να επιφέρει μη αναστρέψιμες αλλαγές στη σύνθεση των υλικών αυτών. Οι παραπάνω περιορισμοί που συναντώνται εμποδίζουν τη χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση οργανικών υλικών και οδηγούν στην εξέλιξη της τεχνικής, έτσι ώστε να διασφαλίζονται οι ιδιότητες των υλικών μετά την διαδικασία εκτύπωσης.

1.1 Χρήση στρώματος απορρόφησης του παλμού του laser κατά την εφαρμογή της τεχνικής LIFT

Η στρατηγική που ακολουθείται για την αντιμετώπιση των περιορισμών που συναντώνται στην εκτύπωση οργανικών υλικών, είναι η χρήση ενός επιπλέον στρώματος απορρόφησης του παλμού του laser, στο υπόστρωμα δότη [19], [20]. Το νέο αυτό στρώμα στο οποίο απορροφάται ο παλμός του laser, τοποθετείται ανάμεσα στο πλακίδιο χαλαζία και στο προς εναπόθεση υλικό έτσι ώστε κατά την ακτινοβολήση του στόχου να μην επηρεάζεται το υλικό προς εναπόθεση. Η τοπική αύξηση της θερμοκρασίας που παρατηρείται στο φιλμ που απορροφάται ο παλμός, οδηγεί στην αποδόμηση του υλικού και στην δημιουργία ενός θύλακα αερίων στη διεπιφάνεια ανάμεσα στο φιλμ απορρόφησης και στο υλικό προς εναπόθεση. Κατά την επέκταση του θύλακα αερίων λόγω της υψηλής εσωτερικής πίεσης, το υλικό προς εναπόθεση εκτοπίζεται με αποτέλεσμα την εκτύπωσή του στο υπόστρωμα αποδέκτη. Με αυτό το τρόπο, εξασφαλίζεται η διασφάλιση των ιδιοτήτων του υλικού μετά την εκτύπωση, εφόσον η οπτική ακτινοβολία του παλμού καθώς και η τοπική αύξηση της θερμοκρασίας, επηρεάζουν το υπόστρωμα απορρόφησης και όχι το προς εναπόθεση υλικό.

Η προσαρμογή της τεχνικής LIFT με τη χρήση απορροφητικού φιλμ στο υπόστρωμα δότη, αρχικά εφαρμόστηκε για την εκτύπωση χρωμάτων και ονομάστηκε Laser Ablation Transfer (LAT) [19]. Η χρήση πολυμερούς ως φιλμ απορρόφησης οδηγεί στην εκτύπωση υλικών μέσω της φωτο-αποδόμησης και θερμικής αποδόμησης του πολυμερούς. Αυτή η παραλλαγή του υποστρώματος δότη έχει εφαρμοστεί για την εκτύπωση πολυμερών όπως ζελατίνη (gelatin), μεθυλοκυτταρίνη (methylcellulose)

[21], και τριαζίνη (aryltriazene) [22], ενώ παρουσιάζεται ιδιαίτερα χρήσιμη στην εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη οργανικών ηλεκτρονικών διατάξεων.

Άλλη εναλλακτική προσαρμογή του υποστρώματος δότη για την εναπόθεση φωτοευαίσθητων υλικών συνίσταται στη δημιουργία φιλμ πολυμερικής μήτρας με εγκλείσματα του υλικού προς εναπόθεση. Η πολυμερική μήτρα αποδομείται κατά την ακτινοβόληση του στόχου με αποτέλεσμα την εκτύπωση δομών στο υπόστρωμα αποδέκτη. Η παραλλαγή αυτή της τεχνικής LIFT ονομάζεται matrix-assisted pulsed laser evaporation (MAPLE) και χρησιμοποιείται για την εκτύπωση υλικών υπό μορφή σκόνης (Ag, BaTiO₃, SrTiO₃ και Y₃Fe₅O₁₂) [23].

Η μετέπειτα χρήση μεταλλικού φιλμ απορρόφησης της ακτινοβολίας laser στο υπόστρωμα δότη θα χρησιμοποιηθεί ευρέως στην εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση υγρών και βιολογικών διαλυμάτων ενώ, ενώ λόγω προβλημάτων πρόσφυσης των στερεών υλικών προς εναπόθεση σε μεταλλικό φιλμ δεν έχει βρει εφαρμογή στην εκτύπωση στερεών.

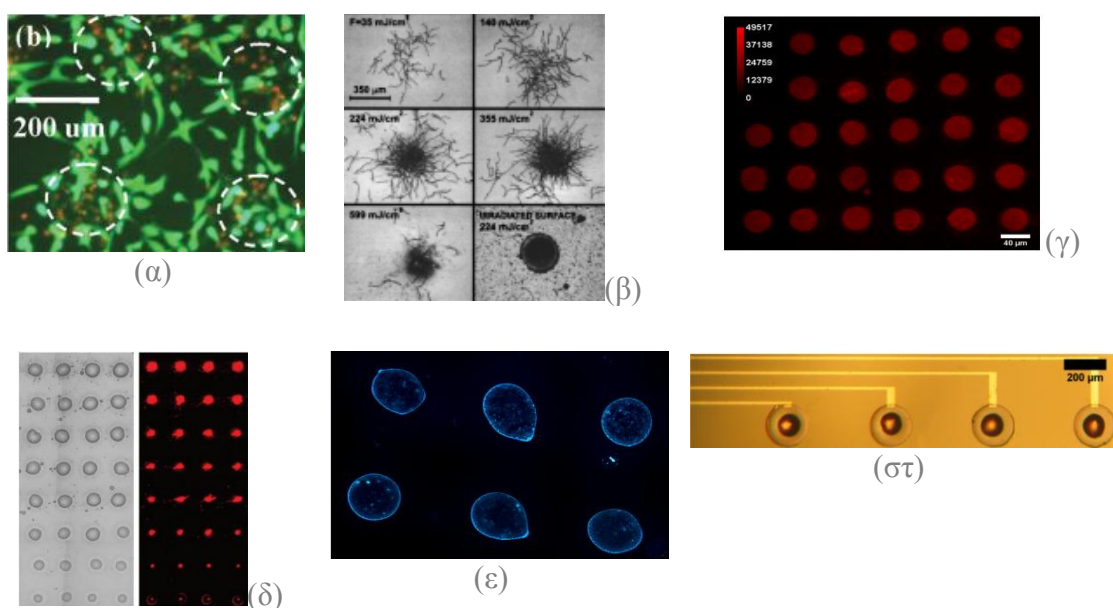
1.2 Χρήση της τεχνικής LIFT για εκτύπωση βιομορίων

Η εκτύπωση βιομορίων με laser, σε στερεή φάση καταγράφεται για πρώτη φορά το 2001 από τους Ringesein et al. [24]. Σε αυτή τη δημοσίευση επισημαίνεται ο περιορισμός στα μήκη κύματος που δύναται να απορροφήσουν τα βιομόρια, για να επιτευχθεί η εκτύπωσή τους, χωρίς τη χρήση φιλμ απορρόφησης του παλμού στο υπόστρωμα δότη. Στην δημοσίευση αυτή χρησιμοποιείται excimer laser (ArF), για την εκτύπωση πρωτεϊνών, στα 193 nm, μήκος κύματος το οποίο απορροφάται από μεγάλο εύρος υλικών. Η χρήση excimer laser σε τεχνικές εκτύπωσης δημιουργεί πολλά προβλήματα λόγω σταθερότητας και του μήκους κύματος (193 nm), το οποίο συνεπάγεται τη χρήση πολύ ακριβών οπτικών με μικρό χρόνο ζωής.

Την ίδια χρονιά επιτυγχάνεται από τους P.K. Wu et al. [25] η εκτύπωση κυττάρων, ενώ το 2002 η ίδια ομάδα κάνει χρήση παλμών laser για την εκτύπωση βακτηριδίου E. Colli [24] και η ομάδα των Karaiskou et al. [26] εκτυπώνουν μικροσυστοιχίες DNA. Όλες οι παραπάνω μελέτες αφορούν την εκτύπωση με excimer laser, βιομορίων, σε στερεή φάση, χωρίς τη χρήση ειδικού απορροφητικού φιλμ στο υπόστρωμα δότη.

Η πρώτη μελέτη εκτύπωσης βιολογικών υλικών με την χρήση φιλμ απορρόφησης του παλμού στο υπόστρωμα δότη, γίνεται το 2004 από τους Barron et al. [27]. Ως φιλμ απορρόφησης του παλμού, χρησιμοποιείται μεταλλικό φιλμ χρυσού για την εκτύπωση πρωτεΐνης (BSA) με την χρήση Nd:YAG laser. Η χρήση του φιλμ απορρόφησης του παλμού του laser στο υπόστρωμα δότη, θα εφαρμοστεί εκτενώς για την εκτύπωση βιομορίων, εφόσον έτσι εξασφαλίζεται η εκτύπωση και η λειτουργικότητα των μορίων μετά την εκτύπωση. Η χρήση απορροφητικού φιλμ, επίσης εξασφαλίζει την εκτύπωση υδατικών βιο-διαλυμάτων, τα οποία δεν απορροφούν την ακτινοβολία του laser για μεγάλο εύρος μηκών κύματος. Την ίδια χρονιά η ομάδα των Serra et al. [28] επιτυγχάνει την εκτύπωση αντιγόνου (*Treponema pallidum* 17 kDa) με την χρήση μεταλλικού φιλμ τιτανίου και Nd:YAG laser. Στις δύο παραπάνω περιπτώσεις, χρησιμοποιείται ns παλμός laser στο υπεριώδες. Σε αυτές τις μελέτες γίνεται εκτενής αναφορά για τις συνθήκες κατά τις οποίες οι εκτυπωμένες δομές αποτελούν σταγόνες, καλά σχηματισμένες, με διάμετρο και όγκο εξαρτώμενο από την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του λέιζερ.

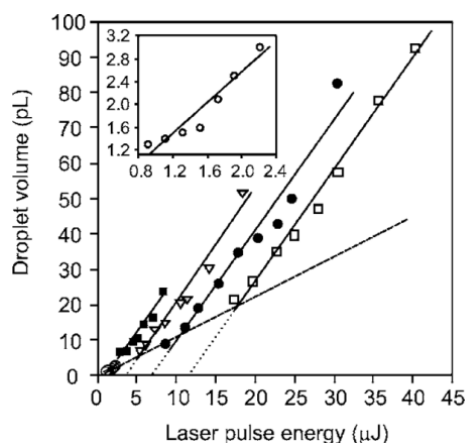
Τα πρώτα βιομόρια σε υδατικά διαλύματα, που εκτυπώνονται με λέιζερ ποικίλουν σε δομές εφόσον υπάρχουν καταγραφές για εκτυπώσεις κυττάρων [29], μικροοργανισμών [30], πρωτεϊνών [31], αντισωμάτων [32], αμινοξέων [33], ακόμη και μορίων DNA [34]. Τα βιομόρια εν συνεχεία εξετάζονται μέσω τεχνικών υβριδοποίησης ή ανοσοφθορισμού, επιβεβαιώνοντας την λειτουργικότητά τους, μετά την εκτύπωση, σε διαφόρων ειδών υποστρώματα.



Εικόνα 1. 2: Παραδείγματα εκτύπωσης με laser(α) κυττάρων [35],(β) μικροοργανισμών [36],(γ) πρωτεϊνών [37],(δ) αντισωμάτων [38], (ε) αμινοξέων [39], (στ) μορίων DNA [40].

Από το 2005 και έπειτα γίνεται εκτενείς έρευνα στα φίλμ απορρόφησης του παλμού που ενσωματώνονται στα υποστρώματα δότες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτύπωση βιομορίων (Au [41], Ti[42], TiO₂ [43]). Πρέπει να σημειωθεί ότι σε όλες τις παραπάνω μελέτες παρατηρείται ότι η χρήση του μεταλλικού φίλμ δεν είναι επιβλαβής για τα βιομόρια που εκτυπώνονται. Επιπρόσθετα, για πολύ λεπτά μεταλλικά φίλμ (nm) δεν παρατηρείται ίχνος μετάλλου στις εκτυπωμένες δομές [44]. Επίσης είναι αξιοσημείωτο ότι το πάχος του μεταλλικού φίλμ που χρησιμοποιείται στο υπόστρωμα δότη είναι πολύ μικρότερο συγκριτικά με το πάχος του φίλμ του προς εναπόθεση υλικού. Η πρώτη φορά που καταγράφεται η χρήση πολυμερικού υποστρώματος απορρόφησης του παλμού του laser για την εκτύπωση βιομορίων είναι το 2006 από τους Lippert et al., για την εκτύπωση κυττάρων [45].

Η πρώτη συσχέτιση των τεχνικών παραμέτρων εκτύπωσης, με το αποτέλεσμα της μορφολογίας των εναποτιθέμενων σταγόνων γίνεται για πρώτη φορά το 2006 από τους Colina et al. [46]. Σε αυτήν την μελέτη γίνεται διεξοδική ανάλυση της επιρροής της ενέργειας του παλμού του laser που χρησιμοποιείται για την εκτύπωση καθώς και της απόστασης του υποστρώματος δότη, από την εστιακή απόσταση του αντικειμενικού φακού, που οδηγεί στην μεταβολή του μεγέθους του ίχνους του παλμού του laser στο υπόστρωμα δότη. Συστοιχίες υγρών μικροσταγόνων (50% νερό και 50% γλυκερόλη) εκτυπώνονται για διαφορετικές εστιακές αποστάσεις του υποστρώματος δότη, και διαφορετικές ενέργειες. Για πρώτη φορά καταγράφεται η συσχέτιση της ενέργειας του παλμού του laser και το μέγεθος του ίχνους στο υπόστρωμα δότη, με το μέγεθος της εναποτιθέμενης σταγόνας. Παρατηρείται ότι αυξανόμενης της ενέργειας του παλμού καθώς και του μεγέθους του ίχνους, αυξάνεται και η διάμετρος των εκτυπωμένων δομών. Καταγράφεται επίσης ότι υπάρχει μια κρίσιμη ενέργεια του παλμού του laser, πάνω από την οποία υφίσταται η εκτύπωση σταγόνων.



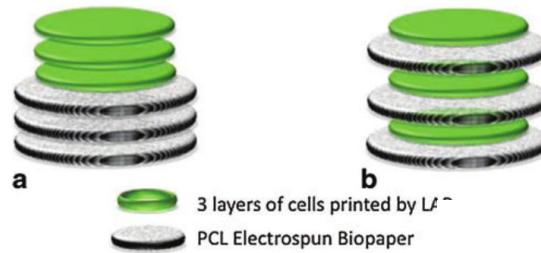
Εικόνα 1. 3: Διάγραμμα εξάρτησης του όγκου των εναποτιθέμενων σταγόνων σε σχέση με την ενέργεια του παλμού του λέιζερ και το μέγεθος του ίχνους του παλμού στο υποστρώμα δότη[47].

Αντίστοιχη μελέτη πραγματοποιείται το 2007 από τους M. Duocastella et al [47] για την εναπόθεση πρωτεϊνικού διαλύματος (10mg/mL BSA σε διαλύτη 50% νερό και 50% γλυκερόλη), όπου παρατηρούνται σταγόνες διαμέτρου έως 10 μm (μικρότερη διάμετρος). Εν συνεχεία, στη μελέτη των Dinca et al. [48] το 2008 καταγράφεται για πρώτη φορά ότι η απόσταση μεταξύ του υποστρώματος δότη και του υποστρώματος αποδέκτη των εναποτιθέμενων σταγόνων δεν αποτελεί κρίσιμη παράμετρο για την μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων. Η μελέτη αυτή γίνεται με την χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση πρωτεϊνικών διαλυμάτων διαφορετικού ιζώδους. Εκτός από το ιζώδες, μελετώνται και τεχνικοί παράμετροι της εκτύπωσης όπως η ενέργεια του παλμού, η απόσταση μεταξύ υποστρώματος δότη και αποδέκτη, η χρονική διάρκεια του παλμού, το πάχος του υποστρώματος δότη και οι ιδιότητες διαβροχής των επιφανειών που χρησιμοποιούνται ως υποστρώματα αποδέκτες. Η μελέτη αυτή επιβεβαίωσε την προαναφερθείσα μελέτη για την εξάρτηση της ενέργειας του παλμού με το μέγεθος των σταγόνων. Τα σημαντικότερα αποτελέσματα της μελέτης αυτής, αφορούν την εναπόθεση σταγόνων με ns και fs παλμούς, όπου δεν παρατηρείται διαφορά στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των σταγόνων. Επιπρόσθετα το πάχος του φιλμ του υποστρώματος δότη φαίνεται να έχει σημαντικό ρόλο στο μέγεθος των εναποτιθέμενων σταγόνων χωρίς όμως να γίνεται εκτενής ανάλυση της σχέσης που συνδέει τα δύο αυτά μεγέθη. Η εξάρτηση της μορφολογίας των εναποτιθέμενων σταγόνων από την απόσταση υποστρώματος δότη-αποδέκτη, μελετάται επίσης το 2009 από τους Serra et al. [49], ενώ το ιζώδες των βιοδιαλυμάτων επαναφέρεται στη μελέτη των S. Catros et al. το 2011 [50], όπου

επίσης επαναφέρεται και η συσχέτιση του πάχους του υγρού φιλμ στο υπόστρωμα δότη, με τη μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων.

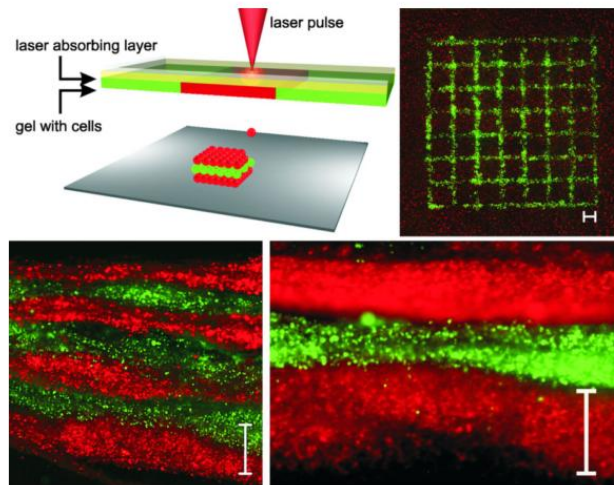
1.3 3D Εκτύπωση βιομορίων με laser

Προχωρώντας στην βιβλιογραφική ανασκόπηση της εφαρμογής της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση βιομορίων, το 2008 γίνεται η πρώτη καταγραφή εκτύπωσης κυττάρων σε γραμμές μήκους 1 mm και πλάτους 20 μm , όσο και το μέγεθος του κυττάρου [51]. Οι CM Othon et al. στην εν λόγω μελέτη κάνουν εκτύπωση κυττάρων (ensheathing cells) με σκοπό την δημιουργία τρισδιάστατων βιοδομών οι οποίες αργότερα θα εφαρμοστούν και για την ανάπτυξη βιολογικών ιστών. Το 2010 οι V. Keriquel et al. [52] χρησιμοποιούν την τεχνική LIFT για την εκτύπωση βιοπολυμερούς (Nano-hydroxyapatite), in vivo, σε εργαστηριακά ποντίκια, για την επιδιόρθωση οστικής δυσμορφίας (calvaria defect model). Η πρώτη καταγεγραμμένη προσπάθεια εκτύπωσης τρισδιάστατων βιοδομών με σκοπό την ανάπτυξη ιστών καταγράφεται το 2011 από τους R. Gaebel et al.[53, 54]. Στην μελέτη αυτή γίνεται εκτύπωση με laser ενδοθηλιακών κυττάρων (HUVEC) και βλαστοκυττάρων (hMSC) σε πολυεστερικούς δίσκους διαμέτρου 8 mm και πάχους 100 μm , με σκοπό την δημιουργία καρδιακού επιθέματος. Το επίθεμα εφαρμόστηκε σε εργαστηριακά ποντίκια παρουσιάζοντας γρήγορη ανάπτυξη του αγγειακού συστήματος. Την μελέτη για ανάπτυξη τρισδιάστατων βιο-δομών συνεχίζουν οι S. Catros et al. [55] το 2012 για την δημιουργία βιολογικών ιστών με laser. Στην εν λόγω μελέτη γίνεται τρισδιάστατη εκτύπωση κυττάρων (MG63), in vivo σε εργαστηριακά ποντίκια (NOD-SCID) και in vitro, με σκοπό την μελέτη χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser στην δημιουργία τρισδιάστατων βιο-δομών. Η τρισδιάστατη δομή όπως παρουσιάζεται στην παρακάτω *Εικόνα 1. 4* δημιουργείται με την εκτύπωση κυττάρων σε συνδυασμό με την χρήση βιο-χαρτιών υπεύθυνα για δημιουργία του κατάλληλου περιβάλλοντος (ποροσιμότητα, ακαμψία) για την ανάπτυξη των κυττάρων.



Εικόνα 1. 4: Περιγραφή του πειράματος τρισδιάστατης εκτύπωσης κυττάρων μέσω της τεχνικής εκτύπωσης με laser (Laser Assisted Bioprinting) από τους S. Catros et al.[55].

Την ίδια χρονιά οι Koch et al.[56] δημοσιεύουν την πρώτη μελέτη εκτύπωσης πολλαπλών κυτταρικών στρωμάτων για την δημιουργία επιδερμικού ιστού. Οι προηγούμενες μελέτες αναφέρονται στην εκτύπωση κυττάρων που σχηματίζουν τρισδιάστατες δομές από την πολλαπλή εκτύπωση δισδιάστατων στρωμάτων ενός είδους κυττάρων. Στην εν λόγω μελέτη είναι η πρώτη φορά που εκτυπώνονται δύο είδη κυττάρων (fibroblast cells, keratinocytes) για την ανάπτυξη βιολογικού ιστού, όπως παρουσιάζεται στην παρακάτω Εικόνα 1. 5.



Εικόνα 1. 5: Πάνω: Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης βιομορίων. Δεξιά παρουσιάζεται η κάτοψη της τρισδιάστατης τομής των εκτυπωμένων κυττάρων. Κάτω: Η Απεικόνιση μέσω μικροσκοπίας φθορισμού της τρισδιάστατης δομής των εκτυπωμένων κυττάρων. Κάθε φίλμ ίδιου χρώματος κατασκευάστηκε από τέσσερα εκτυπωμένα φίλμ ίδιων κυττάρων. Το ύψος της τελικής δομής των εκτυπωμένων κυττάρων ήταν 2 mm, με πλάτος και μήκος 10x10 mm (scale bar: 500 μm)[56].

1.4 Αρχή λειτουργίας της τεχνικής εκτύπωσης με laser

Οι πρώτη αναφορά απεικόνισης της διαδικασίας εκτύπωσης με laser, μέσω της τεχνικής LIFT καταγράφεται το 1999 από τους Nakata et al. [57], για την εκτύπωση

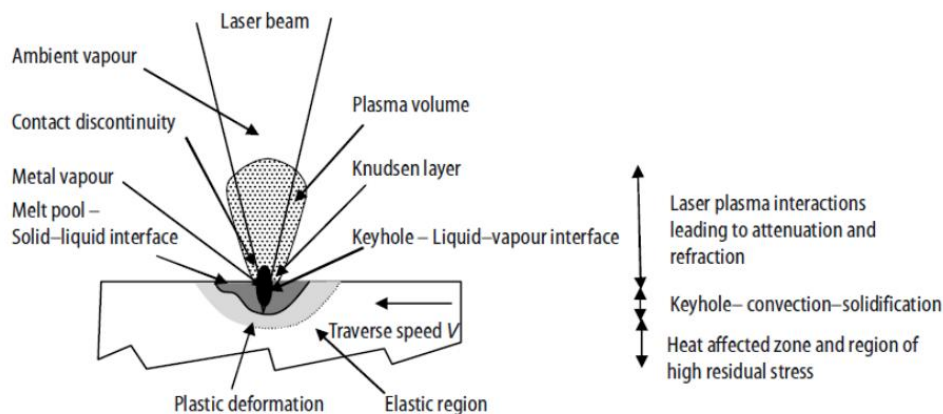
στερεών, ενώ σημαντικές αναφορές ακολουθούν το 2002 από τους Papazoglou et al. [58] και από τους Sano et al. [59]. Οι πρώτες αναφορές που καταγράφονται για την απεικόνιση εκτύπωσης υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, τα έτη 2001 και 2002 από τους Young et al. [60, 61] αφορούν την εκτύπωση ανόργανων υλικών σε μορφή πάστας, με ρεολογικές ιδιότητες πολύ διαφορετικές με αυτές των βιολογικών διαλυμάτων που κατά βάση αποτελούνται από νερό. Παρόλο που αυτή η μελέτη αποκάλυψε την διαδικασία εναπόθεσης υγρών με τη δημιουργία ενός πίδακα υγρού (jet), η τυρβώδης ροή που παρατηρήθηκε κατά την δημιουργία του jet, δεν οδηγούσε στην εκτύπωση σταγόνων με σαφή χωρικά όρια. Περεταίρω ανάλυση εκτύπωσης με laser βιο-διαλυμάτων, οδήγησε στην συσχέτιση του jet που δημιουργείται κατά την εκτύπωση μέσω της τεχνικής LIFT, με την διαδικασία εκτύπωσης μέσω της τεχνικής ink-jet [62]. Τα αποτελέσματα αυτά αποκάλυψαν ότι η εκτύπωση γίνεται μέσω μεμονωμένων σταγόνων οι οποίες ταξιδεύουν στον αέρα πριν την εναπόθεσή τους στο υπόστρωμα δέκτη [62,63]. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα απεικόνισης της εκτύπωσης υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, παρατηρείται η δημιουργία ενός μικρομετρικού πίδακα υγρού, κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη από ένα παλμικό laser. Ενώ η ρεολογική ανάλυση μικρομετρικού πίδακα υγρού, που δημιουργείται από θάλαμο υγρού είναι διεξοδικά μελετημένη [64, 65, 66, 67, 68], λίγες αναφορές υπάρχουν στην περίπτωση δημιουργίας πίδακα υγρού από λεπτό φιλμ υγρού, ύψους 1-100 μm, όπου οι δυνάμεις συνοχής του υγρού έχουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη και εξέλιξη του πίδακα. Κατά την ροή στο εσωτερικό του φιλμ υγρού, επικρατούν αδρανειακές δυνάμεις ενώ κατά την ανάπτυξη και προώθηση του πίδακα, επικρατούν δυνάμεις συνοχής των μορίων του υγρού λόγω του ιξώδους [69]. Ο μηχανισμός της δημιουργία πίδακα υγρού κατά την εκτύπωση μέσω της τεχνικής LIFT, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις ιδιότητες του υποστρώματος δότη και της παρουσίας ή απουσίας επιπλέον στρώματος απορρόφησης του παλμού. Περεταίρω ανάλυση του μηχανισμού εκτύπωσης με laser, υγρών παρατίθεται παρακάτω στο εν λόγω κεφάλαιο, όπου και γίνεται σύγκριση με πειραματικά αποτελέσματα.

1.5 Μελέτη του μηχανισμού εκτύπωσης με laser

Αλληλεπίδραση παλμών laser με υλικά

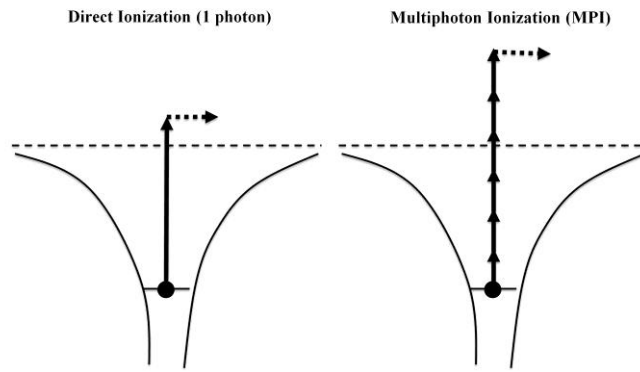
Η δυνατότητα να ελέγχεται ο ρυθμός και η ποσότητα ενέργειας που δίνεται σε ένα σύστημα κάνει τα laser ιδανικά για την διεργασία υλικών. Κατά την ακτινοβολήση

ενός υλικού με laser, ποικίλα αποτελέσματα προκαλούνται λόγω της εντοπισμένης παροχής ενέργειας και της τοπικής αύξησης της θερμοκρασίας. Τα χαρακτηριστικά του παλμού του laser, όπως η διάρκεια του παλμού, το μήκος κύματος και η πυκνότητα ενέργειάς του, σε συνδυασμό με την τοπογραφία, τις οπτικές ιδιότητες και τη δομή του υλικού, καθορίζουν τις διεργασίες που θα πραγματοποιηθούν κατά την αλληλεπίδραση του laser με το υλικό σώμα.



Εικόνα 1. 6: Φυσικές διεργασίες κατά την αλληλεπίδραση ακτινοβολίας laser με υλικά [8]

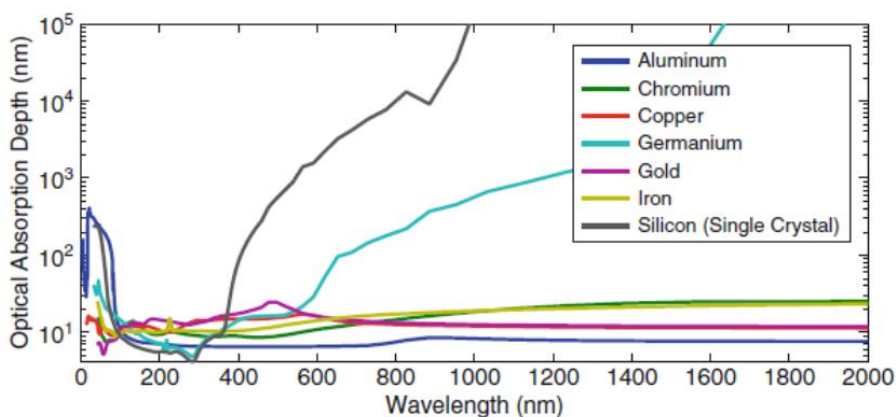
Καθώς η ακτινοβολία laser έρχεται σε επαφή με ένα υλικό, ένα ποσοστό της ακτινοβολίας θα ανακλαστεί, ενώ η υπόλοιπη ακτινοβολία θα εισέρθει στο υλικό. Κατά την ακτινοβολία ενός υλικού παρατηρούνται γραμμικά και μη γραμμικά φαινόμενα. Στην περίπτωση γραμμικών φαινομένων, ο συντελεστής απορρόφησης του υλικού καθορίζει την αλληλεπίδραση της ακτινοβολίας με το υλικό. Εάν ο συντελεστής απορρόφησης είναι ψηλός, το μεγαλύτερο ποσοστό της απορρόφησης του παλμού γίνεται στην επιφάνεια του υλικού, ενώ για μικρούς συντελεστές απορρόφησης η ακτινοβολία εισχωρεί σε μεγαλύτερα βάθη στο εσωτερικό του υλικού. Όταν η ένταση της ακτινοβολίας είναι πολύ μεγάλη, παρατηρούνται μη γραμμικά φαινόμενα [70] πολυ-φωτονικής απορρόφησης και δημιουργία πλάσματος τα οποία μπορούν να μειώσουν σημαντικά την απορρόφηση του υλικού [71]. Μη γραμμικά φαινόμενα παρατηρούνται στις περισσότερες περιπτώσεις που χρησιμοποιούνται fs παλμοί laser. Στην πολυφωτονική απορρόφηση, γίνεται η μετάβαση στη ζώνη αγωγιμότητας, από τη ζώνη σθένους, μέσω της απορρόφησης πολλαπλών φωτονίων (Εικόνα 1. 7)



Εικόνα 1. 7: Σχηματική απεικόνιση (α) μονοφωτονικής και (β) πολυφωτονικής απορρόφησης.

Εφόσον το φώς βρεθεί στο εσωτερικό του στερεού, η ένταση της ακτινοβολίας μειώνεται, με ρυθμό εξαρτώμενο από τον συντελεστή απορρόφησης $a = \frac{4\pi k}{\lambda}$. Η μείωση της έντασης της οπτικής ακτινοβολίας στο εσωτερικό του στερεού δίνεται σύμφωνα με το νόμο Beer-Lambert: $I(z) = I_0 e^{-az}$, όπου I_0 είναι η ένταση της οπτικής ακτινοβολίας μόλις το φώς μπαίνει στο υλικό (έχοντας λάβει υπόψη μόνο τις απώλειες λόγω ανακλαστικότητα).

Το οπτικό βάθος διείσδυσης της ακτινοβολίας στο μέσο, $\delta = 1/a$ (m), εκφράζει το βάθος στο οποίο η ακτινοβολία θα έχει μειωθεί κατά ένα παράγοντα $1/e$ από την αρχική ένταση της ακτινοβολίας I_0 . Στην παρακάτω Εικόνα 1. 8 παρατηρείται το οπτικό βάθος διείσδυσης, συναρτήσει του μήκους κύματος, για μεταλλικά και ημιαγώγιμα υλικά.



Εικόνα 1. 8: Οπτικό βάθος διείσδυσης συναρτήσει του μήκους κύματος [72]

Στην περίπτωση του τιτανίου, το οποίο αποτελεί το υπόστρωμα στο οποίο θα απορροφηθεί η ακτινοβολία του παλμού του laser, για τα μήκη κύματος που

χρησιμοποιούνται (266 nm και 355 nm) κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη για την εκτύπωση υγρών, το οπτικό βάθος διείσδυσης είναι $\delta_{266} = 10.4$ nm και $\delta_{355} = 9.8$ nm.

Η απορρόφηση A , ενός υλικού ορίζεται ως το πηλίκο της απορροφηθείσας ισχύος προς την προσπίπτουσα ισχύ, ενώ η ανακλαστικότητα ενός υλικού είναι $R = 1 - A$. Σε περίπτωση που το υλικό είναι διαφανές για το μήκος κύματος που το ακτινοβολεί, ένα ποσοστό της ακτινοβολίας διαπερνά το υλικό μεταβάλλοντας την ανακλαστικότητα σε $R = 1 - (A + T)$, όπου T είναι η διαπερατότητα του υλικού.

Ο δείκτης διάθλασης ενός υλικού δίνεται: $n_c = n + ik$, όπου k είναι ο συντελεστής απόσβεσης. Η ανακλαστικότητα ενός υλικού συναρτήσει του δείκτη διάθλασης δίνεται:

$$R = \frac{(n-1)^2 + k^2}{(n+1)^2 + k^2} \text{ και η απορρόφηση } A = \frac{4n}{(1+n)^2 + k^2}$$

Για μεταλλικά υλικά, η απορρόφηση της ακτινοβολίας γίνεται από τα ελεύθερα ηλεκτρόνια λόγω ακτινοβολίας πέδησης (inverse bremsstrahlung effect) [73]. Στη συνέχεια η εξέλιξη της απορροφόμενης ενέργειας, περιλαμβάνει θερμικές διεργασίες ηλεκτρονίων, μεταφορά ενέργειας στο φωτονικό πλέγμα και απώλεια ενέργειας με τη μορφή θερμότητας.

Σημαντική παράμετρος που συνδέει την πυκνότητα ηλεκτρονίων N_e με τις οπτικές ιδιότητες του υλικού είναι η συχνότητα πλάσματος: $\omega_p = \sqrt{\frac{N_e e^2}{m_e \epsilon_0}}$, όπου m_e είναι η μάζα του ηλεκτρονίου και ϵ_0 είναι η διηλεκτρική σταθερά.

Η ανακλαστικότητα του υλικού εξαρτάται από την συχνότητα του φωτός που προσπίπτει πάνω του, σύμφωνα με τη σχέση διασποράς του δείκτη διάθλασής του. Οι τυπικές τιμές ανακλαστικότητας για μεταλλικά αντικείμενα στην περιοχή ορατού φωτός κυμαίνονται μεταξύ 0.9 και 0.95, ενώ για το υπέρυθρο μεταξύ 0.9 και 0.99 [74]. Για την υπεριώδη ακτινοβολία, η ανακλαστικότητα των μετάλλων μειώνεται σημαντικά [74]. Αυτό οφείλεται στις υψηλές συχνότητες της υπεριώδους ακτινοβολίας, στις οποίες δεν μπορούν να ταλαντωθούν τα ελεύθερα ηλεκτρόνια, με αποτέλεσμα να μειώνεται δραστικά η ανακλαστικότητα του υλικού. Η ανακλαστικότητα ενός υλικού εξαρτάται επίσης από την θερμοκρασία του υλικού, κατά την ακτινοβολήσή του, η οποία προκαλεί αλλαγές στην διηλεκτρική σταθερά

του υλικού, στην δομή των χημικών δεσμών, ταλαντώσεις πλάσματος και πιθανές αλλαγές φάσης [75].

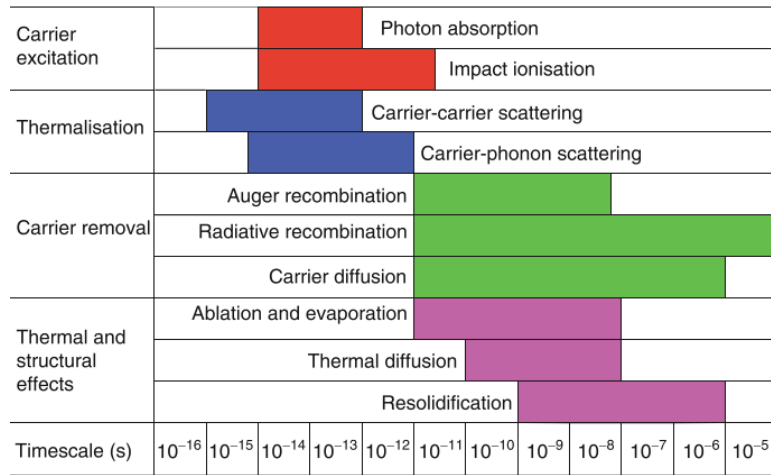
Ακτινοβόληση με ns παλμούς laser.

Τα ηλεκτρόνια ενός μετάλλου, καθώς ακτινοβολείται από ns παλμούς, διεγείρονται σε υψηλότερες ενεργειακές στάθμες, ενώ η μεγάλη χρονική διάρκεια του παλμού οδηγεί στην δημιουργία αερίου θερμών, ελεύθερων ηλεκτρονίων. Καθώς τα ηλεκτρόνια αυτά προσκρούονται σε φωτόνια, θερμαίνεται το στερεό. Ο χρόνος που γίνονται οι κρούσεις καθορίζει εάν η αλληλεπίδραση του στερεού με την ακτινοβολία διέπεται από θερμικές ή μη διεργασίες [74]. Σε θερμοκρασία δωματίου, ο μέσος χρόνος κρούσεων ηλεκτρονίων- φωτονίων είναι 10^{-14} - 10^{-13} sec [74]. Για ns παλμούς, όπου η χρονική διάρκεια του παλμού είναι μεγαλύτερη από το χρόνο κρούσεων επικρατούν θερμικές διεργασίες κατά την αλληλεπίδραση, με αποτέλεσμα να θεωρείται ότι καθώς απορροφάται η ακτινοβολία από το υλικό, μετατρέπεται απευθείας σε θερμότητα.

Ακτινοβόληση με fs παλμούς laser.

Στην περίπτωση χρήσης βραχέων παλμών fs ακτινοβολίας, όπου η χρονική διάρκεια του παλμού είναι μικρότερη του χρόνου που χρειάζεται για να επέλθει τοπική θερμοδυναμική ισορροπία, η απορρόφηση της ενέργειας των φωτονίων και η θέρμανση του υλικού είναι δυο διακριτά στάδια, που διέπονται από διεργασίες μη γραμμικής απορρόφησης.

Στην παρακάτω *Εικόνα 1. 9* παρατηρούνται οι διεργασίες που επικρατούν κατά την απορρόφηση ακτινοβολίας laser από ένα στερεό στόχο, σε σχέση με τη χρονική διάρκειά τους.



Εικόνα 1. 9: Διεργασίες που επικρατούν κατά την απορρόφηση ακτινοβολίας laser με στερεό στόχο, σε σχέση με τη χρονική διάρκεια τους. [76].

Εξίσωση διάδοσης θερμότητας

Στη μεταφορά θερμότητας, η θερμική αγωγιμότητα καθορίζεται ως η μεταφορά ενέργειας κατά την διάχυση και την κρούση σωματιδίων λόγω της διαφοράς θερμοκρασίας. Η διάδοση της θερμότητας σε ένα υλικό μπορεί να περιγραφεί σύμφωνα με το νόμο Fourier για την θερμική αγωγιμότητα [36], όπου η μεταφορά θερμότητας μέσα σε ένα υλικό είναι ανάλογη της αρνητικής κλίσης της θερμοκρασίας, υποθέτοντας πως η θερμοκρασία ρέει κάθετα στην επιφάνεια.

$$\frac{dQ}{dt} = -k\nabla T \quad \text{Εξίσωση 1. 1}$$

Όπου k (W/mK) είναι ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας, Q (W/m²) είναι η ροή θερμότητας και dQ/dt είναι ο ρυθμός ροής της θερμότητας.

Η ενέργεια που δίνεται κατά την ακτινοβολία ενός υλικού με ns laser, οδηγεί στην τοπική αύξηση της θερμοκρασίας του υλικού. Η ποσότητα της ενέργειας που δίνεται μπορεί να χαρακτηριστεί ως ενθαλπία, H . Η μεταβολή της θερμοκρασίας ΔT , λόγω μικρής μεταβολής της ενθαλπίας σε ένα σώμα δίνεται: $\Delta H = mc_p \Delta T$, όπου c_p (J/KgK) είναι η γραμμομοριακή θερμοχωρητικότητα του σώματος για σταθερή πίεση. Λαμβάνοντας υπόψη τον όγκο του υλικού, η μεταβολή της ενθαλπίας γίνεται: $\Delta H_v = \rho c_p \Delta T$, όπου ρ (kg/m³) είναι η πυκνότητα του υλικού. Το αρνητικό πρόσημο στην $dQ/dt = -k\nabla T$ Εξίσωση 1. 1, υποδηλώνει ότι η ροή θερμότητας γίνεται από θερμό σε ψυχρό μέσο. Για την διάδοση θερμότητας σε σώμα διαστάσεων μικρού όγκου, η θερμότητα μπορεί είτε να φύγει από την πλευρά του υλικού που δεν

ακτινοβολείται, είτε να αλλάξει την ενθαλπία του μέσου. Αυτό αναπαριστάται μαθηματικά με το εσωτερικό γινόμενο του ανάδελα με το ρυθμό μεταβολής της θερμότητας, εφόσον η θερμότητα είναι σχετική ποσότητα. $\nabla \cdot \frac{dQ}{dt} = -\frac{dH_v}{dt}$.

Εφόσον η πηγή ακτινοβολήσης laser του υλικού δίνει επιπρόσθετη ενέργεια στο σύστημα, η ενθαλπία μεταβάλλεται:

$$S(z, t) - \nabla \cdot \frac{dQ}{dt} = -\frac{dH_v}{dt} \xrightarrow{\frac{dQ}{dt} = -k\nabla T} -\nabla \cdot \frac{dQ}{dt} = \nabla \cdot (k\nabla T) = k\nabla^2 T + \nabla k \cdot \nabla T$$

Συμπεριλαμβανομένου και του συστήματος καρτεσιανών συντεταγμένων, η εξίσωση διάδοσης θερμότητας στις τρεις διαστάσεις ενός υλικού δίνεται:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{k}{\rho c_p} \left[\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial z^2} \right] + \frac{1}{\rho c_p} \left[\frac{\partial k}{\partial x} \cdot \frac{\partial T}{\partial x} + \frac{\partial k}{\partial y} \cdot \frac{\partial T}{\partial y} + \frac{\partial k}{\partial z} \cdot \frac{\partial T}{\partial z} \right] + \frac{S(z, t)}{\rho c_p}$$

Γνωρίζοντας από το νόμο Beer-Lambert ότι $I(z, t) = (1 - R)I_0(0, t)e^{-az}$, ο όρος που αφορά της πηγή ακτινοβολίας μεταβάλλεται σε $S(z, t) = a \cdot I(z, t)$.

Για ακτινοβολία laser ns, όπου η διάρκεια του παλμού είναι μεγαλύτερη από το μέσο χρόνο ηλεκτρονιακών κρούσεων (electron-electron collisions- 10^{-14} - 10^{-12} sec [74]) και το μέσο χρόνο σύζευξης ηλεκτρονίων-φωτονίων (electron-photon coupling- 10^{-12} - 10^{-10} sec [74]) γίνεται η παραδοχή ότι καθώς απορροφάται η ενέργεια από το υλικό μετατρέπεται εξολοκλήρου σε θερμότητα. Έτσι δίνεται στην εξίσωση διάδοσης θερμότητας η τελική μορφή:

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot (k \cdot \nabla T) + Q(x, y, t), \text{ όπου } Q(x, y, t) \text{ (W/m}^3\text{) είναι η πυκνότητα ενέργειας του laser που ακτινοβολεί το υλικό και δίνεται: } Q(x, y, t) = I(x, t) * (1 - R) * a * e^{-ax}$$

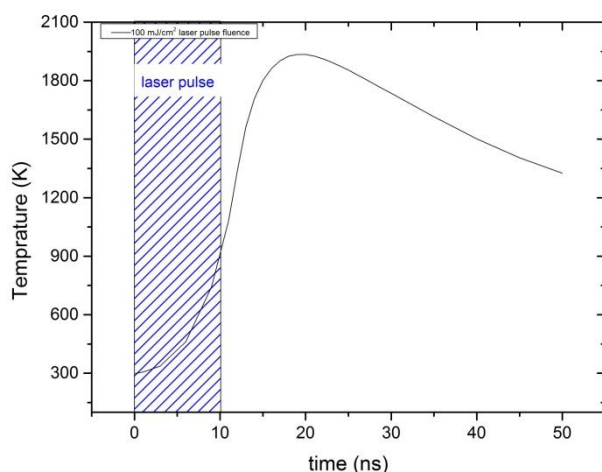
Η θερμοκρασιακή εξέλιξη κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη από ακτινοβολία laser, με χαρακτηριστικά 10 ns διάρκεια παλμού, 266 nm μήκος κύματος ακτινοβολήσης, προσομοιώθηκε για την μονοδιάστατη εξίσωση διάδοσης θερμότητας με το υπολογιστικό πακέτο Setaurus, Synopsis. Η αρχιτεκτονική του υποστρώματος δότη περιλαμβάνει ένα στρώμα χαλαζία πάχους 1 mm, με σταθερή πυκνότητα 2203 kg/cm^3 , συντελεστή απορρόφησης 10^{-5} cm^{-1} , συντελεστή ανακλαστικότητα 0.0040 γραμμομοριακή θερμοχωρητικότητα $703 \text{ J/Kg} \cdot \text{K}$ και συντελεστή θερμικής

αγωγιμότητας 1.38 W/m*K. Εν συνεχεία πάνω στο στρώμα χαλαζία, υπάρχει ένα στρώμα πάχους 40 nm τιτανίου, στο οποίο απορροφάται η ακτινοβολία του παλμού του laser. Τα χαρακτηριστικά του τιτανίου είναι: πυκνότητα 4520 Kg/cm³, συντελεστή απορρόφησης 5.96*10⁵, ανακλαστικότητα 0.256, ενώ η γραμμομοριακή θερμοχωρητικότητα και ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας δίνονται σύμφωνα με τις παρακάτω εξισώσεις:

$$C_p = -1689.3 + 5.230 T - 3.920 \times 10^{-3} T^2 + 9.826 \times 10^{-7} T^3$$

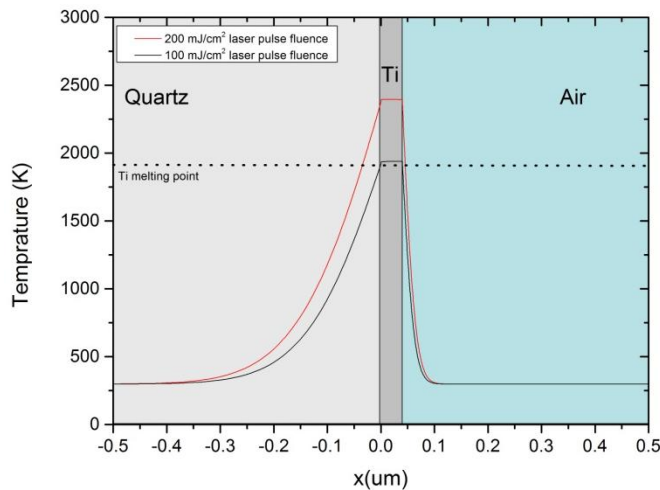
$$k = 30.16166 - 0.04165 \times T + 5.31968 \times 10^{-5} \times T^2 - 2.57651 \times 10^{-8} \times T^3 + 4.7387 \times 10^{-12} \times T^4$$

Στην αρχιτεκτονική του υποστρώματος δότη που χρησιμοποιήθηκε για την προσομοίωση της θερμοκρασιακής εξέλιξης, μετά από το φιλμ τιτανίου περιλαμβάνεται ένα στρώμα αέρα πάχους 20 μm, καθώς οι θερμοκρασίες που αναμένεται να αναπτυχθούν κατά την απορρόφηση του παλμού του laser από το στρώμα τιτανίου, ξεπερνούν το σημείο βρασμού του νερού. Για το στρώμα αέρα, η πυκνότητα που χρησιμοποιήθηκε ήταν 1.205 Kg/cm³, η γραμμομοριακή θερμοχωρητικότητα 1005 J/Kg*K και ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας 0.0257 W/m*K.



