



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και
Φυσικών Επιστημών

“Εύκαμπτες Διατάξεις Αισθητήρων”

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μυρτώ Κ. Φιλιππίδου

Φυσικός ΕΚΠΑ

Επιβλέπουσα

Ιωάννα Ζεργιώτη

Καθηγήτρια ΕΜΠ

Ιούλιος 2019



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και
Φυσικών Επιστημών

“Εύκαμπτες Διατάξεις Αισθητήρων”

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Μυρτώ Κ. Φιλιππίδου

Φυσικός ΕΚΠΑ

Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή

Ιωάννα Ζεργιώτη, Καθ. ΕΜΠ
(Επιβλέπουσα)

Σταύρος Χατζανδρούλης, Ερευνητής
ΕΚΕΦΕ «Δ» (Επιβλέπων Ερευνητής)

Δημήτρης Τσουκαλάς, Καθ. ΕΜΠ

Επταμελής εξεταστική επιτροπή

Ιωάννα Ζεργιώτη, Καθ. ΕΜΠ
(Επιβλέπουσα)

Σταύρος Χατζανδρούλης, Ερευνητής
ΕΚΕΦΕ «Δ» (Επιβλέπων Ερευνητής)

Δημήτρης Τσουκαλάς, Καθ. ΕΜΠ

Ιωάννης Ράπτης, Καθ. ΕΜΠ

Παναγιώτα Πέτρου, Ερευνήτρια, ΕΚΕΦΕ
«Δ»

Μαργαρίτα Χατζηχρηστίδη, Επικ. Καθ.
ΕΚΠΑ

Κωνσταντίνος Κορδάτος, Αν. Καθ. ΕΜΠ

Αθήνα, Ιούλιος 2019

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Ινστιτούτο Νανοτεχνολογίας και Νανοεπιστήμης του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος» υπό την επίβλεψη της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Ιωάννα Ζεργιώτη, Καθηγήτρια της ΣΕΜΦΕ, για την επίβλεψη της παρούσας διδακτορικής διατριβής και τη βοήθεια της. Στον Δρ. Σταύρο Χατζανδρούλη, επιβλέποντα Ερευνητή από το ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» οφείλω να εκφράσω τις πιο θερμές μου ευχαριστίες για το ενδιαφέρον, την ουσιαστική καθοδήγηση, τη συμπαράσταση, και την υπομονή του κατά τη διάρκεια της επίβλεψης της παρούσας εργασίας.

Θα ήθελα επιπροσθέτως να αναφερθώ στη Δρ. Παναγιώτα Πέτρου και στη Δρ. Αγγελική Τσερέπη, Ερευνήτριες του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», στη Δρ. Μαργαρίτα Χατζηχρηστίδη, Επικ. Καθηγήτρια, του Τμήματος Χημείας του ΕΚΠΑ και στον Δρ. Δημήτρη Τσουκαλά Καθηγητή της ΣΕΜΦΕ και να τους ευχαριστήσω για την πολύπλευρη συνεισφορά τους στην ολοκλήρωση της διατριβής μου.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρ. Ευαγγελία Τέγου, τη Δρ. Βασιλική Τσούτη, τη Δρ. Γεωργία Κάπρου και τον Δρ. Χρήστο Μόριτς Λούκα για τη βοήθεια τους σε οτιδήποτε και αν χρειάστηκα κατά τη διάρκεια της διατριβής και για την εξαιρετική συνεργασία που είχαμε όλα αυτά τα χρόνια. Ακόμα θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους εξωτερικούς συνεργάτες και πιο συγκεκριμένα τους φοιτητές της ΣΕΜΦΕ με τους οποίους συνεργάστηκα, τη Δρ. Μαριαννέζα Χατζηπέτρου, τη Δρ. Μαρίνα Μακρύγιαννη και τον Δρ. Σίμο Παπάζογλου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερω τους γονείς μου και την οικογένεια μου για την υλική και ηθική υποστήριξη τους σε όλη τη διάρκεια της μέχρι τώρα σταδιοδρομίας μου.

Στον σύζυγο μου και στον γιο μου

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	11
Summary.....	14
Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή και στόχοι διατριβής.....	16
1.1 Γενική Εισαγωγή και στόχοι διδακτορικής διατριβής.....	16
1.2 Τα κύρια μέρη του εύκαμπτου αισθητήρα	18
1.3 Είδη αισθητήρων	20
1.4 Υλικά για την κατασκευή αισθητήρων	21
1.4.1 Εύκαμπτα υποστρώματα.....	21
1.4.2. Το γραφένιο και τα παράγωγα του ως μετατροπείς.....	22
1.4.2.1 Γραφένιο.....	22
1.4.2.2 Οξείδιο του γραφενίου	25
1.4.2.3 Νανοπετάλια γραφενίου (Graphene nanoplatelets)	30
1.4.3 Χημικά ευαίσθητα στρώματα	31
1.5 Τρανζίστορ γραφενίου.....	32
1.6 Η σημασία του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) και η ανίχνευση του με βιοαισθητήρες.....	39
Βιβλιογραφικές αναφορές.....	42
Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική επισκόπηση στους αισθητήρες σε πλαστικά υποστρώματα.....	47
2.1 Εύκαμπτοι αισθητήρες	47
2.2 Αισθητήρες παραμόρφωσης.....	48
2.2.1 Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου αντίστασης	48
2.2.2 Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας	52
2.3 Χημικοί αισθητήρες.....	54
2.3.1 Χημικοί αισθητήρες σε εύκαμπτα υποστρώματα	56
2.3.2 Χημικοί αισθητήρες γραφενίου σε εύκαμπτα υποστρώματα	58
2.3.3 Χημικοί αισθητήρες με πολυμερικό ευαίσθητο στρώμα	59
2.4 Βιολογικοί αισθητήρες	61
2.4.1 Τρόποι ανίχνευσης και ακινητοποίησης βιομορίων πάνω στον μετατροπέα	63
2.4.2 Βιοαισθητήρες γραφενίου σε εύκαμπτα υποστρώματα	66
2.5 Ολοκληρωμένα μικροεργαστηρία σε ψηφίδα (Lab-On-Chip, LOC)	68
2.5.1 Βιβλιογραφική επισκόπηση στα ολοκληρωμένα μικροεργαστηρία σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος (Lab-On-PCB).....	73

2.5.2 Βιβλιογραφική επισκόπηση στα ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια με υλικά από την οικογένεια του άνθρακα.....	74
Βιβλιογραφικές αναφορές	76
Κεφάλαιο 3: Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοπετάλια γραφενίου ...	88
3.1 Υλικά κατασκευής του αισθητήρα	88
3.2 Μέθοδοι χαρακτηρισμού	88
3.2.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας και του πάχους του αγώγιμου πολυμερούς	89
3.2.2 Ηλεκτρικές μετρήσεις	89
3.2.3 Φασματοσκοπία υπερύθρου (Fourier Transform IR, FT-IR spectroscopy)	89
3.2.3 Μετρήσεις χωρητικότητας.....	89
3.2.4 Σύστημα μέτρησης του αισθητήρα παραμόρφωσης.....	89
3.3 Μελέτη της διασποράς των GNPs σε διάφορους διαλύτες	90
3.4 Προετοιμασία του GNP/PDMS αγώγιμου πολυμερούς.....	94
3.5 Κατασκευή του αισθητήρα παραμόρφωσης από GNP/PDMS αγώγιμο πολυμερές	96
3.6 Χαρακτηρισμός του GNP/PDMS αισθητήρα παραμόρφωσης.....	98
3.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου.....	102
Βιβλιογραφικές αναφορές	103
Κεφάλαιο 4: Χημικοί αισθητήρες τύπου χωρητικότητας με ευαίσθητο στρώμα πολυμερών	105
4.1 Υλικά για την κατασκευή του αισθητήρα	105
4.2 Αναλύτες για τη μελέτη της απόκρισης του αισθητήρα.....	106
4.3 Διεργασία κατασκευής του αισθητήρα.....	106
4.4 Σύστημα μέτρησης των χημικών αισθητήρων	110
4.5 Η διάταξη του χημικού αισθητήρα πολυμερών τύπου χωρητικότητας.....	111
4.6 Ανίχνευση υγρασίας, ατμών αιθανόλης και μεθανόλης.....	113
4.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου.....	120
Βιβλιογραφικές αναφορές	121
Κεφαλαίο 5: Αισθητήρες βασισμένοι στο οξείδιο του γραφενίου	122
5.1 Υλικά για την κατασκευή των χημικών και βιολογικών αισθητήρων	122
5.1.1 Αναλύτης για τη μελέτη της απόκρισης του χημικού αισθητήρα.....	122
5.1.2 Υλικά και διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στους βιολογικούς αισθητήρες.....	123
5.2 Μέθοδοι.....	124
5.2.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας και πάχους του οξειδίου του γραφενίου.....	124
5.2.2 Χαρακτηρισμός της χημικής δομής του οξειδίου του γραφενίου.....	125
5.2.3 Ηλεκτρικές μετρήσεις.....	125

5.2.4 Ηλεκτροφόρηση γέλης.....	126
5.2.5 Μικροσκοπία φθορισμού.....	126
5.2.6 Πρωτόκολλο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης	126
5.3 Χαρακτηρισμός του οξειδίου του γραφενίου	127
5.3.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας του οξειδίου του γραφενίου	127
5.3.2 Χαρακτηρισμός της χημικής δομής και της αγωγιμότητας του οξειδίου του γραφενίου.....	128
5.4 Τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου.....	135
5.5 Χημικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου.....	137
5.5.1 Κατασκευή του χημικού αισθητήρα οξειδίου του γραφενίου	138
5.5.2 Μελέτη της απόκρισης των αισθητήρων prGO σε ατμούς αναλυτών μετά από επεξεργασία του GO σε διαφορετικές θερμοκρασίες.....	139
5.6 Βιολογικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση βιομορίων.....	141
5.6.1 Βελτιστοποίηση της πρόσφυσης του GO σε υποστρώματα SiO ₂	141
5.6.2 Μελέτη της ακινητοποίησης της b-BSA στο οξείδιο του γραφενίου	143
5.6.3 Μελέτη της ακινητοποίησης της στρεπταβιδίνης στο οξείδιο του γραφενίου	147
5.6.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την απόκριση ενός αισθητήρα τύπου τρανζίστορ	148
5.6.5 Ανίχνευση της ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη	151
5.6.6 Ανίχνευση DNA αλληλουχίας που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του RET γονιδίου.....	155
5.6.7 Ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας του <i>BRC1</i> γονιδίου.....	158
5.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου.....	163
Βιβλιογραφικές αναφορές	164
Κεφάλαιο 6: Ανίχνευση βιομορίων σε ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (Lab-On-PCB, LOPCB)	167
6.1 Υλικά κατασκευής του μικροεργαστηρίου σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος	167
6.2 Μέθοδοι	168
6.2.1 Πρωτόκολλο ενίσχυσης ανασυνδυσμένης πολυμεράσης	168
6.3 Σχεδιασμός και κατασκευή του μικροεργαστηρίου σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος... ..	169
6.4 Διαδικασία κατασκευής των prGO βιοαισθητήρων	174
6.5 Σύστημα μέτρησης του μικροεργαστηρίου για την ανίχνευση βιολογικών αλληλεπιδράσεων	174
6.6 Αξιολόγηση της απόκρισης των prGO βιοαισθητήρων	177

6.7 Ισοθερμική ενίσχυση και ανίχνευση αλληλουχίας DNA με τη χρήση μικροεργαστηρίων σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος.....	180
6.8 Συμπεράσματα κεφαλαίου.....	183
Βιβλιογραφικές αναφορές	184
Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα διατριβής –Μελλοντικοί στόχοι.....	185

Περίληψη

Οι εύκαμπτοι αισθητήρες βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς της καθημερινής μας ζωής λόγω των πολλών και σημαντικών πλεονεκτημάτων που προσφέρουν όπως είναι: η δυνατότητα να ακολουθούν την καμπυλότητα της επιφάνειας όπου τοποθετούνται, το χαμηλό κόστος και η ευκολία κατασκευής. Τα κύρια μέρη ενός τέτοιου αισθητήρα είναι: α) το εύκαμπτο υπόστρωμα που κατασκευάζεται η διάταξη, β) ο μετατροπέας ο οποίος μετατρέπει την υπό αντίχτυπο ποσότητα σε μετρήσιμο ηλεκτρικό συνήθως σήμα και γ) το ευαίσθητο στρώμα το οποίο αλληλοεπιδρά με τα μόρια του αναλύτη (π.χ. ένα πολυμερές μπορεί να είναι το χημικό ευαίσθητο στρώμα σε ένα χημικό αισθητήρα ή τα ακινητοποιημένα βιομόρια σε ένα βιολογικό αισθητήρα).

Σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των εύκαμπτων αισθητήρων διαδραματίζουν οι νέες τεχνολογίες κατασκευής καθώς και τα νέα υλικά. Υλικά όπως: το πολυϊμίδιο (polyimide (PI), το ναφθαλικό πολυαιθυλένιο (polyethylenenaphthalate, PEN), το τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (polyethylene terephthalate, PET)), η πολυ(διμεθυλοσιλοξάνη) (Polydimethylsiloxane, PDMS), το χαρτί (paper) και το ύφασμα (textile) αντικαθιστούν τα παραδοσιακά άκαμπτα υποστρώματα όπως το γυαλί και το πυρίτιο. Επιπλέον, υλικά όπως το γραφένιο, οι νανοσωλήνες άνθρακα καθώς και μια πλειάδα από νανοσωματίδια χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων, λόγω των μηχανικών και ηλεκτρικών ιδιοτήτων τους (Κεφάλαιο 1). Η παρούσα διδακτορική διατριβή εντάσσεται σε αυτή τη θεματική περιοχή και εστιάζει σε νέες τεχνολογίες κατασκευής για εύκαμπτες διατάξεις αισθητήρων. Η βιβλιογραφική επισκόπηση των αισθητήρων σε πλαστικά υποστρώματα παρουσιάζεται στο Κεφάλαιο 2.

Η διατριβή επικεντρώθηκε στην ανάπτυξη διατάξεων αισθητήρων με χρήση υλικών από την οικογένεια του γραφενίου και πιο συγκεκριμένα: α) στα νανοπετάλια γραφενίου (Graphene Nanoplatelets, GNPs) και β) στο οξείδιο του γραφενίου. Τα GNPs είναι ένα οικονομικό υλικό το οποίο μπορεί να αναμιχτεί εύκολα σε πολυμερικές μήτρες και στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή αισθητήρων παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας (Κεφάλαιο 3). Από την άλλη μεριά, το οξείδιο του γραφενίου (graphene oxide, GO), αποτελεί ένα εναλλακτικό υλικό του οποίου η δομή όταν αναχθεί προσεγγίζει εκείνη του γραφενίου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την κατασκευή χημικών και βιολογικών αισθητήρων.

Για την επιλεκτική εναπόθεση των ευαίσθητων στρωμάτων ενός χημικού αισθητήρα, τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό, και την κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων αναπτύχθηκε μια τεχνική σχηματοποίησης η οποία βασίζεται στην τεχνική της λιθογραφίας

χρησιμοποιώντας ένα υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης (Polyvinyl alcohol, PVA) ως θυσιαζόμενο στρώμα. Με τη διαδικασία αυτή είναι δυνατόν να εναποτεθούν με ακρίβεια και να σχηματοποιηθούν τα ευαίσθητα στρώματα στην επιθυμητή περιοχή, επιτρέποντας την επιλεκτική και ταυτόχρονα πλήρη και ομοιογενή κάλυψη της επιθυμητής περιοχής χρησιμοποιώντας μια μέθοδο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε μαζική κλίμακα. Οι χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας που κατασκευάστηκαν στο εύκαμπτο υπόστρωμα πολυϊμιδίου, χρησιμοποιήθηκαν στην ανίχνευση πτητικών οργανικών ενώσεων (volatile organic compounds) (Κεφάλαιο 4).

Για την κατασκευή χημικών και βιολογικών αισθητήρων με βάση το οξείδιο του γραφενίου, το GO επεξεργάστηκε θερμικά σε χαμηλές θερμοκρασίες (< 300°C) στην ατμόσφαιρα. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε μερική μόνο αναγωγή του οξειδίου του γραφενίου (partially reduced graphene oxide, prGO), στην αύξηση της αγωγιμότητας του, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει τη διατήρηση αρκετών χαρακτηριστικών ομάδων στην επιφάνεια του. Οι ομάδες αυτές διευκολύνουν την αλληλεπίδραση με τα μόρια του αναλύτη. Το prGO χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή τόσο χημικών αισθητήρων για την ανίχνευση ατμών αναλυτών, όσο και για την κατασκευή βιοαισθητήρων για την ανίχνευση πρωτεϊνών και αλληλουχιών DNA (Κεφάλαιο 5).

Στη συνέχεια οι prGO αισθητήρες ενσωματώθηκαν σε ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε τεχνολογία PCB (Lab on PCB, LOPCB). Η τεχνολογία PCB διευκολύνει την ολοκλήρωση όλων των στοιχείων που απαιτούνται σε ένα μικροεργαστήριο σε ψηφίδα (π.χ. θερμαντικά στοιχεία, ηλεκτρικές διασυνδέσεις), ενώ ταυτόχρονα είναι μια τεχνολογία που επιτρέπει την μαζική παραγωγή διατάξεων (Κεφάλαιο 6). Η διάταξη που κατασκευάστηκε αποτελείται από μια μονάδα για την ενίσχυση του γενετικού υλικού και μια μονάδα ανίχνευσης του ενισχυμένου γενετικού υλικού με prGO βιοαισθητήρες. Η προσέγγιση αυτή μπορεί εύκολα να μεταφερθεί και σε εύκαμπτα υποστρώματα. Στο τέλος της διατριβής (Κεφάλαιο 7) συνοψίζονται τα ερευνητικά αποτελέσματα και τα κύρια συμπεράσματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια της διδακτορικής διατριβής, ενώ αναφέρονται και προτάσεις για μελλοντική έρευνα.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Αισθητήρες

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: Αισθητήρες, χημικοί αισθητήρες πολυμερών, αισθητήρες παραμόρφωσης, βιοαισθητήρες, γραφένιο, οξείδιο του γραφενίου, ανηγμένο οξείδιο του

γραφενίου, ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος (Lab-On-PCB), ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα.

Summary

Flexible sensors can be used in many areas of our everyday life due to the significant advantages they offer, such as the ability to follow the curvature of the surface on which they are mounted, their low cost and their simple fabrication methods. The main parts of a flexible sensor are: a) the flexible substrate, b) the transducer which converts a signal from one physical form to a corresponding electrical signal, and c) the sensitive layer which interacts with the analyte molecules (i.e. a polymer is the chemically sensitive layer in a chemical sensor or the immobilized biomolecules in a biological sensor).

Novel manufacturing technologies, as well as the new materials enable the development of a new generation of flexible sensors. For example, materials such as polyimide (PI), polyethylene naphthaleate (PEN), polyethylene terephthalate, (PET), polydimethylsiloxane (PDMS), paper and textiles replace the traditional rigid substrates such as glass and silicon, while materials such as graphene, carbon nanotubes and nanoparticles are widely used to make flexible sensors due to their mechanical and electrical properties (Chapter 1). This doctoral dissertation is part of this subject area and focuses on new manufacturing technologies for flexible sensors which enable integration and mass production capabilities (microelectronics technology and printed electronics technology) with the bibliographic overview of sensors on plastic substrates presented in Chapter 2.

In the context of this dissertation, the work is focused on the development of devices using graphene family materials and specifically focused on: a) graphene nanoplatelets, GNPs and b) graphene oxide. GNPs is an economical material that can be easily incorporated into polymeric matrices, and here it is used to construct capacitance strain sensors (Chapter 3). On the other hand, graphene oxide (GO) is a material which can be reduced to resemble the structure of pristine graphene and this makes it ideal candidate for the fabrication of chemical and biological sensors.

For the selective deposition of the sensitive layers (polymers) of a chemical sensor on a flexible polyimide substrate, a novel two step lift-off technique method was developed. The method used an aqueous solution of polyvinyl alcohol (PVA) for the precise patterning of the polymers on interdigitated electrodes (IDEs). The method is easily scalable and it can be used for mass production of sensing devices. The detection performance of the capacitive sensors is evaluated against volatile organic compounds (Chapter 4).

For the fabrication of graphene oxide based sensors, the GO is thermally reduced at low temperatures (<300°C) in the atmosphere. This process leads to a partial reduction of graphene oxide (partially reduced graphene oxide, prGO), which increased its conductivity

and simultaneously enabled the retention of its functional groups. These functional groups are important because they facilitate the interaction with other molecules. prGO was used to fabricate: a) chemical sensors for detecting vapor analytes and b) biosensors for protein and DNA detection (Chapter 5).

Finally, the prGO sensors were integrated into a micro-laboratory on PCB (Lab on PCB, LOPCB). PCB technology facilitates the integration of all the essential elements in a micro-laboratory on a chip (i.e. heating elements, electrical interconnections), while at the same time it is a technology that enables mass production (Chapter 6). The Lab on PCB incorporates a unit for the amplification of the genetic material and a unit for the detection of the amplified genetic material using prGO biosensors. It should be noted, that this technology can be easily transferred to flexible substrates. At the end of the dissertation (Chapter 7) the main results and conclusions are presented together with the prospects for future research.

AREA OF INTEREST: Sensors

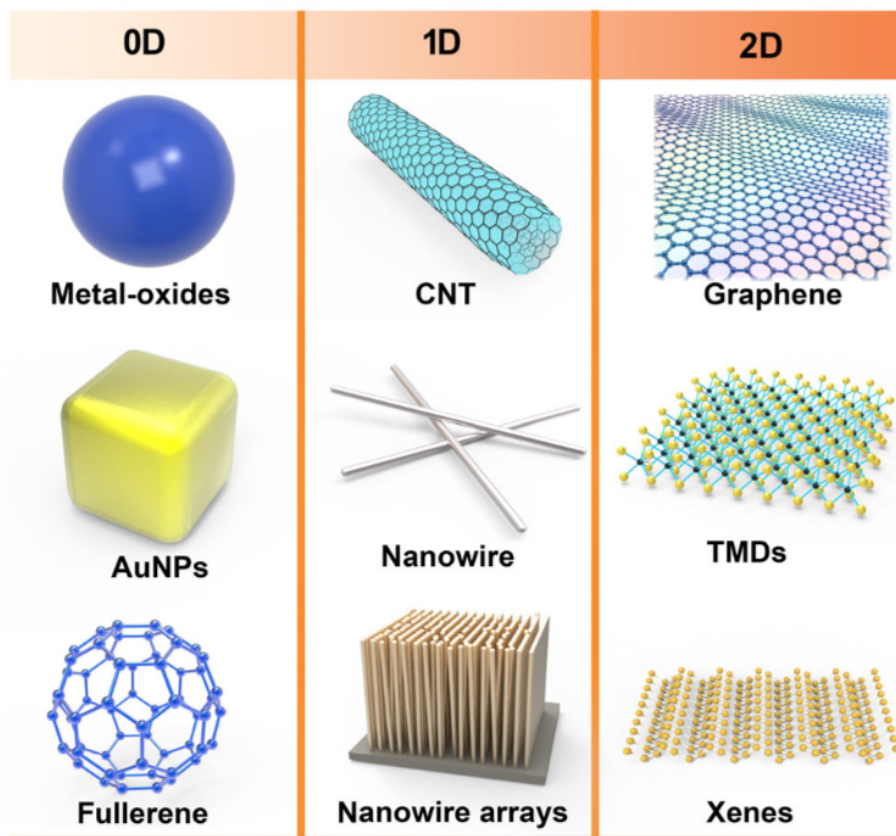
KEYWORDS: Sensors, polymer based chemical sensors, strain sensors, biosensors, graphene, graphene oxide, reduced graphene oxide, Lab-On-PCB devices, Lab-On-Chip devices.

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή και στόχοι διατριβής

Στο Κεφάλαιο αυτό γίνεται μια εισαγωγική παρουσίαση του πεδίου στο οποίο εντάσσεται η παρούσα διδακτορική διατριβή. Αρχικά γίνεται μια εισαγωγή στους εύκαμπτους αισθητήρες και στις εφαρμογές τους και κατόπιν περιγράφονται τα βασικά χαρακτηριστικά τους και τα υλικά που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή τους.

1.1 Γενική Εισαγωγή και στόχοι διδακτορικής διατριβής

Ο αισθητήρας είναι μια συσκευή, η οποία παρακολουθεί και ποσοτικοποιεί μια φυσική παράμετρο που ανιχνεύει στο μικροπεριβάλλον της. Ένας καλός αισθητήρας είναι επιλεκτικά ευαίσθητος στη μετρούμενη ιδιότητα ή ουσία, δηλαδή δεν είναι ευαίσθητος σε καμία άλλη ιδιότητα/ουσία και δεν επηρεάζει το μετρούμενο σήμα. Οι εύκαμπτοι αισθητήρες είναι μια υποκατηγορία αισθητήρων και τα τελευταία χρόνια έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας λόγω των πλεονεκτημάτων που προσφέρουν. Πιο συγκεκριμένα οι εύκαμπτοι αισθητήρες: α) έχουν την ικανότητα να ακολουθούν την καμπυλότητα της επιφάνειας στην οποία τοποθετούνται, β) παρέχουν τη δυνατότητα μαζικής παραγωγής, γ) κατασκευάζονται από υλικά χαμηλού κόστους και δ) έχουν απλούς τρόπους κατασκευής [1-4]. Αυτού του είδους οι αισθητήρες σχετίζονται με πολλές εφαρμογές, όπως για παράδειγμα ο έλεγχος μιας βιομηχανικής διαδικασίας, η ασφάλεια εργασιακών χώρων, η ασφάλεια τροφίμων, η παρακολούθηση του περιβάλλοντος και η ιατρική όπου χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση και την παρακολούθηση κάποιου βιοδείκτη. Στο ερώτημα τι ωθεί αυτή την εκτεταμένη έρευνα και την ανάπτυξη νέων αισθητήρων σήμερα, η απάντηση είναι η ανάπτυξη της μικρο- και νανοτεχνολογίας, τα νέα υλικά και τα μικρότερα, εξυπνότερα και πιο αποτελεσματικά ηλεκτρονικά συστήματα. Για παράδειγμα, τα νέα νανοϋλικά (Εικόνα 1.1) προσδίδουν βελτιωμένες ιδιότητες ανίχνευσης, μεγαλύτερη ευαισθησία και μεγαλύτερη επιλεκτικότητα. Η ανάπτυξη τέτοιων νανοϋλικών με βελτιωμένες ηλεκτρικές και μηχανικές ιδιότητες διευκολύνει την κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων.



Εικόνα 1.1. Αντιπροσωπευτικές μορφές νανοϋλικών που χρησιμοποιούνται στην κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων [5].

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εντάσσεται στην περιοχή της ανάπτυξης καινοτόμων διατάξεων ανίχνευσης με τη χρήση τεχνολογιών που επιτρέπουν την μεγαλύτερη ολοκλήρωση και τη δυνατότητα μαζικής παραγωγής τους (τεχνολογία μικροηλεκτρονικής και τεχνολογία τυπωμένων ηλεκτρονικών διατάξεων). Στην κατεύθυνση αυτή, στοχεύουμε στην ανάπτυξη νέων διατάξεων ανίχνευσης, συνδυάζοντας τα πλαστικά υποστρώματα (πολύ(διμεθυλοσιλοξάνη) (PDMS), πολυϊμίδιο και υπόστρωμα τυπωμένου κυκλώματος (PCB)) με νανοϋλικά, όπως αυτά από την οικογένεια του γραφενίου.

Πιο συγκεκριμένα, στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιούνται: α) νανοπετάλια γραφενίου (Graphene Nanoplatelets, GNPs) και β) οξείδιο του γραφενίου. Τα GNPs είναι ένα οικονομικό υλικό το οποίο μπορεί να αναμιχτεί εύκολα σε πολυμερικές μήτρες και στην παρούσα διατριβή χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή αισθητήρων παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας. Το οξείδιο του γραφενίου (graphene oxide, GO), αποτελεί ένα εναλλακτικό υλικό του οποίου η δομή όταν αναχθεί προσεγγίζει εκείνη του γραφενίου. Η αναγωγή του πραγματοποιήθηκε σε χαμηλές θερμοκρασίας (<300 °C) στην ατμόσφαιρα που οδηγεί σε μερική μόνο αναγωγή του οξειδίου του γραφενίου (partially reduced graphene oxide, prGO)

και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της αγωγιμότητας του, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπει στο υλικό να διατηρήσει αρκετές από τις χαρακτηριστικές ομάδες στην επιφάνεια του διευκολύνοντας έτσι την αλληλεπίδραση με τα μόρια του αναλύτη. Το prGO που προέκυψε, χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή τόσο χημικών αισθητήρων για την ανίχνευση ατμών αναλυτών όσο και για την κατασκευή βιοαισθητήρων για την ανίχνευση πρωτεϊνών και DNA.

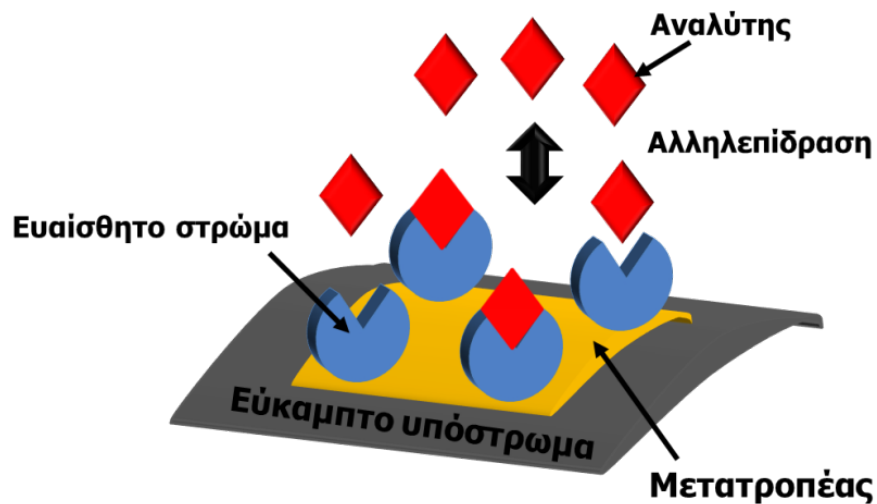
Επιπλέον, οι prGO αισθητήρες, ενσωματώθηκαν σε ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε υπόστρωμα τυπωμένου κυκλώματος (Printed Circuit Board, PCB) που παρέχει τη δυνατότητα ολοκλήρωσης όλων των στοιχείων που απαιτούνται σε ένα μικροεργαστήριο σε ψηφίδα (π.χ. θερμαντικά στοιχεία, ηλεκτρικές διασυνδέσεις), ενώ ταυτόχρονα είναι μια τεχνολογία που επιτρέπει την μαζική παραγωγή διατάξεων και μπορεί να μεταφερθεί και σε εύκαμπτα υποστρώματα. Η διάταξη που κατασκευάστηκε επιτρέπει τη σειριακή ενίσχυση και ανίχνευση του γενετικού υλικού με τη χρήση μόνο μιας διάταξης, αφού αποτελείται από μια μονάδα για την ενίσχυση του γενετικού υλικού και μια μονάδα ανίχνευσης του ενισχυμένου γενετικού υλικού με prGO βιοαισθητήρες.

Τέλος, για την επιλεκτική εναπόθεση των ευαίσθητων στρωμάτων ενός χημικού αισθητήρα, τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό, και την κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων αναπτύχθηκε μια τεχνική σχηματοποίησης η οποία βασίζεται στην τεχνική της αφαίρεσης υμενίων (lift-off) χρησιμοποιώντας ένα υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης (Polyvinyl alcohol, PVA) ως θυσιαζόμενο στρώμα. Με τη διαδικασία αυτή είναι δυνατόν να εναποτεθούν με ακρίβεια και να σχηματοποιηθούν τα ευαίσθητα στρώματα στην επιθυμητή περιοχή χρησιμοποιώντας μια μέθοδο που μπορεί να γίνει μαζικής κλίμακας. Στα πλαίσια αυτά κατασκευάστηκαν χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας για την ανίχνευση πτητικών οργανικών ενώσεων (volatile organic compounds) πάνω σε εύκαμπτο υπόστρωμα πολυϊμιδίου.

1.2 Τα κύρια μέρη του εύκαμπτου αισθητήρα

Ο εύκαμπτος αισθητήρας αποτελείται από τρία κύρια μέρη. Το πρώτο μέρος του εύκαμπτου αισθητήρα είναι το εύκαμπτο υπόστρωμα στο οποίο κατασκευάζεται η διάταξη. Το δεύτερο μέρος του είναι ο μετατροπέας που μετατρέπει την υπό ανίχνευση ποσότητα σε μετρήσιμο ηλεκτρικό συνήθως σήμα και αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα μέρη του εύκαμπτου αισθητήρα. Ουσιαστικά ο ρόλος του μετατροπέα είναι η μετάφραση της παρουσίας της επιλεγμένης αναλυόμενης ουσίας σε ένα ανιχνεύσιμο ηλεκτρικό σήμα το οποίο θα μπορεί με

τη σειρά του να συλλεχθεί και να ερμηνευθεί. Τέλος, το τρίτο μέρος του είναι το ευαίσθητο στρώμα που ανιχνεύει τον αναλύτη και καθορίζει την επιλεκτικότητα του αισθητήρα. Το ευαίσθητο στρώμα στους χημικούς αισθητήρες είναι ένα χημικό ευαίσθητο στρώμα, π.χ. πολυμερή, μέταλλα ή οξειδία μετάλλων, ενώ στους βιολογικούς αισθητήρες το ευαίσθητο στρώμα είναι ακινητοποιημένα βιομόρια, στα οποία προσδένονται ή αλληλεπιδρούν τα προς ανίχνευση μόρια (μόρια στόχοι ή αναλύτες). Στην παρακάτω Εικόνα παρουσιάζονται τα κύρια μέρη ενός τυπικού εύκαμπτου αισθητήρα



Εικόνα 1.2. Σχηματική αναπαράσταση των βασικών τμημάτων ενός εύκαμπτου αισθητήρα και της ανίχνευσης των μορίων του αναλύτη κατά την αλληλεπίδραση τους με το ευαίσθητο στρώμα.

1.3 Είδη αισθητήρων

Οι αισθητήρες κατηγοριοποιούνται ανάλογα με το μέγεθος που μετρούν στις παρακάτω κατηγορίες: Α) Ακουστικούς, Β) Βιολογικούς, Γ) Χημικούς, Δ) Ηλεκτρικούς, Δ) Μαγνητικούς, Ε) Μηχανικούς, ΣΤ) Οπτικούς, Ζ) Ακτινοβολίας, Η) Θερμικούς και τις υποκατηγορίες τους, όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα [6].

Είδος αισθητήρα	Μετρούμενο Μέγεθος
Ακουστικός	Πλάτος κύματος Φάση Ταχύτητα κύματος
Βιολογικός	Βιομάζα (π.χ. συγκέντρωση)
Χημικός	Συστατικά (π.χ. συγκέντρωση)
Ηλεκτρικός	Φορτίο Ρεύμα Αγωγιμότητα
Μηχανικός/Φυσικός	Παραμόρφωση Πίεση
Θερμικός	Θερμοκρασία Θερμική αγωγιμότητα
Οπτικός	Πλάτος κύματος φάση

Πιο συγκεκριμένα, οι μικρομηχανικοί αισθητήρες, όπως είναι οι αισθητήρες παραμόρφωσης ή στρέψης, περιλαμβάνουν κάποια μηχανική δομή που παραμορφώνεται και η παραμόρφωση αυτή εξαρτάται από την μορφή του αισθητήρα, τις μηχανικές ιδιότητες των υλικών κατασκευής και τις συνθήκες της μέτρησης. Παραδείγματα τέτοιων δομών είναι οι δοκοί, τα διαφράγματα, οι μεμβράνες κ.α. Το φυσικό μέγεθος που προκαλεί την παραμόρφωση μπορεί να είναι μια μηχανική τάση, ένας στατικός ηλεκτρισμός, η θερμοκρασία, η πίεση ή και πλήθος άλλων αιτιών.

Ο χημικός αισθητήρας είναι μια συσκευή, η οποία είναι ικανή να μετατρέψει μία χημική αλληλεπίδραση σε ηλεκτρικό σήμα. Ένας χημικός αισθητήρας μπορεί να μετρήσει από τη

συγκέντρωση ενός συγκεκριμένου συστατικού μέχρι και να κάνει μια πλήρη ανάλυση συστατικών. Ένας τυπικός χημικός αισθητήρας αποτελείται από ένα χημικά ευαίσθητο στρώμα, που αλληλεπιδρά με τα μόρια αναλύτη και συνδέεται κατάλληλα με έναν μετατροπέα (transducer). Η μετρούμενη ουσία μπορεί να είναι σε αέρια ή ακόμα και υγρή μορφή και συχνά είναι αναμειγμένη με μεγάλη ποικιλία άλλων ουσιών. Παραδείγματα εφαρμογών τέτοιων αισθητήρων είναι η ανίχνευση δηλητηριωδών αερίων, η ανάλυση αερίων καυσίμων, ο καθορισμός των ιόντων στο πόσιμο νερό, κ.α.

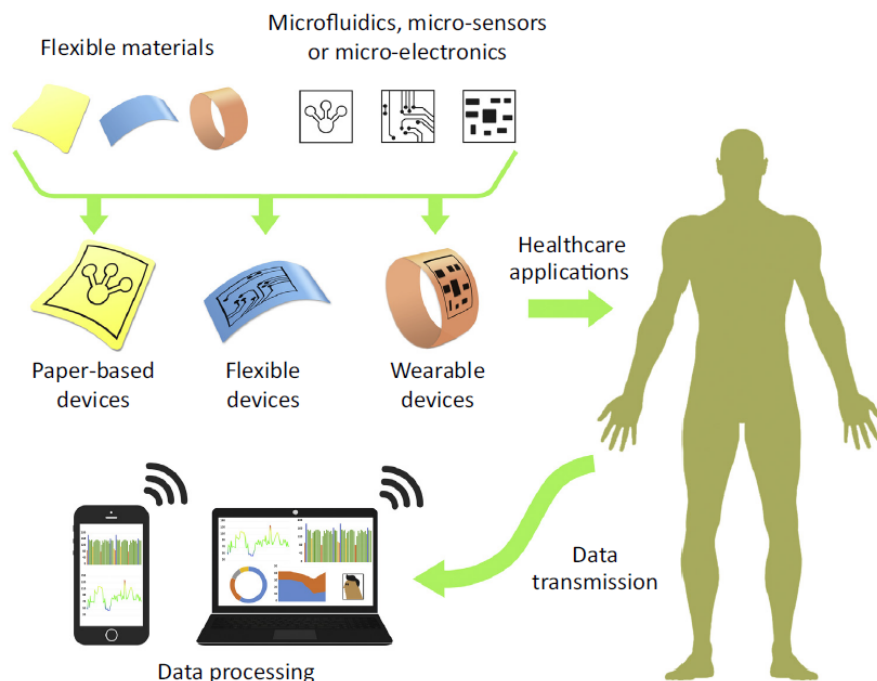
Οι βιοαισθητήρες μπορούν να θεωρηθούν ως μια υποκατηγορία των χημικών αισθητήρων, αφού η αρχιτεκτονική τους είναι παρόμοια και η κύρια διαφοροποίηση είναι ότι αντί για μια χημική αλληλεπίδραση, ανιχνεύεται μια βιολογική αλληλεπίδραση αφού το ευαίσθητο στρώμα που ανιχνεύει τα μόρια του στόχου αποτελείται πλέον από βιομόρια, όπως αντισώματα, κλώνους νουκλεϊκού οξέος (DNA ή RNA), κλπ. Πρόσφατα, η ενσωμάτωση τέτοιων αισθητήρων σε άλλα συστήματα, όπως οι μικρορευστονικές διατάξεις, με σκοπό την κατασκευή ενός ολοκληρωμένου εργαστηρίου σε ψηφίδα έχει κινήσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών αλλά και εταιρειών που δραστηριοποιούνται σε τομείς όπως της υγείας ή της ασφάλειας των τροφίμων και του περιβάλλοντος.

1.4 Υλικά για την κατασκευή αισθητήρων

1.4.1 Εύκαμπτα υποστρώματα

Η ανάπτυξη πιο ευαίσθητων και αξιόπιστων αισθητήρων απαιτεί νέα υλικά και νέες τεχνολογίες. Τα εύκαμπτα υλικά (Εικόνα 1.3) όπως αναφέρθηκε και παραπάνω αποτελούν μια εναλλακτική λύση για την κατασκευή αισθητήρων αντικαθιστώντας τα παραδοσιακά άκαμπτα υποστρώματα (π.χ. το γυαλί και το πυρίτιο). Τα πολυμερικά υλικά όπως: το πολυϊμίδιο (polyimide (PI)), το ναφθαλικό πολυαιθυλένιο (polyethylenenaphthalate, PEN), το τereφθαλικό πολυαιθυλένιο (polyethylene terephthalate, PET)), η πολυ(διμεθυλοσιλοξάνη) (polydimethylsiloxane, PDMS), το χαρτί (paper) και το ύφασμα (textile) [7] είναι κάποια από τα υποστρώματα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων [1, 2, 8-10]. Για παράδειγμα, η πολυ(διμεθυλοσιλοξάνη), ένα σιλικονούχο ελαστομερές, χρησιμοποιείται σε πολλές εφαρμογές, λόγω της ελαστικότητας, της βιοσυμβατότητας, του χαμηλού κόστους, της θερμικής σταθερότητας, της οπτικής διαφάνειας, της μικρής τοξικότητας, της μικρής ηλεκτρικής αγωγιμότητας και τέλος, της ευκολίας στην επεξεργασία και τη μικρο-σχηματοποίηση της [11].

Όπως θα δούμε και στο κεφάλαιο 2, τα υλικά αυτά χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή διαφόρων ειδών αισθητήρων όπως: αισθητήρες παραμόρφωσης [12, 13], χημικοί αισθητήρες [1] και βιοαισθητήρες [14-16].



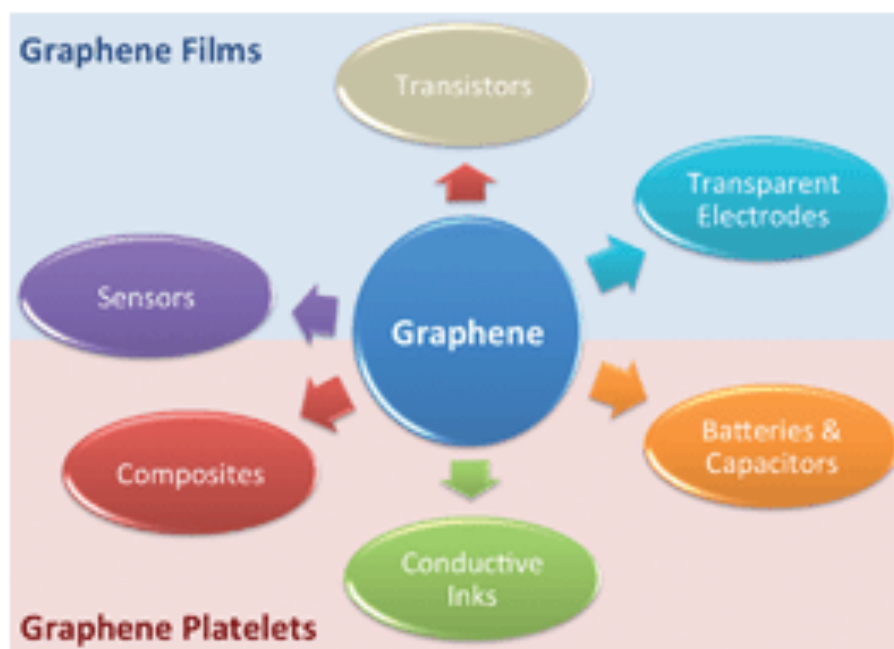
Εικόνα 1.3. Επισκόπηση των εύκαμπτων υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή διατάξεων που επιτρέπουν την από απόσταση διάγνωση από τον ίδιο τον ασθενή (Point of care, POC) [17].