Εικόνα 1. 10: Προσομοίωση της χρονικής θερμοκρασιακής εξέλιξης στην εμπρόσθια επιφάνεια του στρώματος τιτανίου κατά την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη με το παλμό του laser. Η προσομοίωση πραγματοποιήθηκε από το υπολογιστικό πακέτο Setaurus, Synopsis.

Η προσομοίωση που παρουσιάζεται στην Εικόνα 1. 10, χρησιμοποιήθηκε για την ανεύρεση της χρονικής στιγμής κατά την οποία παρατηρείται η μέγιστη δυνατή θερμοκρασία στην εμπρόσθια επιφάνεια του τιτανίου. Η πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη είναι 100 mJ/cm².



Εικόνα 1. 11: Προσομοίωση της χωρικής θερμοκρασιακής εξέλιξης κατά την ακτινοβολή του υποστρώματος δότη με το παλμό του laser. Η προσομοίωση πραγματοποιήθηκε από το υπολογιστικό πακέτο Sientaurus, Synopsis.

Προσομοιώνοντας την θερμοκρασιακή εξέλιξη σε μια διάσταση (άξονας x), κατά την ακτινοβολή της αρχιτεκτονικής του υποστρώματος δότη, παρατηρείται η *Εικόνα 1. 11*. Η χρονική στιγμή στην οποία γίνεται η προσομοίωση είναι 19 ns, σύμφωνα με την μέγιστη θερμοκρασία που παρατηρείται στην επιφάνεια του τιτανίου. Δύο πυκνότητες ενέργειας επιλέχθηκαν για την συγκεκριμένη προσομοίωση, 100 και 200 mJ/cm². Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προσομοίωσης, οι θερμοκρασίες στις οποίες η επιφάνεια του τιτανίου για πυκνότητα ενέργειας 200 mJ/cm² ξεπερνούν το σημείο τήξης του τιτανίου, ενώ στα πρώτα 100 nm στρώματος αέρα, η θερμοκρασία επανέρχεται σε θερμοκρασία δωματίου (25° C).

Πειραματική διάταξη απεικόνισης της χρονικής εξέλιξης του μηχανισμού εκτύπωσης με laser.

Πειραματική διάταξη εκτύπωσης μικροδομών

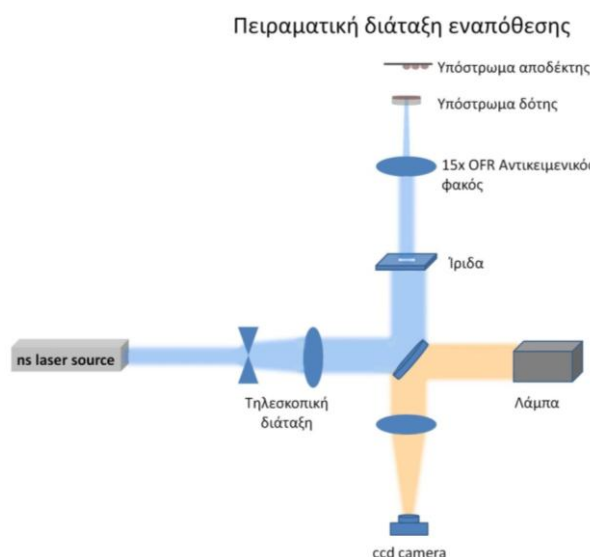
Για την εκτύπωση υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, χρησιμοποιήθηκε ένα Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet, Nd:Y₃Al₅O₁₂) laser της Litron lasers (μοντέλο NANO-L-200-10) (*Εικόνα 1. 12*) με ισχύ εξόδου 200 mJ για το μήκος κύματος της κεντρικής αρμονικής 1064 nm. Μπροστά από την οπτική κοιλότητα του laser ήταν δυνατή η προσαρμογή κρυστάλλων διπλασιασμού και τριπλασιασμού συχνότητας (2ω-532 nm, 3ω- 355nm, 4ω-266 nm), δίνοντας την δυνατότητα χρήσης παλμών laser με τέσσερα διαφορετικά μήκη κύματος. Τα πειράματα εκτύπωσης υγρών διεξάγονται με την χρήση παλμών υπεριώδους ακτινοβολίας (266, 355 nm), και χρονική διάρκεια παλμού (FWHM) 10 ns.



Model	Nano L
Stable resonators	200-10
Repetition Rate (Hz)	0-10
Output Energy (mJ)	
1064nm	200
532nm	110
355nm	40
266nm	25

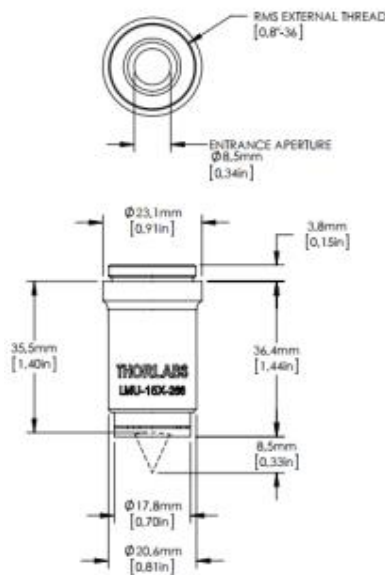
Εικόνα 1. 12: Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet) Litron laser, μοντέλο NANO-L-200-10

Κατά την έξοδο του παλμού από το laser δύο καθρέφτες ορίζουν την κατεύθυνση του παλμού και οδηγούν την δέσμη σε ένα πλακίδιο εξασθεניתή το οποίο είναι τοποθετημένο σε γωνιομετρική μηχανοκίνητη βάση που ελέγχεται μέσω ενός προγράμματος LabVIEW. ένα ποσοστό της ακτινοβολίας ανακλάται από τον εξασθεניתή, ανάλογα με την γωνία που σε σχέση με την προσπίπτουσα δέσμη, δίνοντας την δυνατότητα ελέγχου της ενέργειας του παλμού που θα χρησιμοποιηθεί για την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη. Η ακτινοβολία που διέρχεται από τον εξασθεניתή οδηγείται σε ένα σύστημα τηλεσκοπικής διάταξης, που αποτελείται από ένα αποκλίνων φακό ($f = -150 \text{ mm}$) και ένα συγκλίνων φακό ($f = + 300 \text{ mm}$), έτσι ώστε να επιτυγχάνεται μεγέθυνση της δέσμης κατά ένα παράγοντα 2. Εν συνεχεία η δέσμη κατευθύνεται μέσω δύο κατόπτρων σε μια ίριδα που χρησιμοποιείται για την απομόνωση ομοιογενούς τμήματος της δέσμης και τον ορισμό των τελικών διαστάσεων που θα έχει η δέσμη καθώς προσπίπτει στο υπόστρωμα δότη.



Εικόνα 1. 13: Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης εκτύπωσης υγρών

Ένας αντικειμενικός φακός (LMU-15X-266, OFR objective- *Εικόνα 1. 14*) χρησιμοποιείται για την απεικόνιση της ίριδας στην διεπιφάνεια του στρώματος απορρόφησης (Ti), στο υπόστρωμα δότη, το οποίο στηρίζεται σε μία μεταλλική βάση. Παράλληλα στο υπόστρωμα δότη τοποθετείται το υπόστρωμα αποδέκτης σε αντίστοιχη μεταλλική βάση, ενώ η απόσταση μεταξύ υποστρώματος δότη και αποδέκτη ορίζεται μέσω ενός μικρομέτρου τοποθετημένου στην βάση του υποστρώματος αποδέκτη. Το σύστημα στήριξης υποστρώματος δότη και αποδέκτη κινείται στους άξονες x,y, μέσω ενός προγράμματος LabVIEW το οποίο ελέγχει τη μηχανική κίνηση δύο βηματικών κινητήρων (Standa) με διακριτική ικανότητα 125 nm.

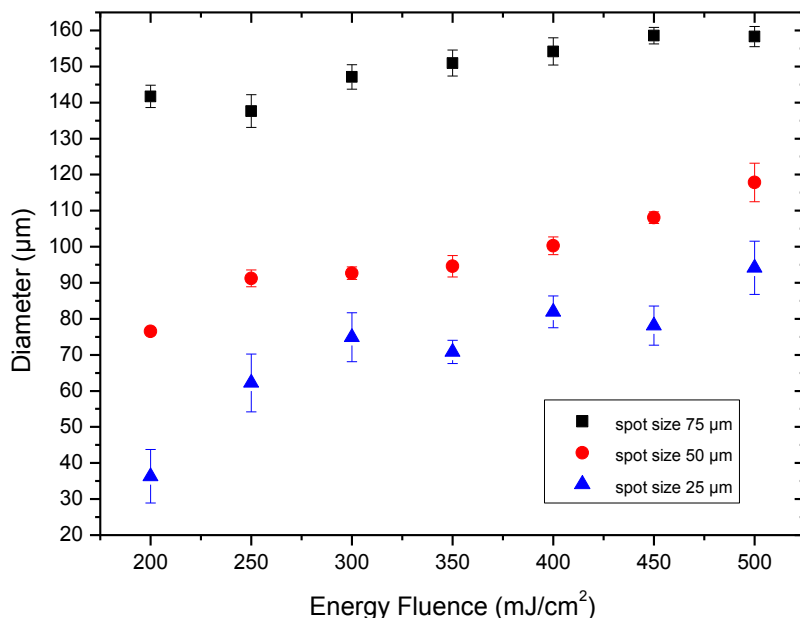


Εικόνα 1. 14: LMU-15X-266, Thorlabs OFR objective

Για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης, μια μικροσκοπική διάταξη αποτελούμενη από έναν αχρωματικό φακό ($f= 100$ mm) και μια ccd κάμερα (Unibrain 810c) τοποθετούνται στον άξονα διάδοσης της δέσμης, στο υπόστρωμα δότη, ενώ μια λάμπα αλογόνου χρησιμοποιείται για τον φωτισμό του υποστρώματος δότη.

Για την επιλογή των κατάλληλων παραμέτρων του παλμού που θα καθορίσουν τη μορφολογία του εναποτιθέμενου υλικού, γίνεται μελέτη μεταβολής του ανοίγματος της ίριδας που ορίζει και το μέγεθος της δέσμης που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη, και της πυκνότητας ενέργειας του παλμού. Όπως παρατηρείται στην παρακάτω εικόνα οι δύο αυτοί παράμετροι μαζί με το ιζώδες του υγρού προς εναπόθεση, ορίζουν το μέγεθος και την μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων.

Για την μελέτη αυτή έγινε εναπόθεση με laser, πρότυπου διαλύματος phosphate buffer, το οποίο είναι ο συνήθης διαλύτης βιομορίων, με 66 mN/m επιφανειακή τάση και $1.09 \text{ mm}^2/\text{s}$ κινηματικό ιξώδες και $1.15 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ δυναμικό ιξώδες



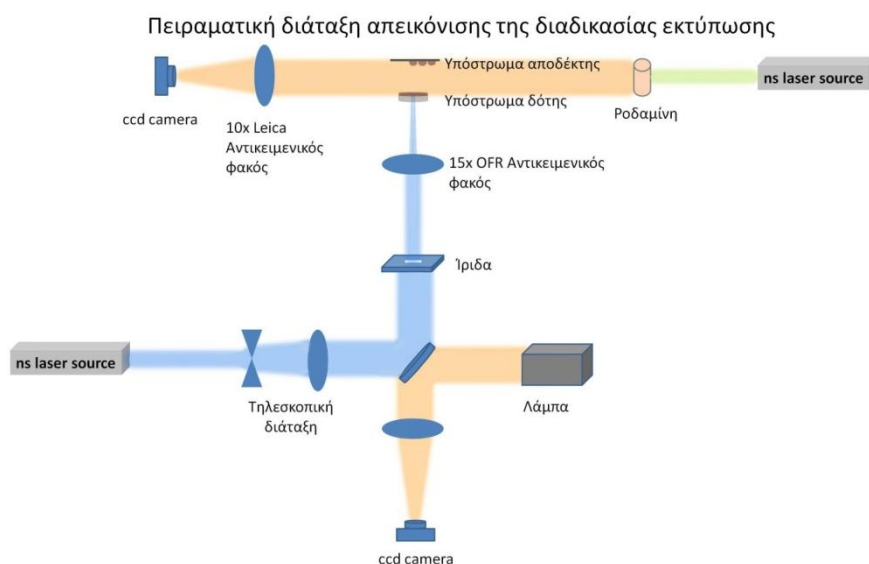
Εικόνα 1. 15: Μεταβολή της διαμέτρου των εναποτιθέμενων με laser σταγόνων, σε υποστρώματα LTO/Si, για διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας του παλμού και διαφορετικά μεγέθη της δέσμης.

Πειραματική διάταξη απεικόνισης της διαδικασίας εκτύπωσης

Η διαδικασία δημιουργίας του πίδακα υγρού και εκτύπωσης σταγόνων κρατάει κάποια μs , με αποτέλεσμα να είναι απαραίτητη η ανάπτυξη πειραματικής διάταξης καταγραφής του φαινομένου με χρονική διακριτική ικανότητα της τάξεως των ns .

Για αυτό το σκοπό δύο διαφορετικές διατάξεις αναπτύχθηκαν στο εργαστήριο Laser του τομέα Φυσικής, σύμφωνα με τις οποίες ήταν δυνατή η καταγραφή στιγμιότυπων της τάξεως των ns και μs . Η πρώτη διάταξη περιλαμβάνει τη χρήση ενός δεύτερου παλμικού laser Nd:YAG laser ($\tau = 10 \text{ ns}$, 532 nm , 110 mJ output power), το οποίο χρησιμοποιήθηκε για το φωτισμό του φαινομένου εκτύπωσης (Εικόνα 1. 16). Ο παλμός του laser φωτισμού κατευθύνεται κάθετα στον άξονα διάδοσης της δέσμης που χρησιμοποιείται για την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη, στο επίπεδο που βρίσκεται το διάκενο μεταξύ του υποστρώματος δότη και αποδέκτη (Εικόνα 1. 16). Για την αποφυγή καταγραφής φαινομένων περίθλασης, η δέσμη του δεύτερου laser οδηγείται σε φιαλίδιο που περιέχει χρωστική ουσία (ροδαμίνη B-LC 610 σε συγκέντρωση 10^{-3} - 10^{-4} M σε αιθανόλη). Κατά την αυτοδιέγερση της ροδαμίνης, εκπέμπεται φως (κορυφή εκπομπής στα 565 nm) το οποίο φωτίζει την διαδικασία εκτύπωσης. Το φως εν συνεχεία συλλέγεται από έναν αντικειμενικό φακό $10\times$ Leica, ο οποίος οδηγεί την δέσμη φωτός σε μία ccd κάμερα Unibrain 810c. Η χρονική

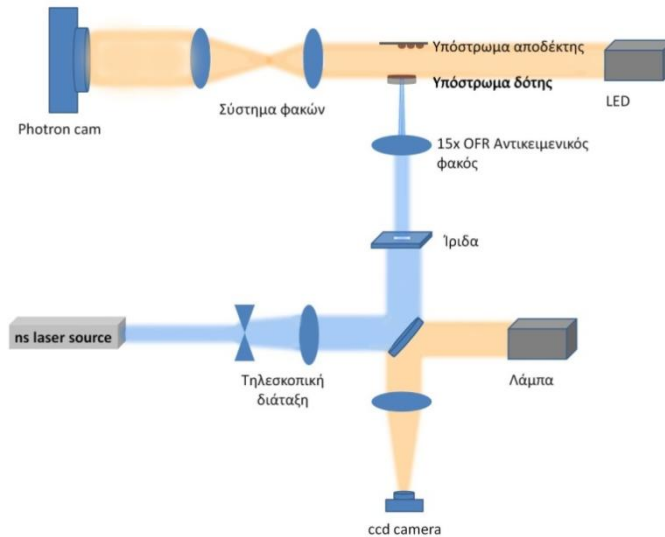
καθυστέρηση μεταξύ του laser που χρησιμοποιείται για την εκτύπωση και του laser που χρησιμοποιείται για την απεικόνιση του φαινομένου, ελέγχεται από μια παλμογεννήτρια (Stanford Research systems-Model: DG535) η οποία δίνει την δυνατότητα καταγραφής εικόνων με χρονική διακριτική ικανότητα ps.



Εικόνα 1. 16: Σχηματική απεικόνιση της διάταξης που αναπτύχθηκε για την καταγραφή του μηχανισμού εκτύπωσης με laser, υγρών.

Η δεύτερη διάταξη (Εικόνα 1. 17) περιλαμβάνει τη χρήση μιας κάμερας υψηλής ταχύτητας καταγραφής (Photron FASTCAM SA5, model: 775K-M1) με δυνατότητα καταγραφής από 1000 έως 775000 εικόνες/sec (fps), και ανάλυση από 1024x1024 έως 128x24 pixel.

Για την μεγέθυνση και απεικόνιση του ειδώλου του πίδακα που σχηματίζεται κατά την εκτύπωση υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, χρησιμοποιήθηκαν δύο συγκλίνοντες φακοί (+80 και + 500 mm), οι οποίοι τοποθετήθηκαν σε απόσταση 100 mm μεταξύ τους, ενώ ο πρώτος φακός τοποθετήθηκε σε απόσταση 90 mm μεγεθύνοντας το είδωλο κατά 3,5 φορές. Ο φωτισμός του φαινομένου εκτύπωσης έγινε με τη χρήση LED.



Εικόνα 1. 17: Σχηματική απεικόνιση της διάταξης που αναπτύχθηκε για την καταγραφή του μηχανισμού εκτύπωσης με laser, υγρών.

1.6 Μηχανισμοί εξέλιξης του φαινομένου δημιουργίας πίδακα

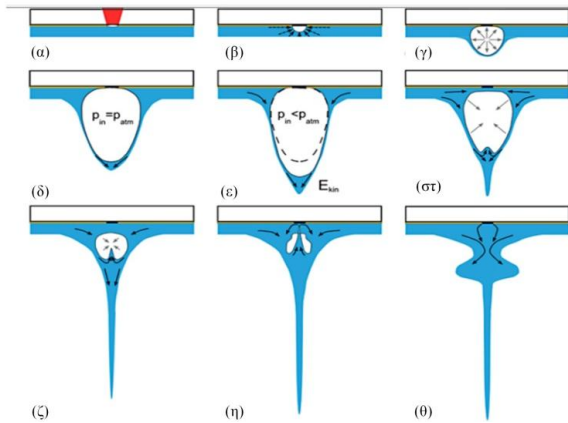
υγρού

Η τεχνική εκτύπωσης με laser (LIFT), βασίζεται στην χρήση ενός παλμικού laser για την μεταφορά υλικού από ένα υπόστρωμα δότη σε ένα υπόστρωμα αποδέκτη. Το υπόστρωμα δότη αποτελείται από ένα στρώμα διάφανο στον παλμό του laser, στο οποίο, είτε επιστρώνεται το προς εναπόθεση υλικό, είτε διαμεσολαβεί ένα λεπτό φιλμ στο οποίο γίνεται η απορρόφηση του παλμού του laser. Η τεχνική LIFT είναι μια τεχνική απευθείας εκτύπωσης μικροδομών, στην οποία δεν υπάρχει ανάγκη χρήσης μασκών και χημικών διεργασιών όπως αυτές που χρησιμοποιούνται στην φωτολιθογραφία, για την εκτύπωση υλικών, ενώ επίσης δεν γίνεται χρήση ακροφυσίων έτσι ώστε να περιορίζεται το εύρος των εκτυπώσιμων υλικών σύμφωνα με το ιξώδες.

Παρόλο που η τεχνική LIFT είναι γνωστή από το 1971 [1], η πρώτη ερευνητική εργασία που καταγράφεται για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης και την μελέτη των μηχανισμών εκτύπωσης είναι το 2006 από τους Colina et al. [77]. Στην μελέτη αυτή παρατηρείται η εκτύπωση διαλύματος 50% γλυκερόλης-νερού, και αναφέρεται για πρώτη φορά η συσχέτιση της κρίσιμης τιμής της ενέργειας του παλμού του laser (Eth), πάνω από την οποία παρατηρείται μεταφορά υλικού, με το εμβαδό της περιοχής ακτινοβολήσης (A). Ένα χρόνο αργότερα, οι Kattamis et al. [78] χρησιμοποιούν μελέτη χρονικής απεικόνισης του φαινομένου εκτύπωσης, για την

συσχέτιση των διαμέτρων των σταγόνων που εκτυπώνονται με την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser, για υπόστρωμα δότη, το οποίο αποτελείται από φιλμ πολυιμιδίου για την απορρόφηση του παλμού του laser. Η ίδια μελέτη γίνεται το 2009 από τους Duocastella et al.[79] και το 2008 από τους Dinca et al. [80] για την εκτύπωση του ίδιου διαλύματος (50% γλυκερόλη-νερό) με την χρήση στρώματος τιτανίου και χρυσού για την απορρόφηση του παλμού του laser. Το 2011 από τους Brown et al. [81] γίνεται σύγκριση της δημιουργίας πίδακα υγρού (50% γλυκερόλης-νερού) για υποστρώματα δότες με τιτάνιο και πολυιμιδιο. Την ίδια χρονιά γίνεται απεικόνιση της εκτύπωσης πολυμερικού διαλύματος υδρογέλης [82], ενώ το 2012 παρουσιάζονται για πρώτη φορά μελέτες που αφορούν την απεικόνιση του πίδακα υγρού μεταβάλλοντας την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser [83, 84]. Οι τελευταίες μελέτες απεικόνισης εκτύπωσης υγρών μέσω της τεχνικής LIFT, αφορά την εκτύπωση διαλυμάτων νανοσωματιδίων αργύρου [85, 86] με την χρήση υποστρώματος δότη με και χωρίς τιτάνιο.

Για την επεξήγηση της δημιουργίας πίδακα υγρού κατά την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη με ένα παλμό laser, είναι απαραίτητο να γίνει θεωρητική προσέγγιση της δυναμικής του θύλακα αερίων. Κατά την απορρόφηση του παλμού του laser από το υπόστρωμα δότη, παρατηρείται τοπική εξάτμιση στρώματος από το υλικό μεταφοράς [87], λόγω αύξησης της θερμοκρασίας τοπικά, πάνω από το σημείο βρασμού του υλικού, οδηγώντας στην δημιουργία θύλακα αερίων/φουσαλίδας. Η εσωτερική πίεση του θύλακα αερίων είναι πολύ μεγαλύτερη της εξωτερικής πίεσης του περιβάλλοντος (ατμοσφαιρική) και της επιφανειακής τάσης του υγρού [88], με αποτέλεσμα την αύξηση του όγκου του θύλακα. Καθώς η επέκταση της φουσαλίδας από την πλευρά του στερεού δεν είναι δυνατή, παρατηρείται επιμήκυνση της φουσαλίδας, μετατοπίζοντας την διεπιφάνεια υγρού-αέρα (*Εικόνα 1. 18γ*).

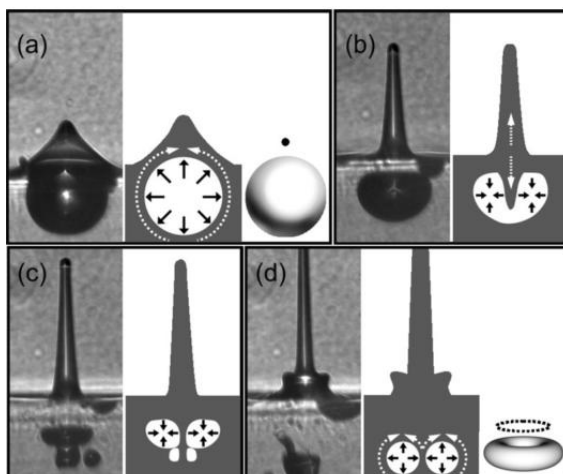


Εικόνα 1. 18: Σχηματική απεικόνιση της δυναμικής εξέλιξης της φυσαλίδας ατμών που δημιουργείται κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη από παλμούς laser [87].

Η δυναμική εξέλιξη της φυσαλίδας, περιγράφεται σύμφωνα με την εξίσωση Rayleigh-Plesset [89], όπου $R(t)$ είναι η ακτίνα της φυσαλίδας, $p_i(t)$ είναι η πίεση στο εσωτερικό της φυσαλίδας, p_∞ είναι η πίεση του περιβάλλοντος χώρου [90].

$$R\ddot{R} + \frac{3}{2}(\dot{R})^2 = \frac{1}{\rho}(\rho_i - \rho_\infty - \frac{2\gamma}{R} - \frac{4\mu}{R}\dot{R})$$

Στον πόλο της φυσαλίδας που βρίσκεται στη διεπιφάνεια υγρού-αέρα, παρατηρείται υδροστατική υψηλή πίεση η οποία είναι υπεύθυνη για τη ταυτόχρονη δημιουργία δύο συμμετρικών πιδάκων, τον εξωτερικό που κατευθύνεται προς το στρώμα αέρα και τον εσωτερικό που επεκτείνεται στο εσωτερικό της φυσαλίδας (Εικόνα 1. 19β) και οδηγεί στην κατάρρευση της κατά την εξίσωση της εσωτερικής πίεσης της φυσαλίδας με την πίεση του περιβάλλοντα χώρου [87].



Εικόνα 1. 19: Σειρά εικόνων και σχηματικών απεικονίσεων της δυναμικής επέκτασης της φυσαλίδας στο εσωτερικό ενός φιλμ υγρού. Στην εικόνα (α) παρατηρείται η δημιουργία ενός πίδακα υγρού κατά την επέκταση της φυσαλίδας στη διεπιφάνεια υγρού-αέρα, στην εικόνα (β) παρατηρείται η δημιουργία των συμμετρικών πιδάκων εσωτερικά και εξωτερικά της φυσαλίδας, στην εικόνα (γ) διαχωρισμός της φυσαλίδας σε δύο τμήματα και στην εικόνα (δ) επανεπέκταση της φυσαλίδας σε κυλινδρικού σχήματος πίδακα.

Η συμπεριφορά και των δύο πιδάκων εξαρτάται από την παράμετρο $\gamma = |z|/R_{max}$ [91], όπου z είναι το βάθος στο οποίο παράγεται η φυσαλίδα και R_{max} είναι η μέγιστη ακτίνα της φυσαλίδας. Για μικρές τιμές της παραμέτρου γ , παρατηρούνται

πίδακες με μεγάλο πάχος, ενώ καθώς αυξάνεται η τιμή του γ , παρατηρείται η δημιουργία στενότερων πιδάκων [92]. Η μεταβολή της παραμέτρου γ σε πειράματα εκτύπωσης σταγόνων με laser, μέσω της τεχνικής LIFT, γίνεται μέσω της μεταβολής της πυκνότητας ενέργειας του παλμού που χρησιμοποιείται. Καθώς αυξάνεται η πυκνότητα ενέργειας του παλμού, αναμένεται και η δημιουργία πιο βίαιου πίδακα υγρού λόγω της δημιουργίας φυσαλίδας μεγαλύτερης ακτίνας.

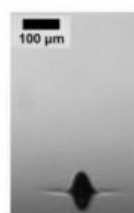
Με την βοήθεια της πειραματικής διάταξης που αναπτύχθηκε για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης (*Εικόνα 1. 16*), έγινε η συσχέτιση της πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser που χρησιμοποιείται για την εκτύπωση σταγόνων διαλύματος phosphate buffer, με την μορφολογία και την ταχύτητα εξέλιξης του πίδακα υγρού που δημιουργείται (*Εικόνα 1. 22*).

Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, παρατηρήθηκαν τέσσερις διαφορετικές περιοχές πυκνοτήτων ενέργειας, για την εκτύπωση υγρού phosphate buffer, στις οποίες είναι δυνατή η κατηγοριοποίηση της μορφολογίας του πίδακα υγρού που δημιουργείται και κατά συνέπεια του αποτελέσματος εκτύπωσης. Για υπόστρωμα δότη με στρώμα απορρόφησης του παλμού, 40 nm Ti και 20 μm φιλμ υγρού (phosphate buffer), στην *Εικόνα 1. 20* διακρίνεται ένα εύρος πυκνοτήτων ενέργειας του παλμού που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη, στο οποίο δεν παρατηρείται εκτύπωση, ένα εύρος πυκνοτήτων ενέργειας, στο οποίο γίνεται εκτύπωση σφαιρικά σχηματισμένων σταγόνων χωρίς την εύρεση περιφερικών σταγονιδίων, ένα εύρος πυκνοτήτων ενέργειας στο οποίο παρατηρείται η δημιουργία πολλαπλών πιδάκων υγρού και τέλος ένα εύρος πυκνοτήτων ενέργειας στο οποίο δεν παρατηρείται πίδακας υγρού αλλά η δημιουργία νεφελώματος που έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία ασαφών δομών.

Εικόνα 1. 20:

(α) Δεν παρατηρείται εκτύπωση υγρού

Το στιγμιότυπο της χρονικής εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer), που δημιουργείται κατά την ακτινοβόληση του υποστρώματος δότη, καταγράφεται για πυκνότητα ενέργειας 140 mJ/cm^2 , τις χρονικές στιγμές $13 \mu\text{s}$.



140 mJ/cm^2

(β) Παρατηρείται δημιουργία πίδακα υγρού, που οδηγεί σε ευδιάκριτες σταγόνες χωρίς περιφερικά σταγονίδια.

Τα στιγμιότυπα της χρονικής εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer) που δημιουργείται κατά την ακτινοβόληση του υποστρώματος δότη, καταγράφονται για πυκνότητες ενέργειας 180 mJ/cm^2 (αριστερά) και 250 mJ/cm^2 (δεξιά), τις χρονικές στιγμές $14,8 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $460 \mu\text{m}$ (αριστερά) και $10,3 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $500 \mu\text{m}$ (δεξιά).



180 mJ/cm^2



250 mJ/cm^2

(γ) Παρατηρείται δημιουργία πολλαπλών πιδάκων, που οδηγεί στην δημιουργία σταγόνων με περιφερικά σταγονίδια.

Τα στιγμιότυπα της χρονικής εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer) που δημιουργείται κατά την ακτινοβόληση του υποστρώματος δότη, καταγράφονται για πυκνότητες ενέργειας 270 mJ/cm^2 (αριστερά) και 450 mJ/cm^2 (δεξιά), τις χρονικές στιγμές $9 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $400 \mu\text{m}$ (αριστερά) και $6,4 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $400 \mu\text{m}$ (δεξιά).



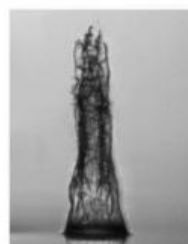
270 mJ/cm^2



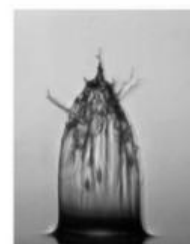
450 mJ/cm^2

(δ) Παρατηρείται δημιουργία νεφελώματος, που οδηγεί στην δημιουργία πολλαπλών σταγονιδίων.

Τα στιγμιότυπα της χρονικής εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer) που δημιουργείται κατά την ακτινοβόληση του υποστρώματος δότη, καταγράφονται για πυκνότητες ενέργειας 900 mJ/cm^2 (αριστερά) και 1400 mJ/cm^2 (δεξιά), τις χρονικές στιγμές $1,8 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $524 \mu\text{m}$ (αριστερά) και $1,8 \mu\text{s}$, με ύψος πίδακα $470 \mu\text{m}$ (δεξιά).



900 mJ/cm^2



1400 mJ/cm^2

Καθώς υπάρχουν πυκνότητες ενέργειας ακτινοβόλησης του υποστρώματος δότη, στις οποίες δεν παρατηρείται εκτύπωση σταγόνων (Εικόνα 1. 20), ορίζεται υπάρχει μια τιμή πυκνότητας ενέργειας ακτινοβόλησης του υποστρώματος δότη, πάνω από την οποία η εξέλιξη της φυσαλίδας, που δημιουργείται στο εσωτερικό του υγρού προς εναπόθεση, οδηγεί σε πίδακα υγρού. Στο στιγμιότυπο της Εικόνα 1. 20α παρατηρείται η παραμόρφωση του στρώματος του υγρού λόγω του θύλακα αερίων. Η εσωτερική πίεση του θύλακα αρχικά είναι μεγαλύτερη της εξωτερικής πίεσης και της

επιφανειακής τάσης του υγρού, ενώ στη συνέχεια οι δυνάμεις επιφανειακής τάσης και οι ιδιότητες ιξώδους του υγρού, σε συνδυασμό με την εκτόνωση της εσωτερικής πίεσης της φυσαλίδας καθώς αυξάνεται η διάμετρος της, οδηγούν σε κατάσταση ισορροπίας. Λόγω αυτής της διάχυσης ενέργειας, η ατμοσφαιρική πίεση υπερνικά την εσωτερική πίεση της φυσαλίδας, επιβραδύνοντας έτσι την παραμόρφωση του υγρού φιλμ. Κατά την μέγιστη παραμόρφωση, παρατηρείται σφαιρικό σχήμα, το οποίο υποδηλώνει την επιρροή της επιφανειακής τάσης [93]. Τέλος η φυσαλίδα υποχωρεί χωρίς την παραγωγή πίδακα υγρού. Αυξάνοντας την πυκνότητα ενέργειας ακτινοβολήσεως του υποστρώματος δότη, μεγαλύτερο ποσό ενέργειας απορροφάται, με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας στην διεπιφάνεια τιτανίου-υγρού και την αύξηση της εσωτερικής πίεσης του θύλακα αερίων που δημιουργείται. Καθώς οι ιξώδο-ελαστικές ιδιότητες του υλικού και η εξωτερική πίεση του περιβάλλοντα χώρου δεν μπορούν να υπερνικήσουν την εσωτερική πίεση [94], παρατηρείται η δημιουργία πίδακα υγρού. Η δημιουργία του πίδακα υγρού, κυρίως οφείλεται στην μεγάλη υδροδυναμική πίεση που παρατηρείται στην κορυφή του υγρού, κατά την μέγιστη παραμόρφωσή του θύλακα αερίων [95], η οποία παρατηρείται κατά την εξίσωση της εσωτερικής πίεσης του θύλακα με την εξωτερική. Όσο ο θύλακας αερίων καταρρέει, ο πίδακας υγρού κατευθύνεται προς την ελεύθερη επιφάνεια αέρα λόγω αδράνειας. Εφόσον ο πίδακας υγρού έχει δημιουργηθεί, η ο μηχανισμός εξέλιξης του φαινομένου περιγράφεται από τις ρεολογικές ιδιότητες του υγρού. Για την περιγραφή των ιδιοτήτων του υγρού, χρησιμοποιούνται τρεις αδιάστατοι αριθμοί, ο αριθμός Reynolds (Re), ο αριθμός Ohnesorge (Oh) και ο αριθμός Weber (We) [93] οι οποίοι δίνονται:

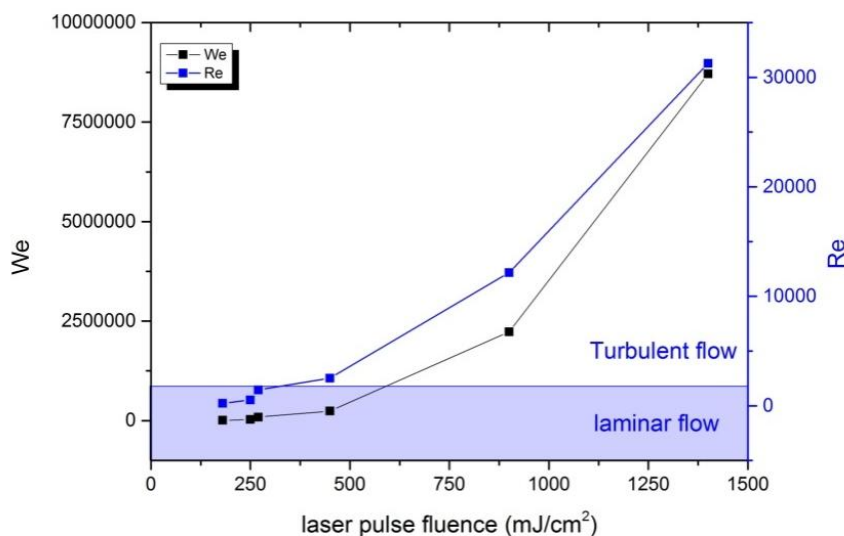
$$Re = \frac{U\rho R}{\eta}, Oh = \frac{\eta}{\sqrt{\rho\sigma R}} \text{ και } We = \frac{\rho RU^2}{\sigma}. \rho \text{ είναι η πυκνότητα του υγρού, } \sigma \text{ είναι}$$

η επιφανειακή τάση του υγρού, η είναι το δυναμικό ιξώδες του υγρού, U η ταχύτητα του πίδακα κατά την εξέλιξη του και R η ακτίνα του πίδακα. Το δυναμικό ιξώδες του υγρού (phosphate buffer), η ταχύτητα και η διάμετρος του πίδακα, υπολογίστηκαν από πειραματικές μελέτες.

Ο αριθμός Ohnesorge σχετίζεται με δυνάμεις ιξώδους, αδράνειας και επιφανειακής τάσης του υγρού, ενώ οι αριθμοί Reynolds και Weber σχετίζονται με τη δυναμική του φαινομένου εξέλιξης του πίδακα υγρού. Εφόσον στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής χρησιμοποιείται ένα πρότυπο διάλυμα (phosphate buffer) για την

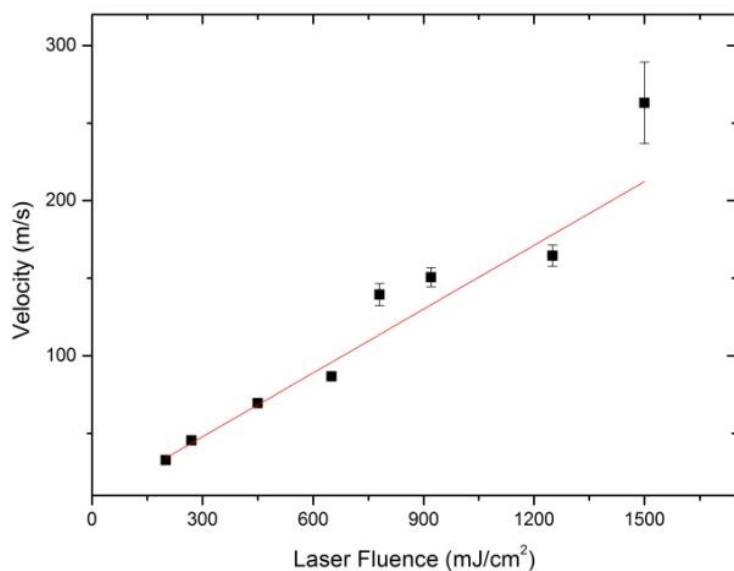
επεξήγηση των μηχανισμών εκτύπωσης σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT, η ρεολογική ανάλυση του πίδακα θα συνεχιστεί λαμβάνοντας υπόψη τους αριθμούς Reynolds και Weber, καθώς ο αριθμός Ohnesorge παραμένει σταθερός. Για αριθμούς $Re \leq 2000$ η ροή του υγρού κατά τον σχηματισμό του πίδακα θεωρείται στρωτή ενώ για $Re > 2000$ η ροή θεωρείται τυρβώδης [93]. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα της *Εικόνα 1. 22*, τυρβώδης ροή παρατηρείται για πυκνότητες ενέργειας του παλμού του laser, πάνω από 270 mJ/cm^2 , αποτέλεσμα που συμφωνεί με τα στιγμιότυπα της *Εικόνα 1. 20*.

Ο αριθμός Weber, σύμφωνα με την βιβλιογραφία χρησιμοποιείται ευρέως για την επεξήγηση ρευστο-μηχανικών συστημάτων στα οποία περιλαμβάνεται η ροή από δύο ρευστά και πάνω. Σε αυτόν τον αριθμό συσχετίζεται η αδράνεια και η επιφανειακή τάση του υγρού, συμπεριλαμβανομένης της δυναμικής του ρευστού καθώς συμπεριλαμβάνεται το τετράγωνο της ταχύτητας. Σύμφωνα με τους Zhang et al. [96] οι οποίο αναφέρονται σε αντίστοιχη ανάλυση της δυναμικής εξέλιξης πίδακα υγρού που δημιουργείται κατά την εκτύπωση με laser αλγινικών διαλυμάτων (alginate solutions), υπάρχουν τρεις διαφορετικές περιοχές εκτύπωσης, ανάλογα με τη μορφολογία του πίδακα που δημιουργείται, οι οποίες κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τους αριθμούς Weber. Για $We \leq 100$, παρατηρείται δημιουργία θύλακα αερίων στο εσωτερικό του υγρού, χωρίς την δημιουργία πίδακα υγρού. Για $100 < We \leq 1500$ παρατηρείται η δημιουργία κατευθυντικού πίδακα υγρού. Για $1500 < We \leq 35000$ παρατηρείται δημιουργία πίδακα υγρού με διάμετρο μεγαλύτερη του ίχνους του παλμού του laser στην επιφάνεια του υποστρώματος δότη (bulgy jet) χωρίς όμως την εμφάνιση περιφερικών σταγονιδίων. Τέλος για $We > 35000$ παρατηρείται νεφελώδης εκτύπωση (plume jet). Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα των Zhang et al. με τα πειραματικά αποτελέσματα εκτύπωσης του υγρού phosphate buffer (*Εικόνα 1. 22*) παρατηρείται ότι για πυκνότητες ενέργειας του παλμού 180 και 250 mJ/cm^2 (We : 9000 και 30000 αντίστοιχα) οι πίδακες που δημιουργούνται βρίσκονται στην περιοχή επιτυχούς εκτύπωσης σταγόνων, χωρίς την δημιουργία δευτερευόντων πιδάκων υγρού που οδηγούν σε περιφερικά σταγονίδια. Για πυκνότητες ενέργειας πάνω από 250 mJ/cm^2 εκτός του κεντρικού πίδακα, εμφανίζονται και δευτερόντες μικρότεροι πίδακες. Ενώ ορίζοντας μια τέταρτη περιοχή για πυκνότητες ενέργειας πάνω από 900 mJ/cm^2 (We : $2 \cdot 10^6$) παρατηρείται ροή του υγρού που οδηγεί στην εκτύπωση δομών χωρίς σαφές σχήμα και όρια.



Εικόνα 1. 21: Υπολογισμός χαρακτηριστικών αριθμών Weber και Reynolds, σύμφωνα με την πειραματική μελέτη εκτόπωσης σταγόνων υγρού phosphate buffer, μεταβάλλοντας την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη (quartz/Ti/phosphate buffer).

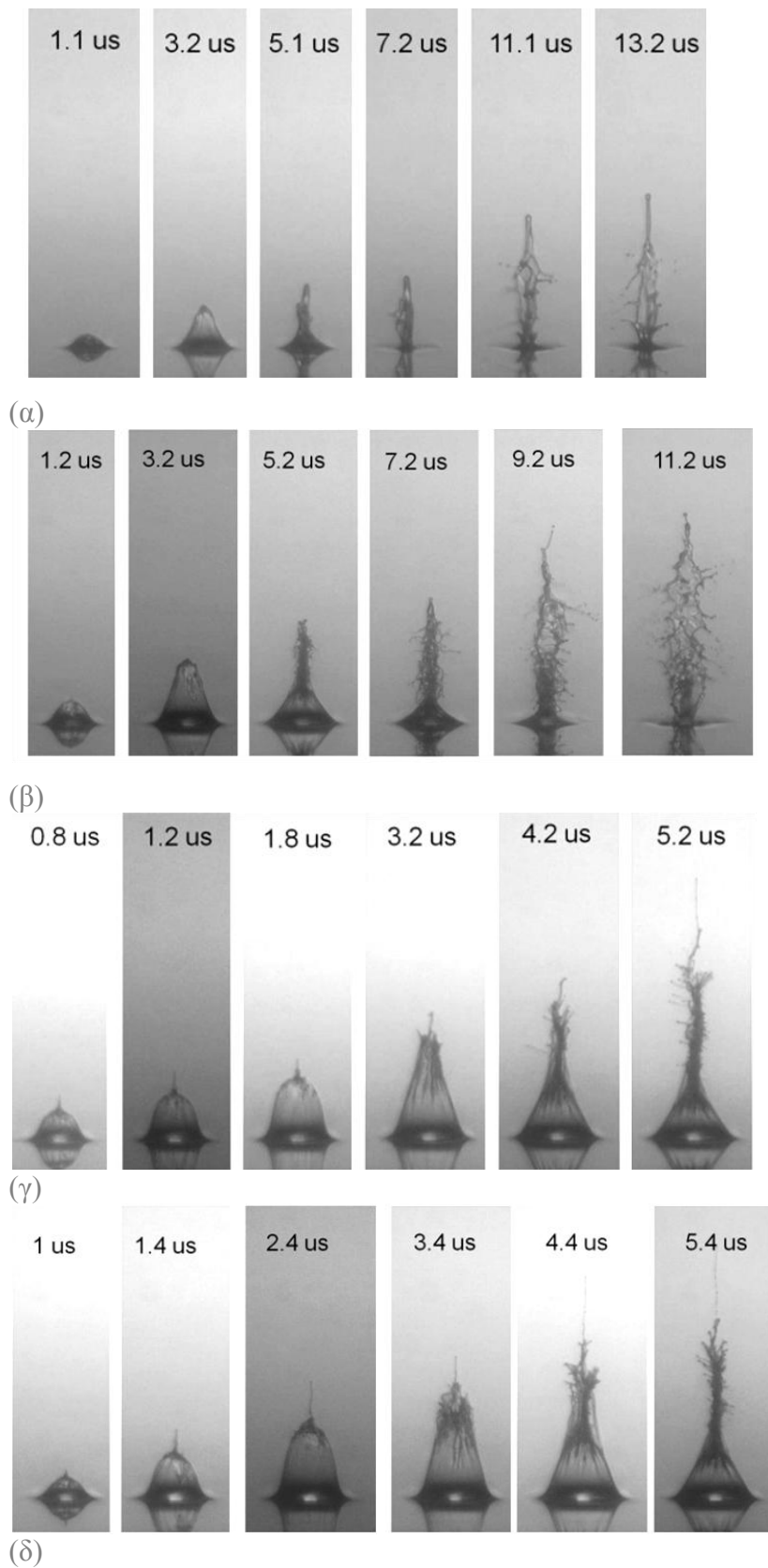
Οι αριθμοί We που καταγράφονται στην *Εικόνα 1. 21*, εξαρτώνται από το τετράγωνο της ταχύτητας πρόσκρουσης του υγρού στο υπόστρωμα αποδέκτη, η οποία λαμβάνει τιμές από 30 m/s (για πυκνότητα ενέργειας του παλμού που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη: 180 mJ/cm²), έως 250 m/s (για πυκνότητα ενέργειας του παλμού που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη: 1500 mJ/cm²), όπως παρατηρείται στην *Εικόνα 1. 22*.



Εικόνα 1. 22: Καταγραφή της ταχύτητας εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer) που δημιουργείται κατά την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη, σε σχέση με την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser.

Για πυκνότητες ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη, από 450 mJ/cm² και πάνω, παρατηρείται μεγάλο εύρος πυκνοτήτων ενέργειας και κατά συνέπεια ταχυτήτων εξέλιξης του πίδακα υγρού, που οδηγούν σε τυρβώδη ροή του πίδακα. Η μορφολογία του πίδακα υγρού για πυκνότητες ενέργειας 450 mJ/cm²

(α), 650 mJ/cm² (β), 920 mJ/cm² (γ) και 1250 mJ/cm² (δ), παρατηρείται στην *Εικόνα 1. 23.*



Εικόνα 1. 23: Στιγμιότυπα της χρονικής εξέλιξης του πίδακα υγρού (phosphate buffer) που δημιουργείται κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη με (α) 450 mJ/cm², (β) 650 mJ/cm², (γ) 920 mJ/cm² και (δ) 1250 mJ/cm².

Για πυκνότητα ενέργειας του παλμού 450 mJ/cm^2 , η εμφάνιση της φυσαλίδας παρατηρείται για χρόνο μικρότερο του $1 \text{ }\mu\text{s}$, από την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη. Στο στιγμιότυπο του $1 \text{ }\mu\text{s}$, η φυσαλίδα έχει ήδη ξεπεράσει το αρχικό στρώμα υγρού. Η δυναμική επέκταση της φυσαλίδας παρατηρείται για τη πρώτη $3,2 \text{ }\mu\text{s}$ όπου και η φυσαλίδα έχει την μέγιστη παραμόρφωσή της, ενώ στην κορυφή της φυσαλίδας παρατηρείται η αρχή δημιουργίας του πίδακα. Η κατάρρευση της φυσαλίδας παρουσιάζεται στο στιγμιότυπο των $7,2 \text{ }\mu\text{s}$. Ο πίδακας υγρού συνεχίζει να εξελίσσεται προς την ελεύθερη επιφάνεια αέρα, ενώ στο στιγμιότυπο των $11 \text{ }\mu\text{s}$ φαίνεται ένας κεντρικός ισχυρά κατευθυντικός πίδακας, με δευτερεύοντες πίδακες περιμετρικά του κεντρικού. Στα πρώτα $13,2 \text{ }\mu\text{s}$, από την ακτινοβολία του υποστρώματος δότη, το ύψος του πίδακα φτάνει τα $900 \text{ }\mu\text{m}$.

Αυξανόμενη της πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη, παρατηρείται η αποδόμηση του στρώματος τιτανίου με αποτέλεσμα την εμφάνιση πλάσματος τοπικά. Η οπτική εκπομπή του πλάσματος καταγράφεται σε όλα τα στιγμιότυπα της *Εικόνα 1. 23* για πυκνότητες ενέργειας ακτινοβολίας του υποστρώματος δότη 650 , 920 και 1250 mJ/cm^2 , ως φωτεινό σημείο στην περιοχή ακτινοβολίας του υποστρώματος δότη. Η καταγραφή του της εκπομπής του πλάσματος, παρόλο που η διάρκεια του αναμένεται μερικά ns [97], καταγράφεται στα παραπάνω στιγμιότυπα λόγω της υπέρθεσης των εικόνων που καταγράφονται στην κάμερα (ταχύτητα κλείστρου 1 ms). Λόγω της ταχείας αύξησης της θερμοκρασίας, παρατηρείται βίαιη ώθηση του υγρού προς την ελεύθερη επιφάνεια αέρα, με αποτέλεσμα την δημιουργία κωνικού (*Εικόνα 1. 23β*) ή κυλινδρικού πίδακα (*Εικόνα 1. 23γ, δ*). Στα στιγμιότυπα που καταγράφονται για την εκτύπωση υγρού phosphate buffer, με πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser 650 mJ/cm^2 , η χρονική εξέλιξη του πίδακα τα πρώτα $5 \text{ }\mu\text{s}$ παρουσιάζει ομοιότητες με την χρονική εξέλιξη του πίδακα που δημιουργείται με 450 mJ/cm^2 πυκνότητα ενέργειας του παλμού. Μετά τα πρώτα $5 \text{ }\mu\text{s}$ παρατηρείται πλήθος περιφερικών πιδάκων περιμετρικά του κεντρικού πίδακα. Προχωρώντας σε πυκνότητες ενέργειας του παλμού που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη 920 και 1250 mJ/cm^2 , καταγράφεται η δημιουργία νεφελώματος από το πρώτο μs των στιγμιότυπων που παρατηρούνται στην *Εικόνα 1. 23*. Οι ταχύτητες που παρατηρούνται από την *Εικόνα 1. 22*, ξεπερνούν τα 130 m/s , με αποτέλεσμα την εναπόθεση υγρού με πολύ υψηλές πιέσεις πρόσκρουσης του υγρού στο υπόστρωμα αποδέκτη (MPa). Οι τιμές των πιέσεων αυτές θα χρησιμοποιηθούν στα επόμενα

κεφάλαια (2 και 4) για την επεξήγηση των μηχανισμών μεταβολής των ιδιοτήτων διαβροχής επιφανειών, που θα οδηγήσουν στην χρήση της τεχνικής LIFT για την απευθείας ακινητοποίηση βιομορίων σε επιφάνειες αισθητήρων και ως μέθοδο χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών.

Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο αρχικά γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση της έρευνας που έχει διεξαχθεί στην τεχνική εκτύπωσης με laser, LIFT για την εκτύπωση βιολογικών διαλυμάτων. Στην εν λόγω μελέτη παρουσιάζονται και πρόσφατες έρευνες στις οποίες φαίνεται η τάση χρήση της τεχνικής για την δημιουργία τρισδιάστατων δομών. Εν συνεχεία στα πλαίσια της βιβλιογραφικής μελέτης γίνεται επεξήγηση των μηχανισμών που επικρατούν κατά την εκτύπωση σταγόνων διαλυμάτων. Για την ανάλυση των μηχανισμών γίνεται ανάλυση των μηχανισμών απορρόφησης του παλμού του laser από υλικά, καθώς και της διάδοσης θερμότητας κατά την απορρόφηση του παλμού του laser από το λεπτό φιλμ τιτανίου του υποστρώματος δότη. Στο υποκεφάλαιο μηχανισμών δημιουργίας και εξέλιξης του πίδακα υγρού που οδηγεί στην εκτύπωση σταγόνων σε υποστρώματα αποδέκτες, εκτός από την βιβλιογραφική μελέτη παρατίθεται και πειραματική απεικόνιση του φαινομένου, από εικόνες που καταγράφηκαν μέσω της πειραματικής διάταξης που αναπτύχθηκε, για την απεικόνιση του φαινομένου εκτύπωσης.

Αναφορές

- [1] Brisbane AD (1971) Pattern deposit by laser. United States Patent 3,560,258
- [2] Bohandy J, Kim BF, Adrian FJ (1986), *J Appl Phys* 60:1538–1539
- [3] Bohandy J, Kim BF, Adrian FJ et al (1988), *J Appl Phys* 63:1158–1162
- [4] Schultze V, Wagner M (1991), *Appl Surf Sci* 52:303–309.
- [5] Kántor Z, Tóth Z, Szörényi T (1992), *Appl Phys A* 54:170–175.
- [6] Kántor Z, Szörényi T (1995), *J Appl Phys* 78:2775–2781.
- [7] Zergioti I, Mailis S, Vainos NA et al (1998a), *Appl Surf Sci* 127–129:601–605.
- [8] Sano T, Yamada H, Nakayama T et al (2002), *Appl Surf Sci* 186:221–226.
- [9] Willis DA, Grosu V (2005), *Appl Phys Lett* 86:244103/1-8.
- [10] Claeysens F, Klini A, Mourka A et al (2007), *Thin Solid Films* 515:8529–8533.
- [11] Greer JA, Parker TE (1988), *SPIE Proc* 998:113–125
- [12] Papakonstantinou P, Vainos NA, Fotakis C (1999), *Appl Surf Sci* 151:159–170.
- [13] Zergioti I, Mailis S, Vainos NA et al (1998b), *Appl Phys A* 66:579–582.
- [14] Chakraborty S, Sakata H, Yokoyama E et al (2007), *Appl Surf Sci* 254:638–643
- [15] Adrian FJ, Bohandy J, Kim BF et al (1987), *J Vac Sci Technol B* 5:1490–1494
- [16] P. Serra, M. Duocastella, and J. L. Morenza, (2010), “Cell and Organ Printing,” pp. 53–80.
- [17] Tamada H, Sano T, Nakayama T et al (2002), *Appl Surf Sci* 197–198:411–415, 44.
- [18] H. Esrom, J.-Y. Zhang, U. Kogelschatz, A.J. Pedraza, (1995) " New approach of a laser-induced forward transfer for deposition of patterned thin metal films ", *Appl. Surf. Sci.* 86, 202
- [19] Tolbert WA, Lee IYS, Doxtader MM et al (1993), *J Imaging Sci Tech* 37:411–422, 45.
- [20] Tolbert WA, Lee IYS, Wen X et al (1993b), *J Imaging Sci Tech* 37:485–489
- [21] Fardel R, Nagel M, Nüesch FA et al (2007a), *Appl Surf Sci* 254:1322–1326
- [22] Fardel R, Feurer P, Lippert T et al (2007b), *Appl Surf Sci* 254:1332–1337
- [23] Zhang C, Liu D, Mathews SA et al (2003) *Microelectron Eng* 70:41–49
- [24] B.R. Ringeisen, D.B. Chrisey, A. Piqué, D. Krizman, M. Brooks, B. Spargo, R. Auyeng, P.Wu, (2002), *Biomaterials*, 23:161–166.
- [25] Wu, P. K., Ringeisen, B. R., Callahan, J., Brooks, M., Bubb, D. M., Wu, H. D., Chrisey, D. B. (2001), *Thin Solid Films*, 398-399, 607–614.
- [26] Karaiskou, A., Zergioti, I., Fotakis, C., Kapsetaki, M., and Kafetzopoulos, D. (2003), *Appl. Surf. Sci.*, 208-209:245–249.
- [27] Barron J.A., Ringeisen B.R., Kim H., Spargo B.J., Chrisey D.B., (2004c) *Thin Solid Films* 453-454 383
- [28] Serra P, Fernández-Pradas JM, Berthet FX (2004a), *Appl. Phys. A*, 85(9):1639–1641.
- [29] Ringeisen B.R., Othon C.M., Barron J.A., Young D., Spargo B.J, (2006) *Biotechnol. J.* 1: 930
- [30] B.Hopp, Smausz, T., Barna, N., Vass, C., Antal, Z., Kredics, L., and Chrisey, D. (2005), *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 38:833–837.
- [31] Boutopoulos C., Andreakou P., Kafetzopoulos D., Chatzandroulis S., Zergioti I, (2008b) *Phys. Stat. Sol. (a)* 205: 2505
- [32] Duocastella M, Colina M, Fernández-Pradas JM (2008a) *JLMN* 3:1–4
- [33] Dinca, V., Kasotakis, E., Catherine, J., Mourka, A., Mitraki, A., Popescu, A., Fotakis, C. (2007). *Applied Surface Science*, 254(4), 1160–1163.
- [34] M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, and I. Zergioti, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 278, pp. 250–254, 2013.
- [35] Ringeisen B.R., Othon C.M., Barron J.A., Young D., Spargo B.J, (2006) *Biotechnol. J.* 1: 930
- [36] Hopp B., Smausz T., Antal Z., Kresz N., Bor Z., Chrisey D, (2004) *J. Appl. Phys.* 96: 3478
- [37] Boutopoulos C., Andreakou P., Kafetzopoulos D., Chatzandroulis S., Zergioti I, (2008b) *Phys. Stat. Sol. (a)* 205: 2505

-
- [38] Duocastella M, Colina M, Fernández-Pradas JM et al (2008a) *JLMN* 3:1–4
- [39] Dinca, V., Kasotakis, E., Catherine, J., Mourka, A., Mitraki, A., Popescu, A., Fotakis, C. (2007). *Applied Surface Science*, 254(4), 1160–1163.
- [40] M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, and I. Zergioti, (2013) *Appl. Surf. Sci.*, 278: 250–254.
- [41] Dinca V, Farsari M, Kafetzopoulos D et al (2008b), *Thin Solid Films* 516:6504–6511
- [42] Serra P, Fernández-Pradas JM, Colina M et al (2006) *JLMN* 1:236–242
- [43] Barron JA, Young HD, Dlott DD et al (2005a) *Proteomics* 5:4138–4144
- [44] Fernández-Pradas JM, Colina M, Serra P et al (2004a) *Thin Solid Films* 453–454:27–30
- [45] Doraiswamy A, Narayan RJ, Lippert T et al (2006), *Appl Surf Sci* 252:4743–4747, 49.
- [46] Colina, M., Duocastella, M., Fernández-Pradas, J. M., Serra, P., & Morenza, J. L. (2006), *Journal of Applied Physics*, 99(8), 084909.
- [47] Duocastella, M., Colina, M., Fernandezpradas, J., Serra, P., & Morenza, J. (2007), *Applied Surface Science*, 253(19), 7855–7859.
- [48] Dinca V., Farsari M., Kafetzopoulos D., Popescu A., Dinescu M., Fotakis C., (2008b) *Thin Solid Films* 516: 6504
- [49] Serra, P., Duocastella, M., Fernández-Pradas, J. M., & Morenza, J. L. (2009). *Applied Surface Science*, 255(10), 5342–5345.
- [50] Catros, S., Guillotin, B., Bačáková, M., Fricain, J.-C., & Guillemot, F. (2011). *Applied Surface Science*, 257(12), 5142–5147.
- [51] Othon, C. M., Wu, X., Anders, J. J., & Ringeisen, B. R. (2008). *Biomedical Materials* (Bristol, England), 3(3), 034101.
- [52] Keriquel, V., Guillemot, F., Arnault, I., Guillotin, B., Miraux, S., Amédée, J., Catros, S. (2010). *Biofabrication*, 2(1), 014101.
- [53] Gruene, M., Deiwick, A., Koch, L., Schlie, S., Unger, C., Hofmann, N., Chichkov, B. (2011). *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 17(1), 79–87.
- [54] Gaebel, R., Ma, N., Liu, J., Guan, J., Koch, L., Klopsch, C., Steinhoff, G. (2011). *Biomaterials*, 32(35), 9218–30.
- [55] Catros, S., Guillemot, F., Nandakumar, A., Ziane, S., Moroni, L., Habibovic, P., Fricain, J.-C. (2012), *Tissue Engineering. Part C, Methods*, 18(1), 62–70.
- [56] Koch, L., Deiwick, A., Schlie, S., Michael, S., Gruene, M., Coger, V., Chichkov, B. (2012) *Biotechnology and Bioengineering*, 109(7), 1855–63.
- [57] Nakata Y, Okada T (1999), *Appl Phys A* 69:S275–S278
- [58] Papazoglou DG, Karaiskou A, Zergioti I et al (2002), *Appl Phys Lett* 81:1594–1596
- [59] Sano T, Yamada H, Nakayama T et al (2002), *Appl Surf Sci* 186:221–226
- [60] Young D, Auyeung RCY, Piqué A et al (2001), *Appl Phys Lett* 78:3169–3171
- [61] Young D, Auyeung RCY, Piqué A et al (2002), *Appl Surf Sci* 197–198:181–187
- [62] Barron JA, Young HD, Dlott DD et al (2005a), *Proteomics* 5:4138–4144 23.
- [63] Vo-Dinh T, Cullum B (2000), *Fresenius J Anal Chem* 366 :540–551
- [64] Blake JR, Gibson DC (1987) *Annu Rev Fluid Mech* 19:99–123
- [65] Zeff BW, Kleber B, Fineberg J, Lathrop DP (2000) *Nature* 403(6768):401–404
- [66] Duchemin L, Popinet S, Josserand C, Zaleski S (2002), *Phys Fluids* 14(9):3000– 3008
- [67] Antkowiak A, Bremond N, Le Dize`s S, Villermaux E (2007), *J Fluid Mech* 577:241–250
- [68] Gekle S, Gordillo JM, van der Meer D, Lohse D (2009), *Phys Rev Lett* 102(3): 034502
- [69] M. S. Brown, N. T. Kattamis, and C. B. Arnold, (2011) *Microfluid. Nanofluidics*, 11(2): 199–207.
- [70] N. Ghofraniha, C. Conti, G. Ruocco, S. Trillo, (2007) *Phys. Rev. Lett.* 99(4)
- [71] W. Staudt, S. Borneis, K.D. Pippert, (1998) *Phys. Status Solidi A Appl. Res.* 166(2): 743
- [72] M. S. Brown and C. B. Arnold, (2010) “*Laser Precision Microfabrication*,” Springer Ser. Mater. Sci., 135 (0933–03391): 120.
- [73] B.N. Chichkov, C. Momma, S. Nolte, F. von Alvensleben, A. Tunnermann, " Femtosecond, picosecond and nanosecond laser ablation of solids" (1996) *Appl. Phys. AMater. Sci. Process.* 63(2): 109-115.

-
- [74] D. Bäuerle, *Laser Processing and Chemistry* (Springer, Berlin, 2000)
- [75] J. Heller, J.W. Bartha, C.C. Poon, A.C. Tam, (1999) *Appl. Phys. Lett.* 75(1), 43.
- [76] . D.R. Lide, (2001) *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 82nd edn.
- [77] M. Colina, M. Duocastella, J. M. Fern´andez-Pradas, P. Serra, and J. L. Morenza. (2006) *J. Appl. Phys.*, 99(8):084909.
- [78] N. T. Kattamis, P. E. Purnick, R. Weiss, and C. B. Arnold. (2007) *Appl. Phys. Lett.*, 91(17):171120.
- [79] M. Duocastella, J. M. Fernandez-Pradas, J. L. Morenza, and P. Serra. (2009) *J. Appl. Phys.*, 106(8):084907.
- [80] V. Dinca, M. Farsari, D. Kafetzopoulos, A. Popescu, M. Dinescu, and C. Fotakis. , (2008). *Thin Solid Films*, 516(18):6504–6511
- [81] M. S. Brown, N. T. Kattamis, and C. B. Arnold. , (2011) *Microfluid Nanofluid*, 11(2):199– 207.
- [82] M. Gruene, C. Unger, L. Koch, A. Deiwick, and B. Chichkov. (2011) *Biomed. Eng. Online*, 10(1):19.
- [83] J. Yan, Y. Huang, C. Xu, and D. B. Chrisey. (2012) *J. Appl. Phys.*, 112(8):083105.
- [84] V. Dinca, A. Patrascioiu, J. M. Fernandez-Pradas, J. L. Morenza, and P. Serra. (2012) *Appl. Surf. Sci.*, 258(23):9379–9384.
- [85] C. Boutopoulos, I. Kalpyris, E. Serpetzoglou, and I. Zergioti. (2014) *Microfluid Nanofluid*, 16(3):493–500.
- [86] S. A. Mathews, R. C. Auyeung, H. Kim, N. A. Charipar, and A. Pique.. (2013) *J. Appl. Phys.*, 114(6):064910.
- [87] C. Unger, M. Gruene, L. Koch, J. Koch, and B. N. Chichkov, (2010) *Appl. Phys. A*, 103(2): 271–277.
- [88] C. M, “Bioprinting by laser-induced forward transfer for tissue engineering applications : jet formation modeling,” vol. 014103, 2010.
- [89] L. Rayleigh. On the pressure developed in a liquid during the collapse of a spherical cavity. *Philos. Mag.*, 34:pp. 94–98, 1917.
- [90] M. S. Plesset and A. Prosperetti. Bubble dynamics and cavitation. *Annu. Rev. Fluid Mech.*, 9:145–85, 1977.
- [91] Blake JR, Gibson DC (1987) Cavitation bubbles near boundaries. *Annu Rev Fluid Mech* 19:99–123
- [92] Pearson A, Cox E, Blake JR, Otto SR (2004) Bubble interactions near a free surface. *Eng Anal Bound Elem* 28:295–313
- [93] M. Ali, E. Pages, A. Ducom, A. Fontaine, and F. Guillemot, (2014) *Biofabrication*, 6(4): 045001.
- [94] Robinson P B, Blake J R, Kodama T, Shima A and Tomita Y. (2001), *J. Appl. Phys.* 89: 8225–37.
- [95] Mezel C, Hallo L, Souquet A, Breil J, Hebert D and Guillemot F (2009) *Phys. Plasmas* 16: 12311212.
- [96] Z. Zhang, R. Xiong, R. Mei, Y. Huang, and D. B. Chrisey, (2015), *Langmuir* , 31: 6447–6456.
- [97] Takada N, Nakano T and Sasaki K, (2009), *Appl. Surf. Sci.* 255 9572

Κεφάλαιο 2. Ανάπτυξη βιο-αισθητήρων με την τεχνική εκτύπωσης με laser (LIFT).

Στο κεφάλαιο αυτό θα γίνει ανάλυση της χρήσης της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT, για την εκτύπωση και ακινητοποίηση βιομορίων με σκοπό την ανάπτυξη βιοαισθητήρων. Δύο διαφορετικές δομές αισθητήρων αναπτύσσονται στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής και περιγράφονται στο εν λόγω κεφάλαιο. Αρχικά παρατίθεται η μελέτη εκτύπωσης ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων με σκοπό την δημιουργία χωρητικού αισθητήρα για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων σε υδατικά διαλύματα. Οι αλληλουχίες που χρησιμοποιούνται αποτελούν τεχνητές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων, οι οποίες έχουν κατασκευαστεί με τη μέθοδο SELEX. Η εκτύπωση των ολιγονουκλεοτιδίων γίνεται σε υπέρλεπτες μεμβράνες (500 nm πάχους) οξειδίου του πυριτίου, οι οποίες αποτελούν τον εύκαμπτο οπλισμό ενός πυκνωτή, ενώ οι αντιδράσεις που λαμβάνουν μέρος κατά την ιόντων βαρέων μετάλλων (Pb^{+2}) οδηγεί σε μετρήσιμη μεταβολή χωρητικότητας.

Στο δεύτερο μέρος του κεφαλαίου αυτού, παρουσιάζεται η ανάπτυξη αμπερομετρικού αισθητήρα φαινολικών ενώσεων, με σκοπό το ποιοτικό έλεγχο τροφίμων. Για αυτή την εφαρμογή αυτή, η τεχνική εκτύπωσης με laser, LIFT χρησιμοποιείται ταυτόχρονα για την εναπόθεση και ακινητοποίηση του βιομορίου ανιχνευτή που αποτελεί το ένζυμο της λακκάσης. Η ιδιότητα αυτή χρήσης της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT για την ακινητοποίηση βιομορίων, οφείλεται στις υψηλές ταχύτητες εξέλιξης του πίδακα υγρού, που παρουσιάστηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο. Τέλος γίνεται ανάλυση των μηχανισμών μεταβολής των ιδιοτήτων διαβροχής υδρόφοβων και υπερυδρόφοβων επιφανειών. Η μετάβαση από μια κατάσταση μερικής διαβροχής μιας επιφάνειας από ένα υγρό, σε κατάσταση πλήρους διαβροχής, οδηγεί στην φυσική προσρόφηση των βιομορίων και στην ακινητοποίησή τους.

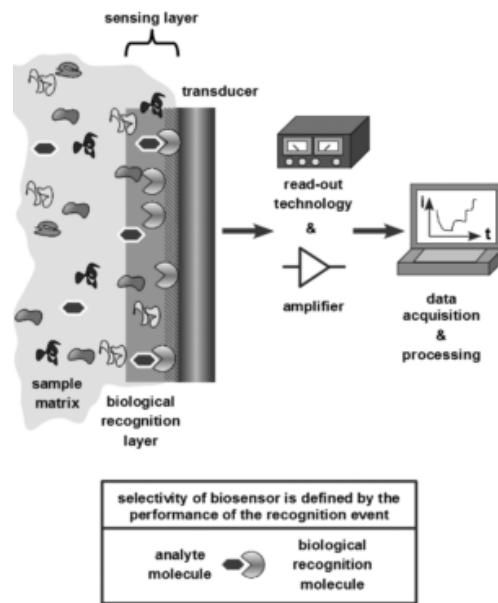
Βιοαισθητήρας είναι μια αναλυτική συσκευή η οποία μετατρέπει μια βιολογική αντίδραση σε ένα ηλεκτρικό σήμα. Ο όρος «βιοαισθητήρας» εισήχθη το 1999-2001 από το IUPAC [1, 2, 3] και συχνά χρησιμοποιείται για να καλύψει συσκευές αισθητήρων που χρησιμοποιούνται προκειμένου να προσδιοριστεί η συγκέντρωση των ουσιών και άλλων παραμέτρων βιολογικού ενδιαφέροντος, ακόμη και όταν δεν χρησιμοποιούνται άμεσα σήματα από βιολογικές αντιδράσεις. Οι βιοαισθητήρες αντιπροσωπεύουν ένα ταχύτατα αναπτυσσόμενο τομέα, με περίπου το 60 % ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης. Ο κύριος τομέας της βιομηχανίας που

επενδύει σε βιοαισθητήρες είναι αυτός της υγειονομικής περίθαλψης (π.χ. 6% του δυτικού κόσμου είναι διαβητικοί επωφελούνται από την ύπαρξη βιοαισθητήρα της γλυκόζης), ευρεία εφαρμογή βρίσκουν οι βιοαισθητήρες στον έλεγχο ποιότητας τροφίμων και σε περιβαλλοντολογικούς ελέγχους. Η εκτιμώμενη παγκόσμια αγορά βιοαισθητήρων είναι περίπου 12 δισεκατομμύρια/ χρόνο εκ των οποίων το 30% καταναλώνεται σε βιοαισθητήρες στοχευόμενους για υγειονομική περίθαλψη. Η έρευνα και η ανάπτυξη στον τομέα αυτό είναι ευρεία και διεπιστημονική, καθώς εκτείνεται σε τομείς όπως βιοχημεία, φυσική, χημεία, ηλεκτροχημεία και προγραμματισμό. Το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων, αφορά ποτενσιομετρικούς, αμπερομετρικούς και χρωματομετρικούς αισθητήρες.

Τα βασικά χαρακτηριστικά ενός βιοαισθητήρα συνοψίζονται:

- Το βιομόριο ανιχνευτής πρέπει να αντιδρά στοχευμένα, μόνο με το μόριο αναλύτη.
- Η αντίδραση μεταξύ βιομορίου και αναλύτη πρέπει να μην επηρεάζεται από περιβαλλοντολογικές παραμέτρους (pH, θερμοκρασία).
- Η ανίχνευση της αντίδρασης πρέπει να είναι διακριτή σε σύγκριση με το θόρυβο και επαναλήψιμη.
- Η συσκευή του βιοαισθητήρα πρέπει να έχει χαμηλό κόστος, να είναι φορητή και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί από μη-ειδικευμένους χειριστές.

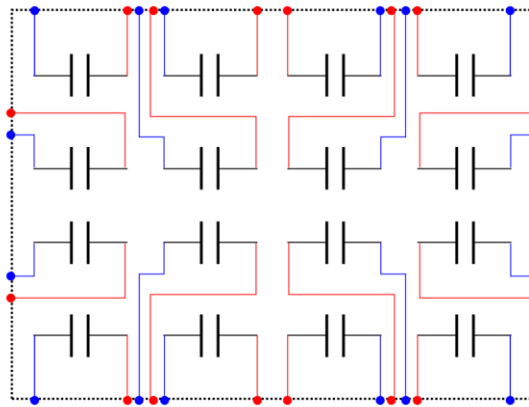
Ως βασικό χαρακτηριστικό της αρχιτεκτονικής ενός βιοαισθητήρα ορίζονται τα βιολογικά στοιχεία αναγνώρισης που αντιδρούν επιλεκτικά με την ουσία αναλύτη (π.χ., αντιγόνο, αντίσωμα ή ενζυματικές αντιδράσεις). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι το βιολογικό στοιχείο αναγνώρισης είναι απαραίτητο να ενσωματωθεί εντός ή σε στενή εγγύτητα προς το μορφοτροπέα. Ο μετατροπέας επιτρέπει την μετατροπή της αντίδρασης αναγνώρισης του αναλύτη σε ποσοτικό φυσικό σήμα, για παράδειγμα, ρεύμα σε έναν αμπερομετρικό βιοαισθητήρα (*Εικόνα 2. 1*).



Εικόνα 2. 1: Σχηματική απεικόνιση αρχιτεκτονικής βιοαισθητήρων

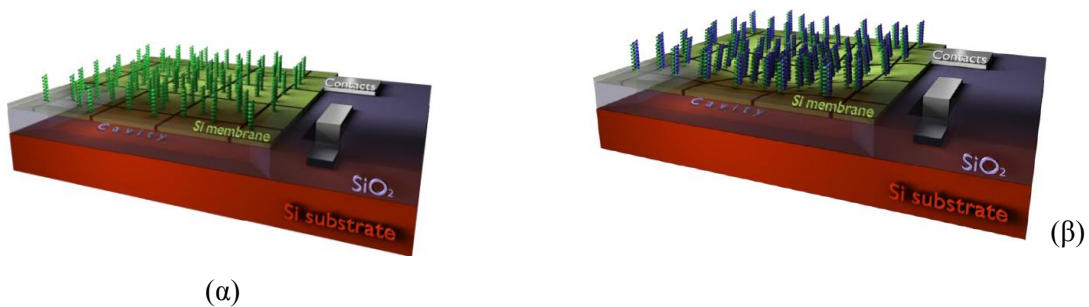
2.1 Ανάπτυξη χωρικών βιοαισθητήρων

Η συστοιχία που σχεδιάστηκε αποτελείται από μεγάλο αριθμό αισθητήριων στοιχείων (64) επιτρέποντας την πολλαπλή ανίχνευση ουσιών. Το κάθε στοιχείο είναι ένας πυκνωτής που αποτελείται από δυο ηλεκτρόδια, ένα εύκαμπτο ηλεκτρόδιο που είναι μια λεπτή ελαστική μεμβράνη πυριτίου εμπλουτισμένη με βόριο και αιωρείται πάνω από μια κοιλότητα και ένα σταθερό ηλεκτρόδιο που έχει δημιουργηθεί από διάχυση φωσφόρου στο υπόστρωμα πυριτίου. Η απόσταση των δυο πλακών ή αλλιώς το βάθος της κοιλότητας μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή, εξαρτάται από το πάχος του διοξειδίου του πυριτίου στο οποίο στηρίζεται περιφερειακά η μεμβράνη. Η συστοιχία αποτελεί 8x8 διάταξη, με το συνολικό πλήθος αισθητήρων να είναι 60, ενώ υπάρχουν και 4 σταθεροί αισθητήρες αλουμινίου που χρησιμοποιούνται για την καταγραφή του υποβάθρου κατά τη διάρκεια της μέτρησης. Οι 60 αισθητήρες αποτελούν αριθμό ικανό για να υπάρχει πολλαπλότητα των μετρήσεων κατά τη διαδικασία της βιολογικής αντίδρασης, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η εγκυρότητα των μετρήσεων. Τα αισθητήρια στοιχεία βρίσκονται πάνω σε ένα κοινό υπόστρωμα στο οποίο αντιστοιχεί το σταθερό ηλεκτρόδιο, ενώ κάθε μεμβράνη έχει δύο ακροδέκτες σε ξεχωριστή επαφή προς το κύκλωμα ανάγνωσης. Οι ακροδέκτες αυτοί είναι απομονωμένοι έτσι ώστε να εξασφαλίζονται οι μετρήσεις, χωρίς να υπάρχουν αλληλεπιδράσεις.



Εικόνα 2. 2: Σχηματική απεικόνιση αισθητήρων με δύο διαφορετικούς ακροδέκτες διεπαφής.

Η συστοιχία απαρτίζεται από μεμβράνες διαφορετικών διαμέτρων: 150, 200 και 250 μm . Η αρχή λειτουργίας της διάταξης βασίζεται στις αλλαγές των επιφανειακών τάσεων λόγω των αλληλεπιδράσεων των ολιγονουκλεοτιδίων. Οι επιφανειακές τάσεις έχουν ως αποτέλεσμα την κύρτωση της μεμβράνης (Εικόνα 2. 3) και κατά συνέπεια αλλαγή της μέτρησης της χωρητικότητας, λόγω μεταβολής της απόστασης μεταξύ του εύκαμπτου ηλεκτροδίου και του σταθερού ηλεκτροδίου του υποστρώματος.



Εικόνα 2. 3: Σχηματική απεικόνιση χωρητικής μεμβράνης του αισθητήρα (α) πριν και (β) την διεξαγωγή της βιολογικής αντίδρασης.

Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα

Στην απλούστερη περίπτωση τα ηλεκτρόδια ενός αισθητήρα χωρητικότητας είναι δυο παράλληλες πλάκες. Η χωρητικότητα ανάμεσα στα δυο ηλεκτρόδια δίνεται από τη σχέση:

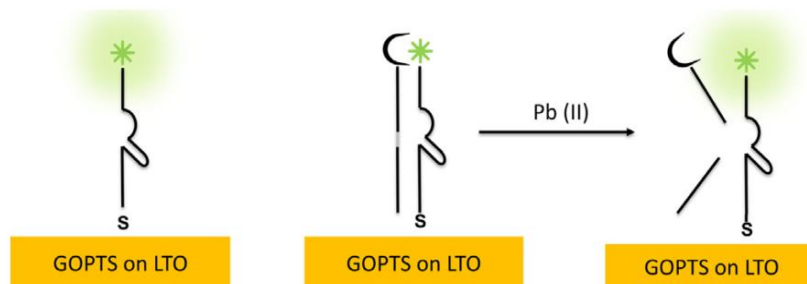
$$C = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{A}{d}$$

Όπου ϵ_0 η διηλεκτρική σταθερά του κενού και ϵ_r η διηλεκτρική σταθερά του υλικού που βρίσκεται ανάμεσα στους οπλισμούς. A είναι το εμβαδόν των πλακών και d η απόσταση μεταξύ των οπλισμών. Για να αλλάξουμε λοιπόν την χωρητικότητα αρκεί να μεταβάλουμε το εμβαδόν της επιφάνειας ή την απόσταση των οπλισμών ή τέλος την διηλεκτρική σταθερά του μέσου ανάμεσα στους οπλισμούς. Στους βιολογικούς αισθητήρες χωρητικότητας δεν έχει σημειωθεί μεταβολή του εμβαδού των πλακών, ενώ οι μεταβολές της διηλεκτρικής σταθεράς ερευνώνται τις δυο τελευταίες δεκαετίες. Τέλος η μεταβολή της απόστασης μεταξύ των δυο οπλισμών αποτελεί μια καινούργια προσέγγιση στο πεδίο της βιοαίσθησης η οποία παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον.

Οι διατάξεις χωρητικότητας που η λειτουργία τους βασίζεται στην αλλαγή της διηλεκτρικής σταθεράς του βιολογικού υλικού διαιρούνται σε δυο κατηγορίες: ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια (interdigitated electrodes, IDEs) και διεπιφάνειες ηλεκτροδίου-διαλύματος (electron-solution interfaces). Στη πρώτη περίπτωση τα ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια τοποθετούνται σε ένα υπόστρωμα και ακινητοποιούνται πάνω τους βιομόρια, η αλληλεπίδραση των βιομορίων με τα μόρια-στόχους ανιχνεύεται σαν αλλαγή της χωρητικότητας ή της εμπεδής της διάταξης. Στην απλή περίπτωση όπου τα ηλεκτρόδια είναι λεπτά, η χωρητικότητα του IDE αισθητήρα μπορεί να γραφεί ως εξής: $C = \frac{n\epsilon l t}{d}$, όπου ϵ να είναι η διηλεκτρική σταθερά του υμενίου που εμπεριέχει τα μόρια του αναλύτη, n ο αριθμός των δακτύλων, l το μήκος, t το πάχος των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων και d η απόσταση των ηλεκτροδίων. Όταν τα ηλεκτρόδια βρίσκονται στη νανοκλίμακα δε μπορεί να εφαρμοστεί αυτό το απλό μοντέλο για την εύρεση της χωρητικότητας αλλά πρέπει να χρησιμοποιήσουμε πολύπλοκα μοντέλα [4, 5].

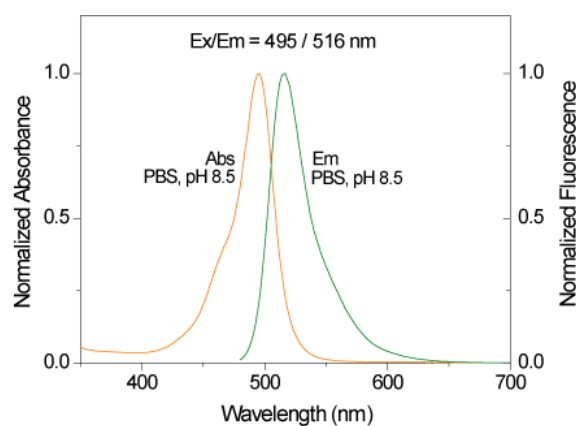
Μια διαφορετική προσέγγιση είναι η μεταβολή της απόστασης των οπλισμών στους βιοαισθητήρες χωρητικότητας και τους αισθητήρες μικροσυστοιχιών. Αυτές οι διατάξεις αποτελούνται από ένα άκαμπτο ηλεκτρόδιο στο υπόστρωμα και ένα εύκαμπτο ηλεκτρόδιο που είναι μια μεμβράνη. Στο εύκαμπτο ηλεκτρόδιο ακινητοποιούνται βιομόρια, η μεμβράνη εκτρέπεται λόγω των επιφανειακών τάσεων εξαιτίας της αλληλεπίδρασης των βιομορίων με τους αναλύτες. Η εκτροπή μεταφράζεται σε μεταβολή της χωρητικότητας μεταξύ του εύκαμπτου ηλεκτροδίου και του υποστρώματος, στη περίπτωση αυτή η σχέση της χωρητικότητας τροποποιείται και η χωρητικότητα δίνεται από το τύπο: $C = \epsilon_r \epsilon_0 \iint \left(\frac{1}{d-w(x,y)} \right)$, όπου $w(x,y)$ είναι η μετατόπιση του εύκαμπτου ηλεκτροδίου [6].

Οι μεμβράνες χωρητικότητας εκμεταλλεύονται τις μεταβολές της επιφανειακής τάσης λόγω της αλληλεπίδρασης των μορίων που ακινητοποιούνται στην επιφάνεια με τα μόρια-στόχους. Έχει αναφερθεί κατά την υβριδοποίηση ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, παρατηρούνται ηλεκτροστατικές ή στερικές απώσεις [7, 8], αλληλεπιδράσεις των μορίων του νερού ή ωσμωτικές δυνάμεις [9, 10], οι οποίες είναι δυνατό να οδηγούν σε κάμψη της υπέρλεπτης μεμβράνης πυριτίου. Στην περίπτωση του αισθητήρα για ανίχνευση βαρέων μετάλλων, ειδικά σχεδιασμένη ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα ακινητοποιείται στην επιφάνεια των υπέρλεπτων μεμβρανών και υβριδοποιείται με την συμπληρωματική της αλληλουχία (Εικόνα 2. 4). Παρουσία ιόντων μολύβδου (Pb^{+2}) γίνεται διαχωρισμός των αλυσίδων αυτών, οδηγώντας σε μεταβολή της χωρητικότητας της τάξεως των pF.



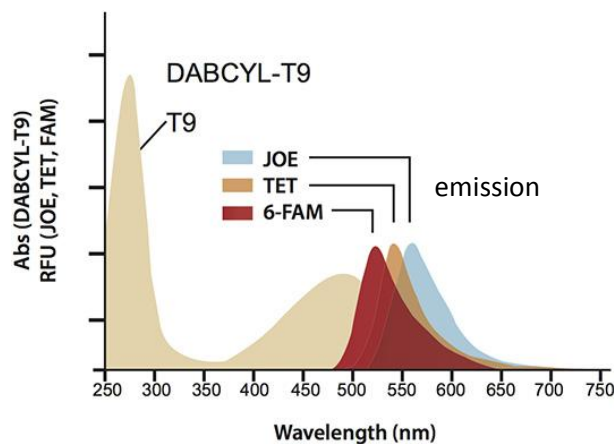
Εικόνα 2. 4: Σχηματική απεικόνιση (α) ακινητοποίησης ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή, (β) υβριδοποίησης με τη συμπληρωματική αλυσίδα και (γ) διαχωρισμού των αλυσίδων παρουσία ιόντων μολύβδου.

Για επιπλέον έλεγχο των σταδίων ακινητοποίησης, υβριδοποίησης και διαχωρισμού των αλυσίδων, έγινε τροποποίηση της αλυσίδας ανιχνευτή με δείκτη φθορισμού FAM (6-carboxyfluorescein) στο 3' άκρο, με φάσμα απορρόφησης και εκπομπής που φαίνεται στην Εικόνα 2. 5.



Εικόνα 2. 5: Φάσμα απορρόφησης και εκπομπής του δείκτη φθορισμού FAM (6-carboxyfluorescein) σε διάλυμα phosphate buffer (pH 8.5)[11].

Η ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα με την οποία υβριδοποιείται η αλυσίδα ανιχνευτής έφερε στο 5' άκρο ένα μη φθορίζον χρωμοφόρο (Dabcyl quencher) (Εικόνα 2. 6), έτσι ώστε κατά την υβριδοποίηση των συμπληρωματικών αλυσίδων να επιτυγχάνεται μείωση στο σήμα φθορισμού που καταγράφεται.



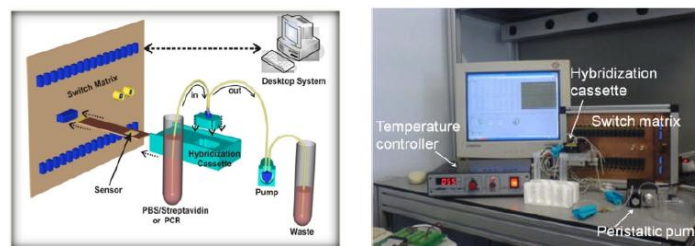
Εικόνα 2. 6: Φάσμα απορρόφησης Dabcyl χρωμοφόρου και εκπομπής δεικτών φθορισμού (FAM, TET, JOE)[12].

Παρουσία ιόντων μολύβδου, ο διαχωρισμός των αλυσίδων που προκαλείται οδηγεί στην αύξηση του σήματος φθορισμού, εφόσον απομακρύνεται η συμπληρωματική ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα η οποία "κρύβει" τον φθορισμό της ακινητοποιημένης αλυσίδας στην επιφάνεια του αισθητήρα.

Πειραματική διάταξη μέτρησης

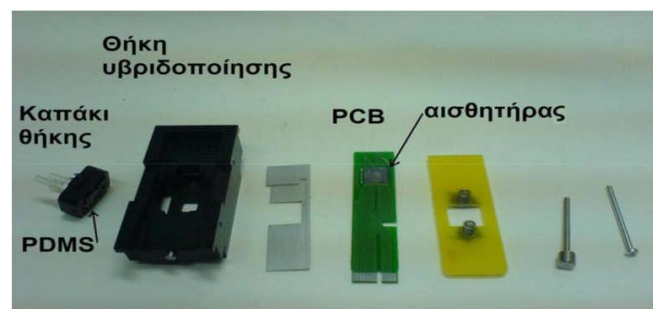
Η μικροσυστοιχεία αισθητήρων χωρητικότητας, καθώς και οι μετρήσεις χαρακτηρισμού των βιοαισθητήρων χωρητικότητας πραγματοποιήθηκαν στο ινστιτούτο μικροηλεκτρονικής του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος από τους ερευνητές Σ. Χατζανδρούλη, Β. Τσούτη και την Υπ. Διδάκτορα Μ. Φιλιππίδου. Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για την μέτρηση των αισθητήριων στοιχείων/μεμβρανών και των πυκνωτών αλουμινίου που λειτουργούν ως αισθητήρες ελέγχου απεικονίζεται στην Εικόνα 2. 7. Με αυτό το μετρητικό σύστημα δίνεται η δυνατότητα ανίχνευσης μέχρι και 30 διαφορετικών ειδών βιοϋποδοχέων που μπορεί να έχουν εναποτεθεί στην επιφάνεια των μεμβρανών. Ένα περίφραγμα από Polydimethylsiloxane (PDMS) περιορίζει τα βιολογικά διαλύματα πάνω από την ενεργή περιοχή του βιοαισθητήρα με αποτέλεσμα οι βιολογικές αλληλεπιδράσεις να λαμβάνουν χώρα πάνω στην επιφάνεια των αισθητήριων στοιχείων. Το περίφραγμα αυτό τοποθετείται

στο καπάκι της θήκης υβριδοποίησης το οποίο έχει μια οπή για την είσοδο των αντιδραστηρίων και μια οπή εξόδου των διαλυμάτων.



Εικόνα 2. 7: Σχηματική απεικόνιση (α) και φωτογραφία (β) της πειραματικής διάταξης.

Η συστοιχία των βιοαισθητήρων τοποθετείται σε μια πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (PCB) (Εικόνα 2. 8) η οποία παρέχει τις απαραίτητες ηλεκτρικές επαφές και επιτρέπει την σχεδόν ταυτόχρονη μέτρηση όλων των αισθητήρων της συστοιχίας. Η πλακέτα PCB συνδέεται με το όργανο μέτρησης της χωρητικότητας (HP 4278 A) και όλο το σύστημα ελέγχεται μέσω του προγράμματος LabVIEW που είναι εγκατεστημένο στον υπολογιστή. Για τη διεξαγωγή του πειράματος η PCB πλακέτα με τον αισθητήρα εισάγεται στη θήκη υβριδοποίησης και το πλαίσιο από PDMS περιορίζει τα βιολογικά διαλύματα στην ενεργό περιοχή του βιοαισθητήρα δηλαδή σε μια περιοχή 5 mm X 5 mm. Στην Εικόνα 2. 8 παρουσιάζονται τα εξαρτήματα της θήκης υβριδοποίησης και μια συστοιχία βιοαισθητήρων κολλημένη στην PCB.