1.4.2. Το γραφένιο και τα παράγωγα του ως μετατροπείς

1.4.2.1 Γραφένιο

Οι εξελίξεις στον τομέα της νανοτεχνολογίας και η εύρεση νέων υλικών όπως το γραφένιο (Graphene) έχουν οδηγήσει πολλές ερευνητικές ομάδες στη διερεύνηση των δυνατοτήτων εφαρμογής των υλικών αυτών για την κατασκευή αισθητήρων. Από τότε που ανακαλύφθηκαν για πρώτη φορά τα φύλλα γραφενίου το 2004 [18, 19], αυτό και τα παράγωγα του (π.χ. οξείδιο του γραφενίου) έχουν διεγείρει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για τη χρήση τους σε διάφορες εφαρμογές. Λόγω της ιδιαίτερης δομής του και των εξαιρετικών ηλεκτρικών, οπτικών, χημικών και μηχανικών ιδιοτήτων του το γραφένιο αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο υλικό [20, 21], που μπορεί να διαδεχτεί το πυρίτιο στην κατασκευή ηλεκτρονικών διατάξεων. Πιο συγκεκριμένα, έχει αξιοσημείωτα υψηλή ευκινησία φορέων (electron mobility 100 φορές μεγαλύτερη από εκείνη του πυριτίου) και έτσι είναι ιδανικό υλικό για ηλεκτρονικές συσκευές, συσκευές αποθήκευσης ενέργειας καθώς

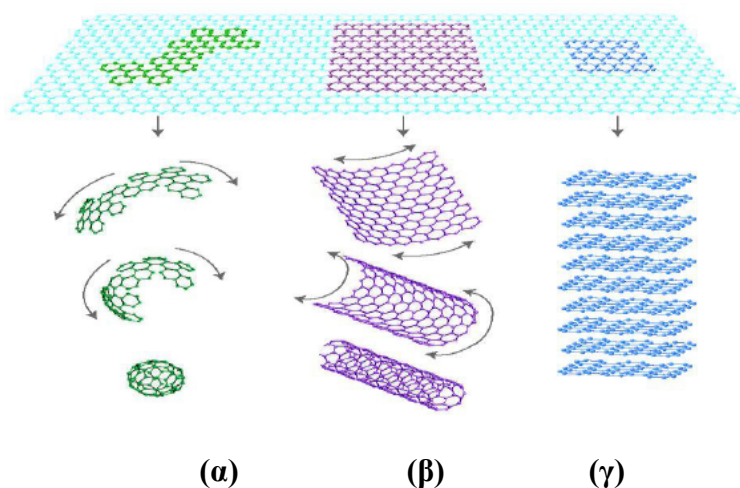
και για χημικούς / βιολογικούς αισθητήρες ταχείας ανίχνευσης [22]. Εκτός από τις πολύ καλές ηλεκτρονικές ιδιότητες του το γραφένιο προσφέρει βιοσυμβατότητα, μεγάλη ενεργή επιφάνεια (surface area) ($2630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) [23, 24], με αποτέλεσμα να διευκολύνει π.χ. την πρόσδεση και την ανίχνευση βιομορίων, ενώ μπορεί να τροποποιηθεί εύκολα με χημικό τρόπο σε αντίθεση με τα CNTs, καθιστώντας το έτσι ιδανικό υλικό για συστήματα ανίχνευσης. Επιπλέον, το γεγονός ότι όλα τα άτομα άνθρακα (λόγω του ατομικού του πάχους) αλληλεπιδρούν άμεσα με την αναλυόμενη ουσία του προσδίδει υψηλή ευαισθησία, καλύτερη και από αυτή των μονοδιάστατων νανοσυρμάτων πυριτίου (Si nanowires, SiNWs) και των νανοσωλήνων άνθρακα, και κάθε γεγονός στην επιφάνεια του μπορεί να επιφέρει σημαντική μεταβολή στο ρεύμα που διαρρέει τον αισθητήρα [25]. Στην Εικόνα 1.4 παρουσιάζονται μερικές από τις εφαρμογές στις οποίες χρησιμοποιείται το γραφένιο, όπως είναι η χρήση του σε αισθητήρες, τρανζίστορ, αγώγιμα μελάνια, διαφανή ηλεκτρόδια κτλ. [26]. Με τη χρήση του σε ηλεκτροχημικούς, ηλεκτρονικούς και οπτικούς αισθητήρες επιτυγχάνεται η ανίχνευση βιομορίων και χημικών μορίων.



Εικόνα 1.4. Τα διάφορα πεδία εφαρμογής του γραφενίου (π.χ. αισθητήρες, τρανζίστορ, αγώγιμα μελάνια και διαφανή ηλεκτρόδια) [26].

Το γραφένιο το οποίο έχει δισδιάστατη δομή (2 dimensional, 2D) με πάχος μόλις ένα ατομικό στρώμα, αποτελεί τη δομική μονάδα για την οικοδόμηση νανοϋλικών με βάση τον άνθρακα. Σύμφωνα με την Εικόνα 1.5, το γραφένιο, ως δομική μονάδα των νανοϋλικών,

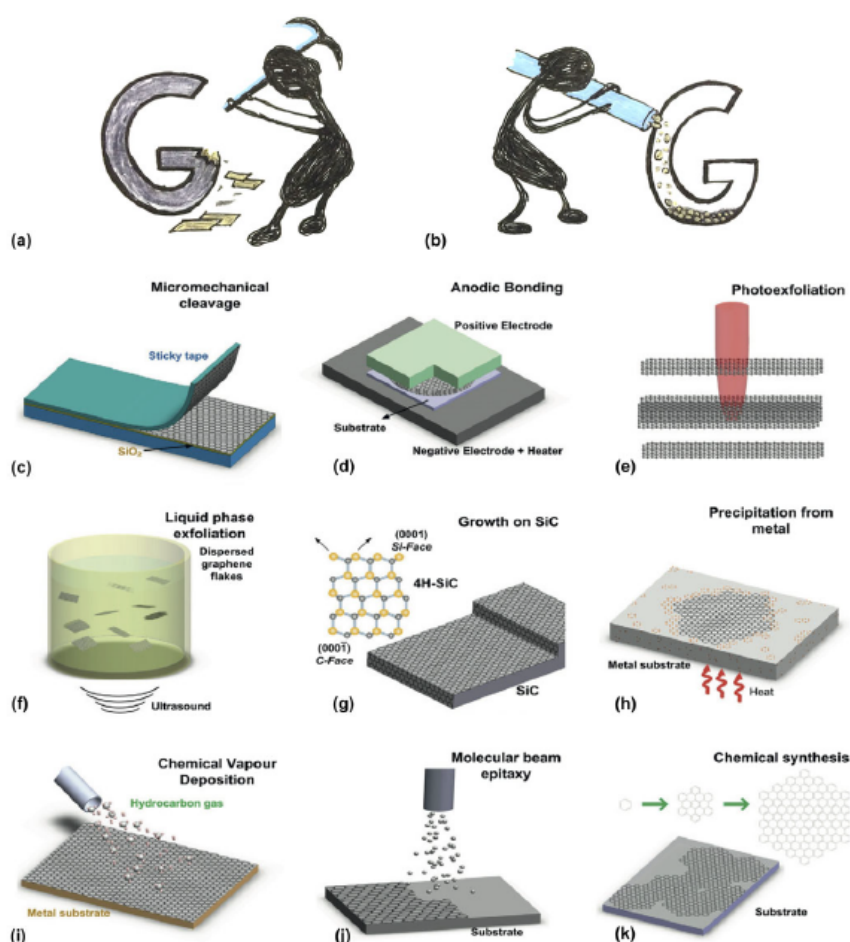
μπορεί να τυλιχτεί και να σχηματίσει φουλερένια (0D), να καμφθεί προς το σχηματισμό νανοσωλήνων άνθρακα (1D), ή τέλος να στοιβαχτεί σε πολλά στρώματα και να σχηματίσει γραφίτη (3D).



Εικόνα 1.5. Απεικόνιση των νανοϋλικών των οποίων το γραφένιο (2D) αποτελεί τη δομική μονάδα: **(α)** φουλερένια (0D), **(β)** νανοσωλήνες άνθρακα (1D), και **(γ)** γραφίτη (3D) [20].

Πιο συγκεκριμένα το γραφένιο (Pristine graphene, pG) χαρακτηρίζεται από sp^2 υβριδισμό με τα άτομα του άνθρακα να είναι διατεταγμένα σε μια κυψελοειδή, εξαγωνική δομή. Καθώς το γραφένιο έχει πάχος ίσο με το πάχος ενός ατόμου άνθρακα είναι το πιο λεπτό υλικό στο κόσμο [21, 27]. Μέχρι τώρα έχουν αναφερθεί διάφοροι τρόποι για την παρασκευή του γραφενίου, και οι οποίοι μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο κατηγορίες: την top-to-down και bottom-to-up προσέγγιση [26]. Η top-to-down προσέγγιση περιλαμβάνει το διαχωρισμό πιο παχιών υλικών σε μονοστρωματικό γραφένιο ή σε γραφένιο μερικών φύλλων, εξουδετερώνοντας τις δυνάμεις Van der Waals που κρατούν τα φύλλα μεταξύ τους. Αντίθετα, η bottom-to-up προσέγγιση επιτυγχάνεται με την παρασκευή γραφενίου σε ένα υπόστρωμα από άτομα άνθρακα [28]. Στην Εικόνα 1.6 παρουσιάζονται οι δυο παραπάνω προσεγγίσεις, καθώς και οι μέθοδοι που περιλαμβάνει η κάθε προσέγγιση για την παρασκευή γραφενίου (π.χ. η μικρομηχανική διάσπαση (micromechanical cleavage), η χημική εναπόθεση ατμών (chemical vapor deposition, CVD), η αποφλοίωση σε υγρή φάση και η επιταξιακή ανάπτυξη σε κρυστάλλους SiC (epitaxial growth), κτλ.) [18, 28-31]. Χαρακτηριστική είναι η μέθοδος της μικρομηχανικής διάσπασης όπου ουσιαστικά το γραφένιο δημιουργείται με αποφλοίωση των στρωμάτων του γραφίτη χρησιμοποιώντας κολλητική ταινία (scotch tape). Ωστόσο, προς το παρόν, το υψηλό κόστος και η χαμηλή

απόδοση παραγωγής του γραφενίου είναι παράγοντες που εμποδίζουν την έρευνα και την εφαρμογή του. Για το λόγο αυτό, η μαζική παραγωγή του γραφενίου αποτελεί ένα δύσκολο στόχο που απασχολεί πολλούς ερευνητές. Το οξειδίο του γραφενίου (GO) και τα νανοπετάλια γραφενίου (GNP) αποτελούν μια εναλλακτική επιλογή στη χρήση γραφενίου, και για το λόγο αυτό περιγράφονται παρακάτω λεπτομερώς.

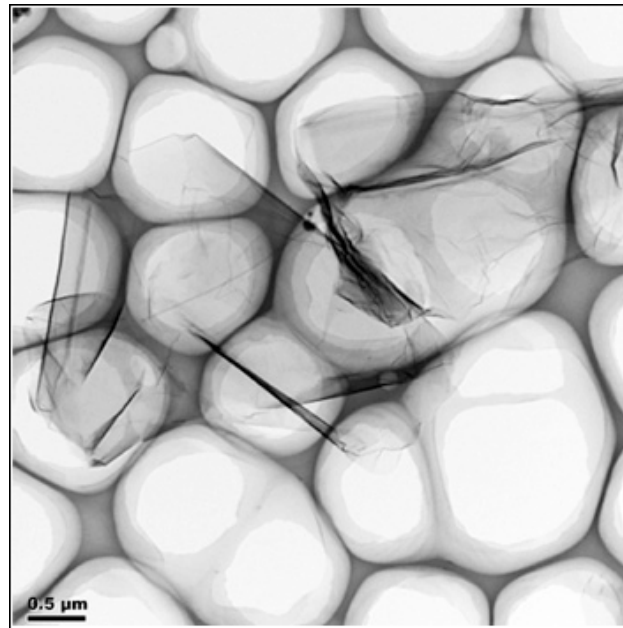


Εικόνα 1.6. Σχηματική αναπαράσταση των δυο προσεγγίσεων που χρησιμοποιούνται για την παρασκευή του γραφενίου: **(a)** top-to-down προσέγγιση η οποία περιλαμβάνει τις μεθόδους: (c), (d), (e), (f) και **(b)** bottom-to-up προσέγγιση: (h), (i), (g), (j) και (k) [28].

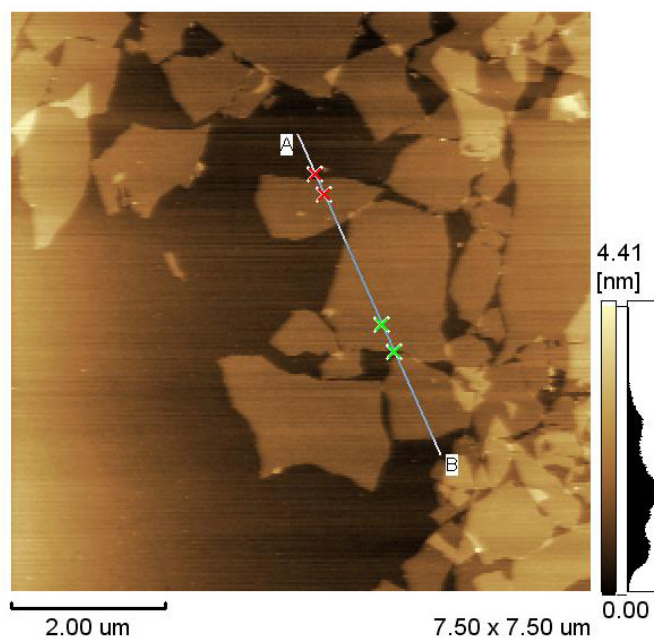
1.4.2.2 Οξείδιο του γραφενίου

Το οξειδίο του γραφενίου (graphene oxide, GO) [26, 32, 33] προέρχεται από το οξειδίο του γραφίτη και η παρασκευή του περιλαμβάνει δυο στάδια: 1) την οξείδωση του γραφίτη για το σχηματισμό οξειδίου του γραφίτη και 2) την αποφλοίωση του παραγόμενου οξειδίου του γραφίτη (exfoliation) για το σχηματισμό μονοστρωματικών υμενίων οξειδίου του γραφενίου ή υμενίων μερικών στρωμάτων. Πιο συγκεκριμένα το οξειδίο του γραφίτη παρασκευάζεται

μέσω της οξείδωσης του γραφίτη χρησιμοποιώντας είτε τη μέθοδο που ανέπτυξαν οι Brodie et al., είτε τη μέθοδο των Hummer et al. είτε αυτή των Staudenmaier et al. [26, 32, 34]. Η μέθοδος Hummer παραμένει η πιο δημοφιλής διεργασία και περιλαμβάνει την ανάμιξη του γραφίτη σε διάλυμα θειικού οξέος (H_2SO_4), νιτρικού νατρίου ($NaNO_3$) και υπερμαγγανικού καλίου ($KMnO_4$). Στην Εικόνα 1.7 απεικονίζεται η μορφή του οξειδίου του γραφενίου από εικόνες TEM (α) και AFM (β).



(α)



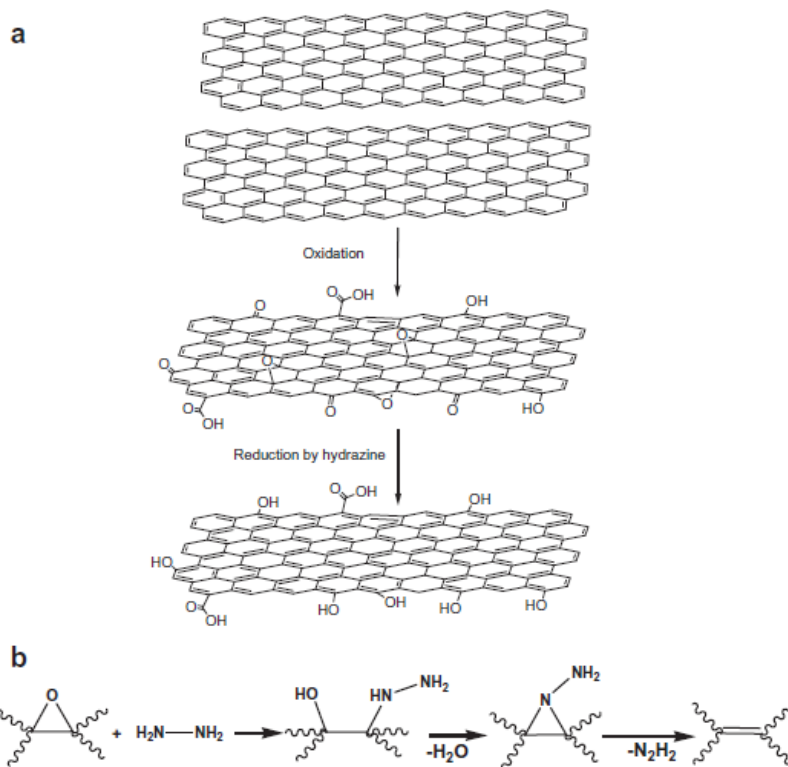
(β)

Εικόνα 1.7. (α) Εικόνα TEM και (β) AFM του οξειδίου του γραφενίου [35].

Παρά τις προσπάθειες που έχουν γίνει η δομή του GO δεν είναι σαφής και αποτελεί μέχρι και σήμερα αντικείμενο έρευνας. Παρόλο αυτά έχουν αναπτυχθεί διάφορα μοντέλα σχετικά με την ακριβή δομή του [36, 37], με το επικρατέστερο μοντέλο να είναι αυτό των Lerf-Klinowski et al. [36]. Σύμφωνα με αυτό, σε θερμοκρασία δωματίου το GO αποτελείται από εποξείδια (epoxy groups) και υδροξύλια (hydroxyl groups) και στις δυο πλευρές του βασικού του επιπέδου, και από καρβονύλια (carbonyl groups) και καρβοξύλια (carboxyl groups) στις άκρες του [36, 38]. Το ανθρακικό πλέγμα του GO χαρακτηρίζεται από sp^2 και sp^3 υβριδισμό, με το sp^3 να το καθιστά μονωτικό υλικό. Παράλληλα, εμφανίζει σημαντικό αριθμό ατελειών και παραμορφώσεων που με τη χρήση αναγωγικών μέσων μπορούν να μειωθούν και να αυξηθεί η αγωγιμότητα του υλικού (αποκατάσταση του ανθρακικού sp^2 δικτύου).

Η αναγωγή του GO έχει ως αποτέλεσμα η δομή του να προσεγγίζει αυτή του γραφενίου, ενώ ανάλογα με το βαθμό της αναγωγής το μερικώς αποκατεστημένο sp^2 δίκτυο περιέχει και κάποιες χαρακτηριστικές ομάδες που περιέχουν οξυγόνο. Οι ομάδες αυτές είναι που καθιστούν το ανηγμένο πλέον οξείδιο του γραφενίου (reduced graphene oxide, rGO) κατάλληλο για την ανίχνευση: α) βιομορίων, αφού διευκολύνουν την ακινητοποίηση των βιομορίων στην επιφάνεια του, ή β) ατμών αναλυτών.

Το GO μπορεί να αναχθεί με διάφορους τρόπους: 1) με θερμική αναγωγή σε διάφορες θερμοκρασίες και περιβάλλοντα, 2) με ακτινοβολία μικροκυμάτων, 3) με ακτινοβολία με φως, 4) με χημική αναγωγή, 5) με αναγωγή με φωτοκαταλύτη, και 6) με ηλεκτροχημική αναγωγή. Η θερμική και η χημική αναγωγή αποτελούν τις πιο συνηθισμένες μεθόδους για την μετατροπή του GO σε αγωγίμο υλικό [33]. Η χημική αναγωγή περιλαμβάνει πολλά στάδια και τοξικές ουσίες, όπως υδραζίνη (hydrazine), ενώ αντίθετα η θερμική αναγωγή θεωρείται και είναι μια απλή μέθοδος πιο φιλική προς το περιβάλλον [39, 40]. Στην Εικόνα 1.8 παρουσιάζεται η χρήση της υδραζίνης, που είναι ένα ισχυρό αναγωγικό μέσο, για την παρασκευή του rGO. Η χημική αναγωγή με υδραζίνη αποδεικνύεται ιδιαίτερα αποδοτική και δημιουργεί πολύ λεπτά υμένια γραφενίου.



Εικόνα 1.8. (α) Απεικόνιση του τρόπου παρασκευής του οξειδίου του γραφενίου από γραφίτη, μετά την οξείδωση του γραφίτη, και της μετατροπής του σε rGO (reduced graphene oxide). (β) Μηχανισμός αναγωγής των εποξειδικών ομάδων του GO με υδραζίνη [27].