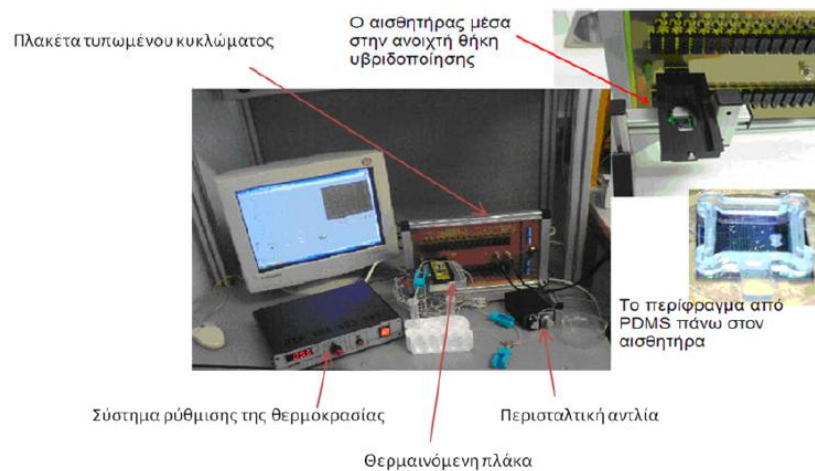


Εικόνα 2. 8: Φωτογραφία του αισθητήρα ο οποίος είναι κολλημένος στη πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (PCB), της θήκης υβριδοποίησης και των εξαρτημάτων της.

Για τη ροή των διαλυμάτων μέσα από τον θάλαμο υβριδοποίησης χρησιμοποιούνται σωληνάκια σιλικόνης διαμέτρου 0.5 μm και μια περιστατική αντλία (INSTECH P.625/900,143) στην έξοδο του συστήματος. Για τα σωληνάκια σιλικόνης διαμέτρου 0.5 μm , η μέγιστη ροή διαλυμάτων που επιτυγχάνεται με τη συγκεκριμένη αντλία είναι ίση με 140 $\mu\text{L}/\text{min}$ (2.3 $\mu\text{L}/\text{sec}$). Η θερμοκρασία η οποία είναι σημαντική για τη πραγματοποίηση της βιολογικής αλληλεπίδρασης υβριδοποίησης των νουκλεοτιδικών αλυσίδων, ρυθμίζεται από

ένα σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας. Με αυτή τη συσκευή ρύθμισης της θερμοκρασίας και με τη χρήση μιας θερμαινόμενης πλάκας επιτυγχάνεται η επιθυμητή θερμοκρασία μέσα στο θάλαμο υβριδοποίησης. Η θερμοκρασία αυτή ελέγχεται με θερμοζεύγος πριν την διεξαγωγή των πειραμάτων.

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ένα περίφραγμα από PDMS περιορίζει τα βιολογικά διαλύματα πάνω από την ενεργή περιοχή του βιοαισθητήρα, η οποία είναι περίπου 25mm^2 , με αποτέλεσμα οι βιολογικές αλληλεπιδράσεις να λαμβάνουν χώρα πάνω στην επιφάνεια των αισθητήριων στοιχείων. Η κάθε πλευρά του πλαισίου από PDMS είναι 8mm ενώ το πάχος του που προεξέχει από το καπάκι της θήκης υβριδοποίησης είναι περίπου ίσο με 0.3mm . Λαμβάνοντας υπόψη και τις κυκλικές γωνίες (διαμέτρου 1.5mm) του πλαισίου ώστε να διέρχονται τα διαλύματα, ο όγκος του θαλάμου υβριδοποίησης είναι περίπου ίσος με $24\ \mu\text{L}$. Στην *Εικόνα 2. 9* παρουσιάζεται φωτογραφία της πειραματικής διάταξης στην οποία διακρίνονται η πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος με το PCB τοποθετημένο στη θήκη υβριδοποίησης, το PDMS περίφραγμα πάνω στην επιφάνεια του αισθητήρα, η περισταλτική αντλία, το σύστημα ρύθμισης της θερμοκρασίας και η θερμαινόμενη πλάκα.



Εικόνα 2. 9: Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης και των επιμέρους μερών της όπως προσαρμύζονται για τον χαρακτηρισμό των βιοαισθητήρων

Το πρόγραμμα LabVIEW που χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό των βιοαισθητήρων έχει σχεδιαστεί ώστε να μπορεί κανείς να παρατηρεί τις μεταβολές του σήματος και τις τιμές του σε πραγματικό χρόνο για τους πρώτους 8 αισθητήρες ενώ αποθηκεύει τα δεδομένα για έως και 50 αισθητήρες σε αρχείο ώστε να επιτρέπεται στη συνέχεια η επεξεργασία των δεδομένων στο πρόγραμμα Origin. Επιπρόσθετα, μέσω του προγράμματος Labview επιλέγονται ο συνολικός αριθμός των αισθητήρων και οι επαφές τους μέσω των αντίστοιχων

ηλεκτρονόμων για κάθε μέτρηση καθώς επίσης γίνεται και η επιλογή ανάμεσα σε πέντε διαφορετικά όργανα μέτρησης μεταξύ των οποίων και το HP 4278A για την μέτρηση χωρητικότητας και το HP 34401A multimeter για την μέτρηση αντίστασης.

Εφαρμογή για την ανίχνευση βαρέων μετάλλων

Τα βαρέα μέταλλα (π.χ. κάδμιο (Cd), μόλυβδος (Pb), υδραργύρος (Hg) και μαγγάνιο (Mg), μεταξύ άλλων), είναι μερικοί από τους σημαντικότερους περιβαλλοντολογικούς ρύπους, που βρίσκονται στον αέρα, το έδαφος, καθώς και στο πόσιμο νερό. Η χρόνια έκθεση σε αυτά σχετίζεται με δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία, όπως καρκίνος [13] και νευροεκφυλιστικές ασθένειες [14, 15], συμπεριλαμβανομένου του πάρκινσον [16]. Ο μόλυβδος, ιδίως είναι τοξικός ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις [17]. Η συσσώρευση των Pb^{+2} στο ανθρώπινο σώμα έχει ποικίλες αρνητικές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία [18], καθώς μπορεί να προκαλέσει νεφρικούς όγκους, αυξημένη αρτηριακή πίεση, καθώς και νευρολογικές και συμπεριφορικές επιπτώσεις [19], ενώ έχει σοβαρές επιπτώσεις στα παιδιά κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, καθώς οδηγεί σε μειωμένη νοημοσύνη και άλλες νευρολογικές ανωμαλίες [20]. Με δεδομένη την επικράτηση και σοβαρή τοξικότητα του Pb^{+2} , ανάπτυξη μεθόδων οι οποίες είναι επιλεκτικές, ευαίσθητες και οικονομικά αποδοτικές για την ανίχνευση Pb^{+2} λαμβάνουν μεγάλο ποσό της έρευνας βιοαισθητήρων. Φάσματοσκοπικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης και η φασματοσκοπία επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος ατομικής εκπομπής, μπορούν να προσφέρουν υψηλή ευαισθησία για την ανίχνευση ιόντων μολύβδου [21]. Η ανάγκη, όμως για ανίχνευση επί τόπου και σε πραγματικό χρόνο, ιόντων μολύβδου έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη των αισθητήρων με βάση βιομόρια ανιχνευτές, που πληρούν τις απαιτήσεις επιλεκτικότητα και ευαισθησίας.

Χημική τροποποίηση της επιφάνειας του αισθητήρα

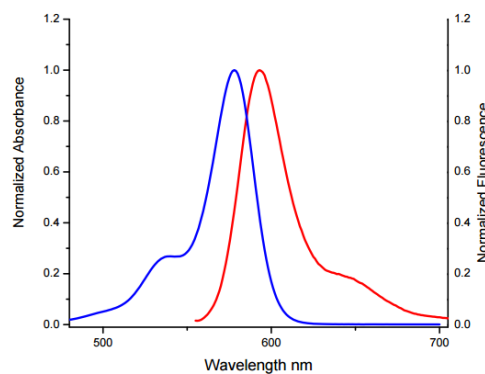
- Ενεργοποίηση της επιφάνειας των LTO/Si αισθητήριων στοιχείων
 - Ξέπλυμα του δείγματος με 95% αιθανόλη
 - Ανάδευση του δείγματος σε διάλυμα 2% 3-glycidoxypopyltrimethoxysilane (GOPTS) και 95% αιθανόλη για 6 ώρες
 - Τοποθέτηση του δείγματος στους 135⁰ C για μία ώρα
- Ακινητοποίηση ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων ανιχνευτών (5'-FAM-TTTTTCATCTCTTCT- CCGAGCCGGTTCGAAATAGTGAGT-SH-3')
 - Εναπόθεση στα αισθητήρια στοιχεία, τροποποιημένες με ομάδα θειόλης στο 3' άκρο, ολιγονουκλεοτιδικές αλυσίδες σε διάλυμα 1M phosphate buffer (8g/l

NaCl, 0.2g/l KCl, 1.42 g/l Na₂HPO₄, 0.24 g/l KH₂PO₄), με συγκέντρωση 1 μM.

- Ξέπλυμα σε διάλυμα 10mM NaCl σε 5mM tris buffer, pH7.4
- Ξέπλυμα για 1 ώρα σε 1M διάλυμα mercaptoexanol MCH
- Υβριδοποίηση συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων (5'-ACTCACTAT rA GGAAGAGATG- Dabcyl-3') με αλυσίδες ανιχνευτές
 - Τοποθέτηση διαλύματος συμπληρωματικών αλυσίδων (10 μM σε 1M phosphate buffer pH 8) για 1 ώρα σε 37⁰C

Αποτελέσματα εκτύπωσης

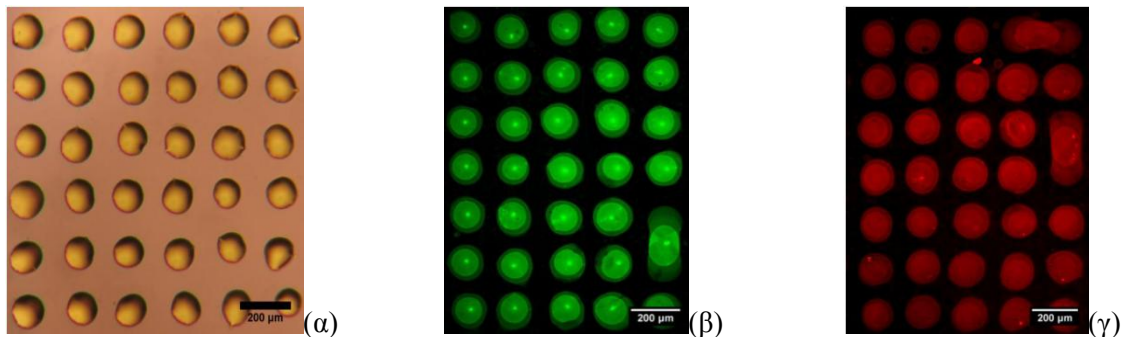
Για την εκτύπωση των ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων ανιχνευτών στις υπέρλεπτες μεμβράνες του αισθητήρα χωρητικότητας χρησιμοποιήθηκε η τέταρτη αρμονική του Nd:YAG laser, στα 266 nm, η οποία σύμφωνα με τη πειραματική διάταξη εκτύπωσης που περιγράφηκε παραπάνω, οδηγήθηκε σε στο υπόστρωμα στόχο. Για την μελέτη των κατάλληλων συνθηκών εναπόθεσης σταγόνων ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, έγινε μελέτη εναπόθεσης πρότυπων αλληλουχιών (αλληλουχίες ανιχνευτής: 5'-HS- (CH₂)₆ -TAG CCG ATA TGC GCA -3'- FAM, αλληλουχία αναλύτης: 3'-ATC GGC TAT ACG CGT-5'-Texas Red), οι οποίες έφεραν δείκτες φθορισμού FAM και texas red (Εικόνα 2. 10), έτσι ώστε να είναι ορατό το αποτέλεσμα εκτύπωσης, ακινητοποίησης και υβριδοποίησης των ολιγονουκλεοτιδίων μέσω μικροσκοπίας φθορισμού.



Εικόνα 2. 10: Φάσμα απορρόφησης και εκπομπής δείκτη φθορισμού texas red [22].

Οι βέλτιστες συνθήκες εκτύπωσης ολιγονουκλεοτιδίων καθορίστηκαν σε 50 μm ίχνος απεικόνισης της ίριδας στο υπόστρωμα δότη (spot size) και 300 mJ/cm² πυκνότητα ενέργειας του παλμού του Laser και απόσταση μεταξύ υποστρώματος δότη και αποδέκτη, 300 μm. Τα αποτελέσματα εκτύπωσης παρατηρούνται στην παρακάτω Εικόνα 2. 11α, μέσω οπτικής μικροσκοπίας, ενώ στις Εικόνα 2. 11β και γ παρατηρείται η μικροσυστοιχία

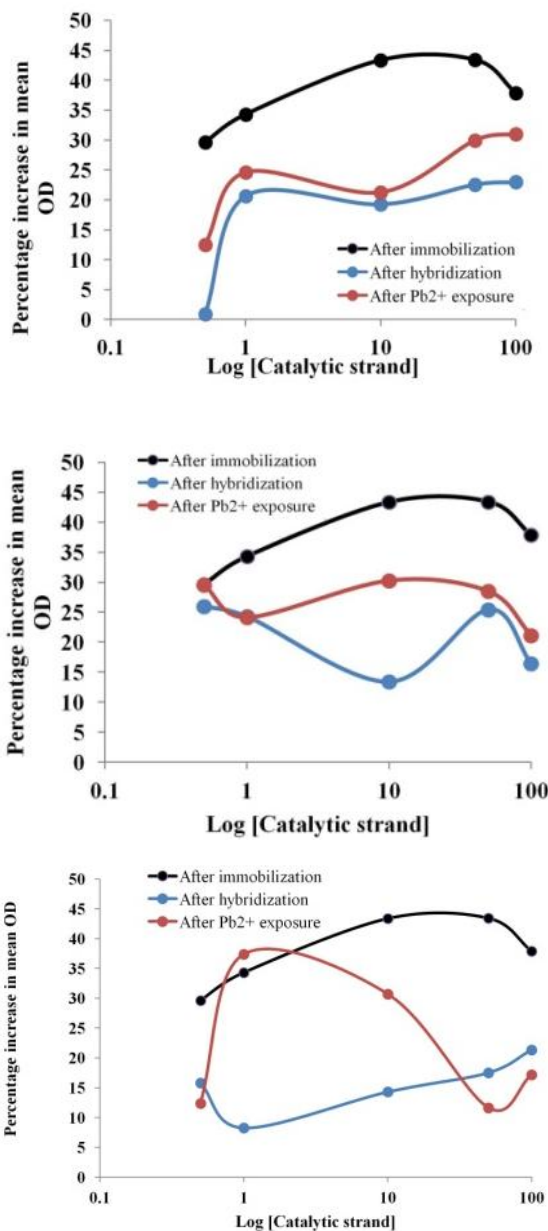
ολιγονουκλεοτιδίων που εκτυπώθηκε μέσω της τεχνικής LIFT, μετά την ακινητοποίηση των βιομορίων (Εικόνα 2. 11β) και μετά την υβριδοποίησή τους με τη συμπληρωματική ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα (Εικόνα 2. 11)



Εικόνα 2. 11: (α) Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου της μικροσυστοιχίας σταγόνων πρότυπου διαλύματος ολιγονουκλεοτιδίων σε υποστρώματα GOPTS/LTO/Si, (β) Εικόνα μικροσκοπίας φθορισμού των ακινητοποιημένων σταγόνων σε υποστρώματα GOPTS/LTO/Si, (γ) Εικόνα μικροσκοπίας φθορισμού μετά την υβριδοποίηση των ακινητοποιημένων πρότυπων αλυσίδων ανιχνευτών. [πρότυπης ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή] = 10μΜ, [πρότυπης ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη] = 10μΜ.

Η συγκέντρωση των ολιγονουκλεοτιδίων που επιλέχθηκε για την πρώιμη μελέτη συνθηκών εκτύπωσης είναι 10 μΜ σε phosphate buffer, ενώ η μελέτη για ανεύρεση των κατάλληλων συγκεντρώσεων περιγράφεται λεπτομερώς σε προηγούμενες εργασίες [23, 24].

Προχωρώντας στην εκτύπωση ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων για ανίχνευση ιόντων μολύβδου, έγινε μελέτη ανεύρεσης των βέλτιστων συγκεντρώσεων των ολιγονουκλεοτιδίων των βιοδιαλυμάτων, η οποία πραγματοποιήθηκε σε δείγματα GOPTS/LTO/Si, για ολιγονουκλεοτιδικές αλυσίδες που εναποτέθηκαν με πιπέτα. Τα αποτελέσματα βέλτιστων συγκεντρώσεων των βιοδιαλυμάτων, καθορίστηκαν από το μέγιστο σήμα φθορισμού που καταγράφηκε. Ο φθορισμός που λαμβάνεται υπόψη είναι κανονικοποιημένος ως προς το φθορισμό του περιβάλλοντα χώρου (background).

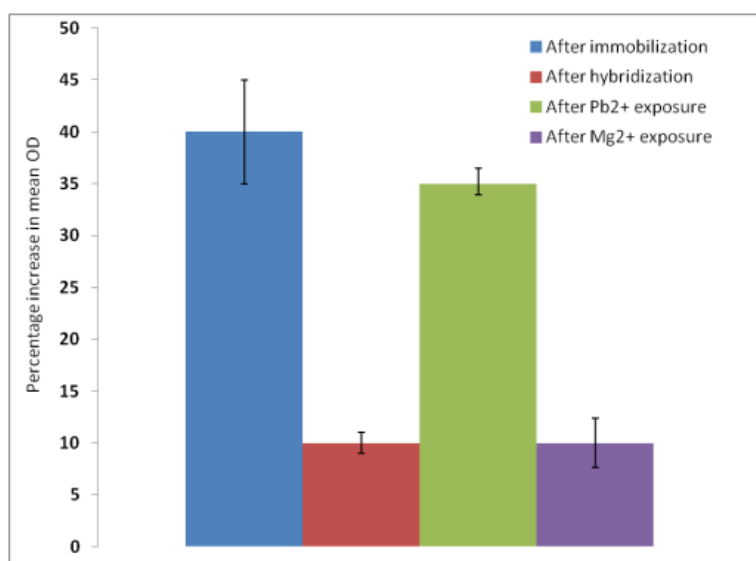


Εικόνα 2. 12: Κανονικοποιημένο σήμα φθορισμού διαφορετικών συγκεντρώσεων της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή, πριν την υβριδοποίησή της με τη συμπληρωματική αλληλουχία (μαύρο), μετά την υβριδοποίησή της (μπλε) για (α) 0.1 μM, (β) 1μM και (γ) 10 μM συγκέντρωση της αλυσίδας αναλύτη και μετά την εισαγωγή διαλύματος ιόντων μολύβδου (κόκκινο).

Η σχέση μεταξύ των εντάσεων σήματος φθορισμού που παρατηρούνται στην εικόνα *Εικόνα 2. 12:*, καταγράφονται για τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη (5'-FAM-TTTTTCATCTCTTCT CCGAGCCGGTCGAAATAGTGAGT-SH-3) και ένα εύρος συγκεντρώσεων της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή (5'-ACTCACTAT rA GGAAGAGATG-Dabcyl-3'). Παρατηρείται ο κορεσμός στο σήμα φθορισμού που καταγράφεται από την αλυσίδα του αναλύτη μετά την συγκέντρωση 10 μM, ενώ η πτώση που καταγράφεται στα 100 μM, πιθανώς οφείλεται στην έλλειψη χώρου για την υβριδοποίηση της συμπληρωματικής αλυσίδας, λόγω του μεγάλου πληθυσμού των ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων αναλυτών. Ειδικότερα, πλήρης απόσβεση του φθορισμού παρατηρείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις και των δύο κλώνων, ενώ καθίσταται φανερό ότι η

συγκέντρωση 0.1 μM του κλώνου ανιχνευτή δεν μπορεί να αποσβέσει αποτελεσματικά το φθορισμό του κλώνου αναλύτη σε μεγάλες συγκεντρώσεις (Εικόνα 2. 12: α). Όταν η συγκέντρωση του κλώνου ανιχνευτή αυξάνεται σε 1 μM , παρατηρείται αποτελεσματική απόσβεση του φθορισμού του κλώνου αναλύτη, ιδιαίτερα για συγκέντρωση του κλώνου αναλύτη πάνω από 10 μM (Εικόνα 2. 12: β). Η μέγιστη διαφορά μεταξύ των σημάτων φθορισμού καταγράφονται κατά την ακινητοποίηση του καταλυτικού κλώνου αναλύτη σε σχέση με το φθορισμό που καταγράφεται μετά από τον υβριδισμό με τον κλώνο ανιχνευτή και μετά την έκθεση σε ιόντα Pb^{+2} , επιτυγχάνεται για 1 μM συγκέντρωση του κλώνου ανιχνευτή και 10 μM συγκέντρωση του κλώνου αναλύτη.

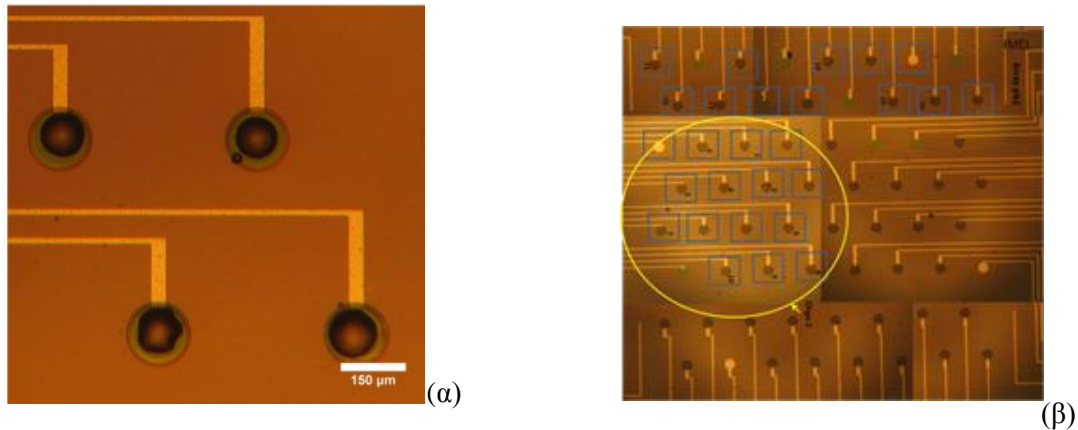
Η επιλεκτικότητα του αισθητήρα εξετάστηκε κατά την ταυτόχρονη έκθεση του αισθητήρα σε ιόντα μολύβδου 10 μM Pb^{+2} σε ddH₂O και μαγνησίου 10 μM Mg^{+2} σε ddH₂O (Εικόνα 2. 13). Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα ανιχνευτής μπορεί να αναγνωρίσει επιλεκτικά τα Pb^{+2} ιόντα, δεδομένου ότι καμία αύξηση στο φθορισμό δεν καταγράφεται μετά από έκθεση σε Mg^{+2} . Ο καταλυτικός κλώνος του βιομορίου ανιχνευτή δεν ενεργοποιείται με το μαγνήσιο και δεν διασπά τον κλώνο αναλύτη.



Εικόνα 2. 13: : Κανονικοποιημένο σήμα φθορισμού της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή πριν (μπλε), μετά (κόκκινο) την υβριδοποίηση με την αλυσίδα αναλύτη και μετά την εισαγωγή ιόντων μολύβδου (πράσινο) και μαγνησίου (μωβ). [ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή]= 1 μM , [ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη]= 10 μM . [Pb^{+2}]= 10 μM , [Mg^{+2}]= 10 μM .

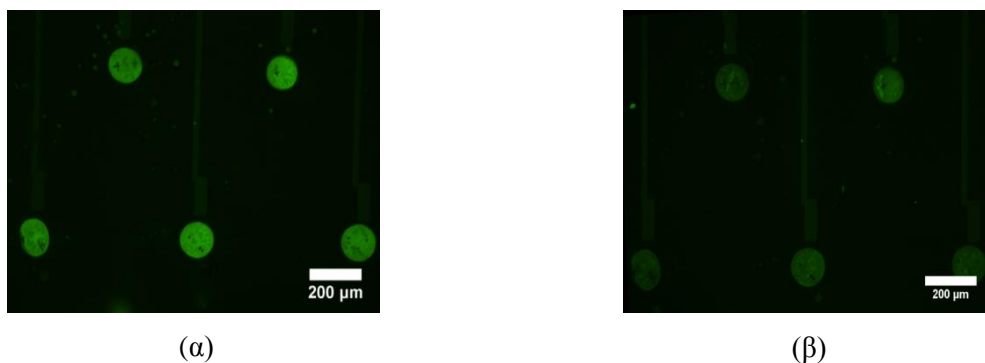
Για την επιλεκτική εναπόθεση του καταλυτικού κλώνου ανιχνευτή στις μεμβράνες του χωρητικού αισθητήρα, χρησιμοποιήθηκαν οι βέλτιστες συνθήκες εκτύπωσης, όπως αναγνωρίστηκαν στο πρώιμο στάδιο εκτύπωσης διαλύματος ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων

σε επίπεδα υποστρώματα GOPTS/LTO/Si. Το πάχος του φίλμ του διαλύματος βιομορίων που δημιουργήθηκε στο υπόστρωμα δότη ήταν 20 μm και είναι αποτέλεσμα επίστρωσης 10 μl διαλύματος. Οι εναποτιθέμενες σταγόνες έχουν διάμετρο 100-120 μm (Εικόνα 2. 14:α) έτσι ώστε να καλύπτουν τις μεμβράνες του αισθητήρα σε ποσοστό 60-80% όπου έχει παρατηρηθεί η μέγιστη απόκριση των αισθητήριων στοιχείων [25].



Εικόνα 2. 14: Εικόνα από οπτικό μικροσκόπιο, (α) των εναποτιθέμενων σταγόνων ολιγονουκλεοτιδίων πάνω στις μεμβράνες πυριτίου και (β) της μικροσυστοιχείας αισθητήρων. Τα μπλε τετράγωνα αντιστοιχούν στις μεμβράνες που έχει γίνει εναπόθεση της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή ενώ ο κίτρινος κύκλος συμβολίζει την περιοχή που έγινε εναπόθεση της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη.

Μετά την ακινητοποίηση του καταλυτικού κλώνου αναλύτη, έγινε η υβριδοποίηση με τον κλώνο ανιχνευτή, επιλεκτικά σε 14 χωρητικές μεμβράνες και ένα πυκνωτή όπως παρατηρείται στην Εικόνα 2. 14:β. Οι υπόλοιπες 11 μεμβράνες στις οποίες έχει γίνει ακινητοποίηση του κλώνου αναλύτη θα χρησιμοποιηθούν ως αισθητήρες αναφοράς. Μέσω συνεστιακής μικροσκοπίας φθορισμού επιβεβαιώνεται η ακινητοποίηση των βιομορίων ανιχνευτών (Εικόνα 2. 15:α), ενώ η υβριδοποίησή τους με τη συμπληρωματική αλυσίδα παρατηρείται συγκρίνοντας το σήμα φθορισμού με τους αισθητήρες αναφοράς (Εικόνα 2. 15:β).



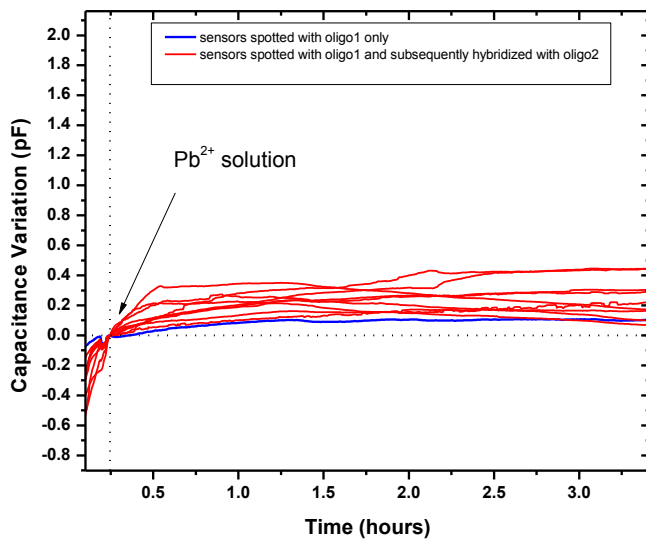
Εικόνα 2. 15: Εικόνες μικροσκοπίας φθορισμού των ακινητοποιημένων ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων ανιχνευτών πάνω στις μεμβράνες πυριτίου (α) πριν και (β)μετά την υβριδοποίησή τους με την συμπληρωματική

ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα. [ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή]= 1μM, [ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη]= 10μM.

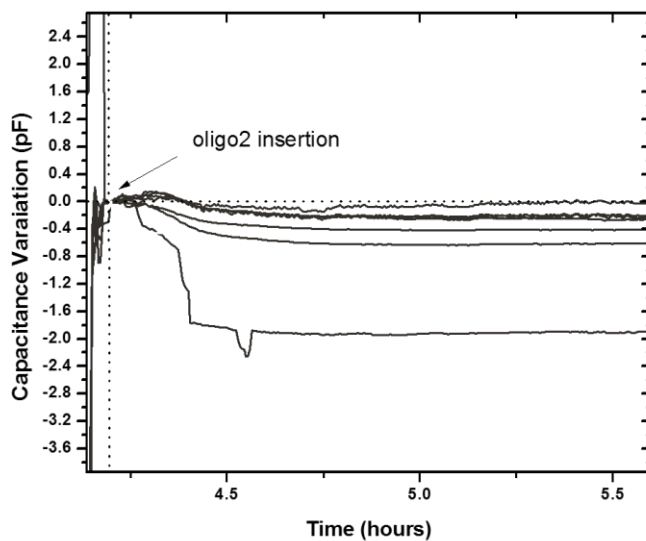
Απόκριση βιοαισθητήρα

Εν συνέχεια, η χωρητική συστοιχία του βιοαισθητήρα, μαζί με την πλακέτα PCB, τοποθετήθηκαν στην Πειραματική διάταξη μέτρησης. Αρχικά, Ρυθμιστικό διάλυμα (phosphate buffer) έρευσε στο θάλαμο υβριδισμού σε θερμοκρασία δωματίου, έτσι ώστε να σταθεροποιηθεί η ένδειξη της χωρητικότητας. Εν συνεχεία, έγινε εισαγωγή διαλύματος dd H₂O με ιόντα Pb⁺² σε συγκέντρωση 10 μM, για 3 ώρες, ενώ η καταγραφή της μεταβολής της χωρητικότητας ήταν συνεχής για όσο χρόνο το διάλυμα ιόντων μολύβδου βρίσκονταν στον θάλαμο υβριδοποίησης. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν κατά τη διάρκεια του χαρακτηρισμού του βιοαισθητήρα (*Εικόνα 2.16*) είναι σε συμφωνία με τις μεταβολές που παρατηρήθηκαν στο σήμα φθορισμού (*Εικόνα 2. 15*).

Όπως φαίνεται στην *Εικόνα 2.16*, η χωρητικότητα του αισθητήρα αυξάνεται, παρουσία ιόντων Pb⁺², έως ότου επιτευχθεί πλατό στην μέτρηση χωρητικότητας. Το σήμα χωρητικότητας που καταγράφεται λαμβάνεται από τις μεμβράνες με τη δίκλωνη αλυσίδα ολιγονουκλεοτιδίων. Η αύξηση στο σήμα χωρητικότητας υποδεικνύει μείωση μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή το οποίο εξηγείται λαμβάνοντας υπόψη την αρχή λειτουργίας του αισθητήρα. Λόγω των απωστικών δυνάμεων μεταξύ των δίκλωνων ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, οι μεμβράνες στις οποίες είχε γίνει εναπόθεση υβριδοποιημένων αλυσίδων, έχουν υποστεί εφελκύστηκες δυνάμεις με αποτέλεσμα την αύξηση της απόστασης μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή. Κατά την εισαγωγή του μολύβδου και διάσπαση της δίκλωνης αλυσίδας, οι εφελκύστηκες δυνάμεις παύουν, με αποτέλεσμα την μείωση της απόστασης των οπλισμών. Το σήμα χωρητικότητας που καταγράφεται από τις μεμβράνες αναφοράς παραμένει σταθερό με μικρές μεταβολές. Οι μεταβολές του σήματος χωρητικότητας είναι της τάξεων των 0.2-0.3 pF.



(α)



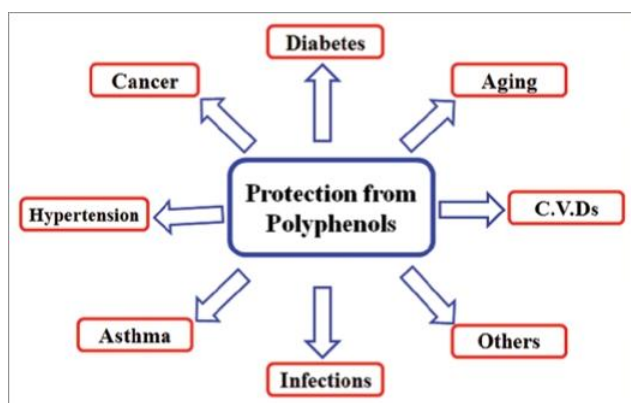
(β)

Εικόνα 2. 16: Καταγραφή μεταβολής χωρητικότητας, που παρατηρείται (α) κατά την εισαγωγή διαλύματος ιόντων μολύβδου και (β) κατά την εισαγωγή διαλύματος της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας αναλύτη. Με κόκκινο παρατηρείται η απόκριση των μεμβρανών με δίκλωνη ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα, με μπλέ και μαύρο παρατηρείται η απόκριση των μεμβρανών με την μονόκλωνη ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα ανιχνευτή. κλώνο ανιχνευτή.

Κατά την αντίστροφη διαδικασία, εισαγωγής διαλύματος phosphate buffer με 10 μM συγκέντρωση της ολιγονουκλεοτιδικής αλυσίδας ανιχνευτή, παρατηρείται η αντίστροφη διεργασία στην μέτρηση χωρητικότητας (Εικόνα 2.16β). Η εκ νέου υβριδοποίηση των κλώνων ανιχνευτών με τη συμπληρωματική τους αλυσίδα, οδηγεί στην μείωση της χωρητικότητας.

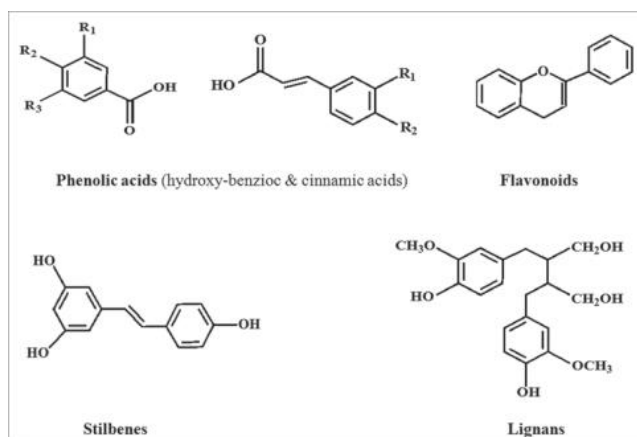
2.2 Ανάπτυξη αμπερομετρικού αισθητήρα για την ανίχνευση φαινολικών ενώσεων.

Οι πολυφαινόλες είναι χημικές ενώσεις, που βρίσκονται σε τρόφιμα όπως φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και τα ποτά. Φρούτα όπως τα σταφύλια, το μήλο, το αχλάδι, τα κεράσια και τα μούρα περιέχουν έως και 200-300 mg πολυφαινόλων ανά 100 γραμμάρια καθαρού βάρους. Τα προϊόντα που κατασκευάζονται από αυτά τα φρούτα, περιέχουν επίσης πολυφαινόλικες ενώσεις σε σημαντικές ποσότητες. Τυπικά, ένα ποτήρι κόκκινο κρασί ή ένα φλιτζάνι τσάι ή καφέ περιέχει περίπου 100 mg πολυφαινόλες. Οι πολυφαινόλες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών και εμπλέκονται στην άμυνα των φυτικών οργανισμών έναντι της υπερϊώδους ακτινοβολίας και των παθογόνων μικροοργανισμών[26]. Κατά τον 20ο αιώνα, επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η μακροχρόνια κατανάλωση σε φυτικές πολυφαινόλες προσφέρει προστασία έναντι της ανάπτυξης καρκίνων, καρδιαγγειακών παθήσεων, διαβήτη, οστεοπόρωσης και νευροεκφυλιστικών ασθενειών [27, 28] (Εικόνα 2. 17:).



Εικόνα 2. 17: Ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία του ανθρώπου, κατά την κατανάλωση τροφίμων πλούσιων σε φαινολικές ενώσεις [29].

Περισσότερες από 8000 πολυφαινολικές ενώσεις έχουν εντοπιστεί σε διάφορα είδη φυτών. Το πλήθος των φαινολικών ενώσεων προκύπτουν από ένα κοινό συστατικό, τη φαινυλαλανίνη, ενώ συνήθως βρίσκονται σε συζευγμένες μορφές, με ένα ή περισσότερα υπολείμματα σακχάρου, με τα οποία συνδέονται με ομάδες υδροξυλίου. Οι πολυφαινόλες μπορούν να ταξινομηθούν σε διαφορετικές ομάδες ως συνάρτηση του αριθμού των φαινολικών δακτυλίων που περιέχουν. Οι κύριες κατηγορίες περιλαμβάνουν τα φαινολικά οξέα, τα φλαβονοειδή, τα στιλβένια και τις λιγνάνες [30] (Εικόνα 2. 18:).

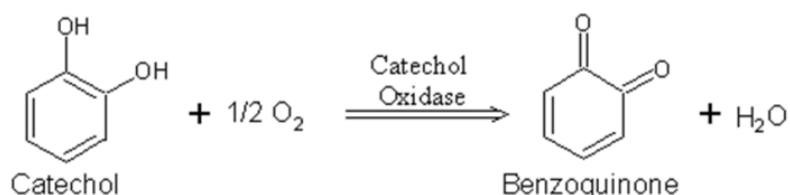


Εικόνα 2. 18: Χημικές δομές διαφόρων κατηγοριών πολυφαινόλων [29].

Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα

Η λακκάση είναι ένα μεταλλο-ένζυμο του χαλκού και ανήκει στην κατηγορία των οξειδοοδουκτασών, δηλαδή πρόκειται για ένα ένζυμο ικανό να οξειδώνει ορισμένες φαινολικές και μη ενώσεις, συμπεριλαμβανομένου των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων, των ζιζανιοκτόνων, ορισμένων οργανοφωσφορικών ενώσεων και πολλών άλλων. Το ένζυμο αυτό συναντάται σε φυτά, μύκητες και μικροοργανισμούς [31], ενώ έχει ήδη χρησιμοποιηθεί ως βιοϋποδοχέας σε βιοαισθητήρες ανίχνευσης πολυφαινόλων [32], συγκεκριμένα για την ανίχνευση της κατεχόλης.

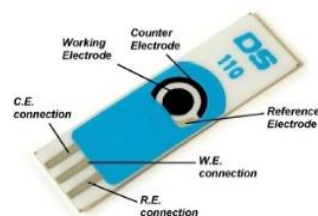
Στα πλαίσια αυτής της διατριβής έγινε χρήση του ενζύμου της λακάσης, ως μορίου ανιχνευτή, για την ανίχνευση κατεχόλης, φαινόλης και ντοπαμίνης. Οι μετρήσεις αμπερομετρίας για την ανίχνευση κατεχόλης έγιναν σύμφωνα με τις ηλεκτροχημικές αντιδράσεις που προκαλούνται κατά την εισαγωγή διαλύματος κατεχόλης στο ένζυμο λακάση. Παρουσία της λακάσης, η κατεχόλη οξειδώνεται παράγοντας βενζοκινόνη, η τελευταία μπορεί να αναχθεί ηλεκτροχημικά και να ανιχνευθεί με τρόπο που εξαρτάται από τη συγκέντρωση [33].



Εικόνα 2. 19: Η οξείδωση της κατεχόλης σε βενζοκινόνη.

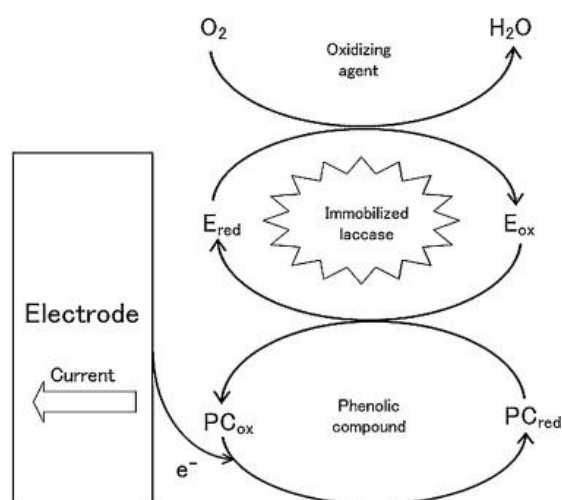
Με τη χρήση της τεχνικής LIFT, επετεύχθηκε η ακινητοποίηση και η εκτύπωση του ενζύμου πάνω σε ηλεκτρόδιο εργασίας ενός εμπορικού ηλεκτροδίου. Χρησιμοποιήθηκαν τα SPEs της

εταιρίας DropSens με κωδικό DRP-110, τα οποία αποτελούνται από ένα ηλεκτρόδιο εργασίας από γραφίτη διαμέτρου 4 mm, καθώς και το βοηθητικό και το ηλεκτρόδιο αναφοράς από γραφίτη και άργυρο αντίστοιχα. Οι ηλεκτρικές επαφές μεταξύ των ηλεκτροδίων είναι επίσης από άργυρο (Εικόνα 2. 20).



Εικόνα 2. 20: Φωτογραφία του ηλεκτροδίου που χρησιμοποιήθηκε για την αμπερομετρική ανίχνευση φαινολικών ενώσεων. (DRP-110 της DropSens)..

Η αρχή λειτουργίας του συγκεκριμένου αμπερομετρικού αισθητήρα περιγράφεται πλήρως από τις οξειαναγωγικές αντιδράσεις που συμβαίνουν κατά την ανάμειξη της κατεχόλης με το ένζυμο της λακκάσης. Αρχικά, εφαρμόζοντας ένα σταθερό δυναμικό στην ηλεκτρική επαφή μεταξύ ηλεκτροδίου εργασίας και ηλεκτροδίου αναφοράς, το ηλεκτρόδιο εργασίας δίνει ηλεκτρόνια στην κατεχόλη, η οποία ανάγεται. Αυτή με τη σειρά της οξειδώνεται και μεταφέρει τα ηλεκτρόνια στη λακκάση, με αποτέλεσμα να αναχθεί. Τέλος, η λακκάση μεταφέρει το ηλεκτρόνιο στο οξυγόνο, το οποίο ανάγεται σε νερό (Εικόνα 2. 21). Αυτή η διαδικασία που λαμβάνει χώρα στο ηλεκτρόδιο εργασίας του SPE χαρακτηρίζεται από συνεχείς αλλαγές της ροής των ηλεκτρονίων, που λόγω αυτών λαμβάνεται το αμπερομετρικό σήμα που μετράται στην ηλεκτρική επαφή μεταξύ βοηθητικού και ηλεκτροδίου εργασίας.

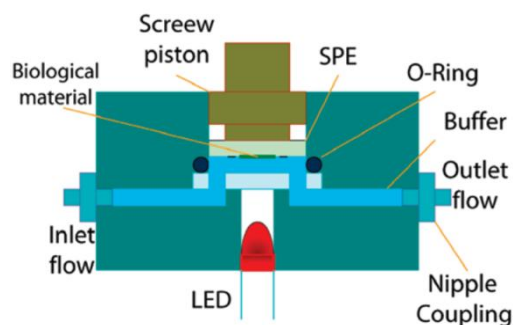


Εικόνα 2. 21: Η αρχή λειτουργίας του ενζυμικού αισθητήρα και οι αντιδράσεις οξειδοαναγωγής που λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας.

Το διάλυμα ενζύμου της λακκάσης, πραγματοποιήθηκε με διαλύτη το phosphate buffered saline (PBS) σε pH 4.5, με ενζυματική δραστηριότητα 40 U¹. Κατά την ακινητοποίηση του ενζύμου στο ηλεκτρόδιο εργασίας, η συγκέντρωση του ενζύμου στο ηλεκτρόδιο ήταν 86 mU.

Πειραματική διάταξη μέτρησης

Η πειραματική διάταξη μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε είναι το πρωτότυπο σύστημα AMBIOSPE της εταιρίας biosensor (Εικόνα 2. 22:). Το σύστημα αποτελεί μια ειδική μονάδα, όπου το βιολογικό υλικό, το ηλεκτρόδιο, και το μικροροϊκό σύστημα είναι ενταγμένα σε ένα μία συσκευή εξωτερικής διαμέτρου 30 mm και 25 mm ύψους, όπως παρατηρείται στην Εικόνα 2. 22:β. Η τοποθέτηση του ηλεκτροδίου με το ακινητοποιημένο βιομόριο-ανιχνευτή, γίνεται στο θάλαμο μέτρησης, όπου ο εσωτερικός όγκος υγρού είναι 22 μL . Ο μικρός όγκος υγρού, που γεμίζει τον θάλαμο μέτρησης, επιτρέπει την συνεχή εναλλαγή της ροής του υγρού, με αποτέλεσμα να βελτιώνεται η κινητική των αντιδράσεων και να μειώνεται ο χρόνος απόκρισης. Ένα γυάλινο παράθυρο διαχωρίζει το θάλαμο μέτρησης της αντίδρασης, έναν οπτικό θάλαμο, επιτρέποντας έτσι την διεξαγωγή ηλεκτροχημικών φωτο-αντιδράσεων. Ο οπτικός θάλαμος αποτελείται από δύο LED με μήκος κύματος εκπομπής 650 nm με ένα χρονοδιακόπτη δίνοντας χρονική ακρίβεια της περιόδου έκθεσης, 1 μs δίνοντας τη δυνατότητα χρήσης της συσκευής σε βιοαισθητήρες όπου παρατηρούνται φωτοαντιδράσεις. Το διάλυμα μέτρησης οδηγείται μέσω ενός μικροροϊκού συστήματος στο θάλαμο μέτρησης μέσω μιας περισταλτικής αντλίας με ρυθμιζόμενη ταχύτητα (200-350 $\mu\text{l}/\text{min}$).



Εικόνα 2. 22: (α) Φωτογραφία του συστήματος μέτρησης, (β) σχηματική απεικόνιση του θαλάμου μέτρησης.

Η καταγραφή των μετρήσεων γίνεται σύμφωνα με ένα πρόγραμμα που παρέχεται από την εταιρία, σύμφωνα με το οποίο ρυθμίζεται η ταχύτητα ροής στο μικροροϊκό, ο χρόνος

¹ Η μονάδα μέτρησης της συγκέντρωσης των ενζύμων: Units (U), καθορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου που καταλύει 1 μM υποστρώματος/ min για την παραγωγή σε προϊόν.

καταγραφής της μέτρησης, το δυναμικό μεταξύ των ηλεκτροδίων και ο χρόνος έκθεσης στην ακτινοβολία.

Το ένζυμο της λακκάσης που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη του αισθητήρα φαινολικών ενώσεων, αγοράστηκε από την Sigma–Aldrich (St. Louis, MO USA), σε μορφή σκόνης και διαλύθηκε σε διάλυμα Phosphate buffer saline (PBS- 8 g/L NaCl, 0.2 g/L KCL, 1.42 g/L Na₂HPO₄, 0.24 g/L KH₂PO₄).

Για την αντίδραση οξειδοαναγωγής μεταξύ του ενζύμου της λακκάσης και των φαινολικών ενώσεων, σταθερό δυναμικό -30 mV εφαρμόστηκε μεταξύ ηλεκτροδίου εργασίας και ηλεκτροδίου αναφοράς.

Απευθείας ακινητοποίηση του ενζύμου (λακκάση) στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων

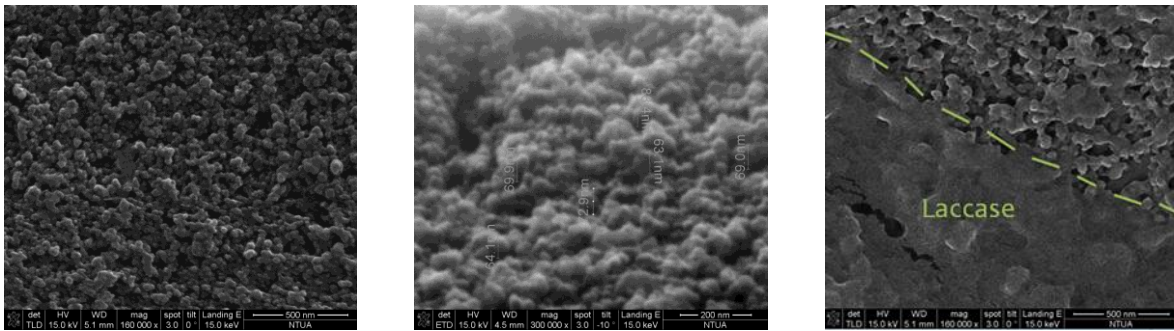
Για την δημιουργία ενός βιοαισθητήρα είναι απαραίτητη η ακινητοποίηση του βιομορίου ανιχνευτή στην επιφάνεια του μορφομετατροπέα, με τρόπο που να εξασφαλίζεται η λειτουργικότητα του βιομορίου και η ισχυρή πρόσδεσή του. Οι συνήθεις μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ακινητοποίηση βιομορίων είναι :

- Φυσική προσρόφηση στην επιφάνεια
- Μικροπαγίδευση σε πολυμερικές μήτρες
- Μέσω χημικής τροποποίησης των βιομορίων και των επιφανειών για την ανάπτυξη χημικών δεσμών (cross-linking, ομοιοπολικών δεσμών)

Παρόλο που η φυσική προσρόφηση των βιομορίων στην επιφάνεια του αισθητήρα, είναι μια μέθοδος απλή, στην οποία δεν γίνεται χρήση χημικών διαλυμάτων, δεν χρησιμοποιείται ευρέως στην ακινητοποίηση βιομορίων λόγω των ασθενών δυνάμεων πρόσδεσης των βιομορίων στην επιφάνεια (μέση χρονική διάρκεια παραμονής του βιομορίου στην επιφάνεια 1 ημέρα [34]), σε σύγκριση με την ανάπτυξη χημικών δεσμών (4-14 μήνες [34]) και τη μικρο-παγίδευση σε πολυμεριές μήτρες (3-4 εβδομάδες [34]).

Στην περίπτωση του αισθητήρα που περιγράφεται στην παρούσα διδακτορική διατριβή, χρησιμοποιήθηκε η τεχνική LIFT για την εκτύπωση του ενζυμικού διαλύματος της λακκάσης και για την απευθείας ακινητοποίησή του στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Η επιτυχής ακινητοποίηση του ενζύμου είναι παράγοντας των συνθηκών εναπόθεσης του διαλύματος των βιομορίων και της μορφολογίας της επιφάνειας του υποστρώματος αποδέκτη. Όπως παρατηρείται στην εικόνα *Εικόνα 2. 23:α,β.*, η δομή του ηλεκτροδίου εργασίας του αισθητήρα, είναι τραχεία με μέση τραχύτητα 67.5 nm (RMS). Σε επιφάνειες γραφίτη, η

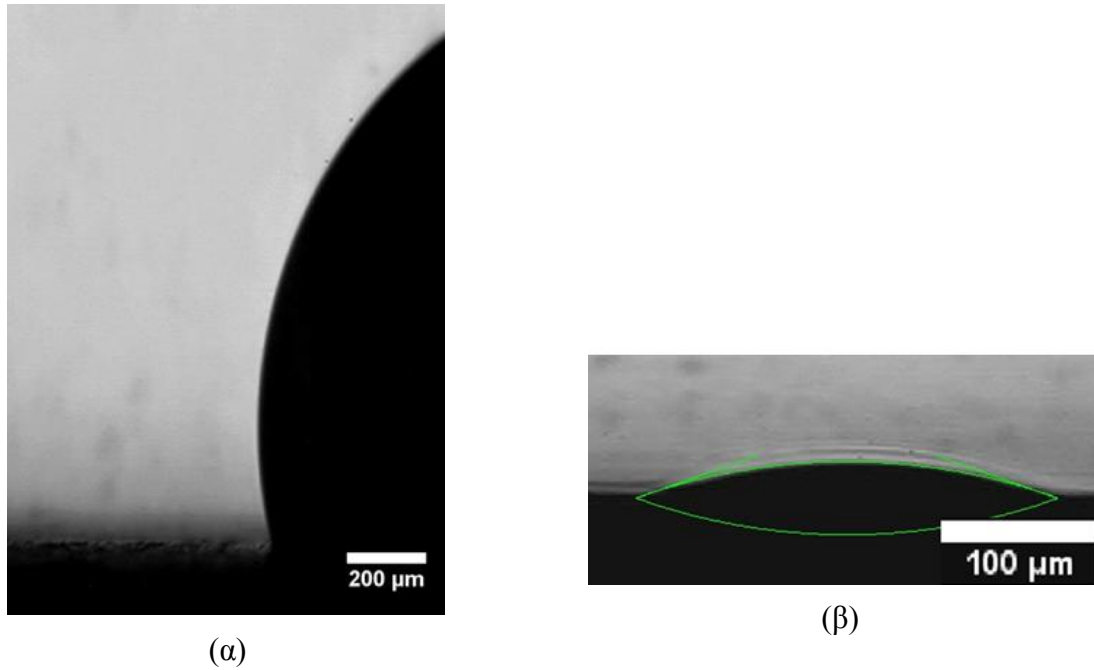
γωνία επαφής σταγόνων υδατικών διαλυμάτων, υπολογίζεται μεταξύ 75-95°, χαρακτηρίζοντας το υλικό υδρόφοβο στο νερό [35].



Εικόνα 2. 23: Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης (SEM), (α) Σε κάτοψη του ηλεκτροδίου εργασίας γραφίτη, (β) υπό γωνία 80°, (γ) Σε κάτοψη, μετά την ακινητοποίηση του ένζυμο της λακκάσης..

Για υδρόφοβα υποστρώματα τα οποία έχουν μικρο ή νάνο δομές στην επιφάνειά τους, η υδροφοβικότητα, οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην παγίδευση ενός στρώματος αέρα στην μικρο και νάνο δομή, το οποίο δεν επιτρέπει την πλήρη διαβροχή της επιφάνειας από το υγρό [36]. Σύμφωνα με τις καταστάσεις διαβροχής που επικρατούν, η κατάσταση στην οποία η σταγόνα κάθεται πάνω στην επιφάνεια και δεν εισχωρεί στην τραχύτητα του υποστρώματος, ονομάζεται κατάσταση μερικής διαβροχής (Cassie wetting state), ενώ στην κατάσταση πλήρους διαβροχής (Wenzel wetting state), το υγρό εισχωρεί μέσα στην δομή της επιφάνειας, με αποτέλεσμα η επιφάνεια να θεωρείται υδρόφιλη για το συγκεκριμένο υγρό. Η μέθοδος που μελετώνται οι ιδιότητες διαβροχής μιας επιφάνειας είναι η καταγραφή της γωνίας επαφής μεταξύ της σταγόνας του υγρού και της επιφάνειας.

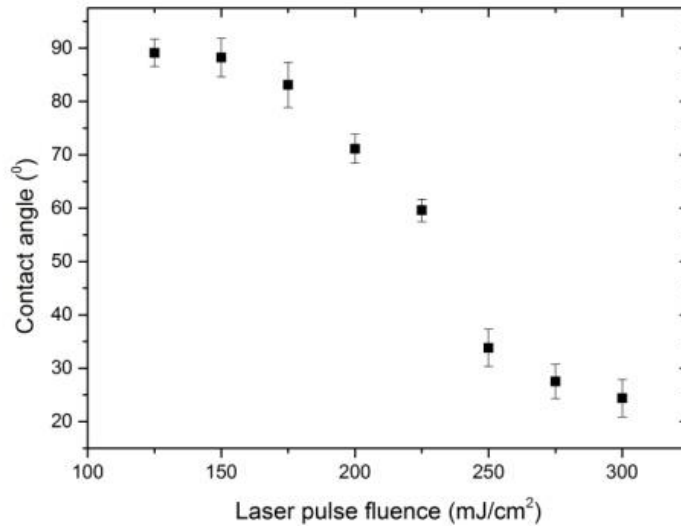
Κατά την εναπόθεση σταγόνων διαλύματος λακκάσης, στο ηλεκτρόδιο γραφίτη, με τη συμβατική μέθοδο εναπόθεσης της πιπέτας, η γωνία επαφής που καταγράφεται είναι 101° (Εικόνα 2. 24:α), αποτέλεσμα αναμενόμενο λόγω της υδροφοβικότητας του γραφίτη στα υδατικά διαλύματα. Μέσω της εναπόθεσης του βιομορίου με την μέθοδο LIFT, σε συνθήκες εναπόθεσης 300 mJ/cm^2 , $50 \text{ }\mu\text{m}$ ίχνος του παλμού στο υπόστρωμα δότη, 266 nm μήκος κύματος του παλμού, και συνθήκες προετοιμασίας υποστρώματος δότη $20 \text{ }\mu\text{m}$ διάλυμα βιομορίου ($10 \text{ }\mu\text{l}$) σε υπόστρωμα δότη: 40 nm Ti σε 1 mm χαλαζία, παρατηρείται γωνία επαφής 24.4° (Εικόνα 2. 24:β). Η καταγραφή της γωνίας επαφής έγινε σύμφωνα με τη διάταξη πειραματικής απεικόνισης του φαινομένου εκτύπωσης, χωρίς την χρήση δεύτερου laser για την απεικόνιση του φαινομένου. Ο χρόνος που πραγματοποιείται η καταγραφή της εναπόθεσης σταγόνας είναι 30 ms μετά την εναπόθεση (max frame rate: 30 fps).



Εικόνα 2. 24: Αποτελέσματα μετρήσεων της γωνίας διαβροχής μεταξύ του ηλεκτροδίου γραφίτη και σταγόνων διαλύματος βιομορίου της λακκάσης,, εκτυπωμένες με (α) πιπέτα και (β) τη μέθοδο LIFT.

Το αποτέλεσμα της μικρότερης γωνίας διαβροχής που παρατηρείται κατά την εναπόθεση του διαλύματος του βιομορίου με την τεχνική LIFT, εξηγείται λαμβάνοντας υπόψη την ταχύτητα πρόσκρουσης της σταγόνας που εναποτίθεται, στην επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη (70 m/s). Η ταχύτητα αυτή μετρήθηκε σύμφωνα με την διάταξη πειραματικής απεικόνισης του φαινομένου εκτύπωσης (Εικόνα 1.20) που περιγράφεται παραπάνω. Η δυναμική πίεση πρόσκρουσης της σταγόνας υπολογίζεται στα 3 MPa, τιμή πίεσης ικανή έτσι ώστε το διάλυμα στο οποίο περιέχεται το ένζυμο της λακκάσης να εισχωρήσει στη δομή του ηλεκτροδίου, με αποτέλεσμα την μείωση της γωνίας επαφής.

Για περαιτέρω μελέτη του φαινομένου ακινητοποίησης των βιομορίων σε τραχείς επιφάνειες αισθητήρων, πραγματοποιήθηκε μελέτη εξάρτησης της πυκνότητας ενέργειας του laser κατά την εκτύπωση του διαλύματος της λακκάσης, σε σχέση με τη γωνία διαβροχής των σταγόνων στην επιφάνεια ηλεκτροδίων γραφίτη (Εικόνα 2. 25).



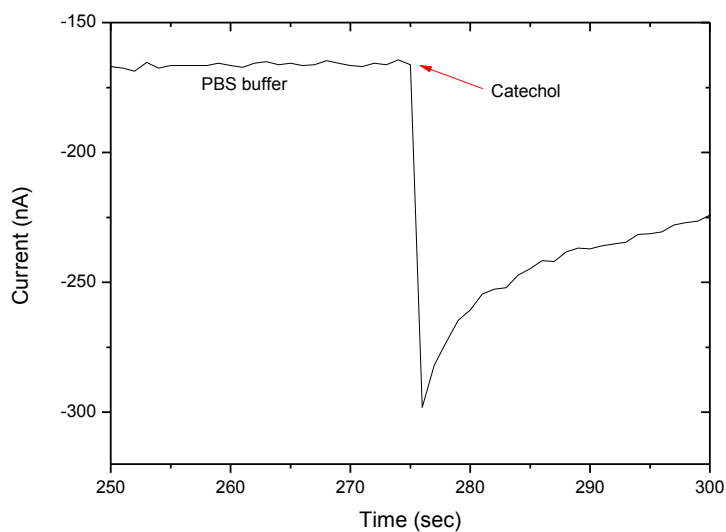
Εικόνα 2. 25: Εξάρτηση της γωνίας επαφής σταγόνων ενζύμου λακκάσης (σε διάλυμα PBS) με το ηλεκτρόδιο γραφίτη, σε σχέση με την πυκνότητα ενέργειας εκτύπωσης.

Όπως παρατηρείται, κατά την αύξηση της πυκνότητας ενέργειας εκτύπωσης, που έχει ως αποτέλεσμα και την αύξηση της ταχύτητας πρόσκρουσης της σταγόνας στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου και την αύξηση της πίεσης πρόσκρουσης της σταγόνας στην επιφάνεια του αποδέκτη, η γωνία επαφής μειώνεται, υποδεικνύοντας την εισχώρηση της σταγόνας στην δομή της επιφάνειας. Το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται από τις εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης, μετά την εκτύπωση (Εικόνα 2. 23:γ), όπου παρατηρείται πως το εναποτιθέμενο φιλμ του βιομορίου έχει εισχωρήσει στην δομή της επιφάνειας και παραμένει εκεί μετά από ένα πρωτόκολλο ξεπλυμάτων.

Αμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα παρουσία φαινολικών ενώσεων

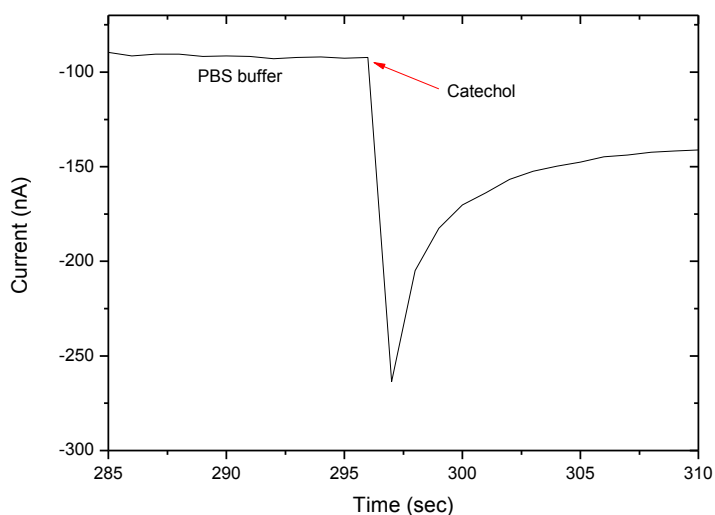
Για την ανίχνευση φαινολικών ενώσεων μέσω αμπερομετρίας, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα κατεχόλης, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, διαλυμένης σε PBS pH 4.5.

Αρχικά μελετήθηκε η απόκριση του αισθητήρα με το ακινητοποιημένο ένζυμο λακάσης, σε 300 nM κατεχόλη, μετά από διαδοχικές διαδικασίες ξεπλύματος. Τα ξεπλύματα πραγματοποιήθηκαν σε διάλυμα PBS pH 4.5 και τα αποτελέσματα παρατηρούνται στην Εικόνα 2. 26:.



Εικόνα 2. 26: Απόκριση του αισθητήρα ύστερα από (α) δύο εμβαπτίσεις σε διάλυμα PBS, pH4.5, (β) τέσσερις εμβαπτίσεις σε διάλυμα PBS, pH4.5.

(α)

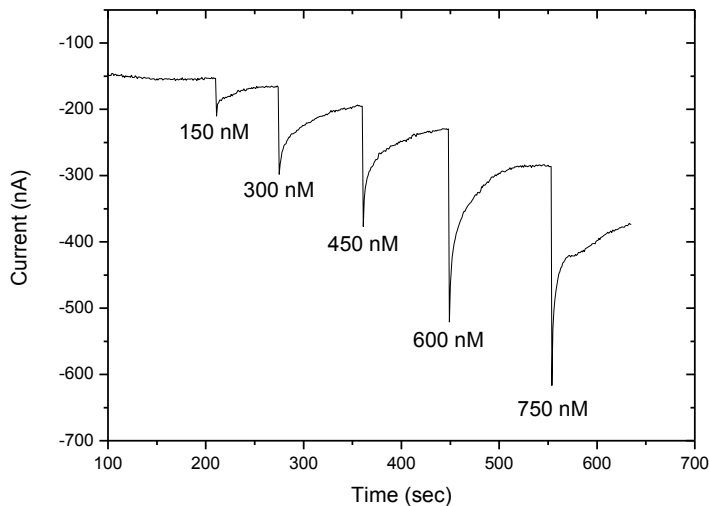


(β)

Η σταθερότητα του αισθητήρα στην απόκρισή του σε διάλυμα κατεχόλης, μετά από διαδοχικά ξεπλύματα, επιβεβαιώνει την ισχυρή πρόσδεση του βιομορίου στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Κάθε διαδικασία ξεπλύματος περιλαμβάνει την ανάδευση του ηλεκτροδίου στο οποίο έχει γίνει εκτύπωση του ενζύμου της λακκάσης, για 2 min σε διάλυμα PBS pH 4.5.

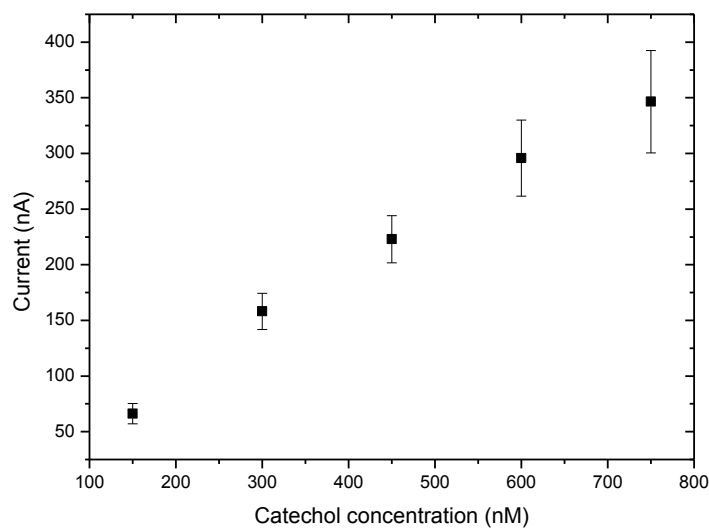
Προχωρώντας με τις αμπερομετρικές μετρήσεις ανίχνευσης κατεχόλης, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ανίχνευσης ποικίλων συγκεντρώσεων κατεχόλης (Εικόνα 2. 27:). Η απόκριση του αισθητήρα, σε διάφορες συγκεντρώσεις κατεχόλης, παρουσιάζει μια αναλογία στην αύξηση του σήματος και της συγκέντρωσης του αναλύτη. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο, εφόσον όλη η ποσότητα της κατεχόλης που εισάγεται στο θάλαμο μέτρησης, αναμένεται να

οξειδωθεί παρουσία της λακκάσης, χωρίς να φτάσει σε κορεσμό η οξειδοαναγωγική αντίδραση. Ο συγκεκριμένος ενζυμικός αισθητήρας μπορεί να ανιχνεύσει κατεχόλη με όριο ανίχνευσης τα 150 nM όπου λαμβάνεται σήμα περίπου 50 nA (Εικόνα 2. 27:α).



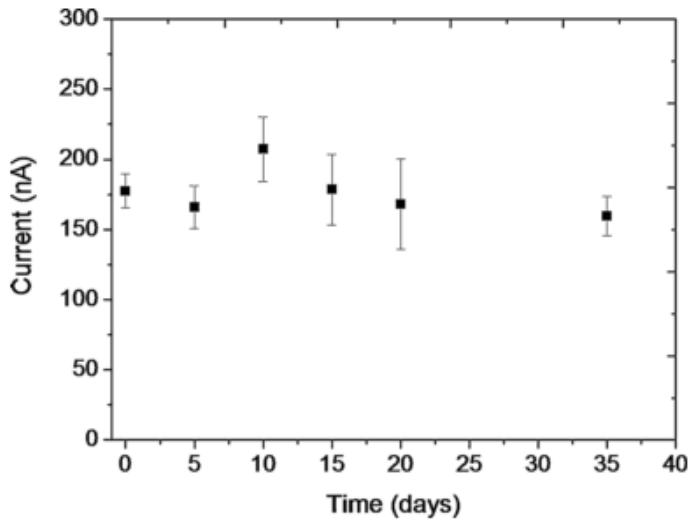
Εικόνα 2. 27: (α) Απόκριση ενός ενζυμικού αισθητήρα, μεταβάλλοντας τις συγκεντρώσεις κατεχόλης, (β) Στατιστική απόκριση του αισθητήρα, μεταβάλλοντας τις συγκεντρώσεις κατεχόλης.

(α)



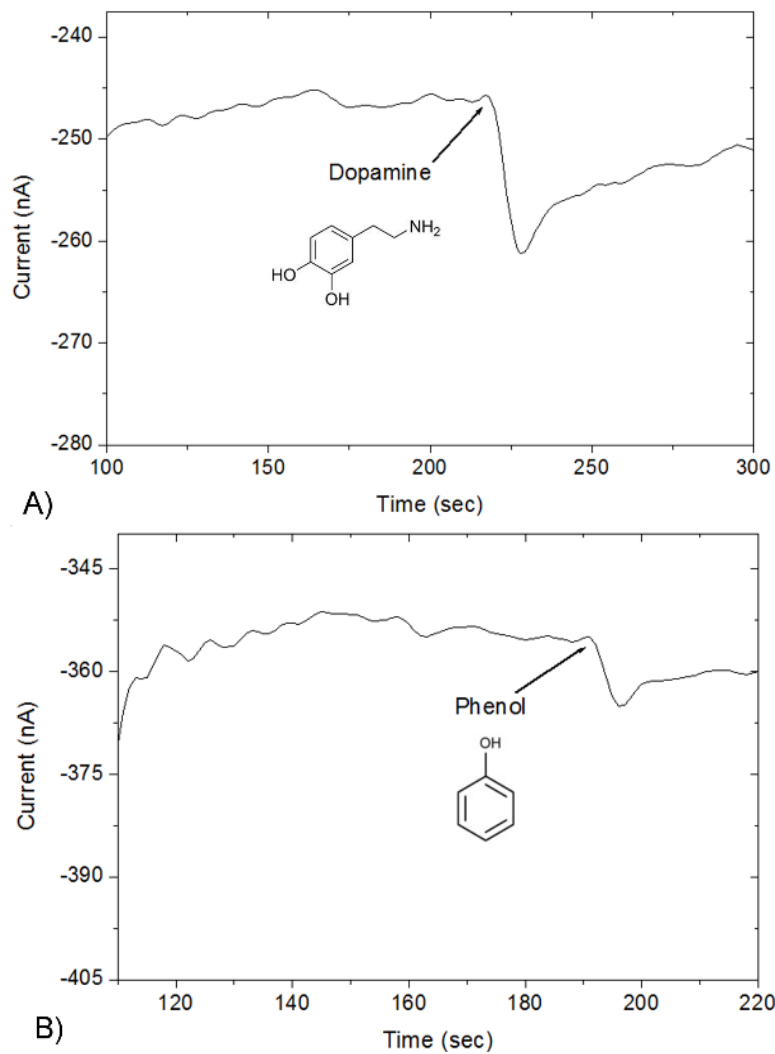
(β)

Πολλή σημαντική ιδιότητα ενός βιοαισθητήρα είναι η αντοχή και η σταθερότά του σε συνθήκες αποθήκευσης. Ο συγκεκριμένος αισθητήρας, αποθηκεύτηκε σε συνθήκες ψύξης 4°C και εξετάστηκε η δραστηκότητά του στην ανίχνευση 300 nM κατεχόλης, σε συνθήκες αποθήκευσης μέχρι και μετά από 35 ημέρες (Εικόνα 2. 28). Παρατηρείται ελάχιστη διαφοροποίηση του αμερομετρικού σήματος που καταγράφεται, γεγονός που ενισχύει τα πλεονεκτήματα χρήσης του αισθητήρα για την ποιοτική ανάλυση τροφίμων.



Εικόνα 2. 28: Απόκριση του ενζυμικού αισθητήρα λακκάσης, σε 300 nM κατεχόλης, ύστερα από συνθήκες αποθήκευσης.

Η δυνατότητα χρήσης του αισθητήρα για ανίχνευση επιπρόσθετων φαινολικών ενώσεων, εξετάστηκαν για την ανίχνευση φαινόλης και ντοπαμίνης.



Εικόνα 2. 29: Απόκριση του ενζυμικού αισθητήρα για ανίχνευση (α) 10 μM ντοπαμίνης και (β) 1 mM φαινόλης.

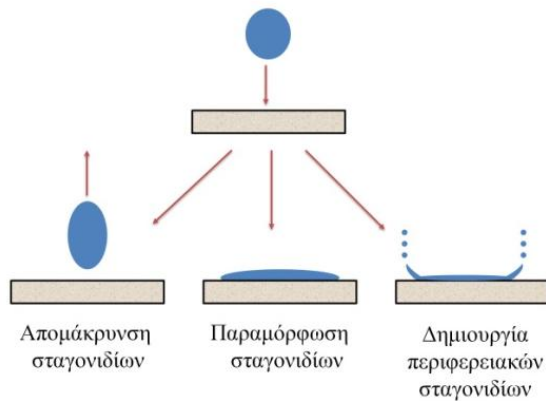
Οι συγκεντρώσεις ανιχνευτής των δυο επιπλέον φαινολικών ενώσεων δεν αποτελούν το όριο ανίχνευσης του αισθητήρα εφόσον οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με τις συνθήκες μέτρησης για ανίχνευση κατεχόλης.

2.3 Μηχανισμοί απευθείας ακινητοποίησης βιομορίων

Φαινόμενα που επικρατούν κατά την πρόσκρουση υγρής σταγόνας σε στερεή επιφάνεια

Για την επεξήγηση του φαινομένου απευθείας ακινητοποίησης βιομορίων σε επιφάνειες αισθητήρων, είναι απαραίτητη η μελέτη των μηχανισμών τροποποίησης των ιδιοτήτων διαβροχής επιφανειών. Κατά την πρόσκρουση μιας σταγόνας σε μια επιφάνεια, είναι απαραίτητο να ληφθούν υπόψη παράγοντες όπως το σχήμα της σταγόνας (σφαιρικό ή ελλειπτικό λόγω ταλαντώσεων), η φύση της επιφάνειας πρόσκρουσης (υγρή ή στερεή) και ο τρόπος πρόσκρουσης της σταγόνας στην επιφάνεια (κάθετα ή υπό γωνία). Ιδιότητες τις επιφάνειας, σε περίπτωση που είναι στερεή όπως η τραχύτητα, η ομοιογένεια και η σκληρότητα έχουν σημαντικό ρόλο στην επεξήγηση των μηχανισμών κατά την δυναμική πρόσκρουση μιας σταγόνας σε αυτές. Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη είναι η ταχύτητα της σταγόνας, το μέγεθός της, η πυκνότητα του υγρού, το ιξώδες και η επιφανειακή του τάση.

Κατά την πρόσκρουση μιας σταγόνας σε μια επιφάνεια, παρατηρούνται δύο διαφορετικές φάσεις [37]. Η πρώτη φάση παρατηρείται πριν την επαφή της σταγόνας με την επιφάνεια, όπου ένα λεπτό στρώμα αέρα συμπιέζεται, καθώς παρεμβάλλεται ανάμεσα στην σταγόνα και την επιφάνεια, καθώς πλησιάζουν. Η πίεση που ασκείται από το στρώμα αέρα στην σταγόνα, οδηγεί στην παραμόρφωση του σχήματος της σταγόνας. Κατά την επαφή της σταγόνας με την επιφάνεια, η κινητική ενέργεια της σταγόνας μετατρέπεται σε δυναμική ενέργεια λόγω της παραμόρφωσης της σταγόνας. Το μέγεθος της παραμόρφωσης και η τελική κατάληξη του σχήματος της σταγόνας στην επιφάνεια, κυρίως επεξηγείται σύμφωνα με τις ιδιότητες διαβροχής μιας επιφάνειας. Αυξάνοντας την ταχύτητα της πρόσκρουσης της σταγόνας (π.χ. 100 m/s), περιφερειακά σταγονίδια μπορούν να παραχθούν στην κατάσταση μέγιστης παραμόρφωσης (*Εικόνα 2. 30*), ενώ ένα ωστικό κύμα δημιουργείται κατά την πρόσκρουση, το οποίο κατευθύνεται στο εσωτερικό του υγρού της σταγόνας, με αποτέλεσμα σε πολλές περιπτώσεις την δημιουργία ενός jet υγρού [38].



Εικόνα 2. 30: Σχηματική απεικόνιση φαινομένων που επικρατούν κατά την δυναμική πρόσκρουση σταγόνων σε στερεή επιφάνεια

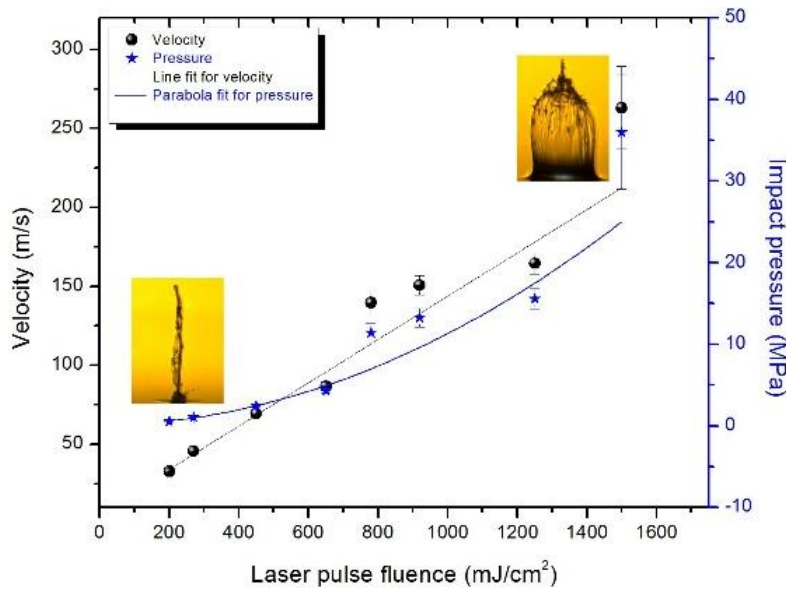
Η παραμόρφωση της σταγόνας περιγράφεται σύμφωνα με την αδιάστατη σταθερά Weber [39]: $We = \frac{\rho v^2 R}{\sigma}$ (ρ είναι η πυκνότητα του υγρού, v είναι η ταχύτητα πρόσκρουσης, R είναι η διάμετρος της σταγόνας και σ είναι η επιφανειακή τάση της σταγόνας), η οποία για πρώτη φορά χρησιμοποιήθηκε στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, στο Κεφάλαιο 1, για την επεξήγηση της μορφολογίας του πίδακα υγρού και των εκτυπωμένων δομών σύμφωνα με την αρχή εκτύπωσης μέσω της τεχνικής LIFT.

Καθώς αυξάνεται η σταθερά Weber, τόσο μεγαλύτερη είναι η εγκάρσια παραμόρφωση της σταγόνας, για ένα υγρό μικρού ιξώδους, οδηγώντας την τελική διάσπαση της σε μικρότερα σταγονίδια [40]. Οι δυνάμεις ιξώδους, καθώς και τριχοειδής δυνάμεις και δυνάμεις αδράνειας οδηγούν στην σύμπτυξη της σταγόνας μέχρι να επέλθει ισορροπία [41].

Μηχανισμοί διαβροχής υδρόφοβων επιφανειών με μικρο και νανο τραχύτητα, κατά την πρόσκρουση σταγόνων με υψηλές ταχύτητες

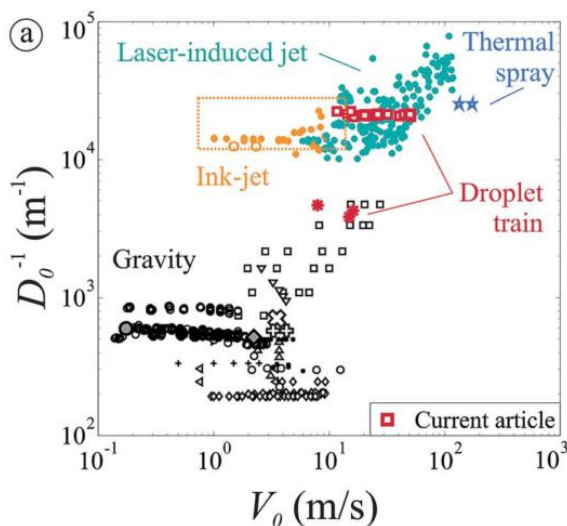
Κατά την εκτύπωση σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT, παρατηρείται η δημιουργία μικροσταγόνων (από 50 έως 500 μm διάμετρος) ανάλογα με το μέγεθος του ίχνους του παλμού του laser στο υπόστρωμα δότη και της πυκνότητας ενέργειας του παλμού. Η πυκνότητα ενέργειας του παλμού είναι και ο κύριος παράγοντας δημιουργίας jet τα οποία καταλήγουν στην δημιουργία σταγόνων οι οποίες ταξιδεύουν με μεγάλο εύρος ταχυτήτων (Εικόνα 2. 31). Οι ταχύτητες των σταγόνων μετρήθηκαν σύμφωνα με την καταγραφή εικόνων όπως περιγράφονται στη πειραματική διάταξη απεικόνισης της διαδικασίας εκτύπωσης. Όπως παρατηρείται στην Εικόνα 2. 31 η μεταβολή της πυκνότητας ενέργειας του παλμού, οδηγεί στην δημιουργία σταγόνων που ταξιδεύουν από 30 m/s μέχρι 250 m/s.

Υπολογίζοντας την πίεση πρόσκρουσης των σταγόνων σύμφωνα με την εξίσωση: $P_{im} = \frac{1}{2} \cdot \rho \cdot u_{im}^2$, όπου, u_{im} , είναι η ταχύτητα πρόσκρουσης και ρ , είναι η πυκνότητα του υγρού [42].



Εικόνα 2. 31: Διάγραμμα ταχύτητας και πίεσης πρόσκρουσης σταγόνων για διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το υπόστρωμα δότη.

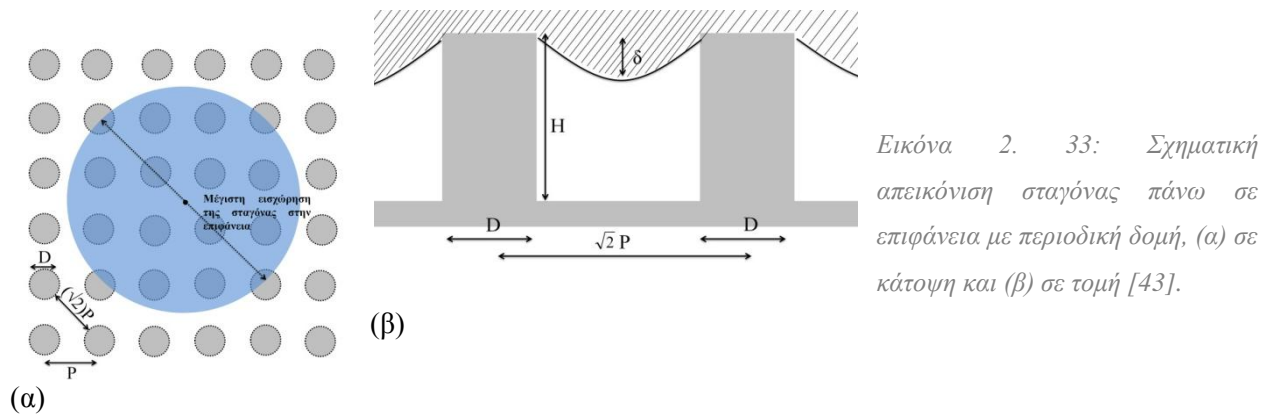
Οι πιέσεις που ασκούν οι σταγόνες κατά την πρόσκρουση στην επιφάνεια είναι από 0.05 MPa (για 150 mJ/cm² πυκνότητα ενέργειας και 50 μm spot size και 10 μL υγρού στο υπόστρωμα δότη) έως 37 MPa (για 1500 mJ/cm² πυκνότητα ενέργειας και 50 μm spot size και 10 μL υγρού στο υπόστρωμα δότη). Η τιμή πίεσεως πρόσκρουσης 37 MPa είναι η πίεση που καταγράφεται για ταχύτητα 250 m/s και είναι μιας τάξης μεγέθους μεγαλύτερη ταχύτητα πρόσκρουσης από την ταχύτητα που καταγράφεται σύμφωνα με άλλες τεχνικές εκτύπωσης (ink-jet) (Εικόνα 2. 32).



Εικόνα 2. 32: Συνολικό διάγραμμα, ταχυτήτων που παρατηρούνται κατά την πρόσκρουση σταγόνων, που έχουν δημιουργηθεί από διαφορετικές τεχνικές, σε επιφάνειες, σε σχέση με την αντίστροφη διάμετρο των σταγόνων που παρατηρούνται

Για την κατανόηση των φαινομένων που επικρατούν στην τροποποίηση των ιδιοτήτων διαβροχής μιας υπερυδρόφοβης επιφάνειας, είναι απαραίτητη η μελέτη των συνθηκών που

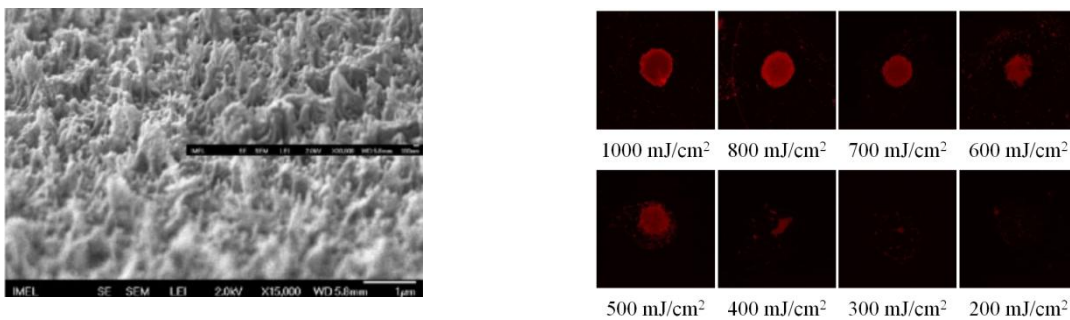
οδηγούν στην εισχώρηση του υγρού στην μικρο και νανο δομή μιας επιφάνειας. Λαμβάνοντας υπόψη πως η υδροφοβικότητα μιας επιφάνειας είναι μια ιδιότητα που δίνεται λόγω του εγκλωβισμένου στρώματος αέρα στην δομή της επιφάνειας, το οποίο εμποδίζει την επαφή του υγρού με το στερεό, γίνεται ανάλυση της εισχώρησης της σταγόνας σε μια θεωρητική επιφάνεια με περιοδική δομή κυλίνδρων διαμέτρου D , ύψους H και διάκενου P (Εικόνα 2. 33).



Κατά την πρόσκρουση σταγόνων σε μια επιφάνεια με μικρομετρικές δομές, όπου το μέγεθος των δομών είναι πολύ μικρότερο του μεγέθους της σταγόνας, Ο βαθμός που η σταγόνα εισχωρεί στη δομή της επιφάνειας δίνεται από την εξίσωση Laplace [43]: $P_L = \frac{2\gamma}{R}$, η οποία συσχετίζει την πίεση στο εσωτερικό της σταγόνας με την καμπυλότητά της πάνω στην επιφάνεια, όπου γ είναι η επιφανειακή τάση της σταγόνας και R είναι η ακτίνα της σταγόνας. Για σταγόνες που παρατηρείται μικρό μέρος της σταγόνας να εισχωρεί στην επιφάνεια, η πίεση Laplace γράφεται: $P_L = \frac{16\gamma\delta}{L_{mean}^2}$ [44], όπου δ είναι το μήκος της σταγόνας που εισχωρεί στην επιφάνεια (εικόνα) και L_{mean} είναι η μέση απόσταση μεταξύ των κυλίνδρων της επιφάνειας. Το μήκος δ δίνεται: $\delta = \frac{(\sqrt{2}P-D)^2}{8R} = \frac{L_{mean}^2}{8R}$, όπου R είναι η ακτίνα καμπυλότητας της σταγόνας καθώς εισχωρεί στο διάκενο μεταξύ δύο κυλίνδρων. Η τιμή της πίεσης, στην οποία η σταγόνα έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια, καθώς διώχνει το στρώμα αέρα, είναι αυτή όπου το μήκος δ της σταγόνας γίνεται ίσο ή μεγαλύτερο από το ύψος των κυλίνδρων [43].

Παρατηρώντας των εύρος των πιέσεων που ασκούνται σύμφωνα με την εκτύπωση σταγόνων της τεχνικής LIFT, υπολογίζεται η παράμετρος δ για πρότυπη επιφάνεια με $L_{mean} = 420 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$ και $H = 865 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$, για πιέσεις πρόσκρουσης της σταγόνας 1.2 MPa και 35 MPa, η παράμετρος δ υπολογίζεται 430 nm και 8 μm αντίστοιχα [45].

Για Πειραματική επιβεβαίωση των ανωτέρω συλλογισμών, εξετάστηκε η διαβροχή υπερυδρόφοβης επιφάνειας PMMA (poly(methyl methacrylate)), 2 mm πάχους, με τυχαία μικρομετρική δομή τραχύτητας [46]. Μετρώντας την μέση διάμετρο των κώνων που παρουσιάζονται $310 \text{ nm} \pm 90 \text{ nm}$, το μέσο διάκενο $420 \text{ nm} \pm 31 \text{ nm}$ και το μέση ύψος $860 \text{ nm} \pm 30 \text{ nm}$, εξετάζεται η διαβροχή της επιφάνειας μέσω της εκτύπωσης σταγόνων με laser, θυλακοειδών μεμβρανών σε διάλυμα 25 mM 2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid (MES) pH = 6.0, 70 mM sucrose, and 15 mM NaCl [47], έτσι ώστε να είναι ορατή η διαβροχή της επιφάνειας μετά απο σταδιακά ξεπλύματα, μέσω μικροσκοπίας φθορισμού. Όπως παρατηρείται από τη παρακάτω *Εικόνα 2. 34*, η κρίσιμη τιμή πίεση πάνω από την οποία επέρχεται η μη αναστρέψιμη μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής της επιφάνειας είναι για πυκνότητα ενέργειας 500 mJ/cm^2 , και πίεση πρόσκρουσης 1.2 MPa, όπου σύμφωνα με τους παραπάνω υπολογισμούς, η σταγόνας έχει εισχωρήσει σε μεγάλο βαθμό στο εσωτερικό της επιφάνειας (420 nm).



Εικόνα 2. 34: (α) Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης επιφάνειας PMMA, στην οποία έχει γίνει εγχάραξη πλάσματος O_2 για 4 λεπτά, (β) Εικόνα μικροσκοπίας φθορισμού των εκτυπωμένων σταγόνων θυλακοειδών μεμβρανών, για διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας του παλμού του laser, μετά από διαδικασία ξεπλύματος (5 λεπτά ανάδευση σε διάλυμα tricine 20 mM pH 7.8, sucrose 70 mM, NaCl 15 mM, MgCl2 5 mM).

Για τιμές πίεσης πολύ μεγαλύτερες, όπως 35 MPa, η παράμετρος δ υπολογίζεται 8 μm , με αποτέλεσμα την επιβεβαίωση της δυνατότητας χρήσης της τεχνικής LIFT για την μελέτη των ιδιοτήτων διαβροχής υπερυδρόφοβων επιφανειών.

Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο, παρουσιάστηκε η χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση βιομορίων με σκοπό την ανάπτυξη αισθητήρων. Αρχικά περιγράφηκε η δημιουργία αισθητήρα χωρητικότητας για ανίχνευση βαρέων μετάλλων σε υδατικά διαλύματα. Οι συνθήκες εκτύπωσης με laser, σύμφωνα με τις οποίες δημιουργούνται δομές με σαφή σχήμα (σταγόνες) και όρια, μελετήθηκαν σύμφωνα με την εκτύπωση πρότυπων διαλυμάτων ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων, οι οποίες ακινητοποιήθηκαν σε επιφάνειες οξειδίου του πυριτίου μέσω ομοιοπολικών δεσμών που δημιουργούνται μεταξύ των ομάδων θειόλης (SH) των ολιγονουκλεοτιδίων και του σιλανίου που έχει επιστρωθεί στην επιφάνεια του οξειδίου. Η χρήση μικροσκοπίας φθορισμού για την παρατήρηση της ακινητοποίησης των ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων ανιχνευτών και των αλυσίδων στόχων, με τις οποίες υβριδοποιούνται επιβεβαιώνει επίσης και την λειτουργικότητα των βιομορίων μετά την εναπόθεση με το laser.

Προχωρώντας στην εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση ολιγονουκλεοτιδικών αλυσίδων με σκοπό την ανίχνευση βαρέων μετάλλων, χρησιμοποιούνται δύο τεχνητές συμπληρωματικές ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες. Αρχικά η ολιγονουκλεοτιδική αλυσίδα του βιομορίου ανιχνευτή ακινητοποιείται μέσω ομοιοπολικών δεσμών (όπως περιγράφηκε παραπάνω) στην επιφάνεια του αισθητήρα. Ως αισθητήρια στοιχεία χρησιμοποιούνται δομές πυκνωτών που αποτελούνται από ένα εύκαμπτο οπλισμό (υπέρλεπτη μεμβράνη οξειδίου του πυριτίου) και ένα σταθερό οπλισμό. Κατά την υβριδοποίηση της αλληλουχίας του βιομορίου ανιχνευτή με το βιομόριο αναλύτη παρατηρείται αύξηση μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή, καθώς απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των δίκλωνων αλυσίδων οδηγούν στην παραμόρφωση της μεμβράνης του αισθητήρα. Η διάσπαση των δίκλωνων αλυσίδων που παρατηρείται παρουσία βαρέων μετάλλων οδηγεί στην επαναφορά της μεμβράνης στην αρχική θέση (πριν την διαδικασία της υβριδοποίησης) και κατά συνέπεια στην μεταβολή της χωρητικότητας. Ο εν λόγω αισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση ιόντων μολύβδου Pb^{+2} συγκέντρωσης 10 μM , ενώ η επιλεκτικότητα του αισθητήρα εξετάστηκε στην ανίχνευση ιόντων μολύβδου, παρουσία ιόντων μαγνησίου.