Μέχρι τώρα η θερμική αναγωγή γινόταν με θερμική επεξεργασία σε υψηλές θερμοκρασίες σε διάφορα περιβάλλοντα όπως: αερίου αργού, αερίου υδρογόνου και υψηλού κενού [40], που έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή φύλλων γραφενίου υψηλής ποιότητας. Για παράδειγμα οι Becerril et al. [41] και οι Yang et.al [14] παρουσίασαν μια μέθοδο αναγωγής του GO χρησιμοποιώντας: αργό, υψηλό κενό και υδραζίνη και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η θερμική επεξεργασία σε υψηλή θερμοκρασία υπό τις κατάλληλες συνθήκες είναι η πιο υποσχόμενη μέθοδος για την παραγωγή καλής ποιότητας φύλλων γραφενίου.

Ωστόσο, αυτού του είδους οι μέθοδοι απαιτούν μεγάλη ποσότητα ενέργειας και είναι ασύμβατες με πολλές ηλεκτρονικές εφαρμογές καθώς και με τη χρήση εύκαμπτων υποστρωμάτων. Έτσι για τέτοιου είδους διατάξεις, η θερμική επεξεργασία σε χαμηλότερες θερμοκρασίες είναι μια πολύ ενδιαφέρουσα προσέγγιση. Για το λόγο αυτό έχουν γίνει πολλές προσπάθειες προς την κατεύθυνση αυτή χρησιμοποιώντας είτε συνθήκες υψηλού κενού (UHV) είτε κάποιο αέριο. Για παράδειγμα, οι Lv et al. [42] παράγααν μερικά φύλλα γραφενίου για εφαρμογές αποθήκευσης ενέργειας εφαρμόζοντας μια ήπια θερμική επεξεργασία (200°C για 5 ώρες) σε συνθήκες κενού. Οι Kaniyoor et al. [43] πρότειναν μια

εναλλακτική μέθοδο για την αποφλοίωση του οξειδίου του γραφίτη μέσω της οποίας παράγονται μερικά φύλλα γραφενίου σε ατμόσφαιρα υδρογόνου στους 200°C για 1 λεπτό. Οι Zhang et al. [44] πραγματοποίησαν την αποφλοίωση του οξειδίου του γραφίτη σε συνθήκες κενού και σε χαμηλές θερμοκρασίες (135°C), αλλά για μεγαλύτερη χρονική διάρκεια (24 ώρες) και κατάφεραν αποτελέσματα παρόμοια με εκείνα που προκύπτουν από την αποφλοίωση στους 1050°C, ενώ οι Lipaton et al. [45] ασχολήθηκαν με την αναγωγή του GO σε συνθήκες κενού στους 150°C κάνοντας ένα σύντομο βήμα ανόπτησης για 3 λεπτά ώστε να βελτιστοποιήσουν την ευαισθησία ενός GO αισθητήρα αερίου που κατασκεύασαν.

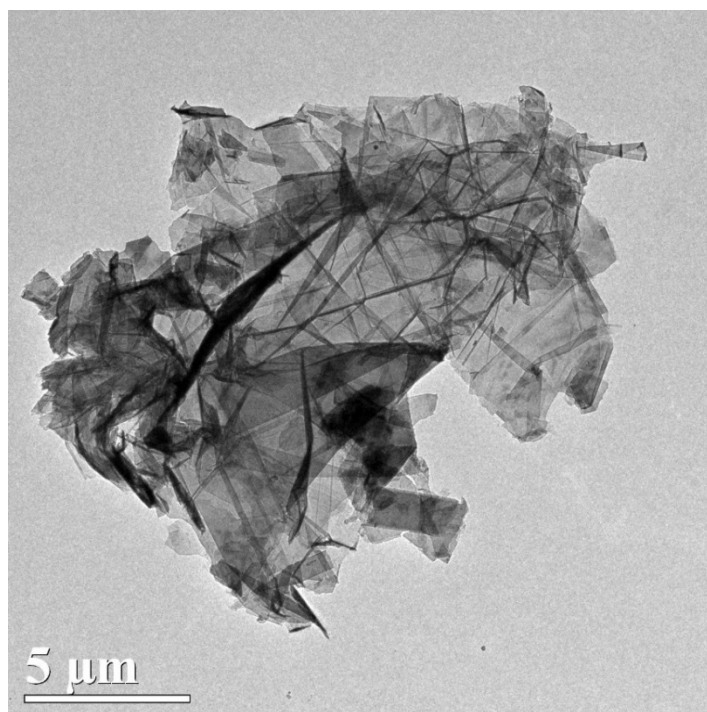
Τέλος, κάποιες νέες μέθοδοι προτείνουν η αναγωγή να πραγματοποιείται σε χαμηλές θερμοκρασίες στην ατμόσφαιρα, με στόχο την μείωση του κόστους διεργασίας και την αποφυγή πολύπλοκου εξοπλισμού. Οι Chang et al. [46] είναι από τους πρώτους που πρότειναν ήπια θερμική επεξεργασία του οξειδίου του γραφενίου στην ατμόσφαιρα (στους 300°C και 150°C μέχρι και 260 λεπτά). Ενώ σε μια άλλη εργασία οι Wang et al. [47], κατάφεραν ειδική αγωγιμότητα της τάξης των 1068 Sm⁻¹ μέσω της αναγωγής του GO μετά από τη θερμική του επεξεργασία στους 300°C για 5 λεπτά με σκοπό τη χρήση του σε μπαταρίες λιθίου με υψηλή απόδοση. Τέλος, οι Founda et al. [48], κατόρθωσαν την αναγωγή του οξειδίου του γραφενίου στους 350°C για 10 λεπτά και παράγαν με επιτυχία μερικά φύλλα γραφενίου τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ηλεκτρόδια σε υπερπυκνωτές. Στον Πίνακα 1.2 παρουσιάζονται οι διάφοροι τρόποι αναγωγής του GO, καθώς και η επίδραση που έχει η αναγωγή στην αναλογία C/O και στην ειδική αγωγιμότητα του παραγόμενου rGO.

Πίνακας 1.2. Σύγκριση μεταξύ διαφορετικών μεθόδων αναγωγής του GO [33].

Reduction method	Form	C/O ratio	σ (S/cm)
Hydrazine hydrate	Powder	10.3	2
Hydrazine reduction in colloid state	Film	NA ^b	72
150 mM NaBH ₄ solution, 2 h	TCF	8.6	0.045
Hydrazine vapor	Film	~8.8	NG
Thermal annealing at 900 °C, UHV ^a		~14.1	NG
Thermal annealing at 1100 °C, UHV	TCF	NA	~10 ³
Thermal annealing at 1100 °C in Ar/H ₂	TCF	NA	727
Multi-step treatment:	Powder	(I) 4.78	(I) 0.823
(I) NaBH ₄ solution		(II) 8.57	(II) 16.6
(II) Concentrated H ₂ SO ₄ 180 °C, 12 h		(III) >246	(III) 202
(III) Thermal annealing at 1100 °C in Ar/H ₂			
Vitamin C	Film	12.5	77
Hydrazine monohydrate		12.5	99.6
Pyrogallol		NA	4.8
KOH		NA	1.910 ⁻³
55% HI reduction	Film	>14.9	298

1.4.2.3 Νανοπετάλια γραφενίου (Graphene nanoplatelets)

Ένα ακόμα υλικό που ανήκει στην οικογένεια του γραφενίου είναι τα νανοπετάλια γραφενίου (Graphene nanoplatelets, GNP). Τα τελευταία χρόνια, τα GNPs, τα οποία αποτελούνται από μερικά φύλλα γραφενίου έχουν αναδειχθεί αφού προσφέρουν δυνατότητες επέκτασης της χρήσης του γραφενίου. Τα GNPs ποικίλουν όσον αφορά το μέγεθος και το πάχος τους ανάλογα με τον τρόπο παρασκευής τους [49]. Σε σύγκριση με το γραφένιο, τα GNP έχουν πολύ χαμηλότερο κόστος παραγωγής. Μάλιστα το πιο εντυπωσιακό είναι ότι μπορούν να παραχθούν πιο εύκολα και σε μεγάλες ποσότητες ξεκινώντας από φυσικό γραφίτη. Στην Εικόνα 1.9 απεικονίζεται η μορφή των νανοπεταλίων γραφενίου διαστάσεων 2-10 nm από φωτογραφία TEM.



Εικόνα 1.9. Φωτογραφία TEM των νανοπεταλίων γραφενίου διαστάσεων 2-10 nm [50].

Εν τω μεταξύ, τα GNPs και τα σύνθετα υλικά τους παρουσιάζουν καλές μηχανικές και ηλεκτρικές ιδιότητες, που επιτρέπουν την εφαρμογή τους: σε αισθητήρες παραμόρφωσης, χημικούς αισθητήρες, βιολογικούς αισθητήρες και σε θερμοαγώγιμα υλικά κ.α. [51-55]. Πιο συγκεκριμένα, τα νανοσύνθετα πολυμερή από γραφένιο και GNP έχουν προσελκύσει την επιστημονική και βιομηχανική προσοχή καθώς οι φυσικο-μηχανικές ιδιότητες τους μπορούν να βελτιωθούν σημαντικά με την προσθήκη σχετικά μικρών ποσοτήτων γραφενίου. Η μεγάλη επιφάνεια που έχουν τα GNPs βοηθά στη μεγιστοποίηση της διεπαφής μεταξύ των GNPs και του πολυμερούς και άρα της συνεκτικότητας του σύνθετου υλικού. Στις ιδιότητες

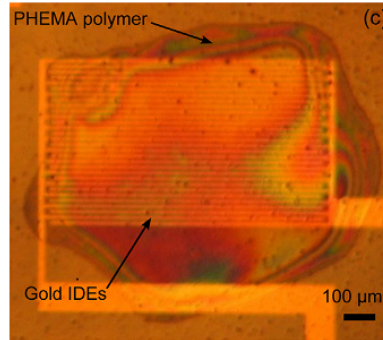
των νανοσύνθετων υλικών που βασίζονται στα GNPs και που είναι σημαντικές για την μαζική παραγωγή και για συγκεκριμένες εμπορικές εφαρμογές περιλαμβάνονται: η ευκολία στην επεξεργασία και την κατασκευή τους, η ενίσχυση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας και της αντοχή εφελκυσμού. Αυτές οι ιδιότητες εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες, όπως είναι η συσσώρευση και η διασπορά του αγωγίμου υλικού (filler) και η πρόσφυση μεταξύ του αγωγίμου υλικού και της πολυμερικής μήτρας (matrix). Μέχρι σήμερα, έχουν παρουσιαστεί πολλοί τρόποι επεξεργασίας για την ενσωμάτωση και τη διασπορά του γραφενίου και των GNPs μέσα στη πολυμερική μήτρα. Η μέθοδος melt mixing είναι μία από τις πιο συνηθισμένες λόγω του χαμηλού κόστους της για την μαζική παραγωγή θερμοπλαστικών και σύνθετων θερμοπλαστικών υλικών. Κατά τη διαδικασία αυτής της μεθόδου, τα συστατικά δέχονται μεγάλες δυνάμεις μηχανικής διάτμησης, οι οποίες και επηρεάζουν σημαντικά τις ιδιότητες του παραγόμενου υλικού [56].

1.4.3 Χημικά ευαίσθητα στρώματα

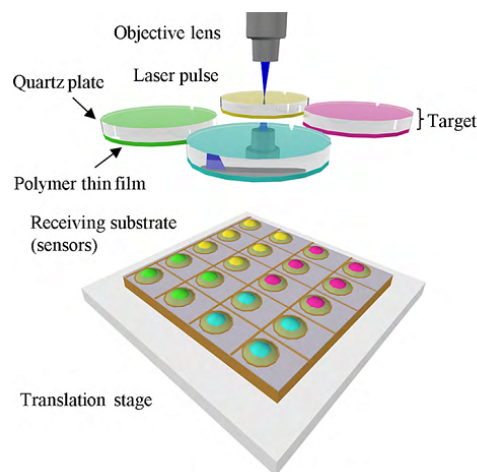
Το ευαίσθητο στρώμα αποτελεί ένα από τα πιο βασικά μέρη ενός αισθητήρα και η επιλογή του υλικού καθορίζει την απόδοση του αισθητήρα. Πολυμερικά υλικά, τα οποία προκύπτουν από την επανάληψη των επιμέρους δομικών μονάδων τους (μονομερή) που συνδέονται μεταξύ τους με ομοιοπολικούς δεσμούς, χρησιμοποιούνται πολλές φορές ως ευαίσθητα στρώματα σε διατάξεις αισθητήρων καθώς έχουν τη δυνατότητα να διογκώνονται μετά από αλληλεπίδραση με τον αναλύτη στόχο. Μερικά από τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται ως ευαίσθητα στρώματα είναι: ο πολυ(μεθακρυλικός υδροξυαιθυλεστέρας) (poly(2-hydroxyethyl methacrylate, PHEMA) (Εικόνα 1.10α), ο πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (Poly(methyl methacrylate, PMMA), η εποξειδική ρητίνη (Epoxy novolac resin, EPR), το πολυ(υδροξυ στυρένιο) (Poly(hydroxy styrene, PHS), το βενζοκυκλοβουτένιο (benzocyclobutene, BCB), το τεφλόν (poly(tetrafluoroethene), PTFE), η πολυ(διμεθυλοσιλοξάνη) (PDMS), πολύ(αιθερο-ουρεθάνη) (Polyetherurethane, PEUT) και οξεϊκή βουτυρική κυτταρίνη (cellulose acetate butyrate, CAB) [9, 57-62].

Για την επιλεκτική εναπόθεση του ευαίσθητου στρώματος του αισθητήρα, έχουν προταθεί διάφορες τεχνικές. Για παράδειγμα, οι Reddy et al. [7] χρησιμοποίησαν την μέθοδο του gravure printing, οι Tsouti et al. [62] χρησιμοποίησαν την τεχνική του laser printing (induced forward transfer, LIFT) για την εναπόθεση διαφορετικών πολυμερών σε συστοιχία μεμβρανών για την κατασκευή χημικών αισθητήρων (Εικόνα 1.10β), ενώ πιο πρόσφατα η τεχνική ψεκασμού μελάνης (ink-jet printing) γίνεται όλο και πιο δημοφιλής [61, 63, 64]. Στο κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται μια εναλλακτική μέθοδος που βασίζεται στην τεχνική της

λιθογραφίας στην οποία χρησιμοποιείται η πολυβινυλική αλκοόλη (Polyvinyl alcohol, PVA) ως θυσιαζόμενο στρώμα για την εναπόθεση διαφόρων πολυμερικών υλικών πάνω σε ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια για την κατασκευή ενός χημικού αισθητήρα.



(α)



(β)

Εικόνα 1.10. (α) Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο ενός χημικού αισθητήρα ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων με νανοσωματίδια πλατίνας καλυμμένα με PHEMA χρησιμοποιώντας τη τεχνική ink-jet [1]. (β) Απεικόνιση της τεχνικής LIFT κατά την εναπόθεση διαφόρων πολυμερών στην επιφάνεια μεμβρανών για την κατασκευή χημικών αισθητήρων τύπου χωρητικότητας [62].

1.5 Τρανζίστορ γραφενίου

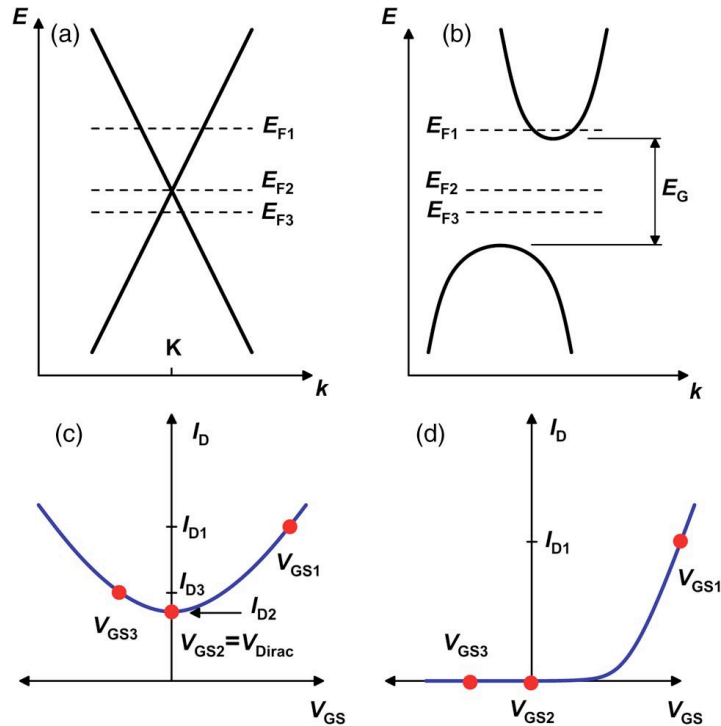
Οι αισθητήρες που βασίζονται σε τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (Field-effect transistors, FETs) έχουν τα εξής πλεονεκτήματα: γρήγορη απόκριση, υψηλή ευαισθησία, δυνατότητα ανίχνευσης σε πραγματικό χρόνο, απλό τρόπο κατασκευής, χαμηλό κόστος και της

δυνατότητας σμίκρυνσης των διατάξεων [22, 25]. Ένα FET τρανζίστορ αποτελείται από ένα ημιαγωγικό κανάλι το οποίο βρίσκεται μεταξύ δύο ηλεκτροδίων μετάλλου, το ηλεκτρόδιο της πηγής (source) και του απαγωγού (drain), μέσω των οποίων το ρεύμα εγχέεται και συλλέγεται. Η αγωγιμότητα (conductance, G) του καναλιού ρυθμίζεται μεταβάλλοντας το δυναμικό της πύλης μέσω ενός λεπτού διηλεκτρικού στρώματος (dielectric layer), π.χ. υμένιο διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) πάχους 300 nm.

Καθώς, τα νανοϋλικά με βάση τον άνθρακα (carbon nanomaterials) είναι ελκυστικά ως μετατροπείς (transducer components) σε διάφορους βιολογικούς και χημικούς αισθητήρες [22, 65], το ενδιαφέρον για το γραφένιο έχει αυξηθεί σημαντικά σε εφαρμογές όπως τα τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET) και σε πολύ ευαίσθητους αισθητήρες [66].

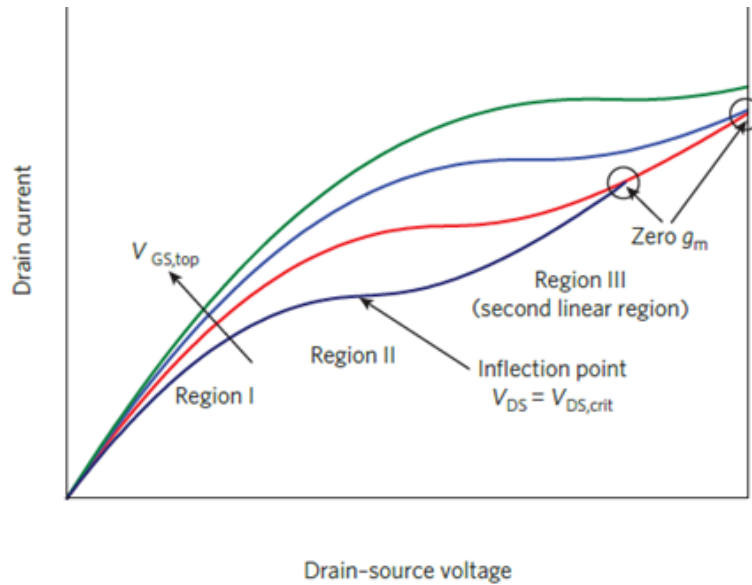
Ο τρόπος λειτουργίας μια τέτοιας διάταξης μπορεί να γίνει κατανοητός μελετώντας τις ζώνες ενέργειας και τη χαρακτηριστική μεταφοράς του γραφενίου. Στην Εικόνα 1.11 (a) παρουσιάζονται οι ζώνες ενέργειας του γραφενίου, που δείχνουν ότι το γραφένιο είναι υλικό μηδενικού χάσματος, με τη ζώνη σθένους και αγωγιμότητας να έχουν κωνικό σχήμα και να έρχονται σε επαφή μεταξύ τους [67]. Η χαρακτηριστική μεταφοράς του γραφενίου απεικονίζεται στην Εικόνα 1.11 (c) και σύμφωνα με αυτή όταν εφαρμόζεται θετική τάση (V_{GS1}) στη πύλη του MOSFET γραφενίου οδηγεί σε κανάλι τύπου n (στάθμη Fermi E_{F1} και ρεύμα I_{D1}), ενώ όταν μειώνεται η τάση της πύλης, η στάθμη Fermi μετατοπίζεται προς τα κάτω προκαλώντας μείωση της συγκέντρωσης των ηλεκτρονίων και μείωση του ρεύματος του απαγωγού (I_D). Στην τάση V_{GS2} συναντιούνται οι ζώνες σθένους και αγωγιμότητας (σημείο Dirac) και η πυκνότητα των φορέων και το ρεύμα απαγωγού δείχνουν ένα ελάχιστο, αλλάζοντας τον τύπο αγωγιμότητας από n σε p. Για αρνητικές τάσεις πύλης, V_{GS3} , το κανάλι είναι τύπου p και το ρεύμα απαγωγού αυξάνεται και πάλι και για αυτό το λόγο το γραφένιο χαρακτηρίζεται από διπολική συμπεριφορά και μπορεί να είναι είτε ημιαγωγός τύπου n είτε τύπου p (ambipolar behavior). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι λόγω του μηδενικού χάσματος, τα MOSFETs γραφενίου δεν απενεργοποιούνται σε αντίθεση με τους συμβατικούς ημιαγωγούς Fig. 1.11(c).

Στους συμβατικούς ημιαγωγούς όπως το Si, η κατάσταση είναι τελείως διαφορετική (Εικόνα 1.11 (b) και (d)). Εφαρμόζοντας τάση V_{GS1} , έχουμε κανάλι τύπου n όπως και στο τρανζίστορ γραφενίου αλλά η μείωση της τάσης της πύλης μετατοπίζει τη στάθμη Fermi, η πυκνότητα των φορέων στο κανάλι μειώνεται γρήγορα και το τρανζίστορ απενεργοποιείται.