Εν συνεχεία παρουσιάστηκε η δυνατότητα χρήσης της τεχνικής εκτύπωσης με laser (LIFT) για την ταυτόχρονη εκτύπωση και ακινητοποίηση βιομορίων. Το αποτέλεσμα αυτό παρατηρήθηκε κατά την ανάπτυξη αισθητήρα ανίχνευσης ποιότητας τροφίμων, στον οποίο χρησιμοποιήθηκε ως βιομόριο ανιχνευτής το ένζυμο της λακκάσης, το οποίο είναι υπεύθυνο

για την οξείδωση φαινολικών ενώσεων. Η μεταφορά ηλεκτρονίων που παρατηρούνται κατά τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής μεταξύ φαινολικών ενώσεων, ενζύμου και διαλύματος μέτρησης, οδηγούν στην αμπερομετρική ανίχνευση των φαινολικών ενώσεων. Η χρήση της τεχνικής LIFT για την ακινητοποίηση του ενζύμου είναι μια διεργασία με αρχή λειτουργίας την πίεση πρόσκρουσης που παρατηρείται κατά την εκτύπωση σταγόνων βιομορίων με laser. Τέλος, έγινε μελέτη για τους μηχανισμούς που επικρατούν κατά την εκτύπωση σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT αλλά και των μηχανισμών διαβροχής των επιφανειών που οδηγούν στην απευθείας ακινητοποίηση βιομορίων σε τραχιές επιφάνειες.

Αναφορές

- [1] Thevenot , D.R. , Toth , K. , Durst , R.A. , and Wilson , G.S. (1999) , 71 (12) , 2333 – 2348 .
- [2] Thevenot , D.R. , Toth , K. , Durst , R.A. , and Wilson , G.S. (2001). *Biosensors & Bioelectronics* , 16 (1 – 2) , 121 – 13
- [3] Thevenot , D.R. , Toth , K. , Durst , R.A. , and Wilson , G.S. (2001) , *Analytical Letters* , 34 (5) , 635 – 659 .
- [4] .Gerwen P V, Laureyn W, Laureys W, Huyberechts G, Op De Beeck M, Baert K, Suls J, Sansen W, Jacobs P, Hermans L, Mertens R, (1998) *Sens. Actuators B*, 49:73-80. 13.
- [5] .Olthuis W, Sprenkels A J, Bomer J G, Bergveld P, *Sens. Actuators B* 43 (1997) 211–216
- [6] V. Tsouti, C. Boutopoulos, I. Zergioti, and S. Chatzandroulis, (2011) *Biosens. Bioelectron.*, 27: 1–11.
- [7] Fritz J, Baller M K, Lang H P, Rothuizen H, Vettiger P, Meyer E, Güntherodt H J, Gerber Ch, Gimzewski J K (2000), *Science* 288:316-318
- [8] McKendry R, Zhang J, Arntz Y, Strunz T, Hegner M, Lang H P, Baller M K, Certa U, Meyer E, Guntherodt H J, Gerber C (2002) *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:9783-9788
- [9] Stachowiak J C, Yue M, Castelino K, Chakraborty A, Majumdar A (2006) *Langmuir* 22:263-268
- [10] Hagan M F, Majumdar A, Chakraborty A K (2002), *Journal of Physical Chemistry B* 106:10163-10173
- [11] <http://www.snipview.com/q/Carboxyfluorescein>
- [12] <http://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/biology/black-hole-quenchers.html>
- [13] Bhatti P, Stewart P, Hutchinson A, Rothman N, Linet MS, Inskip PD, Rajaraman P. , *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2009: 1841-1848.
- [14] X.G.Kondakis, N.Makris, M.Leotsinidis, M.Prinou, T.Papapetropoulos, *Archives of Environmental Health* 44 (1989): 17-178.
- [15] T.W.Clarkson, (1987) *Environmental Health Perspectives* 75: 59-64.
- [16] C.W.Olanow. (2004) *Annals of the New York Academy of Sciences* 1012: 209-223.
- [17] Schneider E., Clark D, *Biosensors and Bioelectronics* 39 (2013): 1-13.
- [18] Needleman, (2004) *H. Annual Review of Medicine* 55: 209-223.
- [19] Menke, P.Muntner, V.Batuman, E.K.Silbergeld and E.Guallar, (2006) *Circulation* 114: 1388-1394.
- [20] P.J.Landigan, *Public Health Rep.* 115 (2000): 530-531.
- [21] Asfaw, A., Wibetoe, G., Beauchemin, D, *J. Anal. At. Spectrom.* 27 (2012): 1928-1934.
- [22] http://www.jenabioscience.com/cms/en/1/catalog/2422_fluorescent_pcr_labeling_kits.html
- [23] M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, and I. Zergioti, , *Appl. Surf. Sci.*, vol. 278, pp. 250–254, 2013.
- [24] M. Χατζηπέτρον, Μεταπτυχιακή εργασία ΔΠΜΣ μικροσυστήματα και νανοδιατάξεις " Ενεργοποίηση βιοαισθητήρων και εκτύπωση βιολογικού υλικού με laser", 2011.
- [25] V. Tsouti, S. Chatzandroulis, *Microelectron. Eng.* 90 (2012) 29–32.
- [26] Beckman CH. (2000) *Physiol. Mol. Plant Pathol* 57:101-10.
- [27] Graf BA, Milbury PE, Blumberg JB. *Flavonols*, (2005) *J Med Food* 8:281- 90.
- [28] Arts ICW, Hollman PCH. (2005) *Am J Clin Nutr*, 81:317-25
- [29] K. B. Pandey and S. I. Rizvi, (2009) *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2(5) :270–278.
- [30] Spencer JP, Abd El Mohsen MM, Miniñane AM, Mathers JC, (2008) *Br J Nutr* 99:12-22.
- [31] M. Alcalde, J. Polaina, A. P. MacCabe (Eds.), (2007) Springer, New York, 459–474.
- [32] Y. Tan, W. Deng, B. Ge, Q. Xie, J. Huang, S. Yao, (2009) *Biosensors and Bioelectronics*, 24, 2225–2231.
- [33] R. C. Minussi, G. M. Pastore, N. Duran, (2002) 13, 205–216.
- [34] B. Eggins, *Chemical sensors and biosensors*. John Wiley & Sons Ltd, 2002.
- [35] A. Kozbial, Z. Li, J. Sun, X. Gong, F. Zhou, Y. Wang, H. Xu, H. Liu, and L. Li, (2014) *Carbon* N. Y., vol. 74, pp. 218–225.
- [36] Y. C. Jung and B. Bhushan, (2008) *Langmuir*, 24 (12): 6262–9.
- [37] C. W. Visser, Y. Tagawa, C. Sun, and D. Lohse, (2012) *Soft Matter*, 8(41):10732.
- [38] M. Rein, (2009) *Fluid Dyn. Res.*, vol. 12, no. 2, pp. 61–93.

-
- [39] Clanet, C.; Beguin, C.; Richard, D.; Quere, D. J. *Fluid Mech.* (2004), 517, 199–208.
- [40] X. Deng, F. Schellenberger, P. Papadopoulos, D. Vollmer, and H.-J. Butt, (2013) *Langmuir*, 29(25): 7847–56.
- [41] D. Bartolo, C. Josserand, and D. Bonn, “Retraction dynamics of aqueous drops upon impact on nonwetting surfaces,” pp. 1–10, 2005.
- [42] N. Hancox and J. Brunton, *Philosophical Transactions for the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* 260, 121 (1966).
- [43] Jung Y, Bhushan B. *ScriptaMaterialia*, 57, 1057–60, (2007).
- [44] Jung YC, Bhushan B. *Langmuir*, 24, 6262–9, (2008).
- [45] C. Boutopoulos, M. Chatzipetrou, A. G. Papathanasiou, and I. Zergioti, *Laser Phys. Lett.*, vol. 11, no. 10, p. 105603, Oct. 2014.
- [46] Gnanappa A K, Papageorgiou D P, Gogolides E, Tserepi A, Papathanasiou A G and Boudouvis A G 2012 *Plasma Processes Polym.* 9 304
- [47] Touloupakis E, Boutopoulos C, Buonasera K, Zergioti I and Giardi M T 2012 *Anal. Bioanal. Chem.* 402 3237



Κεφάλαιο 3 Ανάπτυξη χημικών αισθητήρων με την τεχνική εκτύπωσης με λειζερ (LIFT)

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η μελέτη χρήσης της τεχνικής εναπόθεσης με laser (LIFT), για την εκτύπωση νανοσύνθετων πολυμερών με σκοπό την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων. Ως νανοσύνθετα πολυμερικά διαλύματα χρησιμοποιούνται διαλύματα πολυμερικής μήτρας Nafion, με εγκλείσματα χημικά τροποποιημένων και μη χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα. Τα νανοσύνθετα εκτυπώνονται σε ηλεκτρόδια χρυσού, τα οποία έχουν αναπτυχθεί με σκοπό την ανάπτυξη αισθητήρων αγωγιμότητας για την ανίχνευση υγρασίας και αιθανόλης.

3.1 Ανάπτυξη αγωγιμομετρικού αισθητήρα για την ανίχνευση υγρασίας και αλκοολών

Ειδική κατηγορία χημικών αισθητήρων, είναι οι αισθητήρες αερίων, οι οποίοι τα τελευταία χρόνια παρουσιάζουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον, κυρίως λόγω της εφαρμογής τους ως συστήματα ελέγχων βιομηχανικών εκπομπών, ελέγχου εκπομπών οχημάτων και περιβαλλοντολογικών ελέγχων. Η πλειοψηφία των αισθητήρων αερίων αφορά την ανίχνευση αερίων όπως CO₂, CO, SO₂, O₂, O₃, H₂, Ar, N₂, NH₃ και H₂O, είτε λόγω της τοξικότητάς τους, λόγω της σχέσης τους με την ατμοσφαιρική σύνθεση είτε λόγω του γεγονότος ότι μπορούν να βρεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις σε ορισμένες συνθήκες περιβάλλοντος [1, 2, 3, 4]. Πέραν του χαμηλού κόστους που είναι απαραίτητο να έχουν οι αισθητήρες αερίων, πρέπει να παρουσιάζουν μεγάλη επιλεκτικότητα στην ανίχνευση αερίων και μεγάλη ευαισθησία, καθώς επίσης είναι απαραίτητη η σταθερότητά τους κατά την μεταβολή περιβαλλοντικών συνθηκών. Συνήθως μόρια ανιχνευτές για αέριους αναλύτες είναι τα πολυμερή, στα οποία κατά την απορρόφηση αερίων αναλυτών παρατηρείται μεταβολή των ιδιοτήτων τους. Για να αυξηθεί η ευαισθησία των αισθητήρων αερίων είναι συχνή η χρήση νανοσύνθετων πολυμερικών μητρών. Οι νανοσωλήνες άνθρακα, ανακαλύφθηκαν το 1991 [5], και έχουν καταλάβει μεγάλο μέρος του ερευνητικού ενδιαφέροντος στα νανοσωματίδια, λόγω της μοναδικής τους γεωμετρίας, τη μορφολογίας και των ιδιοτήτων τους (ηλεκτρικών, μηχανικών, θερμικών, και οπτικών). Κατά την έκθεση των νανοσωλήνων άνθρακα σε περιβάλλον αερίων, η αλλαγή στις ιδιότητες τους όπως και στις ιδιότητες των νανοσύνθετων πολυμερών με νανοσωλήνες άνθρακα, μπορεί να ανιχνευθεί με ποικίλες μεθόδους. Ως

αποτέλεσμα, μεγάλο μέρος της ανάπτυξης αισθητήρων αερίων αφορά την χρήση νανοσύνθετων πολυμερών με νανοσωλήνες άνθρακα [6, 7].

Αρχή λειτουργίας του αισθητήρα

Για τη μέτρηση της αγωγιμότητας σε ένα υλικό, θα πρέπει αρχικά να μετρηθεί η αντίσταση R που εμφανίζει, όταν εφαρμόζεται σε αυτό ρεύμα I από μια πηγή ρεύματος, ή διαφορά δυναμικού V από μια πηγή τάσης. Στην πρώτη περίπτωση μετριέται η διαφορά δυναμικού στα άκρα του δείγματος, με χρήση παράλληλα συνδεδεμένου βολτομέτρου, ενώ στη δεύτερη περίπτωση μετριέται η ένταση του ρεύματος που διαρρέει το δείγμα, με χρήση σειριακά συνδεδεμένου αμπερομέτρου. Και στις δύο περιπτώσεις, η αντίσταση υπολογίζεται μέσα από το νόμο του Ohm: $R=V/I$. Εν συνεχεία, γίνεται ο υπολογισμός της ειδικής αντίστασης του υλικού ρ , όπου είναι απαραίτητο να ληφθεί υπόψη η γεωμετρία του δοκιμίου [8]. Η μέτρηση της ειδικής αντίστασης γίνεται σύμφωνα με τη μέθοδο τεσσάρων επαφών, όπου η πτώση τάσης στην αντίσταση των συρμάτων και στην αντίσταση της επαφής είναι αμελητέες και δεν λαμβάνονται υπόψη [8]. Στη μέθοδο αυτή, έρχονται σε επαφή τέσσερις συννευθιακές και ισαπέχουσες αγώγιμες επαφές (ακίδες), με την επιφάνεια του δείγματος. Μέσω των εξωτερικών επαφών εφαρμόζεται ρεύμα σταθερής έντασης και μέσω των εσωτερικών επαφών μετριέται η διαφορά δυναμικού στο υλικό.

Η ειδική αντίσταση υπολογίζεται σύμφωνα με τη σχέση: $\rho = \frac{R \cdot w \cdot t}{l}$, όπου w το πλάτος του δείγματος, t το ύψος του και l το μήκος του. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα σ προκύπτει εύκολα από τη σχέση $\sigma=1/\rho$. Η μέθοδος αυτή είναι γνωστή ως μέθοδος των δύο επαφών. Το σύνολο των μετρήσεων της αντίστασης, που οδήγησαν στον υπολογισμό της ηλεκτρικής αγωγιμότητας, πραγματοποιήθηκαν με χρήση της διάταξης 2400 source-meter, KEITHLEY.

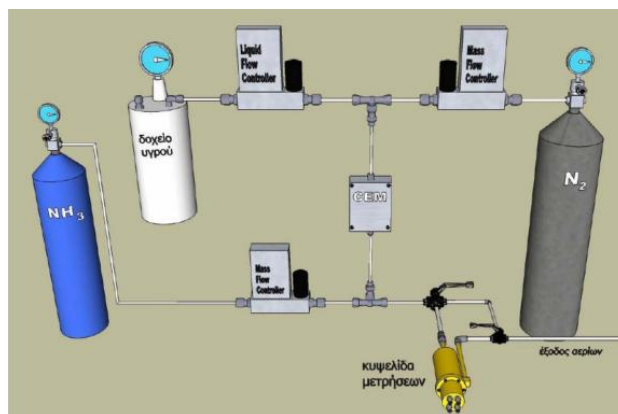
Η μεταβολή στην αγωγιμότητα που καταγράφεται στις μετρήσεις του χημικού αισθητήρα αλκοολών και υγρασίας, οφείλεται στις ηλεκτρικές ιδιότητες του ανιχνευτή, ο οποίος στα πλαίσια αυτής της διδακτορικής διατριβής είναι νανοσύνθετο πολυμερές. Όσον αφορά τις ηλεκτρικές ιδιότητες των πολυμερών, υπάρχουν δύο βασικές κατηγορίες, τα συζυγή πολυμερή ή ενδογενώς αγώγιμα και τα μονωτικά πολυμερή. Στην περίπτωση των μονωτικών πολυμερών, τα αγώγιμα σωματίδια που χρησιμοποιούνται ως εγκλείσματα στην πολυμερική μήτρα, συνδέονται και δημιουργούν ένα αγώγιμο δίκτυο μέσα στη μονωτική φάση. Η κρίσιμη τιμή της συγκέντρωσης του αγώγιμου εγκλείσματος, στην οποία δημιουργείται ο πρώτος ολοκληρωμένος αγώγιμος δρόμος μέσα στη μονωτική μήτρα είναι γνωστή και ως

κατώφλι διαφυγής (percolation threshold) [9]. Επομένως, το νανοσύνθετο υλικό περνάει από τη μονωτική στην αγώγιμη συμπεριφορά. Κατά την προσρόφηση του αέριου αναλύτη στο νανοσύνθετο πολυμερές, προκαλούνται μεταβολές στην ηλεκτρική αντίσταση του υλικού, οι οποίες αποδίδονται με τη διόγκωση της πολυμερικής μήτρας και στις μεταβολές στην αγωγιμότητα του εγκλείσματος, λόγω της απορρόφησης του διαλύτη [10]. Η διόγκωση του πολυμερούς συνεπάγεται την απομάκρυνση των σωματιδίων του αγώγιμου εγκλείσματος, με αποτέλεσμα την καταστροφή ορισμένων αγώγιμων δρόμων ή ακόμα και ολόκληρου του δικτύου [11]. Επομένως προκαλείται η αύξηση της μετρούμενης ηλεκτρικής αντίστασης του νανοσύνθετου, με τη συμπεριφορά αυτή να αναφέρεται ως φαινόμενο θετικού συντελεστή ατμών της αντίστασης. Σε κάθε περίπτωση, η απομάκρυνση του νανοσύνθετου από το περιβάλλον του αερίου, προκαλεί την εκρόφηση των μορίων του αναλύτη και το υλικό τείνει να επανέλθει στην αρχική κατάσταση πριν την έκθεση.

Πειραματική διάταξη μέτρησης

Οι μετρήσεις χαρακτηρισμού των χημικών αισθητήρων αγωγιμότητας πραγματοποιήθηκαν στη Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών από τους Β. Σημαντηράκη και Χ. Πανδή, της ομάδας διηλεκτρικών του Τομέα φυσικής του ΕΜΠ.

Η διαδικασία μέτρησης πραγματοποιείται μέσω κατάλληλου συστήματος ανάμειξης αερίων, το οποίο επιτρέπει την παροχή αερίων μιγμάτων με καθορισμένη περιεκτικότητα σε αναλύτη, στο θάλαμο τοποθέτησης του ευαίσθητου υλικού. Το σύστημα αυτό, αποτελείται από ένα μετρητή/ελεγκτή ροής αερίου (Mass Flow Controller) που ρυθμίζει τη ροή του φέροντος αερίου (N_2), με εύρος 20 ml/min ως 1000 ml/min, ένα μετρητή/ελεγκτή ροής υγρού (Liquid Flow Controller) με εύρος 40 mg/h ως 2 g/h, ένα μετρητή/ελεγκτή ροής αερίου (Mass Flow Controller) [12] για τη ρύθμιση της ροής του αερίου αναλύτη, εύρους από 20 ml/min ως 1 ml/min και τέλος από μια συσκευή δημιουργίας ατμών (Controlled Evaporation and Mixing-CEM).



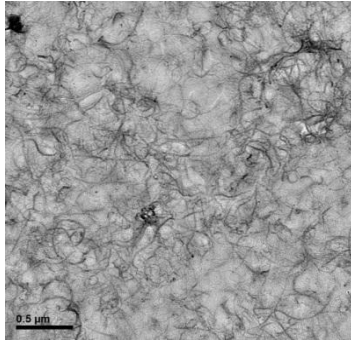
Εικόνα 3. 1: Διάταξη για τον έλεγχο και τον χαρακτηρισμό χημικών αισθητήρων αερίων. Περιλαμβάνει ένα σύστημα που επιτρέπει τη σύνθεση αέριων μιγμάτων, με προκαθορισμένη περιεκτικότητα σε αναλύτη και μια κυβελίδα τοποθέτησης του δείγματος και λήψης ηλεκτρικών μετρήσεων

Για την μίξη αερίων, υπάρχει ένα υποσύστημα στις διάταξη που ορίζεται ως το σύστημα ελεγχόμενης εξάτμισης και μίξης (Controlled Evaporator Mixer- CEM). Στο CEM δημιουργούνται οι ατμοί των υγρών, στα οποία πρόκειται να μελετηθεί η απόκριση του αισθητήρα. Το υγρό αρχικά τοποθετείται σε ανοξειδωτο αεροστεγές δοχείο, όπου η πίεση που υφίσταται στην επιφάνειά του είναι 1 bar. Η επιφανειακή πίεση προέρχεται από την παρουσία αδρανούς αερίου, ενώ ελέγχεται μέσω του μανομέτρου του δοχείου του υγρού και του μειωτήρα που βρίσκεται στην έξοδο της φιάλης του αδρανούς αερίου. Η πίεση στην επιφάνεια του υγρού θα πρέπει να παραμένει αμετάβλητη, έτσι ώστε να επιτευχθεί η σταθερή κατευθυνόμενη οδήγηση του αερίου στον ελεγκτή ροής υγρού, χωρίς αυξομειώσεις στην πίεση.

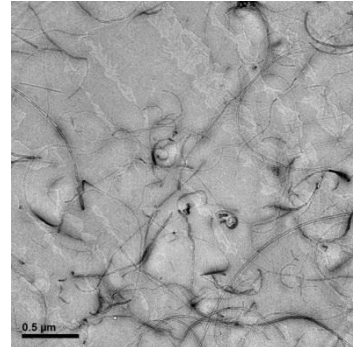
Χαρακτηρισμός υποστρωμάτων αισθητήρα

Η παρασκευή των νανოსύνθετων έγινε από τον Β. Σημαντηράκη, και μετά από μελέτη των βέλτιστων συγκεντρώσεων νανοσωλήνων άνθρακα στην πολυμερική μήτρα Nafion. Επιλέχθηκαν δύο διαφορετικά είδη νανοσωλήνων άνθρακα, οι χημικά τροποποιημένοι και οι μη τροποποιημένοι, σε συγκέντρωση 5% κατά βάρος, οι οποίοι διαλύθηκαν σε υδατικό διάλυμα Nafion (1% κατ' όγκο). Η χημική τροποποίηση γίνεται με ομάδες καρβοξυλίων (-COOH), οι οποίες αλληλεπιδρούν με τις πολυμερικές αλυσίδες, με αποτέλεσμα την ισχυρή διεπιφανειακή προσκόλληση και την καλή διασπορά των νανοσωλήνων μέσα στην πολυμερική μήτρα.

Ο χαρακτηρισμός της διασποράς των νανοσωλήνων στην πολυμερική μήτρα έγινε μέσω ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης, στο ινστιτούτο επιστήμης υλικών του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος από τον ερευνητή Χ. Μπούκο.



(α)



(β)

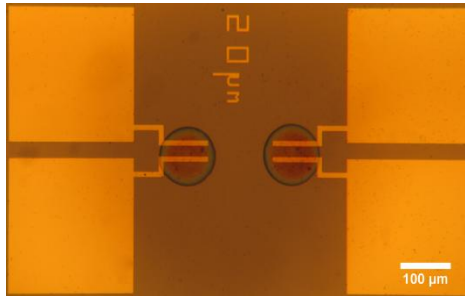
Εικόνα 3. 2: Εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης, (α) χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα με ομάδες καρβοξυλίου, σε πολυμερική μήτρα (Nafion)-5% wt, (β) μη χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα με ομάδες καρβοξυλίου, σε πολυμερική μήτρα (Nafion)- 5% wt.

Όπως παρατηρείται από την *Εικόνα 3. 2.*, οι νανοσωλήνες άνθρακα έχουν διασκορπιστεί στον όγκο της πολυμερικής μήτρας, σε ικανοποιητικό βαθμό. Δεν παρατηρούνται πολλά συσσωματώματα, ενώ δεν παρατηρείται επίσης αξιοσημείωτη διαφορά μεταξύ των χημικά τροποποιημένων και των μη τροποποιημένων νανοσωλήνων. Η καλή διασπορά των νανοσωλήνων πιθανώς οφείλεται στο βέλτιστο χρόνο έκθεσης και έντασης των κυμάτων υπερήχων, οι οποίοι χρησιμοποιήθηκαν για την ανάδευση των διαλυμάτων. Από τις εικόνες που λήφθηκαν, διακρίνεται δίκτυο αγώγιμων εγκλεισμάτων νανοσωλήνων άνθρακα, σχετικά μεγάλου μήκους.

Εκτύπωση νανοςύνθετων άνθρακα/πολυμερούς

Η εκτύπωση του νανοςύνθετου διαλύματος νανοσωλήνων άνθρακα (5% wt) σε Nafion, πραγματοποιήθηκε μέσω της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT. Τα υποστρώματα στα οποία έγινε η εκτύπωση κατασκευάστηκαν στο ινστιτούτο μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος, τα οποία αποτελούνται από ηλεκτρόδια χρυσού πάνω σε υπόστρωμα πυριτίου, με διάκενο μεταξύ των ηλεκτροδίων 20 μm. Για την εκτύπωση του νανοςύνθετου πολυμερικού διαλύματος, χρησιμοποιήθηκε η τέταρτη αρμονική του Nd:YAG Litron laser, στα 266 nm. Η πυκνότητα ενέργειας για την εκτύπωση ομοιόμορφων σταγόνων, χωρίς περιφερειακά σταγονίδια ήταν 300 mJ/cm², το υπόστρωμα δότης αποτελείται από 40

nm Ti, πάνω στο οποίο δημιουργείται ένα λεπτό φιλμ (20 μm ύψους), το οποίο εναποτίθεται με πιπέτα. Το ίχνος του παλμού στο υπόστρωμα δότη είναι 50 μm, με αποτέλεσμα την εκτύπωση σταγόνων διαμέτρου 100 μm.

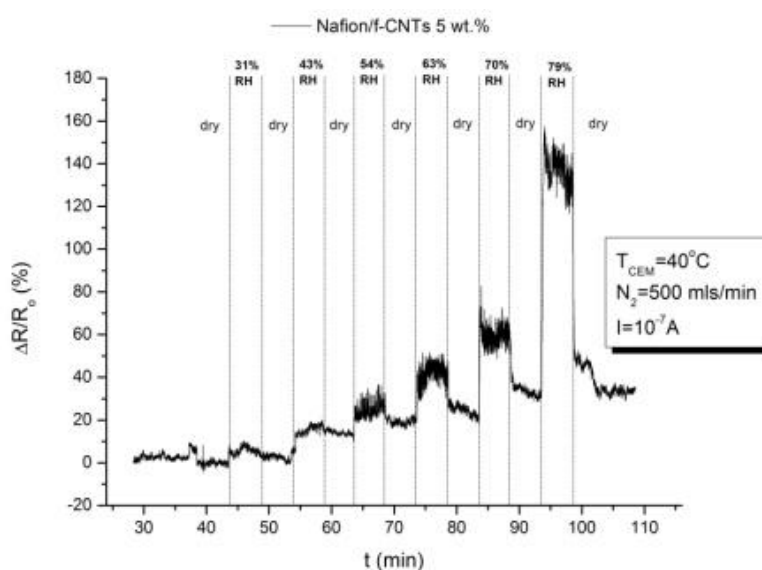


Εικόνα 3. 3: Εικόνα οπτικού μικροσκοπίου από εκτυπωμένες σταγόνες διαλύματος Nafion με νανοσωλήνες άνθρακα, σε υποστρώματα ηλεκτροδίων χρυσού.

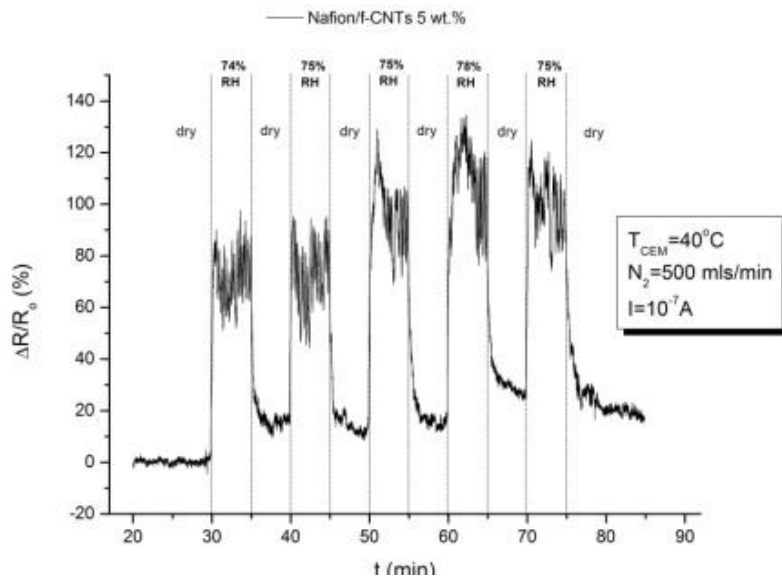
Απόκριση του αισθητήρα

Τα διαλύματα νανοσωλήνων άνθρακα που εναποτέθηκαν στα ηλεκτρόδια χρυσού, αρχικά εξετάστηκαν για την ανιχνεύσει υγρασίας. Από την ρόφηση-εκρόφηση μορίων νερού, λήφθηκαν οι μετρήσεις ηλεκτρικής αντίστασης και κατασκευάστηκε το αντίστοιχο διάγραμμα της ποσοστιαίας μεταβολής της αντίστασης, συναρτήσεως του χρόνου (Εικόνα 3. 4:).

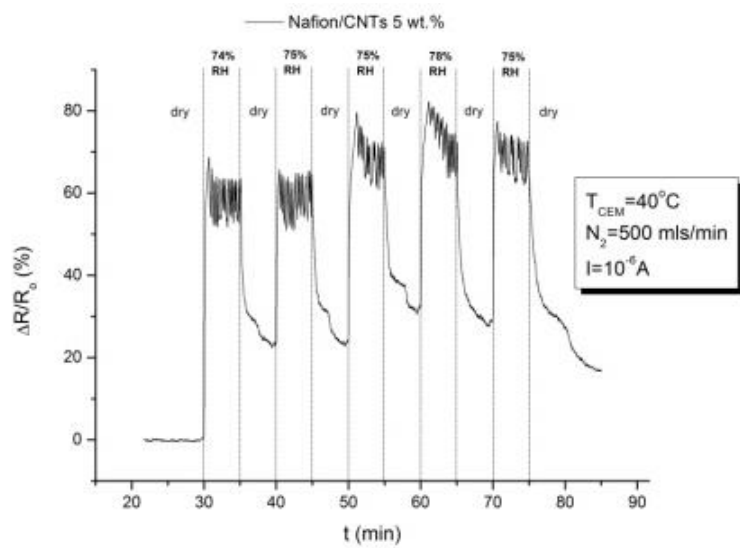
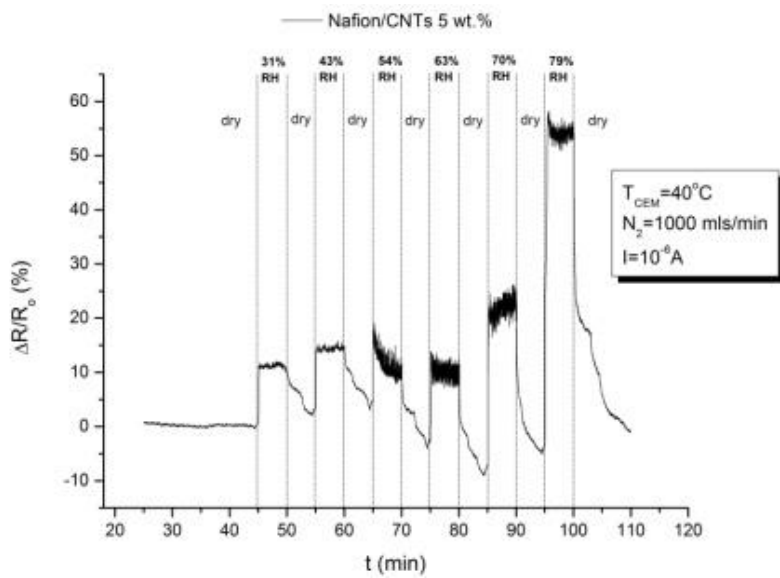
(α)



Εικόνα 3. 4: Ποσοστιαία μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης συναρτήσεως του χρόνου, κατά τη ρόφηση-εκρόφηση υγρασίας σε διάφορες ποσότητες (α), για διάλυμα Nafion και χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα και (β) για διάλυμα Nafion και μη χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα.



(B)

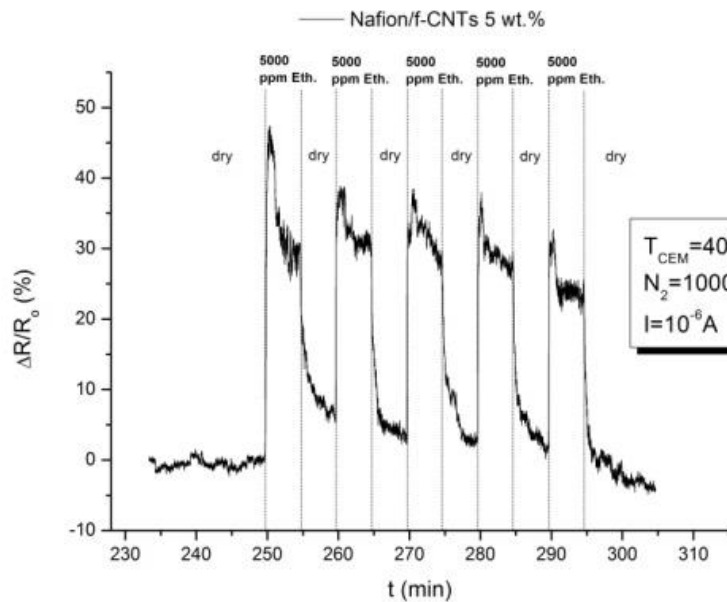
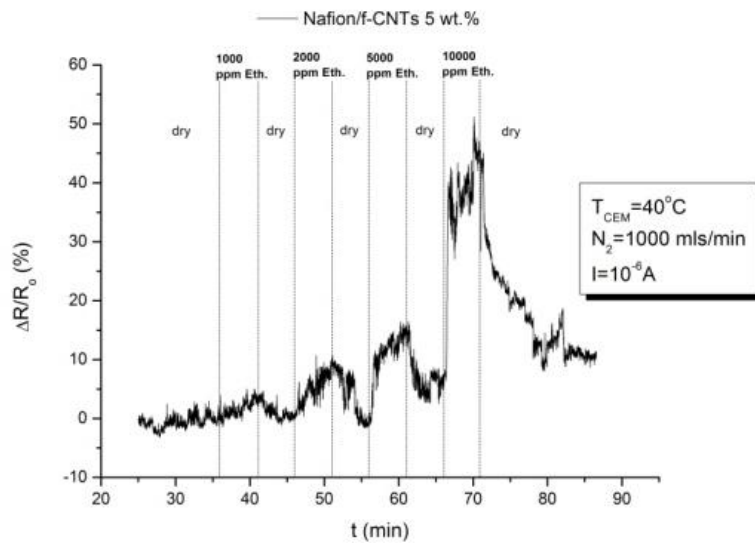


Από την εικόνα *Εικόνα 3. 4:α*, όπου παρατηρείται η απόκριση του αισθητήρα με τους χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες άνθρακα, συμπεραίνεται ότι η απορρόφηση υγρασίας σε τιμές 31%-70%, επιφέρει αύξηση της αντίστασης του νανოსύνθετου κατά 10%-60%. Κατά την έκθεση του νανოსύνθετου σε περιβάλλον 79% υγρασίας, η απορρόφηση υδρατμών είναι μεγαλύτερη και κατ' επέκταση η ηλεκτρική αντίσταση σημειώνει ραγδαία αύξηση, αγγίζοντας το 150%. Ωστόσο κατά τη διαδικασία εκρόφησης, η αντίσταση δεν επιστρέφει στην αρχική τιμή υποβάθρου, γεγονός από το οποίο συμπεραίνεται ότι ο χρόνος πλήρους αποκατάστασης του νανοςύνθετου πολυμερικού στρώματος είναι μεγαλύτερος των 5 λεπτών. Κατά την πολλαπλή έκθεση του αισθητήρα σε ποσοστά υγρασίας 74%-78%, παρατηρείται η επαναληψιμότητα στην απόκριση του αισθητήρα σε περιβάλλον σταθερής υγρασίας.

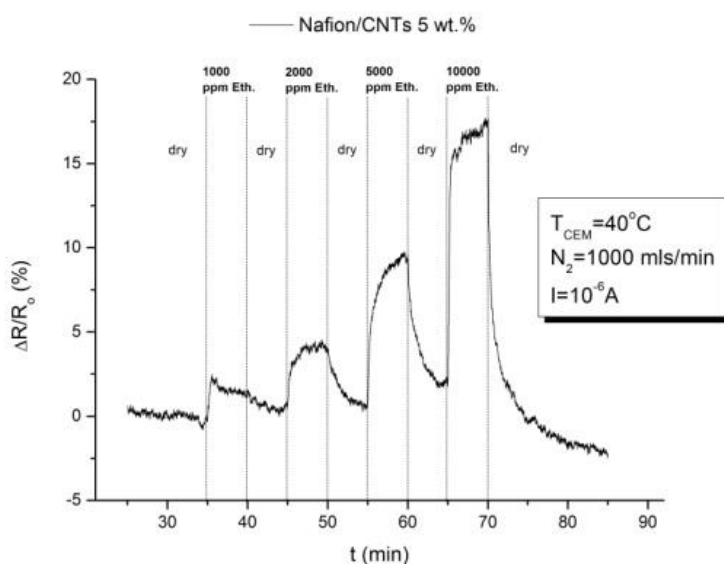
Στην εικόνα *Εικόνα 3. 4:β*, παρατηρείται η απόκριση του αισθητήρα με μη χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες άνθρακα, στα ίδια ποσοστά έκθεσης σε υγρασία. Κατά την έκθεση του αισθητήρα σε περιβάλλον υγρασίας, παρατηρούνται μικρότερες μεταβολές στην ηλεκτρική αντίσταση που καταγράφεται, σε σχέση με τον αισθητήρα με τους χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες. Η διαφορά έγκειται στην τροποποίηση των νανοσωλήνων άνθρακα του πρώτου αισθητήρα, που επιτρέπουν την καλύτερη διασπορά τους στη μήτρα και τη δημιουργία ενός καλύτερα σχηματισμένου αγωγίμου δικτύου. Το δίκτυο αυτό, είναι αναμενόμενο να μεταβάλλεται ευκολότερα με απορρόφηση κάποιου αερίου αναλύτη από το νανοςύνθετο, οδηγώντας σε μεγαλύτερες μεταβολές της ηλεκτρικής αντίστασης. Παρατηρείται επίσης, ότι ο χρόνος αποκατάστασης κατά την εκρόφηση της υγρασίας είναι μικρότερος, στην περίπτωση μη τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα. Το αποτέλεσμα είναι αναμενόμενο, λαμβάνοντας υπόψη ότι η μικρότερη αύξηση της αντίστασης που αντιστοιχεί σε μικρότερη καταστροφή του αγωγίμου δικτύου, απαιτεί λιγότερο χρόνο επαναφοράς στην τιμή υποβάθρου, με γρηγορότερη επανασύνδεση των αγωγίμων δρόμων.

Οι παραπάνω αισθητήρες εν συνεχεία εξετάστηκαν στην ανίχνευση αιθανόλης. Πραγματοποιήθηκε έκθεση των αισθητήρων σε περιβάλλον αιθανόλης συγκέντρωσης 1000, 2000, 5000 και 10000 ppm, όπου μελετήθηκε η απόκριση τους, ενώ παρατηρήθηκε και η επαναληψιμότητα των αισθητήρων για την ανίχνευση αιθανόλης, σε συγκέντρωση 5000 ppm (*Εικόνα 3. 5:*).

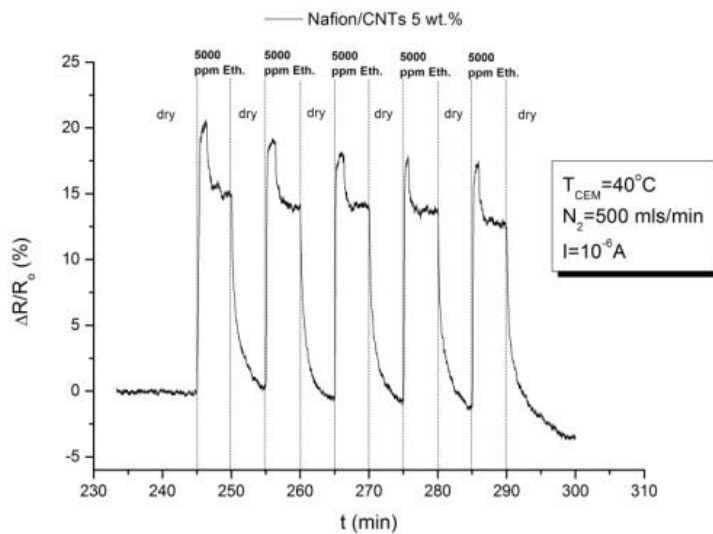
(α)



(β)



Εικόνα 3. 5: Ποσοστιαία μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης συναρτήσει του χρόνου, κατά τη ρόφιση- εκρόφιση αιθανόλης σε διάφορες ποσότητες (α), για διάλυμα Nafion και χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα και (β) για διάλυμα Nafion και μη χημικά τροποποιημένων νανοσωλήνων άνθρακα



Για την πρώτη περίπτωση του αισθητήρα με τους χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες άνθρακα, παρατηρείται 4%-5% αύξηση στην αντίσταση, για συγκέντρωση αιθανόλης 1000 ppm, ενώ για συγκέντρωση αιθανόλης 10000 ppm, η αύξηση αυτή φτάνει το 40% (Εικόνα 3. 5:α). Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων στην ανίχνευση αιθανόλης υψηλής συγκέντρωσης (Ethanol: 5000 ppm / N₂: 500 mls/min) παρουσιάζει την σταθερότητα του αισθητήρα στην ανίχνευση αλκοολών. Για την περίπτωση του αισθητήρα με του μη χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες (Εικόνα 3. 5:β), παρουσιάζονται σταθερότερες αλλά μικρότερες μεταβολές ηλεκτρικής αντίστασης κατά τη ρόφηση-εκρόφηση αιθανόλης, οδηγώντας σε αύξηση της αντίστασης 2.5%-17%, χωρίς όμως να καταγράφονται διαταραχές στην καταγραφή των μετρήσεων, καθιστώντας το διάγραμμα μελέτης πιο ποιοτικό.

Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάστηκε η χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT για την εκτύπωση νανοσύνθετων πολυμερών (Nafion με νανοσωλήνες άνθρακα), με σκοπό την ανάπτυξη αγωγιμομετρικού αισθητήρα αιθανόλης και υγρασίας. Για το σκοπό αυτό έγινε επιλεκτική εκτύπωση σταγόνων (διαμέτρου 100 μm), διαλύματος πολυμερούς (1% v/v Nafion σε νερό) με εγκλείσματα νανοσωλήνων άνθρακα (5% w/v) σε ηλεκτρόδια χρυσού. Δύο ειδών εγκλείσματα νανοσωλήνων άνθρακα (χημικά τροποποιημένοι και μη) χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη του αισθητήρα αερίων. Η χημική τροποποίηση των νανοσωλήνων αναμένεται να έχει ως αποτέλεσμα την καλύτερη διασπορά τους στην πολυμερική μήτρα. Ενώ το αποτέλεσμα διασποράς που καταγράφηκε από εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης δεν παρουσίαζε διαφορά μεταξύ χημικά τροποποιημένων και μη, νανοσωλήνων άνθρακα, κατά την διεξαγωγή μετρήσεων αγωγιμότητας των αισθητήρων παρουσίας υγρασίας και αιθανόλης, καταγράφονται μεγαλύτερες μεταβολές στη μέτρηση των αισθητήρων με χημικά τροποποιημένους νανοσωλήνες.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του εν λόγω κεφαλαίου, τα νανοσύνθετα Nafion/f-CNTs 5 wt.% και Nafion/f-CNTs 5 wt.% που εναποτέθηκαν με την τεχνική LIFT, παρουσιάζουν πολύ καλές ιδιότητες ανίχνευσης υγρασίας, ενώ και για τα δύο νανοσύνθετα παρατηρήθηκε υψηλής ευαισθησία στην αίσθηση υγρασίας, γρήγορη απόκριση του αισθητήρα και επαναληψιμότητα στην ανίχνευση υδρατμών σε περιβάλλον υγρασίας $\geq 20\%$ RH. Όσον αφορά την ανίχνευση αιθανόλης, τα νανοσύνθετα παρουσιάζουν γρήγορη απόκριση και επαναληψιμότητα, όταν εκτεθούν σε περιβάλλον συγκέντρωσης ≥ 5000 ppm.

Αναφορές

- [1] R. Harrison and J. Webb, *Adv. Agron.*, 2001, 73, 65–108 .
- [2] S. Abdul-Wahab, S. Al-Alawi and A. El-Zawahry, *Environ. Model. Software*, 2002, 17, 563–570
- [3] P. M. Lemieux, C. C. Lutes and D. A. Santoianni, *Prog. Energy Combust. Sci.*, 2004, 30, 1–32.
- [4] I. Butnar and M. Llop, *Ecol. Econ.*, 2007, 61, 388–395.
- [5] S. Iijima, “Helical microtubules of graphitic carbon,” *Nature*, vol. 354, no. 6348, pp. 56–58, 1991.
- [6] N. Sinha, J. Ma, and J. T. W. Yeow, *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 6, no. 3, pp. 573–590, 2006.
- [7] J. Li and H. T. Ng, *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 1, pp. 591–601, Marcel Dekker, New York, NY, USA, 2004.
- [8] D. K. Schroder, *Semiconductor material and device characterization*. Third edition (2006) John Wiley & Sons.
- [9] P. Ma, N. A. Siddiqui, G. Marom, J. Kim, *Composites: Part A* 41 (2010) 1345–1367.
- [10] C. Li, E. T. Thostenson, Tsu-Wei Chou, *Composites Science and Technology* 68 (2008) 1227–1249.
- [11] B. Zhang, R. W. Fu, M. Q. Zhang, X. M. Donga, P. L. Lan, J. S. Qiu, *Sensors and Actuators B* 109 (2005) 323–328.
- [12] H. J. Boer, *Solid State Technology*, March (1996)

Κεφάλαιο 4 Χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, ως τεχνικής χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών

Στο κεφάλαιο αυτό γίνεται αρχικά μια εισαγωγή στις τεχνικές ανάπτυξης υπερυδρόφοβων επιφανειών και στις πιθανές καταστάσεις διαβροχής τους από ένα υγρό. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία υπάρχουν δύο πιθανές καταστάσεις διαβροχής των εν λόγω επιφανειών, η κατάσταση που περιγράφεται από το μοντέλο Cassie-Baxter και η κατάσταση που περιγράφεται από το μοντέλο Wenzel. Σύμφωνα με το μοντέλο Cassie- Baxter, όταν μία σταγόνα κάθεται σε μια υπερυδρόφοβη επιφάνεια με μικρο και νανο τραχύτητα, ένα στρώμα αέρα που έχει εισχωρήσει στην επιφάνεια δεν επιτρέπει την πλήρη διαβροχή της επιφάνειας από το υγρό, καθιστώντας την επιφάνεια υδρόφοβη για το συγκεκριμένο υγρό. Στην αντίθετη περίπτωση, που η σταγόνα εισχωρεί στην δομή της επιφάνειας, παρατηρείται η πλήρη διαβροχή της επιφάνειας, καθιστώντας την υδρόφιλη. Στο παρόν κεφάλαιο παρατίθεται η μελέτη των συνθηκών που οδηγούν στην μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής υπερυδρόφοβων επιφανειών. Η ιδιότητα εκτύπωσης σταγόνων με μεταβαλλόμενη πίεση πρόσκρουσης, που δίνεται κατά την εκτύπωση υγρών μέσω της τεχνικής LIFT θα χρησιμοποιηθεί στο παρόν κεφάλαιο για τον χαρακτηρισμό υπερυδρόφοβων επιφανειών. Θα χαρτογραφηθούν οι πιέσεις πρόσκρουσης υγρών, στις οποίες παρατηρούνται μεταβολές στις ιδιότητες διαβροχής των επιφανειών ενώ ταυτόχρονα μέσω απεικόνισης της πρόσκρουσης των σταγόνων με χρονική διακριτική ικανότητα της τάξεως των μs θα γίνει και απεικόνιση της δυναμικής των σταγόνων κατά την πρόσκρουσή τους στις επιφάνειες.