Εικόνα 1.11. Ζώνες ενέργειας: (a) του γραφενίου (large-area graphene) και (b) ενός ημιαγωγού, π.χ. Si. Η χαρακτηριστική μεταφοράς: (c) ενός γραφενίου τύπου MOSFET και (d) ενός MOSFET πυριτίου καναλιού n τύπου.[67].

Η χαρακτηριστική εξόδου ενός MOSFET γραφενίου τύπου n, για διαφορετικές τιμές τάσης πύλης (V_{GS}) [68] παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.12. Η χαρακτηριστική εξόδου των περισσότερων MOSFET γραφενίου παρουσιάζει μια γραμμική συμπεριφορά χωρίς κορεσμό. Εντούτοις, μερικά MOSFETs γραφενίου έχουν μια ασυνήθιστη μορφή συμπεριφοράς κορεσμού που περιλαμβάνει μια δεύτερη γραμμική περιοχή (Εικόνα 1.12). Σε αυτές τις περιπτώσεις, για μικρές τιμές της V_{DS} , το τρανζίστορ λειτουργεί στη γραμμική περιοχή και ολόκληρο το κανάλι είναι n-τύπου (περιοχή I), καθώς αυξάνεται η V_{DS} , το ρεύμα απαγωγού φτάνει σε κορεσμό και στο σημείο καμψής $V_{DS} = V_{DScrit}$ (περιοχή II). Μόλις η τάση V_{DS} υπερβεί την V_{DScrit} , ο τύπος αγωγιμότητας του απαγωγού στο άκρο του καναλιού μεταβαίνει από τον τύπο n σε τύπο p και το τρανζίστορ εισέρχεται σε μια δεύτερη γραμμική περιοχή (περιοχή III).

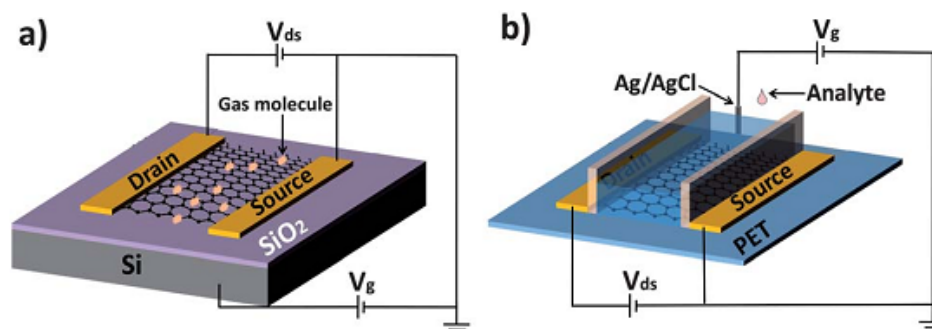


Εικόνα 1.12. Γραφική αναπαράσταση των χαρακτηριστικών εξόδου (ρεύμα απαγωγού, I_D , συναρτήσει της τάσης πηγής - απαγωγού, V_{DS}) ενός MOSFET γραφενίου καναλιού τύπου n, για διαφορετικές τιμές τάσης πύλης, V_{GS} [68].

Στην Εικόνα 1.13 παρουσιάζονται δυο διατάξεις τρανζίστορ επίδρασης πεδίου που βασίζονται στο γραφένιο (GFET) για την ανίχνευση ατμών αναλυτών και βιομορίων σε χημικούς και βιολογικούς αισθητήρες αντίστοιχα [25]. Στον αισθητήρα αερίων (Εικόνα 1.13a) το κανάλι εκτίθεται απευθείας στα μόρια του αναλύτη και η προσρόφηση των μορίων του αναλύτη έχει ως αποτέλεσμα το "ντοπάρισμα" του καναλιού που οδηγεί σε αλλαγή της αγωγιμότητας της διάταξης. Σύμφωνα με τις πειραματικές και θεωρητικές μελέτες συμπεραίνεται ότι η μεταφορά φορτίου από τα προσροφημένα μόρια αερίου στο κανάλι είναι ο κυρίαρχος μηχανισμός της απόκρισης του αισθητήρα.

Για την ανίχνευση βιομορίων το GFET πρέπει να λειτουργεί σε υδατικό περιβάλλον (Εικόνα 1.13b). Σε αυτή την περίπτωση το κανάλι από γραφένιο συνήθως βρίσκεται σε μια κυψελίδα ροής ή σε ένα θάλαμο ανίχνευσης που χρησιμοποιείται για τον περιορισμό του διαλύματος και το ηλεκτρόδιο της πύλης, που συνήθως είναι Ag/AgCl ή Pt, βυθίζεται στο διάλυμα. Για την εξήγηση του τρόπου ανίχνευσης σε βιοαισθητήρες γραφενίου σε διάλυμα έχουν προταθεί δύο σημαντικοί μηχανισμοί: α) το electrostatic gating effect και β) το doping effect. Σύμφωνα με τον πρώτο, τα φορτισμένα μόρια που προσροφούνται στο γραφένιο δημιουργούν μια επιπλέον χωρητικότητα στην πύλη που αλλάζει την αγωγιμότητα του καναλιού. Ενώ σύμφωνα με το δεύτερο μηχανισμό, πραγματοποιείται μια άμεση μεταφορά φορτίου μεταξύ των προσροφημένων μορίων και του καναλιού από γραφένιο, όπως και στην

περίπτωση των αισθητήρων αερίων. Βέβαια και οι δύο μηχανισμοί είναι ακόμα υπό διερεύνηση και έτσι ο πραγματικός μηχανισμός ανίχνευσης μπορεί να είναι ένας συνδυασμός των δύο παραπάνω μηχανισμών, ή ακόμα και κάποιος πιο περίπλοκος μηχανισμός.



Εικόνα 1.13. (a) Ένα τυπικό τρανζίστορ επίδρασης πεδίου βασισμένο στο γραφένιο (GFET) πάνω σε Si/SiO₂ υπόστρωμα για την ανίχνευση αερίων. (b) Ένα τυπικό τρανζίστορ επίδρασης πεδίου βασισμένο στο γραφένιο (GFET) πάνω σε εύκαμπτο υπόστρωμα (polyethylene terephthalate, PET) το οποίο χρησιμοποιείται ως χημικός ή βιολογικός αισθητήρας σε υδατικά διαλύματα [25].

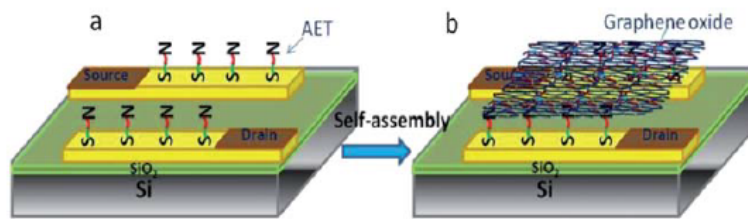
Όπως ήδη έχει αναφερθεί και παραπάνω το γραφένιο μπορεί να αντικατασταθεί με το χαμηλού κόστους οξειδίο του γραφενίου (GO), το οποίο έχει αρχίσει να χρησιμοποιείται ευρέως στην κατασκευή αισθητήρων τύπου τρανζίστορ. Για παράδειγμα το θερμικά επεξεργασμένο οξειδίο του γραφενίου (thermally reduced graphene oxide, TRGO) έχει χρησιμοποιηθεί σε βιολογικούς αισθητήρες για την ανίχνευση του βακτηρίου της *Escherichia coli*, λόγω των πλεονεκτημάτων που έχει, όπως για παράδειγμα, οι ρυθμιζόμενες ηλεκτρονικές ιδιότητες του (ημιαγωγός τύπου n ή p) ή η ανίχνευση χωρίς επισήμανση (label-free detection) [22]. Στην Εικόνα 1.14α παρουσιάζεται ο τρόπος κατασκευής ενός αισθητήρα όπου το GO εναποτίθεται σε τροποποιημένα με αμινοαιθανοθειόλη (aminoethanethiol, AET) ηλεκτρόδια χρυσού. Το μονοστρωματικό GO (monolayer) δημιουργείται μετά από εμβάπτιση των διατάξεων στο GO και υπέρηχους για 1 λεπτό, ενώ η αναγωγή του GO επιτυγχάνεται μετά από θέρμανση στους 400°C για 1 ώρα σε περιβάλλον αργού.

Στην Εικόνα 1.14β (πάνω αριστερά) παρουσιάζεται η $I_{SD}-V_G$ χαρακτηριστική του TRMGO FET, στην οποία η V_G είναι η τάση πύλης και το I_{SD} είναι το ρεύμα του απαγωγού. Καθώς η πόλωση της πύλης μεταβάλλεται από -40 σε +40 V το ρεύμα της διάταξης μειώνεται από 139 σε 59 nA. Η μείωση της αγωγιμότητας με την αύξηση της τάσης δείχνει ότι το TRMGO είναι

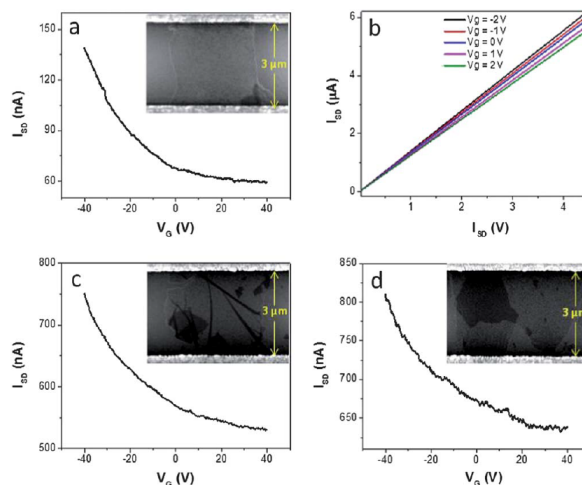
τύπου p. Η προτεινόμενη TRMGO διάταξη έχει καλή αναλογία on / off ρεύματος (2.35) και η αναλογία αυτή είναι κρίσιμη για την ευαισθησία των βιοαισθητήρων.

Για την περαιτέρω εξέταση των ηλεκτρικών χαρακτηριστικών του TRMGO FET, η τάση της πύλης μεταβάλλεται από -2 έως 2 V. Το ρεύμα πηγής - απαγωγού μειώνεται με την αύξηση της τάσης της πύλης (V_G), όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.14β (πάνω αριστερά), που υποδεικνύει ότι η απόκριση της διάταξης είναι ευαίσθητη στην V_G . Επιπλέον, οι διατάξεις αυτές εμφάνισαν ωμική συμπεριφορά, υποδεικνύοντας ότι ο μηχανισμός ανίχνευσης στο TRMGO FET είναι ηλεκτροστατικής φύσης (electrostatic gating).

Αν δεν χρησιμοποιηθούν υπέρηχοι τα GO φύλλα που εναποτίθενται στα ηλεκτρόδια σχηματίζουν πτυχώσεις ή πολλαπλά στρώματα GO (ένθετα της Εικόνας 1.14 β (κάτω αριστερά) και (κάτω δεξιά)), με αποτέλεσμα τη δημιουργία διατάξεων με χαμηλότερη αναλογία on / off ρεύματος (1,41 και 1,27 με πτυχώσεις και πολυστρωματικό GO, αντίστοιχα). Κατά συνέπεια για την κατασκευή αισθητήρων πολύ καλής απόκρισης απαιτείται μονοστρωματικό GO.



(α)

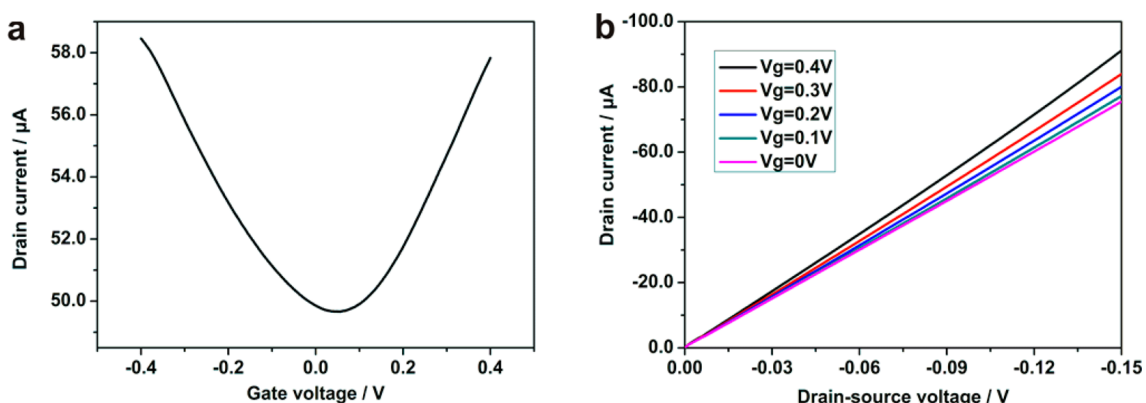


(β)

Εικόνα 1.14. (α) Σχηματική απεικόνιση: των τροποποιημένων ηλεκτροδίων χρυσού (αριστερά) και εναπόθεση του GO στα τροποποιημένα με AET ηλεκτρόδια (δεξιά). (β): Η I-V καμπύλη του TRMGO επάνω σε SiO_2/Si υπόστρωμα ($I_{SD}=100 \text{ mV}$). Στο ένθετο

απεικονίζεται το φύλλο του μονοστρωματικού GO που γεφυρώνει το διάκενο των ηλεκτροδίων (πάνω αριστερά). Χαρακτηριστική εξόδου $I_{SD}-V_{SD}$ της διάταξης TRMGO FET με την τάση της πίσω πύλης (V_G) να μεταβάλλεται από -2 έως 2 V (πάνω δεξιά). Η I-V καμπύλη της FET διάταξης του GO με πτυχώσεις. Το ένθετο απεικονίζει το GO κατά μήκος του κενού των ηλεκτροδίων (κάτω αριστερά). Η I-V καμπύλη της FET διάταξης με το πολυστρωματικό GO. Στο ένθετο παρουσιάζεται το πολυστρωματικό GO κατά μήκος του κενού των ηλεκτροδίων (κάτω δεξιά) [22].

Η συμπεριφορά των τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου και η εφαρμογή τους ως βιοαισθητήρες έχει μελετηθεί από πολλές ομάδες [65, 69]. Ένα άλλο παράδειγμα είναι η κατασκευή ενός FET βιοαισθητήρα οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση DNA [69]. Το GO ανάγεται με υδραζίνη και εναποτίθεται πάνω σε ηλεκτρόδια χρυσού τα οποία έχουν σχηματοποιηθεί επάνω σε SiO_2 (285 nm)/Si υπόστρωμα. Στην Εικόνα 1.15 παρουσιάζονται η χαρακτηριστική μεταφοράς $I_{DS}-V_G$ (αριστερά) και εξόδου $I_{DS}-V_{DS}$ (δεξιά) του συγκεκριμένου βιοαισθητήρα. Η $I_{DS}-V_G$ καμπύλη (Εικόνα 1.15, αριστερά) μας δείχνει τη διπολική συμπεριφορά του rGO σε μια μικρή περιοχή τάσης πύλης (από -0.4 έως 0.4 V) και καθώς το rGO προσροφά μόρια από το περιβάλλον εμφανίζει συμπεριφορά τύπου p. Μέσω της καμπύλης $I_{DS}-V_{DS}$ μπορούν να εξεταστούν περαιτέρω τα ηλεκτρικά χαρακτηριστικά του rGO FET (Εικόνα 1.15, δεξιά), για παράδειγμα το ρεύμα του απαγωγού μειώνεται με μικρή μείωση της τάσης της πύλης, υποδεικνύοντας ότι η απόκριση της διάταξης είναι ευαίσθητη στην τάση της πύλης.



Εικόνα 1.15. Η $I_{DS}-V_G$ καμπύλη του rGO επάνω στο υπόστρωμα SiO_2 / Si ($I_{DS} = 0.1 \text{ V}$) (αριστερά). Η χαρακτηριστικά εξόδου $I_{DS}-V_{DS}$ της rGO FET διάταξης, με την τάση της πύλης (V_G) να κυμαίνεται από 0 έως 0.4 V (δεξιά).

Σε αντιστοιχία με το γραφένιο και το οξειδίο του γραφενίου παρουσιάζει διπολική συμπεριφορά. Η θερμοκρασία που γίνεται η αναγωγή είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει τη συμπεριφορά του οξειδίου του γραφενίου, και σε θερμοκρασίες: από 300 ως 450°C και από 800 ως 1000°C οι φορείς είναι κυρίως ηλεκτρόνια (n-type), ενώ στους 250°C και σε θερμοκρασίες αναγωγής από 450 ως 800°C, οι φορείς είναι οπές με αποτέλεσμα η διάταξη να εμφανίζει συμπεριφορά ημιαγωγού τύπου p (p-type) [70]. Τέλος, η p τύπου συμπεριφορά του οξειδίου του γραφενίου πιθανότητα οφείλεται στα προσροφημένα μόρια (π.χ. νερό, O₂), ή/και στις ατέλειες που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της αναγωγής ή ακόμα και στις ιδιότητες του υποστρώματος [71].

1.6 Η σημασία του δεοξυριβονουκλεϊκού οξέος (DNA) και η ανίχνευση του με βιοαισθητήρες

Τα βιομόρια, όπως το DNA και οι πρωτεΐνες (πχ. στρεπταβιδίνη, αλβουμίνη ορού βοοειδών), κατέχουν σημαντικό ρόλο στη ζωή του ανθρώπου καθώς τον επηρεάζουν σε πολλούς τομείς. Οι πρωτεΐνες, είναι μια μοναδική τάξη μακρομορίων που έχει τη δυνατότητα να αναγνωρίζει και να αντιδρά ειδικά με ένα μεγάλο εύρος μορίων. Ο ρόλος τους στις διάφορες βιολογικές διεργασίες σχετίζεται με τη: μεταφορά και αποθήκευση ουσιών, ανοσολογική προστασία, διεγερσιμότητα των κυττάρων, ολοκλήρωση του μεταβολισμού και ελέγχου της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης των κυττάρων. Επιπλέον, τα περισσότερα ένζυμα των οποίων ο ρόλος είναι να επιταχύνουν τις χημικές αντιδράσεις στα βιολογικά συστήματα είναι πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες χρησιμοποιούνται αρκετά συχνά στους βιοαισθητήρες καθώς οι αλληλουχίες των αμινοξέων, που είναι οι δομικές τους μονάδες, παρέχουν πληροφορίες που σχετίζονται με τη συγγένεια των πρωτεϊνών, την εξελικτική τους σχέση και τις ασθένειες που προκύπτουν από τις μεταλλάξεις [72, 73].

Το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA), το οποίο είναι το μόριο της κληρονομικότητας σε όλους τους οργανισμούς και μεταφέρει τις γενετικές πληροφορίες, αποτελεί το μόριο στόχο πολλών διατάξεων βιοαισθητήρων για εφαρμογές όπως η ανίχνευση ασθενειών, αφού οι τροποποιήσεις στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων μπορούν να δώσουν πληροφορίες για διάφορες μεταλλάξεις. Πιο συγκεκριμένα, το DNA είναι ένα πολυμερές που δημιουργείται από διαφορετικές βάσεις οι οποίες προσδένονται σε έναν κορμό σακχάρων-φωσφορικών. Το DNA [74] αποτελείται από μονάδες δεοξυριβονουκλεοτιδίων, με κάθε νουκλεοτίδιο να αποτελείται από μία αζωτούχα βάση (αδενίνη (A), γουανίνη (G), θυμίνη (T) και κυτοσίνη (C)), ένα σάκχαρο (δεοξυριβόζη, με το συνθετικό δέοξυ να προσδιορίζει ότι αυτό το σάκχαρο έχει ένα άτομο οξυγόνου λιγότερο από ότι έχει η ριβόζη) και μία ή περισσότερες

φωσφορικές ομάδες. Οι βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό της έλικας, ενώ τα φωσφορικά και οι μονάδες δεοξυριβόζης βρίσκονται στο εξωτερικό μέρος της. Σε κάθε πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, οι οποίες παρουσιάζουν πολικότητα αφού έχει μια ομάδα υδροξυλίου στο 5' άκρο και μια στο 3', το μεταβλητό τμήμα του DNA είναι η αλληλουχία των τεσσάρων ειδών βάσεων (A,G,T,C), ενώ ο κορμός του DNA είναι σταθερός κατά μήκος του μορίου και αποτελείται από δεοξυριβόζες συνδεδεμένες με φωσφορικές ομάδες (το 3'-υδροξύλιο του σακχάρου ενός δεοξυριβονουκλεοτιδίου συνδέεται με το 5'-υδροξύλιο του επόμενου σακχάρου με φωσφοδιεστερική γέφυρα). Επιπλέον, οι δυο ελικοειδείς πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που έχουν αντίθετες κατευθύνσεις περιστρέφονται γύρω από έναν κοινό άξονα και συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου μεταξύ ζευγών βάσεων (αδενίνη-θυμίνη, γουανίνη-κυτοσίνη). Ο διαχωρισμός των δύο DNA αλυσίδων επιτυγχάνεται όταν διασπαστούν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των ζευγαρωμένων βάσεων του είτε με θέρμανση του DNA διαλύματος, είτε με την προσθήκη οξέος ή βάσης για τον ιοντισμό των βάσεων είτε in vivo με τη δράση ειδικών πρωτεϊνών [72, 75, 76].