Οι υπερυδρόφοβες επιφάνειες, έχουν κεντρίσει το ερευνητικό ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, λόγω της ιδιότητάς τους να μην διαβρέχονται από σταγόνες υγρών, με αποτέλεσμα την πιθανή χρήση τους σε μεγάλο εύρος εφαρμογών, όπως αυτο-καθαριζόμενες επιφάνειες [1, 2] και αντι-διαβρωτικές επιφάνειες [3]. Για την κατασκευή μιας υπερυδρόφοβης ή υπεραμφίφοβης* επιφάνειας απαιτείται τραχύτητα (στην μικρο και νανοκλίμακα) στην επιφάνεια σε συνδυασμό με μια υδρόφοβη χημική τροποποίηση. Ο συνδυασμός των δύο αυξάνει τη γωνία επαφής μιας σταγόνας υγρού, οδηγώντας σε μια επιφάνεια όπου το νερό ή κάποιο πιθανό έλαιο δεν εισχωρεί στην τοπογραφία της επιφάνειας αλλά στηρίζεται στις προεξοχές της επιφάνειας, καθώς παρεμβάλλεται στο εσωτερικό της τοπογραφίας στρώμα

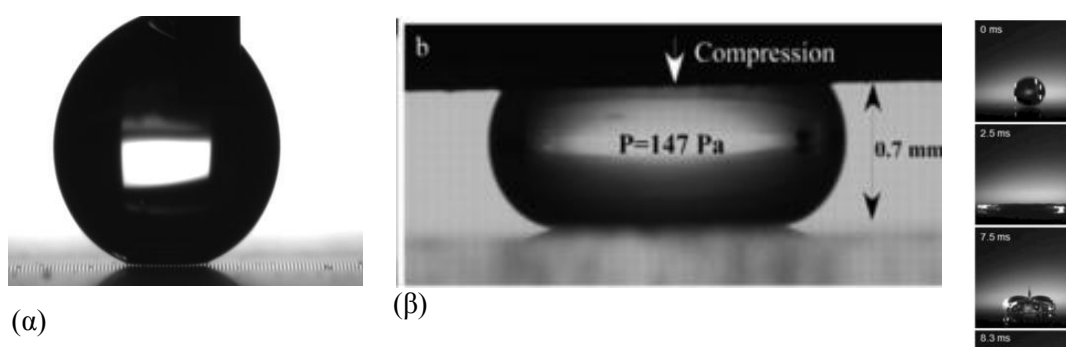
* υπεραμφίφοβη: επιφάνειες που απωθούν υγρά με επιφανειακή τάση μικρότερη του νερού.

παγιδευμένου αέρα. Η ιδέες για την δημιουργία τέτοιων επιφανειών προέρχεται από την μελέτη υπερυδροφобων επιφανειών που βρίσκονται στη φύση όπως, τα φύλλα του λωτού.

Η ιδιότητα των επιφανειών αυτών να μην διαβρέχονται από υγρά, εξαρτάται σε ένα μεγάλο βαθμό από τις συνθήκες σύμφωνα με τις οποίες το εκάστοτε υγρό έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια. Εξωτερικές διαταραχές μπορεί όπως η πρόσκρουση σταγόνων υγρού με μεγάλη ταχύτητα, πάνω στην επιφάνεια, μπορεί να προκαλέσουν την διαβροχή της. Ο προσδιορισμός των συνθηκών που οδηγούν στην διαβροχή των επιφανειών, έχει μεγάλη αξία, εφόσον καθορίζει τις εφαρμογές στις οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν οι εν λόγω επιφάνειες. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η απώλεια της ιδιότητας των επιφανειών να απωθούν τα υγρά αποδίδεται στη δυναμική πρόσκρουση υγρών σταγόνων [4], καθιστώντας κρίσιμο τον χαρακτηρισμό των επιφανειών κάτω από δυναμικές συνθήκες.

Οι μέθοδοι σύμφωνα με τις οποίες μελετώνται οι ιδιότητες διαβροχής μια επιφάνειας, συνήθως περιορίζονται στην μέτρηση της γωνίας επαφής σταγόνας πάνω στην επιφάνεια (Εικόνα 4. 1:). Ενώ η εν λόγω μέθοδος χρησιμοποιείται ευρέως για το χαρακτηρισμό επιφανειών, δεν μπορεί να προσδιορίσει την συμπεριφορά της επιφάνειας σε πραγματικές εφαρμογές καθώς πρόκειται για μια στατική μέθοδο. Επίσης υπάρχουν δυσκολίες εφαρμογής της μεθόδου υπερυδροφобες που παρουσιάζουν γωνίες επαφής πάνω από 180° [5,6].

Δυναμικές μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για την μελέτη ιδιοτήτων διαβροχής επιφανειών, είναι κυρίως τεχνικές συμπίεσης σταγόνων [7], δονήσεων [8], δυναμικής πτώσης σταγόνων από καθορισμένο ύψος [9] και τεχνικές ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων [10]. Λαμβάνοντας υπόψη ότι ο κύριος λόγος για τη μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής μιας επιφάνειας, είναι η στιγμιαία πρόσκρουση σταγόνων με υψηλή πίεση πρόσκρουσης [11], η πιο αξιόπιστη τεχνική που χρησιμοποιείται για τον χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων διαβροχής



επιφανειών είναι η τεχνική πτώσης σταγόνων από ύψος.

Εικόνα 4. 1: Εικόνες από τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων διαβροχής επιφανειών. (α) Στατική μέθοδος μετρήσεως γωνίας επαφής[12], (β) Μέθοδος συμπίεσης σταγόνων [13]και (γ) μέθοδος πρόσκρουσης σταγόνων από ύψους[14].

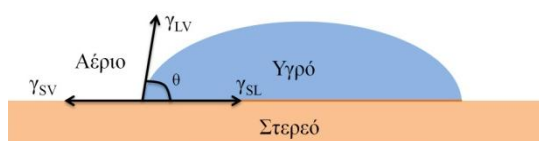
Όλες οι μέθοδοι που αναφέρονται παραπάνω, οδηγούν στο χαρακτηρισμό των επιφανειών σε πιέσεις πρόσκρουσης μερικά kPa και δεν μπορούν να εφαρμοστούν για επιφάνειες εξαιρετικά ολισθηρές, οι οποίες μπορούν να αντέχουν σε ακραίες πιέσεις πρόσκρουσης υγρών. Κοιτάζοντας πιο απαιτητικές βιομηχανικές εφαρμογές, τέτοιου είδους επιφάνειες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την κατασκευή μικρορευστομηχανικών βαλβίδων, (Πιέσεις τάξεως δεκάδων MPa), μπορεί να χρησιμοποιηθούν σε παρμπρίζ αυτοκινήτων, ή μπορεί να βρεθούν σε υπόγειους σωλήνες (πιέσεις αρκετών kPa έως MPa), με αποτέλεσμα τον απαραίτητο χαρακτηρισμό τους με τεχνικές που οδηγούν στην πρόσκρουση υγρών υπό υψηλές πιέσεις.

4.1 Εισαγωγή στις καταστάσεις διαβροχής επιφανειών.

Κατά την επαφή μιας σταγόνας υγρού σε μία επιφάνεια, η γωνία επαφής τους, η οποία ορίζεται ως η γωνία του υγρού, με το στερεό, στην διεπιφάνεια υγρού στερεού και περιβάλλοντα αέρα (Εικόνα 4. 2:), δίνεται από την εξίσωση Young [15].

$$\cos\theta = \frac{\gamma_{sv} - \gamma_{sl}}{\gamma_{lv}}$$

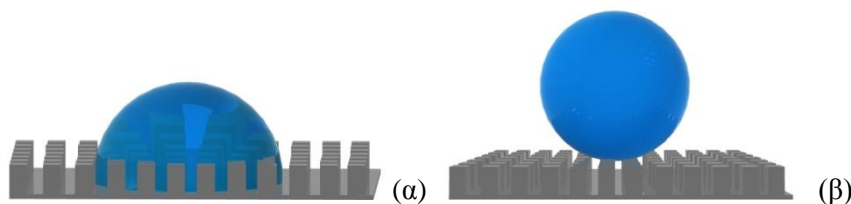
όπου γ_{sv} είναι η διεπιφανειακή τάση μεταξύ στερεού και αέρα, γ_{sl} η διεπιφανειακή τάση μεταξύ στερεού και υγρού και γ_{lv} η διεπιφανειακή τάση μεταξύ υγρού και αέρα.



Εικόνα 4. 2: Διάγραμμα που δείχνει τις διεπιφανειακές τάσεις μεταξύ υγρού- στερεού και αέρα [16].

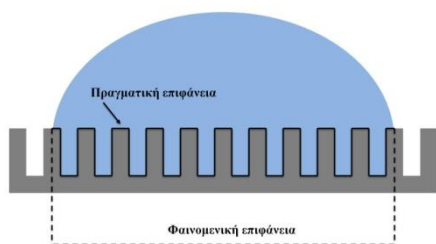
Για γωνίες επαφής κάτω από τις 90° , η επιφάνεια χαρακτηρίζεται ως υδρόφιλη, ενώ για γωνίες επαφής από 90° - 150° χαρακτηρίζεται υδρόφοβη και για γωνίες πάνω από 150° χαρακτηρίζεται υπερυδρόφοβη. Οι υδρόφοβες επιφάνειες, μπορούν να γίνουν υπέρυδρόφοβες, με την δημιουργία μικρο/νανο τραχύτητας στην μορφολογία τους. Κατα την επαφή υγρών σταγόνων σε υπερυδρόφοβες επιφάνειες με μικρό και νανο δομές, υπάρχουν δυο πιθανά μοντέλα καταστάσεων διαβροχής. Το μοντέλο πλήρους διαβροχής [17, 18]

(Wenzel), όπου το υγρό εισχωρεί στη μικρο και νανο δομή της επιφάνειας και το μοντέλο μερικής διαβροχής [19, 20] (Cassie) όπου η σταγόνα κάθεται στις προεξοχές της επιφάνειας (Εικόνα 4. 3:).



Εικόνα 4. 3: (α) κατάσταση πλήρους διαβροχής, μοντέλο Wenzel, (β) κατάσταση μερικής διαβροχής- μοντέλο Cassie-Baxter [16].

Για την περιγραφή του μοντέλου πλήρους διαβροχής είναι απαραίτητο να ληφθεί υπόψη η αύξηση της επιφάνειας επαφής του υγρού, καθώς αυτό ακολουθεί την τραχύτητα της επιφάνειας, σύμφωνα με τον παράγοντα τραχύτητας r : $r = \frac{\text{Πραγματική επιφάνεια}}{\text{Φαινομενική επιφάνεια}}$ (Εικόνα 4. 4:), με αποτέλεσμα η γωνία επαφής κατά Wenzel να σχετίζεται με την πραγματική γωνία επαφής σύμφωνα με τη σχέση: $\cos\Theta_w = r\cos\theta$.



Εικόνα 4. 4: Σχηματική απεικόνιση του παράγοντα τραχύτητας στο μοντέλο διαβροχής κατά Wenzel

Στο μοντέλο μερικής διαβροχής (Cassie-Baxter), Το υγρό δεν εισχωρεί στην μικρο-νανο δομή της επιφάνειας και η γωνία επαφής κατά Cassie-Baxter, δίνεται: $\cos\theta_{CB} = f_1\cos\theta_1 + f_2\cos\theta_2$, όπου f_1 είναι η περιοχή όπου το υγρό βρίσκεται σε επαφή με το στερεό προς την προβαλλόμενη περιοχή, και το f_2 είναι η περιοχή όπου το υγρό βρίσκεται σε επαφή με τον αέρα που έχει παγιδευτεί στους πόρους της τραχείας επιφάνειας προς την προβαλλόμενη περιοχή. θ_1 είναι η γωνία επαφής στην περιοχή όπου το υγρό έρχεται σε επαφή με το στερεό ενώ θ_2 είναι η γωνία επαφής όπου το υγρό έρχεται σε επαφή με τον αέρα. Για οργανωμένη περιοδική δομή επιφανείας, εάν f είναι η περιοχή όπου η σταγόνα έρχεται σε επαφή με το στερεό, $1-f$ είναι η περιοχή όπου η σταγόνα έρχεται σε επαφή με τον αέρα, επομένως, $\cos\theta_{CB} = f(1+\cos\theta_w)-1$

Τα δύο παραπάνω μοντέλα επεξηγούν την διαβροχή σε δυο ακραίες καταστάσεις, ενώ σε πολλές περιπτώσεις ικανοποιούνται οι συνθήκες για την χρήση και των δύο μοντέλων. Σε αυτή τη περίπτωση λαμβάνεται υπόψη και ο παράγοντας τραχύτητας r και ο παράγοντας f : $\cos\theta_{cw}=fr\cos\theta+f-1$.

Κατά την μετάβαση από την κατάσταση Cassie-Baxter, στην κατάσταση Wenzel, πολλοί παράγοντας όπως η ετερογένεια στην τραχύτητα και στην χημεία της επιφάνειας έχουν σημαντικό ρόλο [21, 22]. Η επεξήγηση της διαβροχής μιας επιφάνειας σύμφωνα με το μοντέλο του Young και τις παραλλαγές από Cassie-Baxter και Wenzel, εφαρμόζεται για ιδανικές και ομογενείς επιφάνειες. Στην πραγματικότητα η ετερογένεια των επιφανειών μπορεί να οδηγήσει στην γωνία επαφής με υστέρηση. Η μέτρηση της γωνίας υστέρησης γίνεται με δύο τρόπους, είτε με της τοποθέτηση υγρής σταγόνας στην επιφάνεια, στην οποία συνεχώς μεταβάλλεται ο όγκος (γωνία προώθησης $-\theta_A$ κατά την αύξηση του όγκου, γωνία οπισθοχώρησης $-\theta_R$ κατά την μείωση του όγκου), είτε με την τοποθέτηση σταγόνας στην επιφάνεια και μετέπειτα κλίση της επιφάνειας. Η γωνία κλίσης (α), που παρατηρείται αμέσως πριν την ροή της σταγόνας στην επιφάνεια, επεξηγεί την διαβροχή της επιφάνειας, σύμφωνα με τα παραπάνω μοντέλα. Όταν μια σταγόνα βρίσκεται πάνω σε μία επιφάνεια σύμφωνα με το μοντέλο Cassie-Baxter, τείνει να έχει σφαιρικό σχήμα και ρέει στην επιφάνεια, σε πολύ μικρές τιμές γωνιών κλίσης (κάτω από 10^0), ενώ σύμφωνα με το μοντέλο Wenzel, οι σταγόνες τείνουν να παραμένουν προσκολλημένες στην επιφάνεια κατά την κλίση της.

4.2 Τεχνικές ανάπτυξης υπερυδρόφοβων επιφανειών

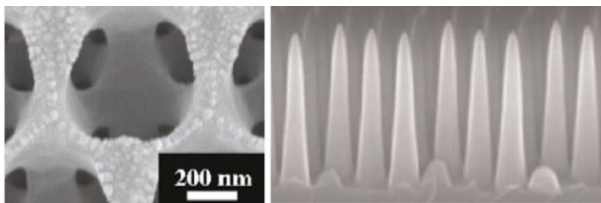
Οι διαφορετικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή υπερυδρόφοβων επιφανειών μπορούν να χωριστούν σε προσθετικές (bottom-up) και αφαιρετικές μεθόδους (top-down). Αφαιρετικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τεχνικές όπως η λιθογραφία, και κατεργασία πλάσματος, ενώ προσθετικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τεχνικές εναπόθεσης πολλαπλών στρωμάτων (Layer by layer deposition) και τεχνικές χημικής εναπόθεσης. Υπάρχουν, επίσης, μέθοδοι που συνδυάζουν τις δύο παραπάνω προσεγγίσεις, όπως τεχνικές χύτευσης πολυμερικών διαλυμάτων.

Λιθογραφία

Οι λιθογραφικές τεχνολογίες που χρησιμοποιούνται σήμερα περιλαμβάνουν τεχνικές όπως την οπτική λιθογραφία, λιθογραφία ακραίου υπεριώδους (EUV) και ακτινών-X (X-Ray), λιθογραφία φορτισμένων σωματιδίων (Λιθογραφία ηλεκτρονικής δέσμης (EBL), λιθογραφία

δέσμης ιόντων (IPL), λιθογραφία δέσμης πρωτονίων (PBL) και τεχνικές μη συμβατικής λιθογραφίας (Scanning Probe Lithography, Soft Lithography, 3D Lithography methods, Nanoimprint lithography, Interference lithography). Η λιθογραφία είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος για την δημιουργία υπερυδροφοβών επιφανειών με μικρο και νανο δομές. Αυτή η τεχνική πλεονεκτεί στον έλεγχο της δομής και μορφολογίας της επιφάνειας, ενώ μεγάλη σχηματική ποικιλία και ποικιλία στις διαστάσεις στην τραχύτητα των επιφανειών είναι δυνατό να επιτευχθεί [23, 24]. Σύνηθες υπόστρωμα για την δημιουργία μικροδομών με λιθογραφία είναι το πυρίτιο[25], ενώ για την δημιουργία νάνο τραχύτητας απαιτείται συνδυασμός λιθογραφίας με χημικές κατεργασίες [26] και κατεργασίες ιόντων [27] και χρήση νανοσωματιδίων [28].

Η οπτική λιθογραφία (ή φωτολιθογραφία) είναι μια από τις μεθόδους λιθογραφίας τα χαρακτηριστικά της οποίας είναι η χρήση φωτός (H/M ακτινοβολία) και μάσκας διαπερατής σε επιλεγμένες περιοχές από το φως. Η ακτινοβολία που χρησιμοποιείται είναι στο υπεριώδες (360-460nm, UV) ή στο βαθύ υπεριώδες (248, 193, 157nm, DUV). Το φως περνά μέσα από τις διαφανείς περιοχές της μάσκας εκθέτοντας μια επιφάνεια καλυμμένη από φωτοευαίσθητο υμένιο μεταβάλλοντας τη διαλυτότητά των εκτεθειμένων περιοχών. Στη συνέχεια κατάλληλος διαλύτης απομακρύνει τις εκτεθειμένες ή ανέκθετες στο φως περιοχές (θετικού ή αρνητικού τόνου λιθογραφία αντίστοιχα) μεταφέροντας με τον τρόπο αυτό τα γεωμετρικά σχήματα που φέρει η μάσκα στο υμένιο.

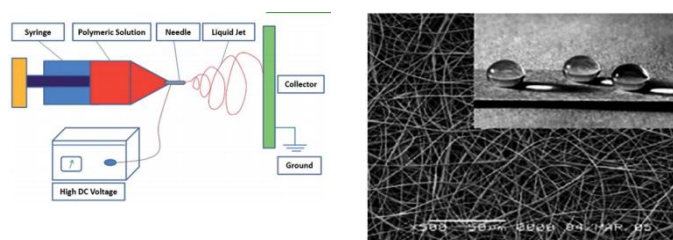


Εικόνα 4. 5: Εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης από νανο δομές σε επιφάνειες πυρίτιου, κατασκευασμένες από οπτική λιθογραφία [29].

Electrospinning

Η τεχνική electrospinning, είναι μια από τις τεχνικές που χρησιμοποιείται ευρέως στην ανάπτυξη μικρο και νανο δομών σε υδροφοβες επιφάνειες [30, 31]. Σύμφωνα με την αρχή λειτουργίας της τεχνικής, ένα φορτισμένο πολυμερικό jet, συλλέγεται από μια γειωμένη, περιστρεφόμενη βάση, με αποτέλεσμα την δημιουργία δομών ευθυγραμμισμένων πολυμερικών ινών. Το πολυμερικό jet, σχηματίζεται καθώς το ηλεκτροστατικό φορτίο του πολυμερούς, ξεπερνά την επιφανειακή τάση του υγρού. Η τεχνική επιτρέπει την δημιουργία

συνεχών μικρο και νανο δομών, ενώ εφαρμόζεται για την δημιουργία δομών με συνθετικά και φυσικά πολυμερή, σε συνδιασμό με μεταλλικά και κεραμικά νανοσωματίδια [32]



Εικόνα 4. 6: (α) Σχηματική απεικόνιση της τεχνικής *electrospinning* για την ανάπτυξη μικροδομών σε επιφάνειες [33], (β) Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης από υπερυδρόφοβη επιφάνεια (PS-PDMS) με μικροδομές κατασκευασμένες από την τεχνική *electrospinning* [34].

Τεχνική εναπόθεσης πολλαπλών στρωμάτων (Layer-by-layer -LbL)

Η τεχνική εναπόθεσης πολλαπλών στρωμάτων βασίζεται στην εναπόθεση λεπτών υμενίων σε επιφάνειες αντίθετου φορτίου. Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής βασίζεται στην διαδοχική προσρόφηση λεπτών φορτισμένων υμενίων, με διαδοχικές εμβαπτίσεις σε διαλύματα. Η υδροφοβικότητα της επιφάνειας καθορίζεται από το υδρόφοβο τελικό στρώμα, ενώ η τεχνική έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως για την ανάπτυξη περιοδικών δομών με την χρήση νανοσωματιδίων [35].

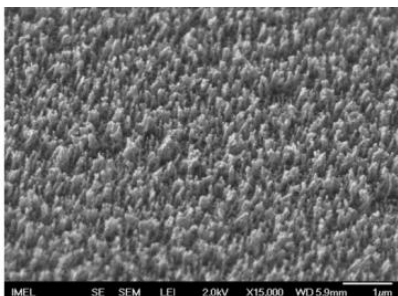
Εγχάραξη

Οι τεχνικές εγχάραξης, είναι ευρέως διαδεδομένες για την δημιουργία μικρο και νανο τραχύτητας σε επιφάνειες. Οι συνήθεις τεχνικές που χρησιμοποιούνται είναι:

- Υγρή εγχάραξη: Πραγματοποιείται κατά την εμβάπτιση του δείγματος σε χημικά διαλύματα. Όπως και στη λογική της λιθογραφίας, έτσι και εδώ χρησιμοποιούνται μάσκες, για να γίνεται η επιλογή των περιοχών στις οποίες θα γίνει εγχάραξη. Συνήθεις διαδικασία ξηρής εγχάραξης για οξείδια το πυριτίου (SiO_2) γίνεται με τη χρήση υδροφθορικού οξέως (HF), όπου πραγματοποιείται η αντίδραση: $\text{SiO}_2 + 6\text{HF} \rightarrow \text{H}_2\text{SiF}_6 + 2\text{H}_2\text{O}$ [36]. Η διαδικασία ξηρής εγχάραξης συνήθως πραγματοποιείται κατά την αντίδραση χημικών διαλυμάτων, με την επιφάνεια, με σκοπό την παραγωγή υδατοδιαλυτών προϊόντων ή αερίων.
- Ξηρή εγχάραξη πλάσματος: Κατά την εγχάραξη πλάσματος παρατηρούνται 3 βασικοί μηχανισμοί:
 - Ο μηχανισμός χημικής εγχάραξης από ελεύθερους φορείς (free radicals) τα οποία λόγω της ατελούς δομής τους στους χημικούς δεσμούς αντιδρούν με

την δομή της επιφάνειας. Σύνηθες παράδειγμα χημικής εγχάραξης πλάσματος αποτελεί η αντίδραση πλάσματος CF_4 : $e^- + CF_4 \rightarrow CF_3 + F + e^-$ [36].

- Ο μηχανισμός φυσικής εγχάραξης που παρατηρείται κατά την πρόσκρουση ιόντων πάνω στην επιφάνεια εγχάραξης. Η δυναμική πρόσκρουση των ιόντων συμβαίνει λόγω της διαφοράς δυναμικού μεταξύ του πλάσματος και ενός ηλεκτροδίου του θαλάμου εγχάραξης, στο οποίο είναι τοποθετημένη η επιφάνεια προς εγχάραξη.
- Ο ιοντικός μηχανισμός εγχάραξης, ο οποίος είναι χημικός μηχανικός εγχάραξης ο οποίος συνδυάζεται με το μηχανισμό χημικής εγχάραξης ελεύθερων φορέων.

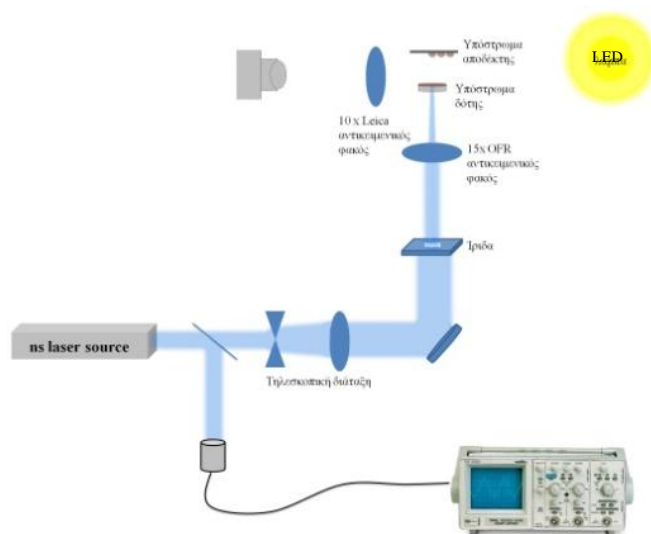


Εικόνα 4. 7: Εικόνα ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης από υπερυδρόφοβη επιφάνεια PMMA με μικροδομές που δημιουργήθηκαν από εγχάραξη με πλάσμα O_2 [37].

4.3 Πειραματική διάταξη χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών

Για την πειραματική διάταξη χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών (Εικόνα 4. 8) χρησιμοποιήθηκε η Πειραματική διάταξη εκτύπωσης μικροδομών που περιγράφεται στο Κεφάλαιο 1 με την προσθήκη της διάταξης απεικόνισης της διαδικασίας εκτύπωσης. Πριν την είσοδο της δέσμης στην διάταξη τηλεσκοπίου προστέθηκε ένα πλακίδιο ανάκλασης του 10% της δέσμης, το οποίο κατευθύνθηκε σε ένα ενεγόμετρο (coherent J3-09) συνδεδεμένο με ένα παλμογράφο (Lecroy waveace 2034) για την απευθείας μέτρηση της πυκνότητας ενέργειας του εκάστοτε παλμού. Καθώς πραγματοποιείται η εκτύπωση των σταγόνων στην επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη, η γωνία επαφής μεταξύ υποστρώματος αποδέκτη και σταγόνας καταγράφεται σε πραγματικό χρόνο (1ms χρονική διακριτική ικανότητα κάμερας) από την διάταξη απεικόνισης. Η διάταξη απεικόνισης αποτελείται από ένα αντικειμενικό φακό μικροσκοπίου Leica 10X και μία ccd κάμερα Unibrain 810. Φωτισμός LED τοποθετείται κατά μήκος του άξονα της διάταξης απεικόνισης, για την καταγραφή των εικόνων μέτρησης της γωνίας επαφής. Η ανάλυση της γωνίας επαφής γίνεται μέσω του

προγράμματος Image J το οποίο έχει τη δυνατότητα να κάνει ανάλυση της μορφολογίας των σταγόνων (drop analysis).

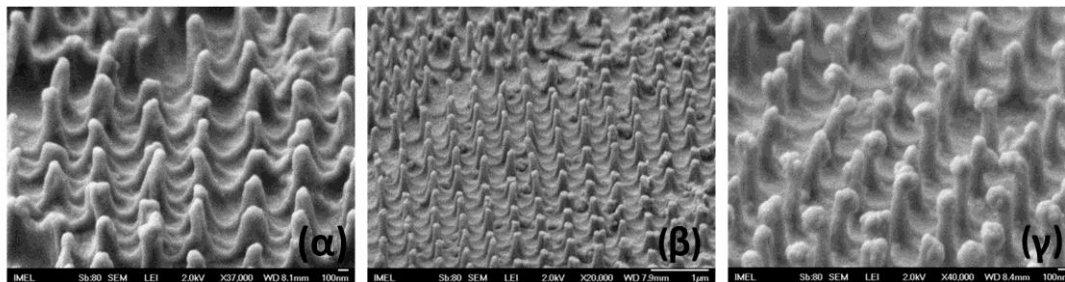


Εικόνα 4. 8: Σχηματική απεικόνιση της διάταξης χαρακτηρισμού υπερυδροφобων επιφανειών

4.4 Χαρακτηρισμός υπερυδροφобων επιφανειών περιοδικών δομών με την τεχνική LIFT

Σύμφωνα με την 4.3 Πειραματική διάταξη χαρακτηρισμού υπερυδροφобων επιφανειών, οι σταγόνες οι οποίες εισχωρούν στις υπερυδροφобες επιφάνειες, παραμένουν εκεί ενάντια σε βαρυτικές δυνάμεις. Η τεχνική LIFT, χρησιμοποιήθηκε για την εύρεση της πίεσης στην οποία γίνεται μετάβαση από την κατάσταση Cassie-Baxter, στην κατάσταση Wenzel για επιφάνειες PMMA, στις οποίες αναπτύχθηκαν τυχαίες και οργανωμένες μικρο και νάνο δομές, μέσω εγχάραξης πλάσματος. Οι οργανωμένες δομές αναπτύχθηκαν στο ινστιτούτο επιστήμης υλικών του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος, από τους Δρ. Κοσμά Έλληνα, και τους ερευνητές Αγγελική Τσερέπη και Ευάγγελο Γογγολίδη. Για την ανάπτυξη οργανωμένων δομών μέσω εγχάραξης πλάσματος χρησιμοποιήθηκαν κολλοειδή σωματίδια πολυστυρενίου (Mikropartikel GmbH, Germany σε διάλυμα αναλογίας 1:400 Triton X-100 (Sigma-Aldrich) και μεθανόλης, 0.5 μm διάμετρος), ως μάσκα εγχάραξης, τα οποία εναποτέθηκαν στις επιφάνειες PMMA μέσω της τεχνικής εναπόθεσης με περιστροφή (spin coating). Εν συνεχεία με τη χρήση ανισοτροπικής εγχάραξης πλάσματος O₂ και πίεση στα 0.75 Pascal, θερμοκρασία : 15⁰ C, ισχύς :1900 watt, ροή οξυγόνου : 100 sccm, τάση -100 V και για διαφορετικούς χρόνους εγχάραξης, παρατηρείται η δημιουργία μικρό και νάνο δομών στις επιφάνειες PMMA (Εικόνα 4. 9). Ακλουθεί ιστροπική εγχάραξη πλάσματος O₂ για την τροποποίηση του προφίλ των δομών [38] και τέλος η υδροφοβοποίηση γίνεται με την

εμβάπτιση των επιφανειών σε διάλυμα 1 mM PFOTS (perfluorinated monolayer) σε cyclohexane.



Εικόνα 4. 9: (α) επιφάνεια PMMA, με δομές ύψους 300 nm κατασκευασμένη μέσω ανιστροπικής (90 sec) και ιστροπικής (30 sec) εγχάραξης, επιφάνεια PMMA, με δομές ύψους 660 nm κατασκευασμένη μέσω ανιστροπικής (75 sec) και ιστροπικής (15 sec) εγχάραξης, (γ) επιφάνεια PMMA, με δομές ύψους 640 nm κατασκευασμένη μέσω ανιστροπικής (60 sec) και ιστροπικής (15 sec) εγχάραξης.

Οι διαφορετικές δομές που προέκυψαν από την διεργασία που περιγράφηκε ανωτέρω δίνει την δυνατότητα να γίνει συσχέτιση της μορφολογίας της δομής υπερυδρόφοβων επιφανειών, με την κρίσιμη τιμή πίεσης, πάνω από την οποία οι εν λόγω επιφάνειες χάνουν την ιδιότητά τους να μην διαβρέχονται. Οι τοπογραφίες των επιφανειών που παρουσιάζονται στις *Εικόνα 4. 9 β και γ* παρουσιάζουν ίδιο διάκενο (~300 nm), διάμετρο πυλώνων (~120 nm) και ύψος πυλώνων (~600nm), ενώ διαφοροποιούνται στην μορφολογία των πυλώνων. Σύμφωνα με την τοπογραφία της *Εικόνα 4. 9γ*, οι πυλώνες παρουσιάζουν μεγαλύτερη διάμετρο στην κορυφή τους σε σχέση με την διάμετρο στο μέσον τους, μορφολογία η οποία σύμφωνα με τη βιβλιογραφία είναι σταθερότερη στην διατήρηση των ιδιοτήτων διαβροχής μιας επιφάνειας [39, 40, 41, 42].

Κάθε δείγμα τοποθετείται σε απόσταση 400 μm από το υπόστρωμα δότη, το οποίο αποτελείται από χαλαζία, 40 nm Ti, πάνω στο οποίο δημιουργείται ένα λεπτό φιλμ (20 μm) από το διάλυμα phosphate buffer. Το διάλυμα αυτό επιλέχθηκε λόγω της ομοιότητάς του στην επιφανειακή τάση με το νερό (66 mN/m), ενώ ο χαμηλότερος βαθμός πτητικότητας του διαλύματος καθιστούσε την καταγραφή εικόνων ευκολότερη. Εν συνεχεία διαφορετικά διαλύματα phosphate buffer με προπανόλη χρησιμοποιήθηκαν έτσι ώστε να γίνει χαρακτηρισμός στη διαβροχή των επιφανειών για υγρά με επιφανειακή τάση 45 και 36 mN/m, η τιμή της οποίας πλησιάζει την τιμή ελαίων (π.χ. hexadene: 27mN/m). Για εύρεση της κρίσιμης τιμής πίεσης, κάθε επιφάνεια εξετάζεται σύμφωνα με την εκτύπωση σταγόνων, καθώς μεταβάλλεται η πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser που ακτινοβολεί το

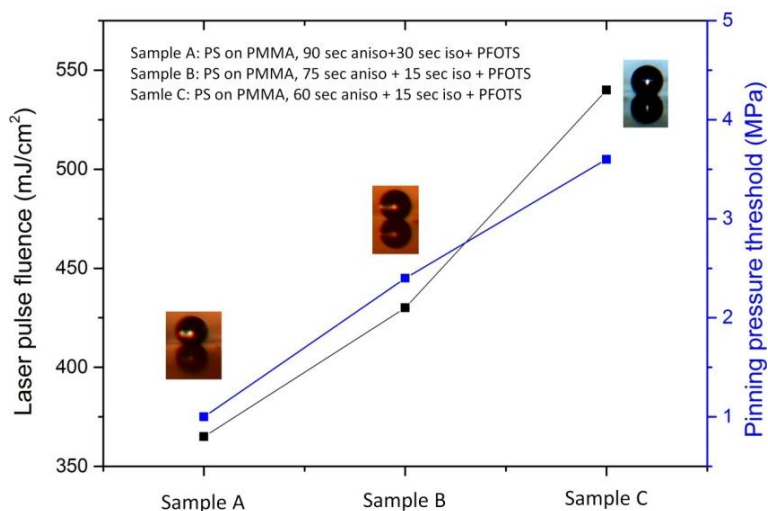
υπόστρωμα δότη ανά 50 mJ/cm², από 160 mJ/cm² που αντιστοιχεί στην μικρότερη πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser, στην οποία γίνεται επιτυχής εκτύπωση του υγρού (phosphate buffer). Η μεταβολή αυτή της πυκνότητας ενέργειας ισοδυναμεί με μεταβολή 0.3-0.5 MPa (Εικόνα 1.20). Καθώς σταγόνες προσκρούουν στις επιφάνειες με πίεση πρόσκρουσης μικρότερη από κρίσιμη τιμή πίεσεως που αλλάζουν οι ιδιότητες διαβροχής της επιφάνειας, οι σταγόνες απομακρύνονται από την επιφάνεια χωρίς να έχουν εισχωρήσει στο εσωτερικό της. Ως κρίσιμη τιμή πίεσεως θεωρείται η τιμή εκείνη στην οποία οι σταγόνες παραμένουν στην επιφάνεια με τιμές γωνίας επαφής πάνω από 130°. Καθώς αυξάνεται η τιμή πίεσεως πρόσκρουσης των σταγόνων, πάνω από την κρίσιμη τιμή πίεσεως, παρατηρείται περεταίρω εισχώρηση των σταγόνων στην δομή της επιφάνειας και μείωση της γωνίας επαφής της σταγόνας με την επιφάνεια, λόγω της πλήρους διαβροχής της επιφάνειας (από κατάσταση Cassie-Baxter σε κατάσταση Wenzel).

Οι ιδιότητες διαβροχής των επιφανειών παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. 1

	Στατική γωνία επαφής σε νερό [43]	Στατική γωνία επαφής σε διάλυμα 3% προπανόλη και 97% phosphate buffer (επιφανειακή τάση 35 mN/m)	Πυκνότητα ενέργειας παλμού laser (mJ/cm ²)	Ταχύτητα σταγόνας (m/s)	Πίεση (MPa)
PMMA pillars (90sec anisotropic & 30sec isotropic) + PFOTS	152° (8°)	140° (12°)	365	58	1.0
PMMA pillars (75sec anisotropic & 15sec isotropic) + PFOTS	162° (5°)	152° (10°)	430	69	2.4
PMMA pillars (60sec anisotropic & 15sec isotropic) + PFOTS	162° (5°)	155° (8°)	530	86	3.6

Στον *Οι ιδιότητες διαβροχής των επιφανειών παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. 1* παρατηρούνται οι τιμές δυναμικής πίεσεως πρόσκρουσης των σταγόνων στις οποίες οι επιφάνειες χάνουν την ιδιότητά τους να απωθούν το υγρό. Στην τιμή αυτής της πίεσης, μέρος της σταγόνας εισχωρεί στην δομή της επιφάνειας, οδηγώντας σε μερική διαβροχή της επιφάνειας. Οι τιμές των κρίσιμων πιέσεων που καταγράφονται είναι πάνω από 1MPa (10 atm), τιμές πολύ μεγαλύτερες από αυτές που έχουν καταγραφεί στην βιβλιογραφία [44], υποδεικνύοντας την σταθερότητα των επιφανειών σε συνθήκες δυναμικής πρόσκρουσης υγρών αλλά και την μοναδική δυνατότητα να χαρακτηριστούν από την μέθοδο LIFT [43].

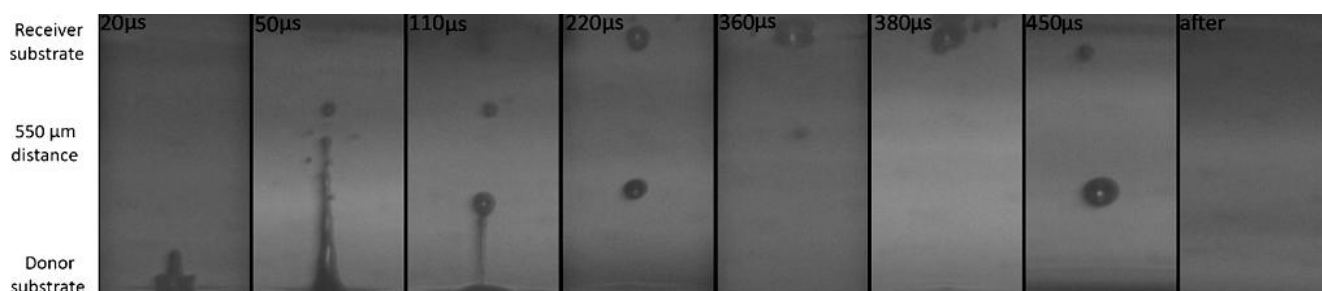
Στην παρακάτω *Εικόνα 4. 10*, παρατηρούνται οι τιμές κρίσιμων πιέσεων όπως καταγράφηκαν και στον *Οι ιδιότητες διαβροχής των επιφανειών* παρουσιάζονται στον *Πίνακα 4. 1*, για τις περιοδικές επιφάνειες της *Εικόνα 4. 9*.



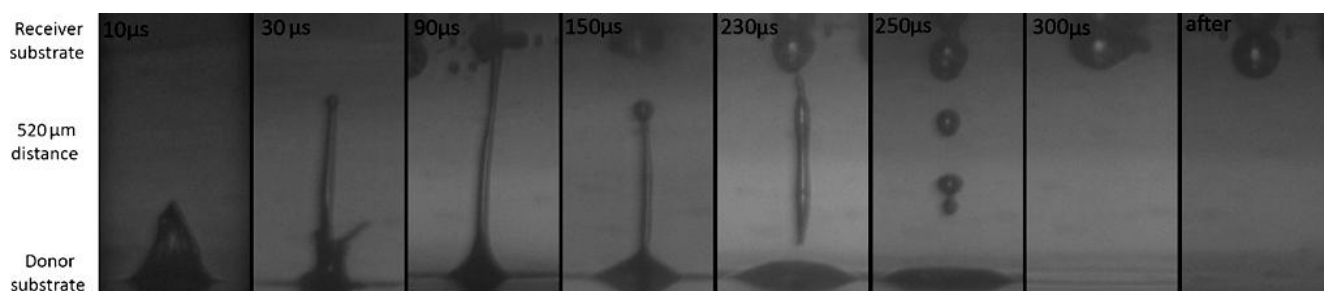
Εικόνα 4. 10: Τιμές πιέσεων και πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser, στις οποίες παρατηρείται μετάβαση από την κατάσταση μη διαβροχής της επιφάνειας, σε κατάσταση μερικής διαβροχής της επιφάνειας.

Η σταθερότητα των επιφανειών οφείλεται σε δύο παράγοντες, την μικρο και κυρίως τη νάνο τοπογραφία των επιφανειών, η οποία εμποδίζει την μετάβαση από την κατάσταση Cassie-Baxter σε Wenzel [45, 46] και στην υδροφοβικότητα του PFOTS, το οποίο ομοιογενώς καλύπτει τις επιφάνειες [47].

Με τη διάταξη που αναπτύχθηκε, με τη χρήση δύο laser για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης, δόθηκε η δυνατότητα καταγραφής του φαινομένου διαβροχής της επιφάνειας που παρατηρείται στην *Εικόνα 4. 9γ* σύμφωνα με την εκτύπωση σταγόνων διαλύματος phosphate buffer για τιμές πίεσεως πρόσκρουσης κάτω (1.2 MPa) και πάνω (4 MPa) από την κρίσιμη τιμή πίεσεως (3.6 MPa).



(α)



(β)

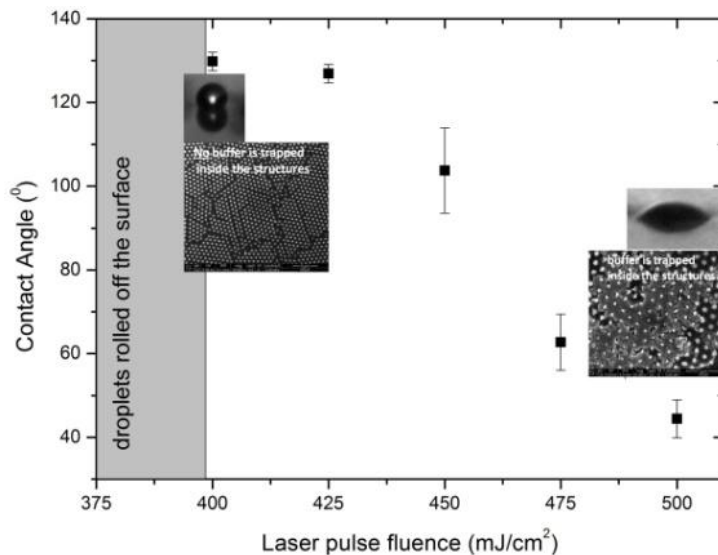
Εικόνα 4. 11: Χρονική απεικόνιση της πρόσκρουσης σταγόνων για πιέσεις πρόσκρουσης (α) πριν και (β) μετά της κρίσιμης πίεσεως πρόσκρουσης, πάνω απο την οποία παρατηρείται διαβροχή των επιφανειών.

Όπως παρατηρείται στην *Εικόνα 4. 11α*, η οποία καταγράφεται για εκτύπωση σταγόνας με παλμό laser στα 266 nm, ίχνος παλμού στο υπόστρωμα δότη 50 μm και πυκνότητα ενέργειας 280 mJ/cm², που έχει ως αποτέλεσμα ταχύτητα πρόσκρουσης της σταγόνας στην επιφάνεια 45 m/s, η σταγόνα είναι σε επαφή με την επιφάνεια για χρονική διάρκεια της τάξεως των 20 μs, ενώ τελικά απομακρύνεται από την επιφάνεια εφόσον δεν έχει κινητική ενέργεια ικανή να απομακρύνει το στρώμα αέρα που είναι εγκλωβισμένο στην δομή της επιφάνειας. Στα πρώτα 50 μs μετά την ακτινοβολήση του υποστρώματος στόχου, παρατηρείται η δημιουργία της σταγόνας από το jet υγρού, ενώ κατά την διάρκεια της επαφής της με την επιφάνεια (360 μs) παρατηρείται δυναμική παραμόρφωση (αύξηση της διαμέτρου 2x σε σχέση με την αρχική διάμετρο πριν την πρόσκρουση).

Αυξάνοντας την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser, σε 580 mJ/cm², η σταγόνα που δημιουργείται έχει πολύ υψηλότερη ταχύτητα πρόσκρουσης στην επιφάνεια (86 m/s). Για τιμή πίεσεως πρόσκρουσης μόλις 9% σε σχέση με την κρίσιμη τιμή πίεσεως (*Εικόνα 4. 10*) παρατηρείται η δυναμική πρόσκρουση του υγρού στην επιφάνεια (90 μs), έτσι ώστε μετά από επιμέρους ταλαντώσεις της σταγόνας (150 μs, 230 μs, 250 μs, 300 μs) το υγρό να εισχωρεί στην επιφάνεια (250 μs) και να παραμένει εκεί με γωνία επαφής μεγαλύτερης των 150°.