Η ανίχνευση του DNA πολλές φορές απαιτεί πρώτα την ενίσχυση του. Η PCR [77] είναι αδιαμφισβήτητα μια επαναστατική μέθοδος ενίσχυσης του DNA και είναι η πιο συνηθισμένη μέθοδος για την ενίσχυση νουκλεϊκού οξέος [78, 79]. Τα κύρια πλεονεκτήματα της PCR είναι η υψηλή ευαισθησία, η ταχύτητα, η ειδικότητα και το χαμηλό κόστος των αντιδραστηρίων. Λόγω των προαναφερθέντων πλεονεκτημάτων, η PCR έχει γίνει μία από τις πιο αξιόπιστες και συχνά χρησιμοποιούμενες μοριακές μεθόδους τόσο σε επίπεδο διάγνωσης όσο και σε επίπεδο έρευνας [80, 81]. Ωστόσο, η ανάγκη απλοποίησης και εξάλειψης των πολλαπλών θερμοκύκλων έχουν επιτάξει την ανάγκη για ανακάλυψη εναλλακτικών μεθόδων ενίσχυσης του DNA. Σε αυτή την κατεύθυνση έχουν προταθεί ισοθερμικές μέθοδοι για την ενίσχυση του DNA, όπως είναι η ενίσχυση ανασυνδυασμένης πολυμεράσης (Recombinase Polymerase Amplification, RPA). Η RPA μέθοδος είναι μια εναλλακτική μέθοδος που χαρακτηρίζεται από απλότητα, ευαισθησία και έχει χαμηλότερες θερμικές απαιτήσεις σε σύγκριση με την PCR [82-84]. Η ανίχνευση του DNA μπορεί να γίνει είτε με μονόκλωνες DNA αλυσίδες (DNA probe) που είναι συμπληρωματικές ως προς το DNA στόχο και μέσω του υβριδισμού επιτυγχάνεται η ανίχνευση, είτε με βιομόρια με υψηλή συγγένεια όπως το σύμπλεγμα βιοτίνης-στρεπταβιδίνης που χρησιμοποιείται ευρέως σε DNA βιοαισθητήρες [85].

Στην παρούσα διατριβή, στο κεφάλαιο 5 χρησιμοποιείται η μέθοδος PCR για την ενίσχυση DNA αλληλουχίας, ενώ η ανίχνευση του ενισχυμένου DNA πραγματοποιείται από ένα βιολογικό αισθητήρα rGO που κατασκευάστηκε σε υπόστρωμα SiO₂ μέσω της

αλληλεπίδρασης βιοτίνης – στρεπταβιδίνης. Στο κεφάλαιο 6 παρουσιάζεται ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε PCB το οποίο αποτελείται από μια μονάδα ενίσχυσης DNA και μια μονάδα ανίχνευσης (ενσωματωμένοι βιοαισθητήρες rGO), με αποτέλεσμα την ενίσχυση του γενετικού υλικού να τη διαδέχεται η ανίχνευση του από τους rGO βιοαισθητήρες πάλι μέσω της αλληλεπίδρασης βιοτίνης – στρεπταβιδίνης, ενώ για την ενίσχυση του DNA χρησιμοποιείται η ισοθερμική μέθοδος ενίσχυσης RPA.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] E. Skotadis, D. Mousadakos, K. Katsabroukou, S. Stathopoulos, D. Tsoukalas, Flexible polyimide chemical sensors using platinum nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical* 189 (2013) 106-112.
- [2] D.B. Francisco Molina-Lopez, N.F.d. Rooij, Fully Inkjet-Printed Parallel-Plate Capacitive Gas Sensors on Flexible Substrate, *IEEE* (2012).
- [3] R. Matsuzaki, A. Todoroki, Wireless flexible capacitive sensor based on ultra-flexible epoxy resin for strain measurement of automobile tires, *Sensors and Actuators A: Physical* 140(1) (2007) 32-42.
- [4] J.W. T.F. R. Zeiser, Development and testing of capacitive strain gauges, *Zwick Science Award/Ulm* (2010).
- [5] Y. Yang, X. Yang, Y. Tan, Q. Yuan, Recent progress in flexible and wearable bioelectronics based on nanomaterials, 10(5) (2017) 1560-1583.
- [6] R.M. White, A Sensor Classification Scheme, *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control* 34(2) (1987) 124-126.
- [7] A.S.G. Reddy, B.B. Narakathu, M.Z. Atashbar, M. Rebros, E. Rebrosova, M.K. Joyce, Fully Printed Flexible Humidity Sensor, *Procedia Engineering* 25 (2011) 120-123.
- [8] U. Altenberend, F. Molina-Lopez, A. Oprea, D. Briand, N. Bârsan, N.F. De Rooij, U. Weimar, Towards fully printed capacitive gas sensors on flexible PET substrates based on Ag interdigitated transducers with increased stability, *Sensors and Actuators B: Chemical* 187 (2013) 280-287.
- [9] E. Zampetti, L. Maiolo, A. Pecora, F. Maita, S. Pantalei, A. Minotti, A. Valletta, M. Cuscunà, A. Macagnano, G. Fortunato, A. Bearzotti, Flexible sensorial system based on capacitive chemical sensors integrated with readout circuits fully fabricated on ultra thin substrate, *Sensors and Actuators B: Chemical* 155(2) (2011) 768-774.
- [10] P.G. Su, C.T. Lee, C.Y. Chou, Flexible NH₃ sensors fabricated by in situ self-assembly of polypyrrole, *Talanta* 80(2) (2009) 763-9.
- [11] B. Wang, B.K. Lee, M.J. Kwak, D.W. Lee, Graphene/polydimethylsiloxane nanocomposite strain sensor, *The Review of scientific instruments* 84(10) (2013) 105005.
- [12] M.K. Filippidou, E. Tegou, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, A flexible strain sensor made of graphene nanoplatelets/polydimethylsiloxane nanocomposite, *Microelectronic Engineering* 142 (2015) 7-11.
- [13] C. Lee, L. Jug, E. Meng, High strain biocompatible polydimethylsiloxane-based conductive graphene and multiwalled carbon nanotube nanocomposite strain sensors, *Applied Physics Letters* 102(18) (2013) 183511.
- [14] C. Qianwei, S. Tai, S. Xuefen, R. Qincui, Y. Chongsheng, Y. Jun, F. Hua, Y. Leyong, W. Dapeng, Flexible electrochemical biosensors based on graphene nanowalls for the real-time measurement of lactate, *Nanotechnology* 28(31) (2017) 315501.
- [15] C. Li, J. Han, C.H. Ahn, Flexible biosensors on spirally rolled micro tube for cardiovascular in vivo monitoring, *Biosensors and Bioelectronics* 22(9) (2007) 1988-1993.
- [16] H. Shafiee, W. Asghar, F. Inci, M. Yuksekkaya, M. Jahangir, M.H. Zhang, N.G. Durmus, U.A. Gurkan, D.R. Kuritzkes, U. Demirci, Paper and Flexible Substrates as Materials for Biosensing Platforms to Detect Multiple Biotargets, *Scientific reports* 5 (2015) 8719.
- [17] S. Wang, T. Chinnasamy, M.A. Lifson, F. Inci, U. Demirci, Flexible Substrate-Based Devices for Point-of-Care Diagnostics, *Trends in Biotechnology* 34(11) (2016) 909-921.
- [18] K.S. Novoselov, A.K. Geim, S.V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V. Grigorieva, A.A. Firsov, Electric field effect in atomically thin carbon films, *Science* 306(5696) (2004) 666-9.
- [19] A.K.G.A.K.S. NOVOSELOV, The rise of graphene, *Nanomaterials* 6 (2007) 183-191.

- [20] A.K. Geim, K.S. Novoselov, The rise of graphene, *Nat Mater* 6(3) (2007) 183-191.
- [21] Y. Zhu, S. Murali, W. Cai, X. Li, J.W. Suk, J.R. Potts, R.S. Ruoff, Graphene and graphene oxide: synthesis, properties, and applications, *Advanced materials* 22(35) (2010) 3906-24.
- [22] J. Chang, S. Mao, Y. Zhang, S. Cui, G. Zhou, X. Wu, C.-H. Yang, J. Chen, Ultrasonic-assisted self-assembly of monolayer graphene oxide for rapid detection of *Escherichia coli* bacteria, *Nanoscale* 5(9) (2013) 3620-3626.
- [23] Y. Zhu, S. Murali, W. Cai, X. Li, J.W. Suk, J.R. Potts, R.S. Ruoff, Graphene and graphene oxide: Synthesis, properties, and applications, *Advanced Materials* 22(35) (2010) 3906-3924.
- [24] Y. Hu, F. Li, D. Han, L. Niu, Graphene for DNA biosensing, *Biocompatible Graphene for Bioanalytical Applications*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 2015, pp. 11-33.
- [25] Q. He, S. Wu, Z. Yin, H. Zhang, Graphene-based electronic sensors, *Chemical Science* 3(6) (2012) 1764-1772.
- [26] R.S. Edwards, K.S. Coleman, Graphene synthesis: relationship to applications, *Nanoscale* 5(1) (2013) 38-51.
- [27] V. Singh, D. Joung, L. Zhai, S. Das, S.I. Khondaker, S. Seal, Graphene based materials: Past, present and future, *Progress in Materials Science* 56(8) (2011) 1178-1271.
- [28] N. Chauhan, T. Maekawa, D.N.S. Kumar, Graphene based biosensors—Accelerating medical diagnostics to new-dimensions, *Journal of Materials Research* (2017) 1-23.
- [29] P. Avouris, C. Dimitrakopoulos, Graphene: synthesis and applications, *Materials Today* 15(3) (2012) 86-97.
- [30] R. Ruoff, Graphene: Calling all chemists, *Nature nanotechnology* 3 (2008) 10-11.
- [31] B.C. Brodie, On the Atomic Weight of Graphite, *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 149 (1859) 249-259.
- [32] D.R. Dreyer, S. Park, C.W. Bielawski, R.S. Ruoff, The chemistry of graphene oxide, *Chemical Society reviews* 39(1) (2010) 228-40.
- [33] S. Pei, H.-M. Cheng, The reduction of graphene oxide, *Carbon* 50(9) (2012) 3210-3228.
- [34] S. Stankovich, D.A. Dikin, R.D. Piner, K.A. Kohlhaas, A. Kleinhammes, Y. Jia, Y. Wu, S.T. Nguyen, R.S. Ruoff, Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide, *Carbon* 45(7) (2007) 1558-1565.
- [35] <https://www.acsmaterial.com/single-layer-graphene-oxide-water-dispersion-1188.html>.
- [36] A. Lerf, H. He, M. Forster, J. Klinowski, Structure of Graphite Oxide Revisited, *The Journal of Physical Chemistry B* 102(23) (1998) 4477-4482.
- [37] W. Gao, L.B. Alemany, L. Ci, P.M. Ajayan, New insights into the structure and reduction of graphite oxide, *Nat Chem* 1(5) (2009) 403-408.
- [38] B. Shen, D. Lu, W. Zhai, W. Zheng, Synthesis of graphene by low-temperature exfoliation and reduction of graphite oxide under ambient atmosphere, *Journal of Materials Chemistry C* 1(1) (2013) 50-53.
- [39] Z.-l. Wang, D. Xu, Y. Huang, Z. Wu, L.-m. Wang, X.-b. Zhang, Facile, mild and fast thermal-decomposition reduction of graphene oxide in air and its application in high-performance lithium batteries, *Chemical Communications* 48(7) (2012) 976-978.
- [40] A. Ganguly, S. Sharma, P. Papakonstantinou, J. Hamilton, Probing the Thermal Deoxygenation of Graphene Oxide Using High-Resolution In Situ X-ray-Based Spectroscopies, *The Journal of Physical Chemistry C* 115(34) (2011) 17009-17019.
- [41] H.A. Becerril, J. Mao, Z. Liu, R.M. Stoltenberg, Z. Bao, Y. Chen, Evaluation of Solution-Processed Reduced Graphene Oxide Films as Transparent Conductors, *ACS Nano* 2(3) (2008) 463-470.

- [42] W. Lv, D.-M. Tang, Y.-B. He, C.-H. You, Z.-Q. Shi, X.-C. Chen, C.-M. Chen, P.-X. Hou, C. Liu, Q.-H. Yang, Low-Temperature Exfoliated Graphenes: Vacuum-Promoted Exfoliation and Electrochemical Energy Storage, *ACS Nano* 3(11) (2009) 3730-3736.
- [43] A. Kaniyoor, T.T. Baby, S. Ramaprabhu, Graphene synthesis via hydrogen induced low temperature exfoliation of graphite oxide, *Journal of Materials Chemistry* 20(39) (2010) 8467.
- [44] H.-B. Zhang, J.-W. Wang, Q. Yan, W.-G. Zheng, C. Chen, Z.-Z. Yu, Vacuum-assisted synthesis of graphene from thermal exfoliation and reduction of graphite oxide, *Journal of Materials Chemistry* 21(14) (2011) 5392.
- [45] A. Lipatov, A. Varezchnikov, P. Wilson, V. Sysoev, A. Kolmakov, A. Sinitskii, Highly selective gas sensor arrays based on thermally reduced graphene oxide, *Nanoscale* 5(12) (2013) 5426-34.
- [46] H. Chang, Z. Sun, Q. Yuan, F. Ding, X. Tao, F. Yan, Z. Zheng, Thin film field-effect phototransistors from bandgap-tunable, solution-processed, few-layer reduced graphene oxide films, *Advanced materials* 22(43) (2010) 4872-6.
- [47] Z.L. Wang, D. Xu, Y. Huang, Z. Wu, L.M. Wang, X.B. Zhang, Facile, mild and fast thermal-decomposition reduction of graphene oxide in air and its application in high-performance lithium batteries, *Chemical communications* 48(7) (2012) 976-8.
- [48] A.N. Fouda, M.K.A. Assy, G. El Enany, N. Yousf, Enhanced Capacitance of Thermally Reduced Hexagonal Graphene Oxide for High Performance Supercapacitor, *Fullerenes, Nanotubes and Carbon Nanostructures* 23(7) (2014) 618-622.
- [49] H.S. Kim, H.S. Bae, J. Yu, S.Y. Kim, Thermal conductivity of polymer composites with the geometrical characteristics of graphene nanoplatelets, *Scientific Reports* 6 (2016) 26825.
- [50] <https://www.acsmaterial.com/graphene-nanoplatelets-2-10nm-1263.html>.
- [51] Z. Wang, J. Luo, G.L. Zhao, Dielectric and microwave attenuation properties of graphene nanoplatelet-epoxy composites, *AIP Advances* 4(1) (2014) 017139.
- [52] M. Agostini, L.G. Rizzi, G. Cesareo, V. Russo, J. Hassoun, Graphene Nanoplatelets: Characteristics of a Graphene Nanoplatelet Anode in Advanced Lithium-Ion Batteries Using Ionic Liquid Added by a Carbonate Electrolyte (*Adv. Mater. Interfaces* 8/2015), *Advanced Materials Interfaces* 2(8) (2015).
- [53] R. Moriche, A. Jiménez-Suárez, M. Sánchez, S.G. Prolongo, A. Ureña, Graphene nanoplatelets coated glass fibre fabrics as strain sensors, *Composites Science and Technology* 146 (2017) 59-64.
- [54] F. Micciulla, A. Cataldo, S. Bellucci, A. Maffucci, A low-cost gas sensor based on a self-assembled graphene nanoplatelets contact, 2016 IEEE 2nd International Forum on Research and Technologies for Society and Industry Leveraging a better tomorrow (RTSI), 2016, pp. 1-4.
- [55] M. Khan, S. Misra, Z. Wang, E. Daza, A. Schwartz-Duval, J. M. Kus, D. Pan, D. Pan, Paper-Based Analytical Biosensor Chip Designed from Graphene-Nanoplatelet-Amphiphilic-di-block-co-Polymer Composite for Cortisol Detection in Human Saliva, 2017.
- [56] P. Noorunnisa Khanam, M.A. AlMaadeed, M. Ouederni, B. Mayoral, A. Hamilton, D. Sun, Effect of two types of graphene nanoplatelets on the physico-mechanical properties of linear low-density polyethylene composites, *Advanced Manufacturing: Polymer & Composites Science* 2(2) (2016) 67-73.
- [57] A. Oprea, J. Courbat, N. Bârsan, D. Briand, N.F. de Rooij, U. Weimar, Temperature, humidity and gas sensors integrated on plastic foil for low power applications, *Sensors and Actuators B: Chemical* 140(1) (2009) 227-232.
- [58] F. Molina-Lopez, D. Briand, N.F. de Rooij, Inkjet Printing of Interdigitated Capacitive Chemical Sensors with Reduced Size by the Introduction of a Dielectric Interlayer, *Procedia Engineering* 47 (2012) 1173-1176.

- [59] K. Manoli, D. Goustouridis, S. Chatzandroulis, I. Raptis, E.S. Valamontes, M. Sanopoulou, Vapor sorption in thin supported polymer films studied by white light interferometry, *Polymer* 47(17) (2006) 6117-6122.
- [60] M. Kitsara, D. Goustouridis, S. Chatzandroulis, M. Chatzichristidi, I. Raptis, T. Ganetsos, R. Igreja, C. Dias, Single chip interdigitated electrode capacitive chemical sensor arrays, *Sensors and Actuators B: Chemical* 127(1) (2007) 186-192.
- [61] A.V. Quintero, F. Molina-Lopez, E.C.P. Smits, E. Danesh, J. van den Brand, K. Persaud, A. Oprea, N. Barsan, U. Weimar, N.F. de Rooij, D. Briand, Smart RFID label with a printed multisensor platform for environmental monitoring, *Flexible and Printed Electronics* 1(2) (2016) 025003.
- [62] V. Tsouti, C. Boutopoulos, D. Goustouridis, I. Zergioti, P. Normand, D. Tsoukalas, S. Chatzandroulis, A chemical sensor microarray realized by laser printing of polymers, *Sensors and Actuators B: Chemical* 150(1) (2010) 148-153.
- [63] M.F. Mabrook, C. Pearson, M.C. Petty, Inkjet-printed polypyrrole thin films for vapour sensing, *Sensors and Actuators B: Chemical* 115(1) (2006) 547-551.
- [64] A.T. Eric Starke, Marion Schneider, and Wolf-Joachim Fischer, Setup and Properties of a fully Inkjet Printed Humidity Sensor on PET Substrate, *IEEE* (2012).
- [65] C. Yu, X. Chang, J. Liu, L. Ding, J. Peng, Y. Fang, Creation of Reduced Graphene Oxide Based Field Effect Transistors and Their Utilization in the Detection and Discrimination of Nucleoside Triphosphates, *ACS Applied Materials & Interfaces* 7(20) (2015) 10718-10726.
- [66] J. Meihua, J. Hae-Kyung, Y. Woo Jong, B. Dong Jae, K. Bo Ram, L. Young Hee, Graphene oxide thin film field effect transistors without reduction, *Journal of Physics D: Applied Physics* 42(13) (2009) 135109.
- [67] F. Schwierz, Graphene Transistors: Status, Prospects, and Problems, *Proceedings of the IEEE* 101(7) (2013) 1567-1584.
- [68] F. Schwierz, Graphene transistors, *Nature Nanotechnology* 5 (2010) 487.
- [69] B. Cai, S. Wang, L. Huang, Y. Ning, Z. Zhang, G.-J. Zhang, Ultrasensitive Label-Free Detection of PNA–DNA Hybridization by Reduced Graphene Oxide Field-Effect Transistor Biosensor, *ACS Nano* 8(3) (2014) 2632-2638.
- [70] N.D.K. Tu, J. Choi, C.R. Park, H. Kim, Remarkable Conversion Between n- and p-Type Reduced Graphene Oxide on Varying the Thermal Annealing Temperature, *Chemistry of Materials* 27(21) (2015) 7362-7369.
- [71] G. Lu, L.E. Ocola, J. Chen, Gas detection using low-temperature reduced graphene oxide sheets, *Applied Physics Letters* 94(8) (2009) 083111.
- [72] L. Stryer, «Βιοχημεία» Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης 29 (1997).
- [73] A.B. H. Lodish, C. Kaiser, M. Krieger, M. Scott, A. Bretscher, H. Ploegh, P. Matsudaira,, “Molecular Cell Biology”, Freeman New York 6th edition (2008).
- [74] J.D. Watson, F.H.C. Crick, Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid, *Nature* 171 (1953) 737.
- [75] J.L.T. J.M. Berg, J. Gregory J. Gatto, L. Stryer, , *Biochemistry*,, W.H. Freeman, New York, 8th ed (2015).
- [76] Π.Κατινάκης, Βιοχημεία, EMBPYO 1η (2004).
- [77] K.B. Mullis, The unusual origin of the polymerase chain reaction, *Scientific American* 262(4) (1990) 56-61.
- [78] A.M.a.B.G.C. Christian D. Ahrberg, Polymerase chain reaction in microfluidic devices, *Lab Chip* 16 (2016) 3866-3884.
- [79] S. Petralia, R. Verardo, E. Klaric, S. Cavallaro, E. Alessi, C. Schneider, In-Check system: A highly integrated silicon Lab-on-Chip for sample preparation, PCR amplification

and microarray detection of nucleic acids directly from biological samples, *Sensors and Actuators B: Chemical* 187 (2013) 99-105.

[80] T.M.-H. Lee, M.C. Carles, I.M. Hsing, Microfabricated PCR-electrochemical device for simultaneous DNA amplification and detection, *Lab on a Chip* 3(2) (2003) 100-105.

[81] J.-G. Lee, K.H. Cheong, N. Huh, S. Kim, J.-W. Choi, C. Ko, Microchip-based one step DNA extraction and real-time PCR in one chamber for rapid pathogen identification, *Lab on a Chip* 6(7) (2006) 886-895.

[82] R.K. Daher, G. Stewart, M. Boissinot, M.G. Bergeron, Recombinase Polymerase Amplification for Diagnostic Applications, *Clinical Chemistry* 62(7) (2016) 947-958.

[83] G. HUANG, X. YANG, J. ZHU, S. XU, C. DENG, C. HAN, DETECTION AND APPLICATION OF MICROFLUIDIC ISOTHERMAL AMPLIFICATION ON CHIP, *Journal of Innovative Optical Health Sciences* 01(02) (2008) 257-265.

[84] P. Craw, W. Balachandran, Isothermal nucleic acid amplification technologies for point-of-care diagnostics: a critical review, *Lab on a Chip* 12(14) (2012) 2469-2486.

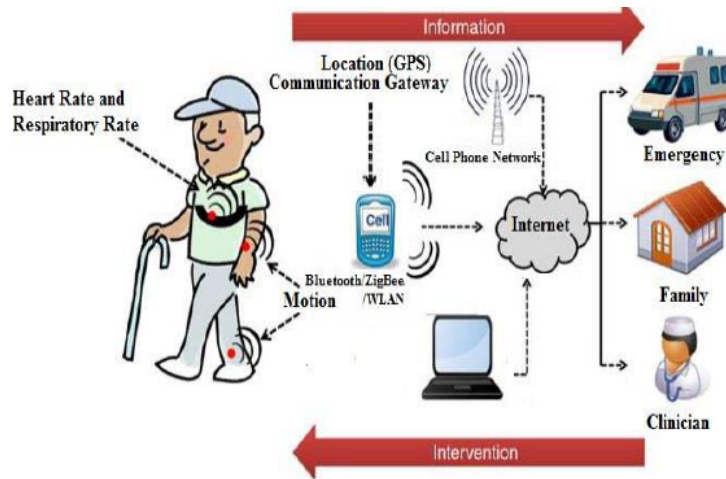
[85] Y.V. Stebunov, O.A. Aftenieva, A.V. Arsenin, V.S. Volkov, Highly Sensitive and Selective Sensor Chips with Graphene-Oxide Linking Layer, *ACS applied materials & interfaces* 7(39) (2015) 21727-21734.

Κεφάλαιο 2: Βιβλιογραφική επισκόπηση στους αισθητήρες σε πλαστικά υποστρώματα

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζεται η βιβλιογραφική επισκόπηση της «τεχνολογικής προόδου» των αισθητήρων σε πλαστικά υποστρώματα. Αναλυτικότερα, παρουσιάζεται ένα μεγάλο εύρος διατάξεων που έχουν κατασκευαστεί σε πλαστικά υποστρώματα με εφαρμογές σε αισθητήρες παραμόρφωσης, χημικούς αισθητήρες και βιοαισθητήρες. Επιπλέον, η βιβλιογραφία που παρουσιάζεται αφορά αισθητήρες που έχουν κατασκευαστεί με συναφή υλικά με αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στη διατριβή, όπως για παράδειγμα υλικά από την οικογένεια του γραφενίου (π.χ. οξειδίο του γραφενίου) αλλά και χημικά ευαίσθητα στρώματα πολυμερών.

2.1 Εύκαμπτοι αισθητήρες

Οι εύκαμπτοι αισθητήρες λόγω των πλεονεκτημάτων που προσφέρουν και τα πολλά πεδία εφαρμογής τους έχουν συγκεντρώσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητικών ομάδων αλλά και εταιρειών. Ωστόσο, η επιτυχία αυτών των αισθητήρων ήταν ένα μείγμα προόδου όσο και αποτυχημένων προσπαθειών κατά την εξέλιξη τους. Οι περισσότεροι από αυτούς είναι προσαρμογές υφιστάμενων μηχανικών, ηλεκτρικών και οπτικών αισθητήρων. Πιο συγκεκριμένα, οι προσαρμογές αυτές αφορούν κυρίως καινοτομίες στον τρόπο κατασκευής και χρήσης νέων υλικών που βελτιώνουν τις ιδιότητες των αισθητήρων. Στην Εικόνα 2.1 παρουσιάζεται ένα παράδειγμα εύκαμπτου βιοαισθητήρα που τοποθετείται στο δέρμα ή στον ιστό και παρέχει μια νέα ευκαιρία για ιατρική διάγνωση και θεραπεία. Στη συνέχεια, παρατίθενται κάποια αντιπροσωπευτικά παραδείγματα για αισθητήρες παραμόρφωσης, χημικούς και βιολογικούς αισθητήρες σε πλαστικά υποστρώματα.



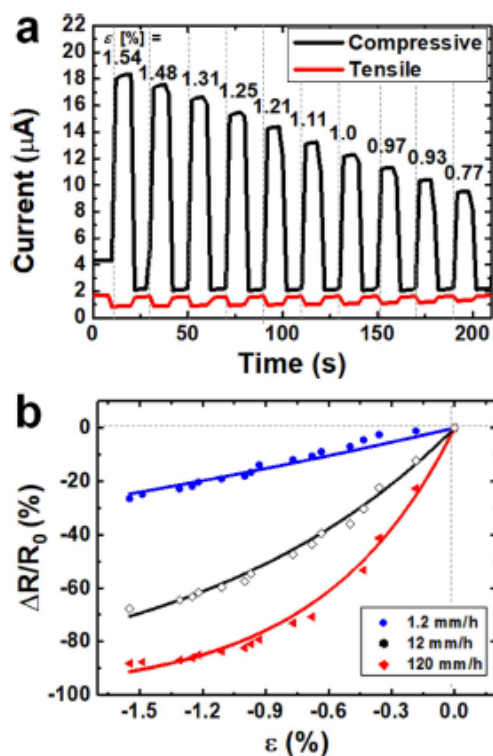
Εικόνα 2.1. Σχηματική αναπαράσταση της χρήσης εύκαμπτων, ασύρματων αισθητήρων που μπορούν να φορεθούν στην παρακολούθηση φυσιολογικών παραμέτρων [1].

2.2 Αισθητήρες παραμόρφωσης

Οι αισθητήρες παραμόρφωσης βρίσκουν εφαρμογή σε πολλούς τομείς της καθημερινής μας ζωής. Μερικοί από τους κυριότερους τομείς εφαρμογής είναι η βιοιατρική [2], η αεροπορία και η αυτοκινητοβιομηχανία [3]. Πιο συγκεκριμένα αυτού του είδους οι αισθητήρες χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση μιας μηχανικής παραμόρφωσης λόγω ενός εφαρμοζόμενου φορτίου ή για την μετατροπή της ανθρώπινης κίνησης σε σήμα [4]. Ανάλογα με την αρχή λειτουργίας οι αισθητήρες παραμόρφωσης ταξινομούνται σε αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου αντίστασης και σε αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας. Αυτοί οι τύποι των αισθητήρων αναλύονται και πιο διεξοδικά και παρακάτω.

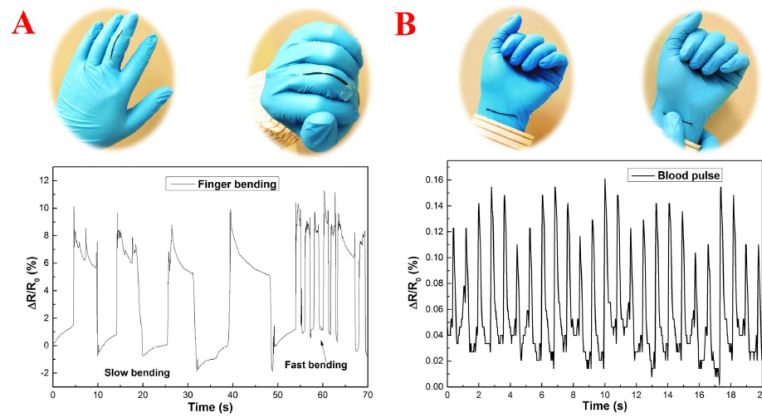
2.2.1 Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου αντίστασης

Στις περισσότερες περιπτώσεις οι αισθητήρες παραμόρφωσης κατασκευάζονται με τέτοιο τρόπο ώστε το σήμα το οποίο λαμβάνεται να μετατρέπεται σε αντίσταση [5-9]. Για παράδειγμα, οι Do Hoon et al. [10] κατασκεύασαν έναν εύκαμπτο αισθητήρα από νανοσωματίδια (NPs) οξειδίου του ινδίου που είχαν προσμίξεις από κασσίτερο (ITO). Ο αισθητήρας είχε υψηλή οπτική διαπερατότητα, μέχρι ~ 93% σε μήκος κύματος 500 nm, που είναι επιθυμητή για εύκαμπτες ηλεκτρονικές εφαρμογές, ενώ ο συντελεστής ευαισθησίας του αισθητήρα κυμαινόταν από 18 έως 157, με τις τιμές αυτές να είναι όπως αναφέρουν πολύ υψηλότερες από περιπτώσεις αισθητήρων με μεταλλικά νανοσωματίδια χρυσού ή χρωμίου.



Εικόνα 2.2. Η απόκριση του αισθητήρα σε πραγματικό χρόνο: **(α)** μετά από συμπίεση και εφελκυσμό και **(β)** μετά από εγκάρσια κάμψη [10].

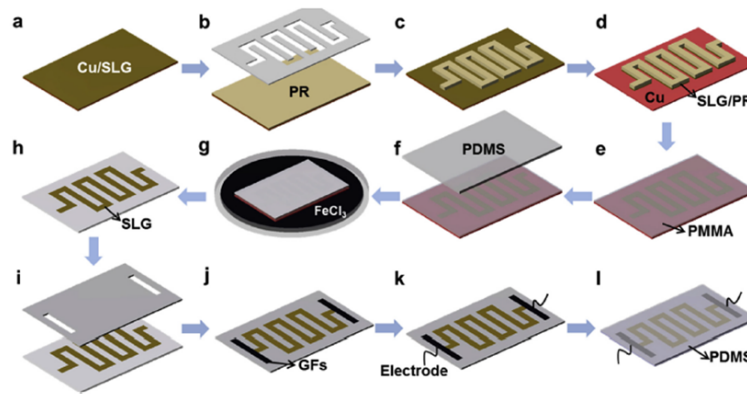
Τα τελευταία χρόνια, τα υλικά από την οικογένεια του άνθρακα έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή αισθητήρων παραμόρφωσης [11-13] με εφαρμογή σε φορητά ηλεκτρονικά συστήματα για την παρακολούθηση της ανθρώπινης κίνησης [14], σε συσκευές παρακολούθησης της υγείας (point of care device) αλλά και σε συστήματα εικονικής πραγματικότητας (VR) [15]. Για παράδειγμα, οι Li et al. [14], κατασκεύασαν έναν αισθητήρα παραμόρφωσης σε μορφή σύρματος ενσωματώνοντας αγωγίμο άνθρακα (CT) σε ελαστομερές πολυδιμεθυλοσιλοξάνης (PDMS) (Εικόνα 2.3). Οι συντελεστές ευαισθησίας (GF) που αναφέρθηκαν για τον αισθητήρα αυτό ήταν: για μικρές παραμορφώσεις (0-4%) 8.7 και για μεγάλες παραμορφώσεις (8-10%) 18.5, τιμές που είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές του μεταλλικού αισθητήρα παραμόρφωσης (περίπου 2). Επιπλέον, ο αισθητήρας CT / PDMS εμφάνισε εξαιρετική απόκριση σε κυκλική εφελκυστική παραμόρφωση (0-10%) έως και 2000 κύκλους μετρήσεων.



(α)

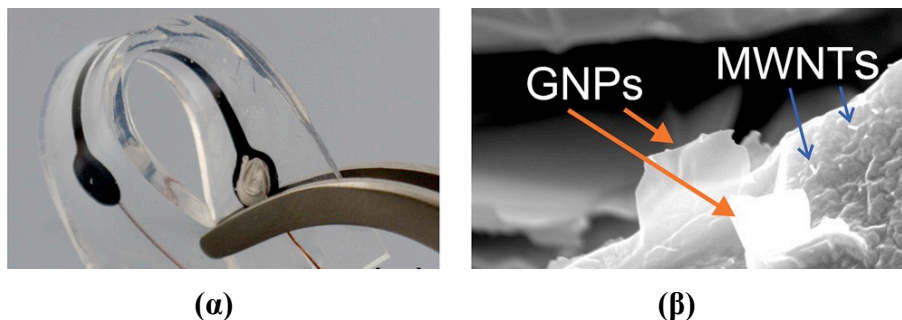
Εικόνα 2.3. Εφαρμογή του αισθητήρα τύπου σύρματος για την καταγραφή: (Α) της κίνησης του δακτύλου και (Β) των αρτηριακών παλμών [14].

Ένα από τα υλικά της οικογένειας του άνθρακα που χρησιμοποιείται ευρέως για την κατασκευή αισθητήρων είναι το γραφένιο. Οι αισθητήρες παραμόρφωσης με βάση το γραφένιο επιδεικνύουν εξαιρετική απόκριση, αναστρεψιμότητα, αλλά και καλή επαναληψιμότητα και γραμμικότητα [13]. Κατά συνέπεια οι αισθητήρες γραφενίου που παρουσιάζονται έχουν αυξηθεί τα τελευταία χρόνια. Ένας εύκαμπτος αισθητήρας παραμόρφωσης σε υπόστρωμα PDMS με το κανάλι ανίχνευσης και το ηλεκτρόδιο επαφής να αποτελείται από γραφένιο κατασκευάστηκε με τον τρόπο που παρουσιάζεται στην Εικόνα 2.4 από τους S. Chun et al. [12]. Ο αισθητήρας μπορεί να εντοπίσει απειροελάχιστη παραμόρφωση μόλις 0,1% με μια σχετική αλλαγή στην αντίσταση της τάξης $\sim 0,005$. Ο αισθητήρας δοκιμάστηκε και σε διαφορετικού είδους παραμορφώσεις (εφελκυσμό, κάμψη, στρέψη) έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί μελλοντικά ως αισθητήρας που ανιχνεύει τις κινήσεις του ανθρώπινου σώματος σε τεχνητό δέρμα.



Εικόνα 2.4. Σχηματική αναπαράσταση των βημάτων που ακολουθούνται για την κατασκευή του αισθητήρα παραμόρφωσης τύπου αντίστασης όπως παρουσιάστηκε από τους από τους S. Chun et al. [12].

Τέλος, στην Εικόνα 2.5 παρουσιάζεται ένας αισθητήρας παραμόρφωσης τύπου αντίστασης ο οποίος έχει κατασκευαστεί από multi-walled carbon nanotube ή/και graphene nanoplatelets, ενώ η πολυμερική μήτρα πολυδιμεθυλοσιλοξάνης (PDMS) στην οποία εισάγεται το αγώγιμο υλικό αποτελεί ταυτόχρονα και το εύκαμπτο υπόστρωμα [7].



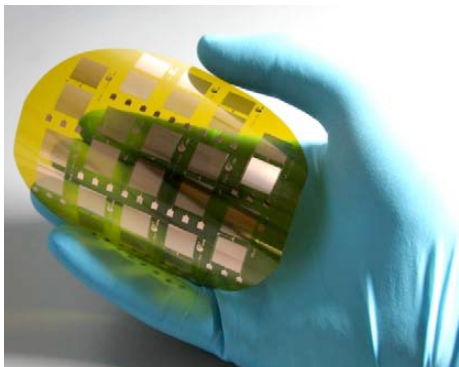
Εικόνα 2.5. (α) Απεικόνιση του αισθητήρα παραμόρφωσης από MWNT/GNP. **(β)** Διατομή του αισθητήρα παραμόρφωσης από μικροσκόπιο SEM όπου διακρίνεται το αγώγιμο υλικό (MWNT/GNP). Τα GNPs έχουν την μορφή νιφάδων (πορτοκαλί βέλη), ενώ τα MWNTs μοιάζουν με στερεές λευκές κουκίδες (μπλε βέλη) [7].

Ωστόσο, αυτή η κατηγορία αισθητήρων παραμόρφωσης παρουσιάζει μειονεκτήματα, όπως: εξάρτηση της απόδοσης του αισθητήρα από τη θερμοκρασία και μεγάλη υστέρηση [16]. Κατά συνέπεια, η κατασκευή αισθητήρων παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας όπως θα δούμε και στην επόμενη παράγραφο κέρδισε έδαφος, αφού οι αισθητήρες τύπου χωρητικότητας δεν

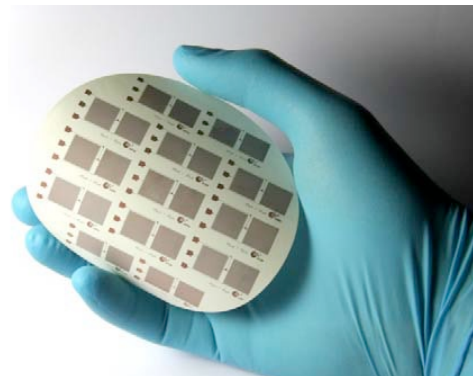
επηρεάζονται σημαντικά από τις μεταβολές της θερμοκρασίας και έχουν μικρότερη υστέρηση [16].

2.2.2 Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας

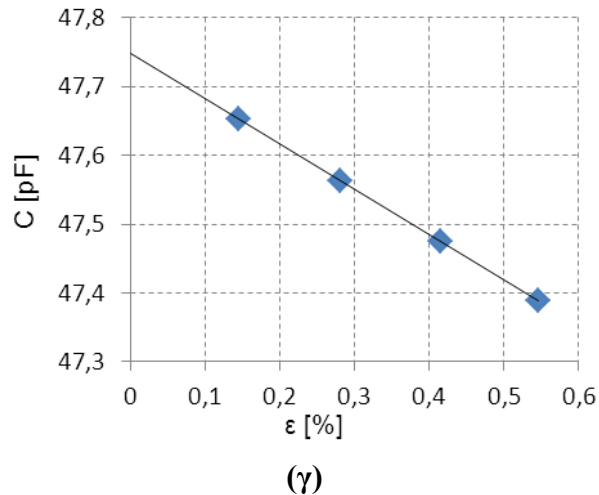
Τα είδη των αισθητήρων παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας που αναφέρονται στη βιβλιογραφία ποικίλουν. Πολλοί είναι αυτοί οι οποίοι κατασκεύασαν ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια για να ανιχνεύσουν κάποια παραμόρφωση [3, 16, 17]. Για παράδειγμα, οι Zeiser et al. [17] κατασκεύασαν ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια χαλκού χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα πολυϊμίδιο και υγρό κρυσταλλικό πολυμερές (liquid crystal polymer). Ο λόγος που χρησιμοποίησαν διαφορετικά υποστρώματα ήταν διότι ήθελαν να μελετήσουν την επίδραση του υλικού του υποστρώματος και τις διηλεκτρικές ιδιότητες του υποστρώματος στη λειτουργία του αισθητήρα. Στην Εικόνα 2.6 απεικονίζεται η τελική δομή των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα πολυϊμίδιο (α) και υγρό κρυσταλλικό πολυμερές (β), ενώ στην Εικόνα 2.6 (γ) παρουσιάζεται ο τρόπος με τον οποίο μεταβάλλεται η χωρητικότητα του αισθητήρα που κατασκευάστηκε επάνω σε πολυϊμίδιο συναρτήσει της παραμόρφωσης.



(α)

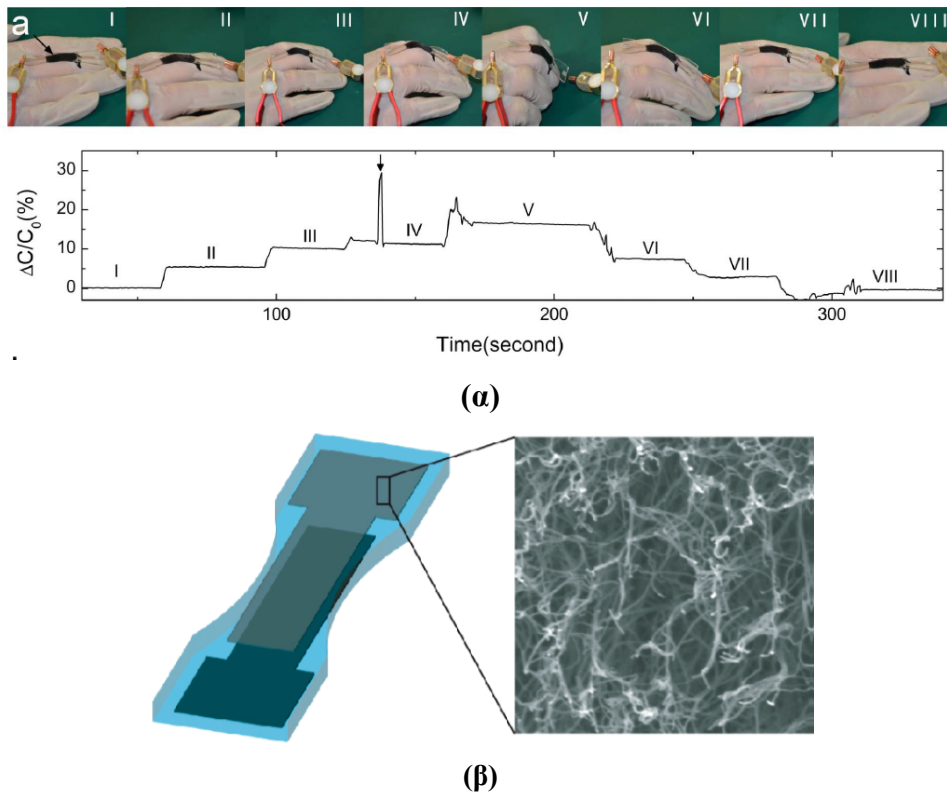


(β)



Εικόνα 2.6. Απεικόνιση των αισθητήριων στοιχείων επάνω σε: **(α)** πολυϊμίδιο και **(β)** σε liquid crystal polymer. **(γ)** Μεταβολή της χωρητικότητας του αισθητήρα που κατασκευάστηκε σε πολυϊμίδιο σε σχέση με την παραμόρφωση.