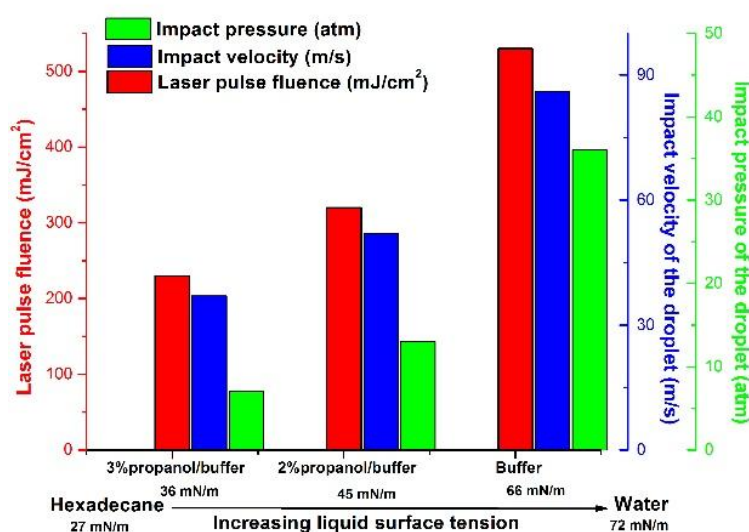
Αυξάνοντας την πυκνότητα ενέργειας πάνω από την κρίσιμη τιμή πίεσεως αναμένεται η μείωση της γωνίας επαφής της σταγόνας με την επιφάνεια, καθώς μεγαλύτερο μέρος της σταγόνας εισχωρεί στο εσωτερικό της δομής της επιφάνειας. Προς επιβεβαίωση αυτού παρατηρήθηκε η μείωση της γωνίας επαφής σταγόνας διαλύματος phosphate buffer, σύμφωνα με συνθήκες εκτύπωσης: 50 μm ίχνος του παλμού στο υπόστρωμα δότη και πυκνότητες ενέργειας από 160 έως 500 mJ/cm², ανά 25 mJ/cm² (*Εικόνα 4. 12*), κατά την πρόσκρουσή της στην επιφάνεια της *Εικόνα 4. 9β*. Οι εικόνες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας

σάρωσης που παρουσιάζονται στο εσωτερικό του γραφήματος της εικόνας *Εικόνα 4. 12* είναι καταγεγραμμένες από περιοχές πρόσκρουσης των σταγόνων πριν και μετά την τιμή κρίσιμης πίεσεως. Στην εικόνα που καταγράφεται μετά την κρίσιμη τιμή πίεσεως, επιβεβαιώνεται η εισχώρηση της σταγόνας στην δομή της επιφάνειας από το ίχνος αλάτων που παρατηρείται.



Εικόνα 4. 12: Ανάλυση μελέτης διαβροχής της επιφάνειας σε σχέση με την πυκνότητα ενέργειας του παλμού του laser που χρησιμοποιείται για την εκτόπωση σταγόνων.

Προχωρώντας την εφαρμογή της τεχνικής LIFT για τον χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων διαβροχής υπερυδρόφοβων επιφανειών, στην *Εικόνα 4. 13* παρουσιάζεται η μελέτη της τιμής της κρίσιμης πίεσεως για διαλύματα phosphate buffer και προπανόλης, έτσι ώστε να μεταβάλλεται η επιφανειακή τάση του υγρού, για την επιφάνεια που παρατηρείται στην *Εικόνα 4. 9γ*.



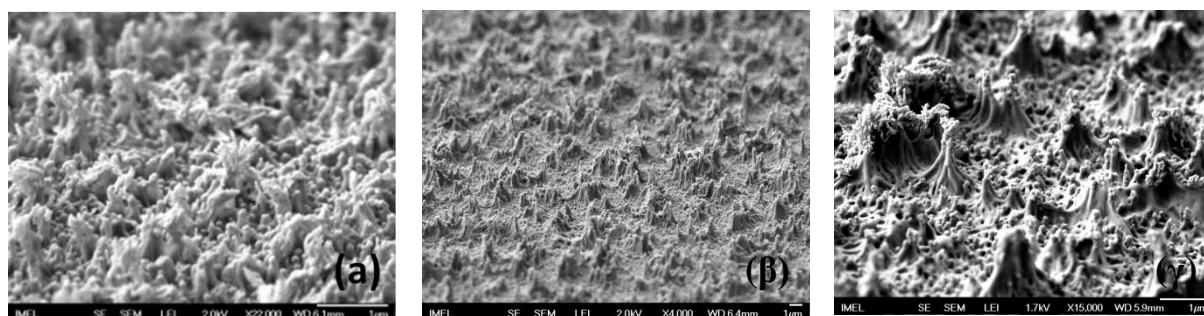
Εικόνα 4. 13: Τιμές πιέσεων και πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser, στις οποίες παρατηρείται μετάβαση από την κατάσταση μη διαβροχής της επιφάνειας, σε κατάσταση μερικής διαβροχής της επιφάνειας, για υγρά με διαφορετική επιφανειακή τάση.

Η μείωση της τιμής της κρίσιμης πίεσεως της διαβροχής της επιφάνειας, είναι αναμενόμενη καθώς μειώνεται και η επιφανειακή τάση του υγρού, καθώς μειώνονται οι διαμοριακές

ελκτικές δυνάμεις, με αποτέλεσμα την δημιουργία σταγόνων με μεγαλύτερο εμβαδό επιφανείας.

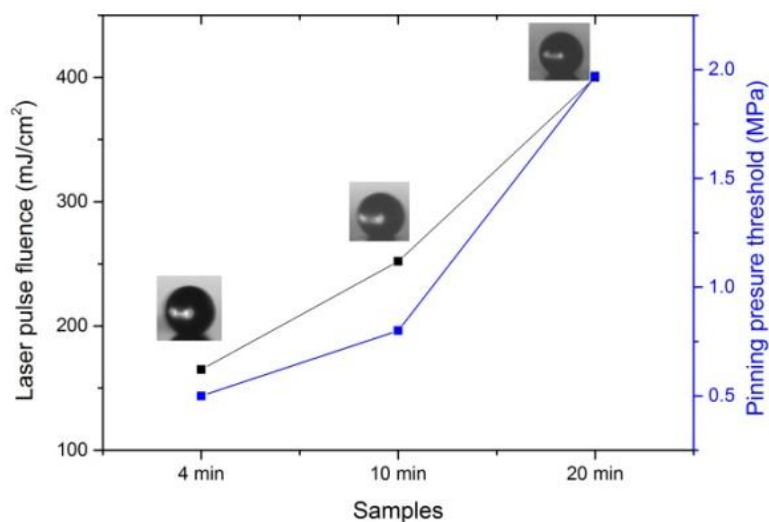
Χαρακτηρισμός υπερυδροφобων επιφανειών τυχαίας μορφολογίας με την τεχνική LIFT (4-5)

Οι τυχαίες δομές αναπτύχθηκαν στο ινστιτούτο επιστήμης υλικών του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος, από τους Δρ. Κοσμά Έλληνα, και τους ερευνητές Αγγελική Τσερέπη και Ευάγγελο Γογγολίδη. Για την ανάπτυξη τυχαίων δομών [48, 49] έγινε ανιστροπική εγχάραξη πλάσμα O_2 σε δομές PMMA πάχους 2 mm, με συνθήκες εγχάραξης: πίεση στα 0.75 Pascal, θερμοκρασία : $15^0 C$, ισχύς :250 watt, ροή οξυγόνου : 100 sccm, τάση -100 V και για διαφορετικούς χρόνους εγχάραξης (4 min, 10 min, 20 min) παρατηρείται η δημιουργία μικρό και νάνο δομών στις επιφάνειες PMMA (εικόνα). Για την υδροφοβοποίηση των επιφανειών ακλούθησε η εναπόθεση με πλάσμα, 45 nm φίλμ φλοράνθρακα, από αέριο C_4F_8 (900 W, 0 V, 5.33 Pa C_4F_8 , ρυθμός εναπόθεσης 30 nm min^{-1}) [50].



Εικόνα 4. 14: Τοπογραφία επιφανειών PMMA, μετά από (α) 4 min, (β) 10 min, (γ) 20 min ανιστροπική εγχάραξη πλάσματος O_2 .

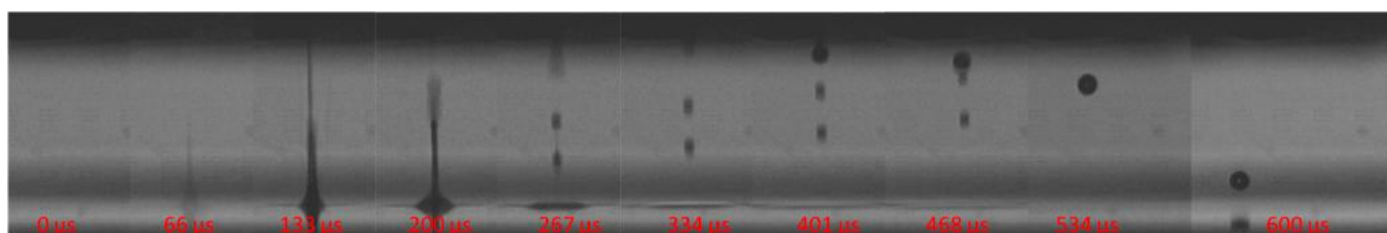
Κάθε επιφάνεια τοποθετείται παράλληλα στο υπόστρωμα δότη (400 μm απόσταση) και εξετάζεται στην πρόσκρουση σταγόνων διαλύματος phosphate buffer (66 mN/m επιφανειακή τάση) με διαφορετικές ταχύτητες και πιέσεις πρόσκρουσης, όπως περιγράφεται στην (Εικόνα 1.20). Παρατηρείται ότι οι κρίσιμες τιμές πιέσεων, πάνω από τις οποίες, οι σταγόνες αρχίζουν να εισχωρούν στην μικρο και νάνο δομή της κάθε επιφάνειας (Εικόνα 4. 15), είναι μεταξύ 0.5 και 2 MPa, τιμές πολύ μικρότερες από αυτές που έχουν καταγραφεί για τις επιφάνειες PMMA με περιοδικές δομές. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο λαμβάνοντας υπόψη τις μικρότερες δομές που σχηματίζονται κατά την ανιστροπική εγχάραξη, καθώς και την έλλειψη δυνατότητας επιλογής του σχήματος των μικροδομών που σχηματίζονται.



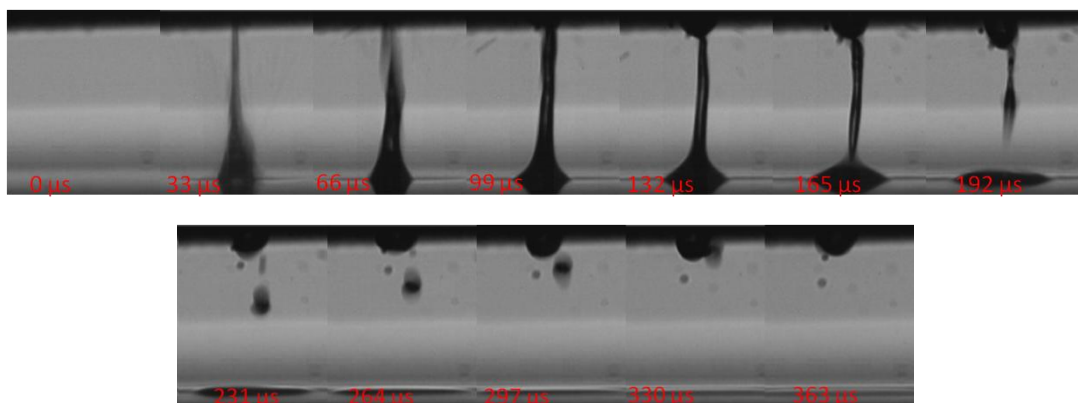
Εικόνα 4. 15: Τιμές πιέσεων και πυκνότητας ενέργειας του παλμού του laser, στις οποίες παρατηρείται μετάβαση από την κατάσταση μη διαβροχής της επιφάνειας, σε κατάσταση μερικής διαβροχής της επιφάνειας

Σύμφωνα με την *Εικόνα 4. 15*, παρατηρείται ότι η τιμή πίεσεως πρόσκρουσης που απαιτείται για την διαβροχή των επιφανειών, αυξάνεται ανάλογα με το χρόνο εγχάραξης που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη των μικροδομών, για τις επιφάνειες PMMA, και κατά συνέπεια με το μέγεθος των μικροδομών.

Με τη βοήθεια της διάταξης απεικόνισης του φαινομένου εκτύπωσης με τη χρήση της κάμερας υψηλής ταχύτητας καταγραφής (photron fastcam) παρατηρείται η πρόσκρουση σταγόνων διαλύματος phosphate buffer στην επιφάνεια 20 min εγχάραξης, για τιμές πιέσεων πρόσκρουσης πάνω (*Εικόνα 4. 16β*) και κάτω (*Εικόνα 4. 16α*) από την κρίσιμη τιμή πίεσεως στην οποία η επιφάνεια χάνει την ιδιότητά της να αποκρούει υδατικά διαλύματα. Τα στιγμιότυπα που παρατηρούνται στην *Εικόνα 4. 16* έχουν καταγραφεί με χρονική διακριτική ικανότητα 33μs (30000 fps) και 66 μs (15000 fps), ενώ η χρονική στιγμή κατά την οποία τίθεται σε λειτουργία η κάμερα, γίνεται μέσω του προγράμματος Photron FASTCAM viewer, με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατός ο συγχρονισμός της ακτινοβόλησης του υποστρώματος δότη, με την καταγραφή των εικόνων. Η απόσταση μεταξύ υποστρώματος δότη και υποστρώματος αποδέκτη είναι σταθερή στα 520 μm, ενώ για την εκτύπωση σταγόνων, το ίχνος του παλμού στο υπόστρωμα δότη είναι σταθερό στα 50 μm, και το φίλμ του υγρού έχει πάχος 20 μm (10 μL). Η καταγραφή κάθε σειράς στιγμιότυπων αφορά την δημιουργία μίας φουσαλίδας, η οποία εξελίσσεται σε πίδακα υγρού και κατά συνέπεια σε σταγόνα.



(α)

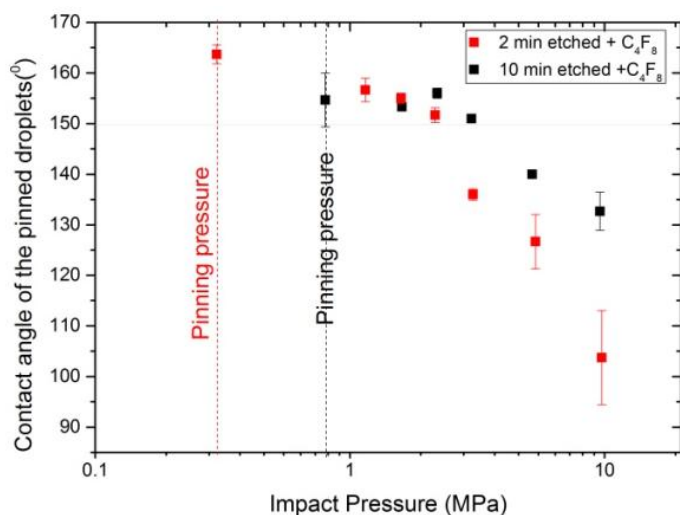


(β)

Εικόνα 4. 16: Χρονική απεικόνιση της πρόσκρουσης σταγόνων για πιέσεις πρόσκρουσης (α) πριν και (β) μετά της κρίσιμης πίεσεως πρόσκρουσης, πάνω από την οποία παρατηρείται διαβροχή των επιφανειών, κατά την πρόσκρουση σταγόνων στην επιφάνεια PMMA με 20 min εγχάραξη πλάσματος.

Τα στιγμιότυπα που καταγράφονται στην *Εικόνα 4. 16α*, αφορούν την εκτύπωση σταγόνας phosphate buffer με 350 mJ/cm^2 πυκνότητα ενέργειας ακτινοβόλησης του υποστρώματος δότη από τον παλμό του laser, που αποτελεί το 88% της κρίσιμης πυκνότητας ενέργειας στην οποία παρατηρείται επικόλληση των σταγόνων στην επιφάνεια σύμφωνα με την *Εικόνα 4. 15*. Κατά την εκτύπωση με αυτήν την πυκνότητα ενέργειας, η ταχύτητα πρόσκρουσης της σταγόνας στην επιφάνεια είναι 56 m/s (*Εικόνα 1.20*) και πίεση πρόσκρουσης $1,5 \text{ MPa}$. Το φαινόμενο από την δημιουργία της φυσαλίδας και του πίδακα υγρού μέχρι την αποκοπή της σταγόνας από τον πίδακα και την πρόσκρουσή της διαρκεί $260 \mu\text{s}$, ενώ μέχρι να επέλθει ισορροπία στο υγρό του υποστρώματος δότη ($t > 468 \mu\text{s}$) σταγόνες υγρού συνεχόμενα αποκόπτονται από το φιλμ υγρού του υποστρώματος δότη και κατευθύνονται στο υπόστρωμα αποδέκτη. Μετά την πρόσκρουση των σταγόνων στην επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη, παρατηρείται η άμεση απομάκρυνση τους με αποτέλεσμα την επαναφορά των σταγόνων στο φιλμ υγρού του υποστρώματος δότη. Αυξάνοντας την πυκνότητα ενέργειας ακτινοβόλησης του υποστρώματος δότη, σε 500 mJ/cm^2 , πυκνότητα ενέργειας 25% μεγαλύτερη από την κρίσιμη πυκνότητα ενέργειας που παρατηρείται επικόλληση της σταγόνας στην επιφάνεια σύμφωνα με την *Εικόνα 4. 15*, παρατηρείται η δημιουργία μεγαλύτερου σε διάμετρο πίδακα, ο οποίος ενώνεται με την επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη, πριν το σχηματισμό μιας σταγόνας. Η ταχύτητα πρόσκρουσης του πίδακα είναι 76 m/s και η πίεση πρόσκρουσης $3,3 \text{ MPa}$. Η αποκοπή σταγόνας από τον πίδακα υγρού παρατηρείται στο στιγμιότυπο των $192 \mu\text{s}$ ενώ η σταγόνα που παραμένει στην επιφάνεια, συνεχίζει να ταλαντώνεται περίπου για χρόνο $150\text{-}200 \mu\text{s}$.

Για την χρήση της τεχνικής LIFT για τον πλήρη χαρακτηρισμό υπερυδροφобων επιφανειών, επιλέχθηκαν οι επιφάνειες PMMA με 2 και 10 min ανισότροπικής εγχάραξης πλάσματος, οι οποίες εξετάστηκαν σε εύρος πιέσεων από 0.5 MPa σε 32 MPa (Εικόνα 4. 17). Παρατηρείται η μείωση της γωνίας επαφής της σταγόνας με της επιφάνειες, οδηγώντας στην μεταβολή των ιδιοτήτων των επιφανειών από υπερυδροφобες (γωνία επαφής > 150°) σε υβρόφобες (150°>γωνία επαφής>100°) και υδρόφιλες (100°> γωνία επαφής) . Η δυνατότητα που δίνεται μέσω της τεχνικής LIFT, για τον πλήρη χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων διαβροχής των επιφανειών στην δυναμική πρόσκρουση σταγόνων, είναι εξέχουσας σημασίας, λαμβάνοντας υπόψη το εύρος των πιθανών εφαρμογών για τις οποίες κατασκευάζονται οι εν λόγω επιφάνειες.



Εικόνα 4. 17: Χαρακτηρισμός επιφανειών PMMA, με χρόνους εγχάραξης 2min και 10 min, σε δυναμικές προσκρούσεις σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT..

Σύμφωνα με τις γωνίες επαφής που καταγράφονται για σταγόνες με πιέσεις πρόσκρουσης από 0.5 έως 2 MPa, στην επιφάνεια PMMA (2 min εγχάραξη) παρατηρείται ότι σε αυτό το εύρος των πιέσεων, η επιφάνεια παραμένει υπερυδροφобη (γωνίες επαφής μεγαλύτερες των 150°). Για πιέσεις πρόσκρουσης των σταγόνων από 2 έως 10 MPa η επιφάνεια γίνεται υδρόφобη (100°<γωνίες επαφής<150°) και από 10 MPa και πάνω πλέον οι σταγόνες, λόγω της υψηλής πίεσεως πρόσκρουσης, έχουν εισχωρήσει πλήρως στην δομή της επιφάνειας και έχουν αρχίσει να καταστρέφουν το υδροφобικό στρώμα φλοράνθρακα.

Στην επιφάνεια PMMA με 10 min εγχάραξη πλάσματος, παρατηρείται μεγαλύτερη σταθερότητα στην μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής της επιφάνειας, εφόσον οι γωνίες επαφής που καταγράφονται είναι πάνω από 150° ακόμα και για πιέσεις πρόσκρουσης 5 MPa, ενώ ακόμα και για 10 MPa, παρατηρείται γωνία επαφής 130°, υποδηλώνοντας ότι η επιφάνεια δεν έχει διαβρεχτεί πλήρως. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι ιδιότητες διαβροχής δύο

επιφανειών με το ίδιο φιλμ υδροφοβικότητας (φλοράνθρακα) παρουσιάζουν διαφορετικές ιδιότητες διαβροχής λόγω της τοπογραφίας τους [51,52,53], το αποτέλεσμα της *Εικόνα 4. 17*, επεξηγείται πλήρως παραθέτοντας το μέση ύψος των πυλώνων για 2 min (300 nm) και 10 min (μερικά μm) εγχάραξη πλάσματος

Συμπεράσματα

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάστηκε η χρήση της τεχνικής LIFT για τον χαρακτηρισμό υπερυδρόφοβων επιφανειών. Αρχικά καταγράφεται βιβλιογραφική μελέτη των φυσικών διεργασιών που επικρατούν κατά την μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής υπερυδρόφοβων επιφανειών, ενώ στην συνέχεια παρατίθεται και η πειραματική μελέτη χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών PMMA.

Κατά την εκτύπωση σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT, παρατηρούνται υψηλές ταχύτητες κατά την πρόσκρουση των σταγόνων στη επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη. Μετρώντας πειραματικά τις ταχύτητες αυτές μέσω της διάταξης που αναπτύχθηκε για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης, δόθηκε η δυνατότητα υπολογισμού των πιέσεων πρόσκρουσης των σταγόνων, οι οποίες φτάνουν τα 35 MPa. Η μοναδική αυτή ιδιότητα των σταγόνων που εκτυπώνονται μέσω της τεχνικής LIFT, οδηγεί στην καινοτόμο χρήση της τεχνικής για το δυναμικό χαρακτηρισμό υπερυδρόφοβων επιφανειών. Στα πλαίσια του κεφαλαίου αυτού παρουσιάστηκε η χαρακτηρισμός της πίεσεως πρόσκρουσης που οδηγεί στην μερική διαβροχή υπερυδρόφοβων επιφανειών τυχαίας και περιοδικής δομής. Επίσης παρουσιάστηκε και όλο το εύρος των πιέσεων πρόσκρουσης των σταγόνων που οδηγούν στην μείωση της γωνίας επαφής κατά την επαφή της σταγόνας με την επιφάνεια, μέχρι την κατάσταση πλήρους διαβροχής της επιφάνειας.

Η τεχνική LIFT έδωσε επίσης την δυνατότητα χαρακτηρισμού υπερυδρόφοβων επιφανειών, μέσω της εκτύπωσης υγρών με διαφορετικές επιφανειακές τάσεις. Η μεταβολή της επιφανειακής τάσης στα υγρά που εξετάστηκαν, έγινε με σκοπό την προσομοίωση των υγρών από υδατικά διαλύματα σε διαλύματα ελαίων.

Αναφορές

- [1] Solga, A., Cerman, Z., Striffler, B. F., Spaeth, M., & Barthlott, W. *Bioinspiration&Biomimetics*, 4(2), 126 (2007).
- [2] K. Ellinas, S. P. Pujari, D. A. Dragatogiannis, C. A. Charitidis, A. Tserepi, H. Zuilhof, E. Gogolides, *Acs Appl Mater Inter* (6), 6510, 2014.
- [3] X.-M. Li, D. Reinhoudt, and M. Crego-Calama, *Chem. Soc. Rev.*, 36(8), 1350–1368, (2007).
- [4] Y. C. Jung, B. Bhushan, *Langmuir*, 25, 9208 (2009).
- [5] Hung, Y.-L.; Chang, Y.-Y.; Wang, M.-J.; Lin, S.-Y. *Rev. Sci. Instrum.* 81(6), 065105, (2010).
- [6] Roach, P.; Shirtcliffe, N. J.; Newton, M. I. *Soft Matter* 2008, 4(2), 224–240.
- [7] Samuel B, Zhao H, Law KY. *J PhysChem C*, 115, 14852 (2011).
- [8] E. Bormashenko, R. Pogreb, T. Stein, G. Whyman, M. Erlich, A. Musin, V. Machavariani, and D. Aurbach, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 10 (27), 4056–4061, (2008).
- [9] Y. C. Jung and B. Bhushan, *Langmuir*, 24(12), 6262–9, (2008).
- [10] T. N. Krupenkin, J. A. Taylor, T. M. Schneider, and S. Yang, *Langmuir*, 20 (10), 3824–3827, (2004).
- [11] Deng X, Schellenberger F, Papadopoulos P, Vollmer D, Butt HJ. *Langmuir*, 29, 7847 (2013).
- [12] A. Gauthier, M. Rivetti, J. Teisseire, E. Barthel *Phys. Rev. Lett.* 110, 046101, (2013)
- [13] -A. K. Gnanappa, D. P. Papageorgiou, E. Gogolides, A. Tserepi, A. G. Papathanasiou, and A. G. Boudouvis, *Plasma Process. Polym.*, vol. 9, no. 3, pp. 304–315, 2012.
- [14] J. T. Pearson, D. Maynes, and B. W. Webb, *Exp. Fluids*, vol. 53, no. 3, pp. 603–618, 2012.
- [15] A.W. Adamson, A.P. Gast, *Phys. Chem. Surf.*, Wiley Blackwell, 1997.
- [16] E. Celia, T. Darmanin, E. Taffin de Givenchy, S. Amigoni, and F. Guittard, “Recent advances in designing superhydrophobic surfaces,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 402, pp. 1–18, 2013.
- [17] R.N. Wenzel, *Ind. Eng. Chem.* 28 (1936) 988.
- [18] R.N. Wenzel, *J. Phys. Colloid Chem.* 53 (1949) 1466
- [19] A.B.D. Cassie, S. Baxter, *Trans. Faraday Soc.* 40 (1944) 546.
- [20] A.B.D. Cassie, *Discuss. Faraday Soc.* 3 (1948) 11.
- [21] D. Quere, *Rep. Prog. Phys.* 68 (2005) 2495.
- [22] M. Nosonovsky, *J. Chem. Phys.* 126 (2007) 224701.
- [23] S.Y. Chou, P.R. Krauss, W. Zhang, L.G. Guo, L. Zhuang, *J. Vac. Sci. Technol. B* 15 (1997) 2897.
- [24] S.Y. Chou, C. Keimel, J. Gu, *Nature* 417 (2002) 835.
- [25] B. Bhushan, K. Koch, Y.C. Jung, *Ultramicroscopy* 109 (2009) 1029
- [26] J. Shieh, F. Hou, Y.C. Chen, H.M. Chen, S.P. Yang, C.C. Chen, U.L. Chen, *Adv. Mater.* 22 (2010) 597.
- [27] Y. He, C. Jiang, H. Yin, J. Chen, W. Yuan, *J. Colloid Interface Sci.* 364 (2011) 219.
- [28] J. Zhang, B. Yang, *Adv. Funct. Mater.* 20 (2010) 3411
- [29] Kyoo-Chui Park et al., *ACS Nano*, pub. date (Web): April 8, 2012; DOI: 10.1021/nn301112t
- [30] S. Michielsen, H.J. Lee, *Langmuir* 23 (2007) 6004.
- [31] Y.Y. Liu, R.H. Wang, H.F. Lu, L. Li, Y.Y. Kong, K.H. Qi, J.H. Xin, *J. Mater. Chem.* 17 (2007) 1071
- [32] A. Greiner, J.H. Wendorff, *Angew. Chem., Int. Ed.* 46 (2007) 5670
- [33] N. Nuraje, W. S. Khan, Y. Lei, M. Ceylan and R. Asmatulu, *J. Mater. Chem. A*, 2013, 1, 1929–1946.
- [34] M. Ma, R. M. Hill, J. L. Lowery, S. V. Fridrikh and G. C. Rutledge, *Langmuir*, 2005, 21, 5549–5554
- [35] S. Amigoni, E. Taffin de Givenchy, M. Dufay, F. Guittard, *Langmuir* 25 (2009) 11073
- [36] J.D. Plummer, M. Deal, P. D. Griffin, *Silicon VLSI Technology: Fundamentals, Practice, and Modeling*, 610-625.
- [37] K. Ellinas, A. Tserepi, and E. Gogolides, *Microfluid. Nanofluidics*, pp. 1–10, 2014.
- [38] K. Ellinas, A. Tserepi, E. Gogolides, *Langmuir* 2011, 27, 3960.
- [39] H. Zhao, K.-C. Park, K.-Y. Law, *Langmuir* 2012, 28, 14925. H. Zhao, K.-C. Park, K.-Y. Law, *Langmuir* 2012, 28, 14925.

-
- [40] A. Tuteja, W. Choi, J. M. Mabry, G. H. McKinley, R. E. Cohen, Proceedings of the National Academy of Sciences 2008, 105, 18200
- [41] K. Ellinas, A. Tserepi, E. Gogolides, Langmuir 2011, 27, 3960.
- [42] A. K. Kota, Y. Li, J. M. Mabry, A. Tuteja, Advanced Materials 2012, 24, 5838.
- [43] K. Ellinas, M. Chatzipetrou, I. Zergioti, A. Tserepi, and E. Gogolides, (2015), *Adv. Mater* DOI: 10.1002/adma.201405855.
- [44] T.-S. Wong, T. Sun, L. Feng, J. Aizenberg, MRS Bulletin 2013, 38, 366.
- [45] C. Lee, C.-J. Kim, Phys Rev Lett 2011, 106.
- [46] H.-J. Butt, D. Vollmer, P. Papadopoulos, Advances in Colloid and Interface Science 2014.
- [47] K. Ellinas, S. P. Pujari, D. A. Dragatogiannis, C. A. Charitidis, A. Tserepi, H. Zuilhof, E. Gogolides, Acs Appl Mater Inter 2014, 6, 6510.
- [48] Ellinas, K.; Tserepi, A.; Gogolides, E., Langmuir 2011, 27 (7), 3960-3969.,
- [49] K. Ellinas, S. P. Pujari, D. A. Dragatogiannis, C. A. Charitidis, A. Tserepi, H. Zuilhof, E. Gogolides, Acs Appl Mater Inter 2014, 6, 6510
- [50] Bayiati, P.; Tserepi, A.; Gogolides, E.; Misiakos, K. Journal of Vacuum Science & Technology A 2004, 22, (4), 1546-1551
- [51] X. Feng and L. Jiang, Adv. Mater., 18(23), 3063–3078, (2006).
- [52] A. Tuteja, W. Choi, J. M. Mabry, G. H. McKinley, R. E. Cohen, Proceedings of the National Academy of Sciences 2008, 105, 18200.
- [53] H. Zhao, K.-C. Park, K.-Y. Law, Langmuir 2012, 28, 14925

Κεφάλαιο 5 Συμπεράσματα - Προτάσεις

Στο παρόν κεφάλαιο γίνεται μια συνολική περιγραφή των ερευνητικών συμπερασμάτων που προέκυψαν στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Παράλληλα, σε συνέχεια των αποτελεσμάτων της διατριβής, γίνονται περαιτέρω ερευνητικές προτάσεις.

Συμπεράσματα

Το αντικείμενο της παρούσας διδακτορικής διατριβής, αφορά την χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT, για την εκτύπωση βιολογικών υλικών και πολυμερών. Η τεχνική εκτύπωσης με laser, LIFT είναι μια τεχνική απευθείας εγγραφής, στην οποία, χωρίς τη χρήση μάσκας είναι δυνατή η ανάπτυξη μικροδομών. Η αρχή λειτουργίας της τεχνικής βασίζεται στην ακτινοβολήση με ένα παλμό laser σε ένα υποστρώμα δότη, στον οποίο επιστρώνεται το προς εναπόθεση υλικό. Η δυνατότητα απευθείας εγγραφής, ξεχωρίζει την τεχνική αυτή για την ανάπτυξη αισθητήρων, ανεξάρτητα από την δομή τους. Στα πλαίσια της διατριβής αυτής, αναπτύχθηκαν δύο ειδών αισθητήρες. Μέσω της εκτύπωσης βιολογικών διαλυμάτων αναπτύχθηκαν δομές βιοαισθητήρων, ενώ μέσω της εκτύπωσης νανοσύνθετων πολυμερικών διαλυμάτων αναπτύχθηκαν χημικοί αισθητήρες.

Στο κεφάλαιο 1 γίνεται βιβλιογραφική ανασκόπηση της έρευνας που έχει διεξαχθεί στην τεχνική εκτύπωσης με laser, LIFT για την εκτύπωση βιολογικών διαλυμάτων. Η ανασκόπηση αυτή ξεκινά από την πρώτη παρουσίαση της τεχνικής για την εκτύπωση μετάλλων, με σκοπό την εφαρμογή της τεχνικής στη μικροηλεκτρονική και συνεχίζεται χρονολογικά στην εκτύπωση βιολογικών υλικών. Η ανασκόπηση αυτή ολοκληρώνεται με τις τελευταίες τάσεις χρήσης της τεχνικής για την εκτύπωση βιολογικών υλικών *in vivo* και για την ανάπτυξη τρισδιάστατων δομών για την ανάπτυξη βιολογικών ιστών. Στο κεφάλαιο εν συνεχεία γίνεται ανάλυση των μηχανισμών απορρόφησης του παλμού του laser από υλικά, καθώς και της διάδοσης θερμότητας κατά την απορρόφηση του παλμού του laser από το λεπτό φιλμ τιτανίου του υποστρώματος δότη, όπου και παρατίθεται προσομοίωση της θερμοκρασιακής εξέλιξης στο χρόνο και το χώρο, κατά την ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη. Στο υποκεφάλαιο μηχανισμών δημιουργίας και εξέλιξης του πίδακα υγρού που οδηγεί στην εκτύπωση σταγόνων σε υποστρώματα αποδέκτες, εκτός από την βιβλιογραφική μελέτη παρατίθεται και πειραματική απεικόνιση του φαινομένου, από εικόνες που καταγράφηκαν μέσω της πειραματικής διάταξης που αναπτύχθηκε, για την απεικόνιση του φαινομένου εκτύπωσης.

Στο κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται η χρήση της τεχνικής LIFT για την εκτύπωση βιομορίων με σκοπό την ανάπτυξη βιοαισθητήρων. Στο πρώτο παράδειγμα βιοαισθητήρα που παρατίθεται, γίνεται εκτύπωση υδατικού διαλύματος ολιγονουκλεοτιδίων, σε αισθητήρες χωρητικότητας, με σκοπό την ανάπτυξη βιοαισθητήρα για την ανίχνευση ιόντων βαρέων μετάλλων σε υδατικά διαλύματα. Χρησιμοποιήθηκαν δύο τεχνητές συμπληρωματικές ολιγονουκλεοτιδικές αλληλουχίες, η αλυσίδα του βιομορίου ανιχνευτή που ακινητοποιείται μέσω ομοιοπολικών δεσμών στην επιφάνεια του αισθητήρα και η αλυσίδα του βιομορίου αναλύτη, η οποία υβριδοποιείται με την αλληλουχία του βιομορίου ανιχνευτή. Ως αισθητήρια στοιχεία χρησιμοποιούνται δομές πυκνωτών που αποτελούνται από ένα εύκαμπτο οπλισμό (υπέρλεπτη μεμβράνη οξειδίου του πυριτίου) και ένα σταθερό οπλισμό. Κατά την υβριδοποίηση της αλληλουχίας του βιομορίου ανιχνευτή με το βιομόριο αναλύτη παρατηρείται αύξηση μεταξύ των οπλισμών του πυκνωτή, καθώς απωστικές ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ των δίκλωνων αλυσίδων οδηγούν στην παραμόρφωση της μεμβράνης του αισθητήρα. Η διάσπαση των δίκλωνων αλυσίδων που παρατηρείται παρουσία ιόντων μολύβδου, οδηγεί στην επαναφορά της μεμβράνης στην αρχική θέση (πριν την διαδικασία της υβριδοποίησης) και κατά συνέπεια στην μεταβολή της χωρητικότητας. Ο εν λόγω αισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση ιόντων μολύβδου Pb^{+2} συγκέντρωσης 10 μM , ενώ η επιλεκτικότητα του αισθητήρα εξετάστηκε στην ανίχνευση ιόντων μολύβδου, παρουσία ιόντων μαγνησίου.

Το δεύτερο παράδειγμα βιοαισθητήρα που παρουσιάζεται σε αυτό το κεφάλαιο, αφορά την χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser (LIFT) για την ταυτόχρονη εκτύπωση και ακινητοποίηση του ενζύμου λακκάση για την ανάπτυξη αισθητήρα ανίχνευσης ποιότητας τροφίμων. Η μεταφορά ηλεκτρονίων που παρατηρούνται κατά τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής μεταξύ φαινολικών ενώσεων και του ενζύμου, οδηγούν στην αμπερομετρική ανίχνευση των φαινολικών ενώσεων. Η χρήση της τεχνικής LIFT για την ακινητοποίηση του ενζύμου οφείλεται στην υψηλή πίεση πρόσκρουσης των εκτυπωμένων σταγόνων, στην επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη. Τέλος, έγινε μελέτη για τους μηχανισμούς που επικρατούν κατά την εκτύπωση σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT αλλά και των μηχανισμών διαβροχής των επιφανειών που οδηγούν στην απευθείας ακινητοποίηση βιομορίων σε τραχιές επιφάνειες.

Στο κεφάλαιο 3 παρουσιάζεται η χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT για την εκτύπωση νανოსύνθετων πολυμερών (Nafion με νανοσωλήνες άνθρακα), με σκοπό την ανάπτυξη αγωγιμομετρικού αισθητήρα αιθανόλης και υγρασίας. Σύμφωνα με τα

αποτελέσματα του εν λόγω κεφαλαίου, τα νανοσύνθετα Nafion/CNTs 5 wt.% που εναποτέθηκαν με την τεχνική LIFT, παρουσιάζουν πολύ καλές ιδιότητες ανίχνευσης υγρασίας, γρήγορη απόκριση του αισθητήρα και επαναληψιμότητα στην ανίχνευση υδρατμών σε περιβάλλον υγρασίας $\geq 20\%$ RH. Επιπρόσθετα ο αισθητήρας που αναπτύχθηκε χρησιμοποιήθηκε στην ανίχνευση αιθανόλης, παρουσιάζοντας γρήγορη απόκριση και επαναληψιμότητα, σε περιβάλλον συγκέντρωσης ≥ 5000 ppm.

Στο κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται η χρήση της τεχνικής LIFT για τον χαρακτηρισμό υπερυδροφобων επιφανειών. Η χρήση της τεχνικής LIFT, ως τεχνική χαρακτηρισμού αποτελούσε εξέλιξη των πειραμάτων απευθείας ακινητοποίησης βιομορίων, καθώς η ακινητοποίηση των βιομορίων συνδέεται άμεσα με την μεταβολή των ιδιοτήτων διαβροχής των επιφανειών. Κατά την εκτύπωση σταγόνων μέσω της τεχνικής LIFT, παρατηρούνται υψηλές ταχύτητες κατά την πρόσκρουση των σταγόνων στη επιφάνεια του υποστρώματος αποδέκτη. Μετρώντας πειραματικά τις ταχύτητες αυτές μέσω της διάταξης που αναπτύχθηκε για την απεικόνιση της διαδικασίας εκτύπωσης, δόθηκε η δυνατότητα υπολογισμού των πιέσεων πρόσκρουσης των σταγόνων, οι οποίες φτάνουν τα 35 MPa. Η μοναδική αυτή ιδιότητα των σταγόνων που εκτυπώνονται μέσω της τεχνικής LIFT, οδηγεί στην καινοτόμο χρήση της τεχνικής για το δυναμικό χαρακτηρισμό υπερυδροφобων επιφανειών. Στα πλαίσια του κεφαλαίου αυτού παρουσιάστηκε η χαρακτηρισμός της κρίσιμης τιμής πίεσεως πρόσκρουσης που οδηγεί στην μερική διαβροχή υπερυδροφобων επιφανειών τυχαίας και περιοδικής δομής. Επίσης παρουσιάστηκε και όλο το εύρος των πιέσεων πρόσκρουσης των σταγόνων που οδηγούν σε περεταίρω εισχώρηση των σταγόνων σε μια υπερυδροφобη επιφάνεια, μέχρι την κατάσταση πλήρους διαβροχής της επιφάνειας. Τέλος, έγινε χαρακτηρισμός των ιδιοτήτων διαβροχής επιφανειών, για υγρά με διαφορετικές επιφανειακές τάσεις. Η μεταβολή της επιφανειακής τάσης στα υγρά που εξετάστηκαν, έγινε με σκοπό την προσομοίωση των υγρών από υδατικά διαλύματα σε διαλύματα ελαίων.

Προτάσεις

Στα πλαίσια της διδακτορικής διατριβής παρατηρήθηκαν ποικίλα καινοτόμα αποτελέσματα στην χρήση της τεχνικής εκτύπωσης με laser, LIFT. Στα πλαίσια της χρήσης της τεχνικής για την απευθείας ακινητοποίηση βιομορίων, είναι απαραίτητη η απεικόνιση της πρόσκρουσης των σταγόνων σε επιφάνειες με ποικίλες ιδιότητες διαβροχής. Η χρήση των διατάξεων που αναπτύχθηκαν για την απεικόνιση του φαινομένου εκτύπωσης στα πλαίσια της παρούσας

διατριβής, είναι δυνατό να τροποποιηθούν και να αποσαφηνίσουν τους μηχανισμούς διαβροχής των επιφανειών.

Η ιδιότητα εκτύπωσης μεγάλου εύρους υλικών, μέσω της τεχνικής LIFT, στερεάς και υγρής φάσης, μπορεί να συνδυαστεί με τις μεγάλες ταχύτητες πρόσκρουσης των υλικών σε επιφάνειες αποδέκτες, έτσι ώστε να επιτευχθεί ο χαρακτηρισμός των επιφανειών στην δυναμική πρόσκρουση στερεών όπως κόκκους άμμου και πάγου και υγρών με μεγαλύτερο ιξώδες και επιφανειακής τάσης από αυτήν του νερού.

Δημοσιεύσεις σε συνέδρια

- M. Chatzipetrou, K. Ellinas, A. Tserepi, E. Gogolides and, I. Zergioti, " Laser Induced Forward Transfer technique as a characterization tool for the surface wetting properties", Poster presentation, E-MRS spring meeting, May 11-15, 2015, Lille, France.
- M. Chatzipetrou, M. Massaouti, L. Scheres, A. Trilling, H. Zuilhof, I. Zergioti, "Laser printing and activation, a two-step procedure for the immobilization of aptamers on alkene/yne-functionalized sensor surfaces", Poster presentation, E-MRS spring meeting, May 11-15, 2015, Lille, France.
- M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, S. Chatzandoulis, I. Zergioti, "Laser Induced Forward Transfer for the fabrication of a heavy metal ions biosensor", Poster presentation, Europt(r)ode XII, April 13-16, 2014, Athens, Greece.
- M. Chatzipetrou, C. Boutopoulos, A. Papathanassiou, E. Touloupakis, I. Zergioti, "Laser-induced forward transfer as an immobilization tool for biosensor applications", Oral presentation, SPIE Photonics West, February 1-6, 2014, San Francisco, USA.
- M. Chatzipetrou, E. Touloupakis, A. Gkouzou, I. Zergioti, "Laser Induced Forward Transfer as an advanced tool for direct immobilization of enzymes", Invited talk, 6th International Symposium on Flexible Organic Electronics, July 8-11, 2013, Thessaloniki, Greece.
- M. Chatzipetrou, E. Touloupakis, A. Gkouzou, I. Zergioti, "An enzyme biosensor for food quality monitoring fabricated by Laser Induced Forward Transfer", Poster presentation, International Conference on Laser Ablation (COLA), October 6-11, 2013, Ischia, Italy.
- M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, A. Gkouzou, S. Chatzandoulis, V. Tsouti, I. Zergioti, "LIFT as an advanced tool for the fabrication of an aptasensor for environmental monitoring", Poster presentation, E-MRS spring meeting, May 27-31, 2013, Strasbourg, France.
- M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, M.K. Filippidou, V. Tsouti, S. Chatzandroulis and I. Zergioti, "A Capacitive Biosensor by Means of Laser Printing", Oral presentation, Laser Precision Microfabrication, June 11-15, 2012, Washington, USA.
- C. Boutopoulos, E. Touloupakis, M. Chatzipetrou, I. Pezzotti, M.T. Giardi, I. Zergioti, "Direct laser immobilization of photosynthetic material for environmental biosensors fabrication", Oral Presentation, International Conference on Laser Ablation (COLA), November 13-19, 2011, Cancun, Mexico.
- M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, M. K. Filippidou, V. Tsouti, A. Malainou, D. Thanos, A. Tserepi, S. Chatzandoulis, I. Zergioti, "Laser Induced Forward Transfer of thiol modified oligonucleotides on GOPTS/LTO capacitive sensors and onto non-functionalized rough LTO surfaces", Poster presentation, International Conference on Laser Ablation (COLA) , November 13-19, 2011, Cancun, Mexico.
- G. Tsekenis, M. Chatzipetrou, S. Chatzandoulis, G. Thireos, I. Zergioti, "Gold and silanes as functionalisation layers for the construction of DNA biosensors: Which one

works best?", Poster Presentation, 2nd International Conference on Bio-Sensing Technology, October 10-12, 2011, Amsterdam, The Netherlands.

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτές περιοδικά

1. "Resistive label-free DNA biosensor based on resistance change of platinum nanoparticles", E. Skotadis, K. Voutyras, **M. Chatzipetrou**, G. Tsekenis, L. Madianos, S. Chatzandroulis, I. Zergioti, D. Tsoukalas, to be submitted manuscript in **Nanoscale** **2015**.
2. "Laser Forward Transfer as a characterization tool for the surface wetting properties", **M. Chatzipetrou**, K. Ellinas, A. Tserepi, E. Gogolides and, I. Zergioti, to be submitted manuscript in **Applied Physics Letters**, **2015**.
3. "Direct creation of biopatterns via combination of laser-based techniques and thiol-ene/yne chemistry", **M. Chatzipetrou**, M. Massaouti, S. Luc, A. Trilling, M. Smulders, S. Lange, Z. Han and I. Zergioti, to be submitted manuscript at **Langmuir**, **2015**.
4. "Superamphiphobic Polymeric Surfaces Sustaining Ultra-High Impact Pressures of Aqueous High and Low-Surface Tension Mixtures, Tested with Laser-Induced Forward Transfer of Drops", K. Ellinas, **M. Chatzipetrou**, I. Zergioti, A. Tserepi and E. Gogolides, **Advanced materials**, 27(13), 2231-5, **2015**.
5. "Heavy metal ion detection using a capacitive micromechanical biosensor array for environmental monitoring", G. Tsekenis, M.K. Filippidou, **M. Chatzipetrou**, V. Tsouti, I. Zergioti, S. Chatzandroulis, **Sensors and Actuators B: Chemical**, 208, 628–635, **2015**.
6. "Time resolved imaging and immobilization study of bioliquids on hydrophobic and superhydrophobic surfaces by means of Laser-Induced Forward Transfer", C. Boutopoulos, **M. Chatzipetrou**, A. G. Papathanasiou, I. Zergioti, **Laser Physics Letters** 11, 105603, **2014**.
7. "A polyphenol biosensor realized by laser printing technology", E. Touloupakis, **M. Chatzipetrou**, C. Boutopoulos, A. Gkouzou, I. Zergioti, **Sensors and Actuators B: Chemical** 193, 301–305, 2014, abstract re-published in CHEMIK science-technique-market.
8. "Biosensors by means of the laser induced forward transfer technique", **M. Chatzipetrou**, G. Tsekenis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, I. Zergioti, **Applied Surface Science** 278, 250–254, **2013**.
9. "Surface functionalization studies and direct laser printing of oligonucleotides towards the fabrication of a micromembrane DNA capacitive biosensor". G. Tsekenis, **M. Chatzipetrou**, S. Chatzandroulis, D. Thanos, I. Zergioti. **Sensors and Actuators B: Chemical**, 175, 123-131, **2012**.