Στη συνέχεια παρουσιάζεται ένας αισθητήρας παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοσωλήνες άνθρακα ο οποίος κατασκευάζεται εναποθέτοντας στην πάνω και στην κάτω πλευρά ενός PDMS υποστρώματος τους νανοσωλήνες άνθρακα (Εικόνα 2.7α). Ο συγκεκριμένος αισθητήρας μπορεί να ανιχνεύσει παραμορφώσεις μέχρι και 300%, με εξαιρετική αντοχή ακόμα και μετά από χιλιάδες κύκλους. Επιπλέον, ο αισθητήρας παρουσιάζει γραμμική απόκριση με συντελεστή ευαισθησίας πολύ κοντά στην προβλεπόμενη κατάσταση ($GF=1$) [18]. Έναν παρόμοιο αισθητήρα παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας με ηλεκτρόδια από νανοσωλήνες άνθρακα τα οποία διαχωρίζονται από ένα ελαστομερές κατασκεύασαν και οι D.J. Cohen et al. [19]. Ο συγκεκριμένος αισθητήρας παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά για χιλιάδες κύκλους παραμόρφωση εύρους 100%, ενώ ο συντελεστής ευαισθησίας είναι 0.99 (Εικόνα 2.7β).



Εικόνα 2.7. (α) Εφαρμογή του αισθητήρα παραμόρφωσης για την ανίχνευση της ανθρώπινης κίνησης: (πάνω) όταν το δάκτυλο λυγίζει (I–V) και (κάτω) όταν τεντώνεται (VI–VIII) [18]. **(β)** Αισθητήρας παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοσωλήνες άνθρακα. Δεξιά: σχηματική αναπαράσταση της διάταξης και αριστερά: απεικόνιση της μορφολογία του αγωγικού δικτύου που σχηματίζουν οι νανοσωλήνες [19].

Λόγω των πλεονεκτημάτων που διαθέτουν οι αισθητήρες τύπου χωρητικότητας επιλέξαμε και εμείς να κατασκευάσουμε αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας, χρησιμοποιώντας νέα νανοϋλικά (όπως, graphene nanoplatelets) ώστε να εμφανίζουν βελτιστοποιημένη απόκριση. Ο αισθητήρας αυτός παρουσιάζεται στο Κεφάλαιο 3.

2.3 Χημικοί αισθητήρες

Η δεύτερη κατηγορία αισθητήρων που παρουσιάζεται είναι αυτή των χημικών αισθητήρων. Καθώς αυξάνεται η ανάγκη για ταχεία ανίχνευση αερίων αλλά και ποσοτική διάκριση των χημικών ειδών: στην παρακολούθηση του περιβάλλοντος (environmental monitoring), στην υγειονομική περίθαλψη (healthcare), στην ασφάλεια της εργασίας (work safety) ή στις

εφαρμογές ποιότητας τροφίμων (food quality applications) οι χημικοί αισθητήρες γίνονται όλο και πιο απαραίτητοι [20-23]. Τα φυτοφάρμακα, τα ζιζανιοκτόνα και χημικές ουσίες όπως: το υδροχλώριο (hydrogen chloride, HCl), το υδρόθειο (hydrogen sulfide, H₂S), η αμμωνία (ammonia, NH₃), η υγρασία (humidity), το μονοξείδιο του άνθρακα (carbon monoxide, CO), το διοξείδιο του άνθρακα (carbon dioxide, CO₂) και τα οξείδια του αζώτου (oxides of nitrogen, NO_x), αποτελούν απειλή τόσο για το περιβάλλον όσο και για τον άνθρωπο και η ανίχνευση τους απαραίτητη [24].

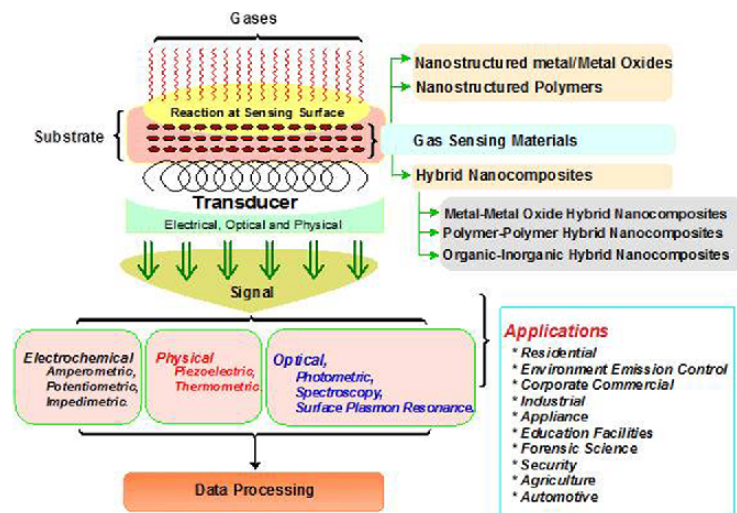
Ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους, η οποία βασίζεται σε ένα εύρος φυσικοχημικών φαινομένων, οι χημικοί αισθητήρες ταξινομούνται σε διάφορες κατηγορίες [25-27]. Οι πιο συνηθισμένοι τύποι χημικών αισθητήρων είναι:

Οι **ηλεκτροχημικοί αισθητήρες** που περιλαμβάνουν τους: α) αμπερομετρικούς (amperometric device) στους οποίους το ρεύμα μετριέται σε DC ή AC, β) ποτενσιομετρικούς (potentiometric sensors) στους οποίους το δυναμικό του ηλεκτροδίου δείκτη μετριέται σε σχέση με ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς, γ) αισθητήρες τύπου αντίστασης (resistive), στους οποίους η απόκριση βασίζεται σε αλλαγές της αντίστασης και δ) αισθητήρες τύπου χωρητικότητας (capacitive), όπου αλλάζει η χωρητικότητα της διάταξης.

Οι **αισθητήρες μάζας** που είναι διατάξεις οι οποίες αποτελούνται από μια ειδικά τροποποιημένη επιφάνεια και μετατρέπουν την μεταβολή της μάζας, που οφείλεται στη συσσώρευση της αναλυόμενης ουσίας, σε μετρήσιμη ποσότητα. Τέτοιου είδους αισθητήρες είναι οι: α) *πιεζοηλεκτρικοί* (piezoelectric devices), όπου βασίζονται στην μέτρηση της αλλαγής της συχνότητας του ταλαντωτή από χαλαζία που προκαλείται από την προσρόφηση μιας ποσότητας του αναλύτη στον ταλαντωτή και β) *διατάξεις επιφανειακών ακουστικών κυμάτων* (surface acoustic wave devices), οι οποίοι εξαρτώνται από την μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης ενός παραγόμενου ακουστικού κύματος από την εναπόθεση μίας συγκεκριμένης ποσότητας του αναλύτη.

Οι **οπτικοί αισθητήρες** οι οποίοι ανιχνεύουν οπτικές αλλαγές που είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του αναλύτη και του ευαίσθητου στρώματος. Αυτή η κατηγορία χωρίζεται στις παρακάτω υποκατηγορίες: α) *απορρόφησης* (absorbance) όπου μετριέται η απορροφητικότητα του ίδιου του αναλύτη ή της αντίδρασης του με κάποιο κατάλληλο δείκτη (πραγματοποιείται σε ένα διαφανές μέσο), β) *φθορισμού* (fluorescence) όπου χρησιμοποιείται κάποια επισημασμένη ουσία και μετριέται η εκπομπή ακτινοβολίας, γ) *ανάκλασης* (reflectance) όπου μετριέται η

ανακλαστικότητα κάποιου ακινητοποιημένου δείκτη και δ) σε αισθητήρες που βασίζονται στο δείκτη διάθλασης (refractive index) και η μέτρηση είναι αποτέλεσμα της μεταβολής της σύνθεσης του διαλύματος ή της πόλωση του φωτός.

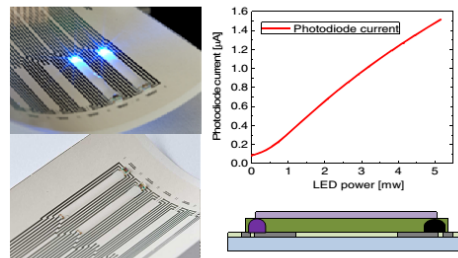


Εικόνα 2.8. Σχηματική αναπαράσταση των τμημάτων ενός χημικού αισθητήρα. Επιπλέον, απεικονίζονται τα διάφορα είδη χημικών αισθητήρων (π.χ. ηλεκτροχημικοί) και τα πεδία στα οποία εφαρμόζονται [28].

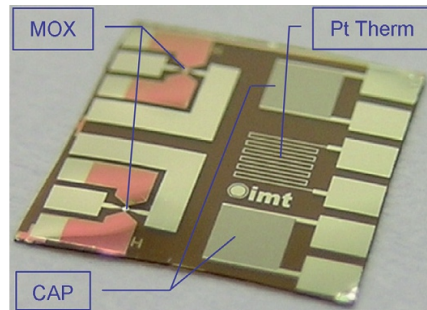
2.3.1 Χημικοί αισθητήρες σε εύκαμπτα υποστρώματα

Μερικά παραδείγματα εύκαμπτων χημικών αισθητήρων που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση διάφορων ατμών αναλυτών περιγράφονται παρακάτω. Για παράδειγμα οι J Juan Diego Arias Espinoza et al. [29] κατασκεύασαν έναν οπτικό αισθητήρα, χρησιμοποιώντας ως υπόστρωμα χαρτί ή PET για να ανιχνεύσουν ατμοσφαιρικούς ρύπους (Εικόνα 2.9α). Με το μηχανισμό ανίχνευσης να βασίζεται στις μεταβολές του φθορισμού κατάφεραν να ανιχνεύσουν ατμοσφαιρικούς ρύπους όπως: βενζόλιο, τολουόλιο και ξυλόλιο (benzene, toluene και xylenes). Οι A Vásquez Quintero et al. [30] κατάφεραν και ανίχνευσαν την υγρασία μέσω ενός αισθητήρα τύπου χωρητικότητας και την αμμωνία χρησιμοποιώντας αισθητήρες τύπου αντίστασης σε PEN υποστρώματα. Επίσης, οι Coubat et al. [31] κατασκεύασαν μια συστοιχία αισθητήρων σε υπόστρωμα πολυϊμιδίου που περιλάμβανε αισθητήρες πολυμερών τύπου χωρητικότητας και αισθητήρες τύπου αντίστασης από οξειδία μετάλλων (metal oxide, MOX) για την ανίχνευση υγρασίας, CO και αιθανόλης (Εικόνα 2.9β). Τέλος, οι Kim et al. κατασκεύασαν έναν χημικό

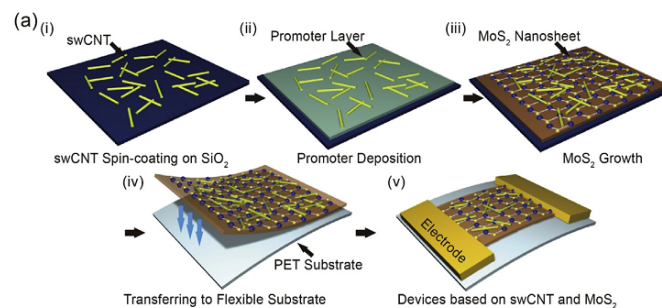
αισθητήρα από θειούχου μολυβδαίνιο (molybdenum disulfide nanosheets, MoS₂) και single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) πάνω σε PET υπόστρωμα για την ανίχνευση NO₂ και NH₃ (Εικόνα 2.9γ) [32].



(α)



(β)



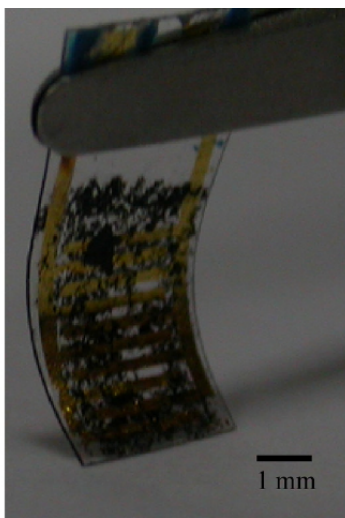
(γ)

Εικόνα 2.9. (α) Φωτογραφία του εύκαμπτου οπτικού αισθητήρα σε χαρτί για την ανίχνευση βενζόλιου, τολουόλιου και ξυλόλιου. Επιπλέον, παρουσιάζονται: η απόκριση της φωτοδιόδου του αισθητήρα και η σχηματική αναπαράσταση της τομής της διάταξης [29]. (β) Η συστοιχία των αισθητήρων (τύπου χωρητικότητας και αντίστασης) για την ανίχνευση υγρασίας, CO και αιθανόλης [31]. (γ) Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου κατασκευής του εύκαμπτου χημικού αισθητήρα από MoS₂ και SWCNTs [32].

2.3.2 Χημικοί αισθητήρες γραφενίου σε εύκαμπτα υποστρώματα

Τα υλικά με βάση το γραφένιο χρησιμοποιούνται σε αισθητήρες, είτε για τη χημική ανίχνευση ενός αναλύτη είτε για την ανίχνευση βιοδεικτών [33, 34]. Για παράδειγμα το γραφένιο έχει χρησιμοποιηθεί στην κατασκευή εύκαμπτων αισθητήρων αερίων για την ανίχνευση διαφόρων επικίνδυνων αερίων, όπως διοξείδιο του αζώτου (NO_2), αμμωνία (NH_3), υδρογόνο (H_2), υδρόθειο (H_2S), διοξείδιο του άνθρακα (CO_2) αλλά και υγρασίας. Επιπλέον, οι αισθητήρες γραφενίου έχουν εφαρμογή στην ανίχνευση τοξικών ιόντων βαρέων μετάλλων (Cd, Hg, Pb, Cr, Fe, Ni, Co, Cu, Ag) και άλλων πτητικών οργανικών ενώσεων (VOC) όπως ακετόνη, φορμαλδεΰδη, αμίνες, φαινόλες, διφαινόλη Α (BPA), αλλά και περιβαλλοντικούς ρύπους.

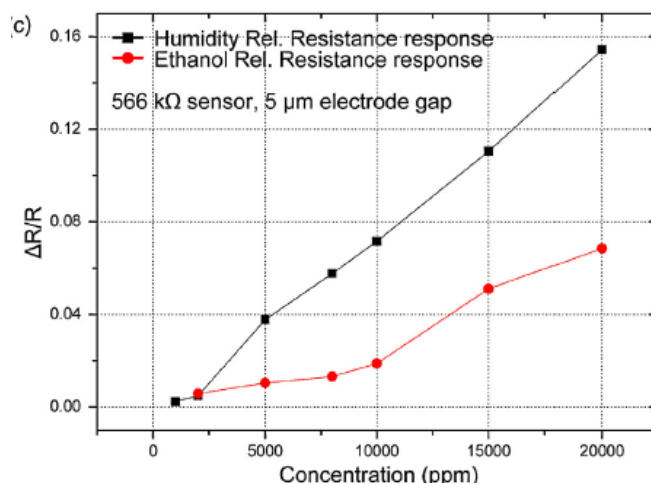
Πιο συγκεκριμένα, οι αισθητήρες υγρασίας διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές εφαρμογές μέτρησης, όπως η μετεωρολογία, η γεωργία, ο βιομηχανικός έλεγχος και τα ιατρικά όργανα [35-37]. Για παράδειγμα οι Su et al. [38] κατασκεύασαν έναν εύκαμπτο αισθητήρα οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση υγρασίας. Η διαδικασία κατασκευής περιλαμβάνει: α) την κατασκευή ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρυσού πάνω σε PET υπόστρωμα, β) την εμφάνιση τους στο διάλυμα του GO και γ) την αναγωγή του GO με εμφάνιση των διατάξεων σε υδατικό διάλυμα NaBH_4 και θέρμανση στους 80°C .



Εικόνα 2.10. Φωτογραφία του εύκαμπτου GO αισθητήρα υγρασίας ο οποίος έχει κατασκευαστεί πάνω σε PET υπόστρωμα [38].

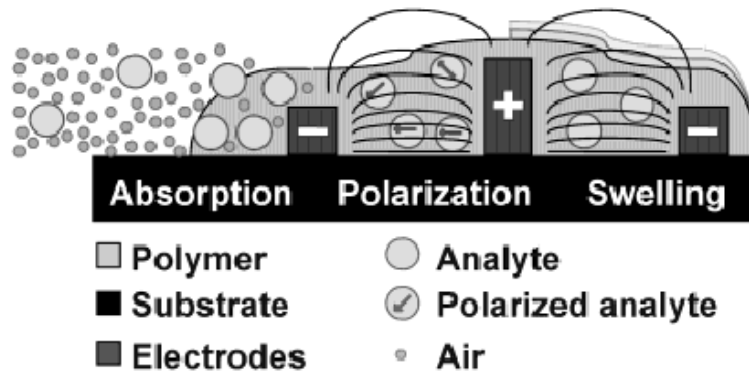
2.3.3 Χημικοί αισθητήρες με πολυμερικό ευαίσθητο στρώμα

Τα πολυμερή λόγω της ιδιότητάς τους να διογκώνονται κατά την αλληλεπίδραση τους με τα μόρια του αναλύτη αποτελούν μια ευρέως χρησιμοποιούμενη κατηγορία υλικών για την κατασκευή του ευαίσθητου στρώματος ενός χημικού αισθητήρα [39]. Για παράδειγμα οι Skotadis et al. [40] χρησιμοποίησαν το πολυϊμίδιο ως υπόστρωμα για την κατασκευή ενός χημικού αισθητήρα νανοσωματιδίων πλατίνας πάνω στα οποία εναποτέθηκε το PHEMA πολυμερές για την ανίχνευση διαφόρων ατμών αναλυτών. Η απόκριση του αισθητήρα φαίνεται στην Εικόνα 2.11.



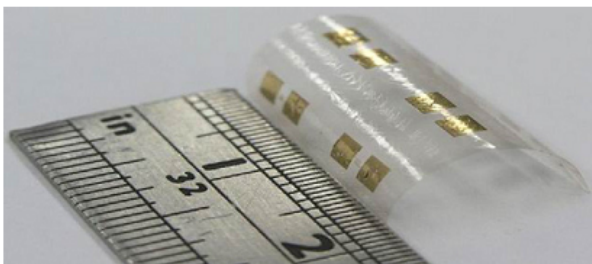
Εικόνα 2.11. Η σχετική μεταβολή της αντίστασης κατά την έκθεση του αισθητήρα σε υγρασία και ατμούς αιθανόλης [40].

Οι απαιτήσεις όμως για μικρή κατανάλωση ισχύος και εύχρηστου ηλεκτρονικού κυκλώματος ανίχνευσης έχουν οδηγήσει στην κατασκευή αισθητήρων τύπου χωρητικότητας [22, 25, 41, 42]. Η λειτουργία τους βασίζεται στην αλληλεπίδραση του πολυμερούς με τα μόρια του αναλύτη, η οποία έχει ως αποτέλεσμα: α) είτε την αλλαγή του όγκου του ευαίσθητου στρώματος (διόγκωση), καθώς τα μόρια αναλύτη απορροφούνται μέσα στο στρώμα, β) είτε την αλλαγή της διηλεκτρικής σταθεράς, γ) είτε την αλλαγή και των δυο αυτών όρων, που συμβάλλουν στην αλλαγή της χωρητικότητας του αισθητήρα (Εικόνα 2.12) [39, 43].

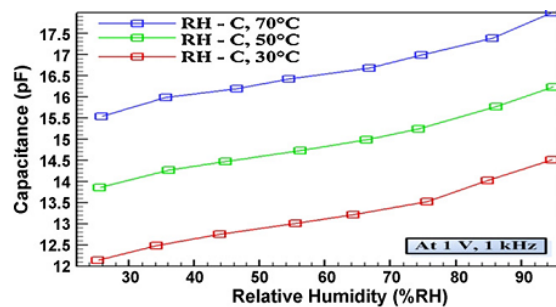


Εικόνα 2.12. Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας των χημικών αισθητήρων πολυμερών με ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια (+, -) τύπου χωρητικότητας στην οποία παρουσιάζονται η απορρόφηση των ατμών του αναλύτη και οι δυο παράγοντες που επηρεάζουν τη χωρητικότητα του αισθητήρα: η μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς (αριστερά) και η διόγκωση (δεξιά). Οι μεγάλες και οι μικρές σφαίρες αντιπροσωπεύουν τα μόρια του αναλύτη και του αέρα αντίστοιχα [44].

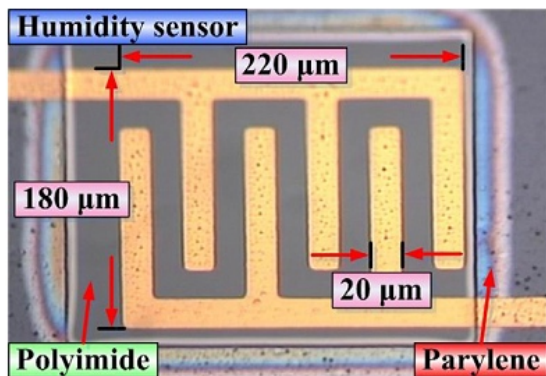
Τέτοιου είδους αισθητήρες κατασκεύασαν οι Lee et al. [25] για την ανίχνευση υγρασίας. Πιο συγκεκριμένα, κατασκεύασαν πάνω σε παρυλένιο αισθητήρες ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων τύπου χωρητικότητας τοποθετώντας πάνω τους ένα φιλμ πολυϊμιδίου (Εικόνα 2.13α, β, γ). Επίσης, οι Reddy et al. [45] κατασκεύασαν αισθητήρες υγρασίας πάνω σε PET υπόστρωμα με το ευαίσθητο στρώμα να είναι το PMMA (Εικόνα 2.13δ).



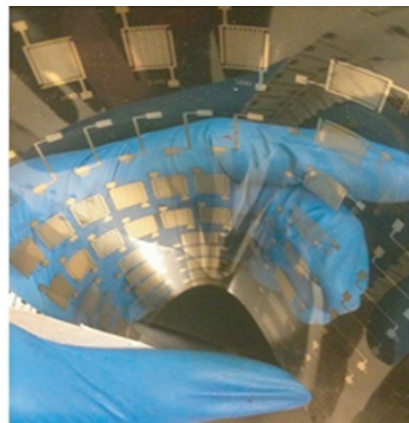
(α)



(β)



(γ)



(δ)

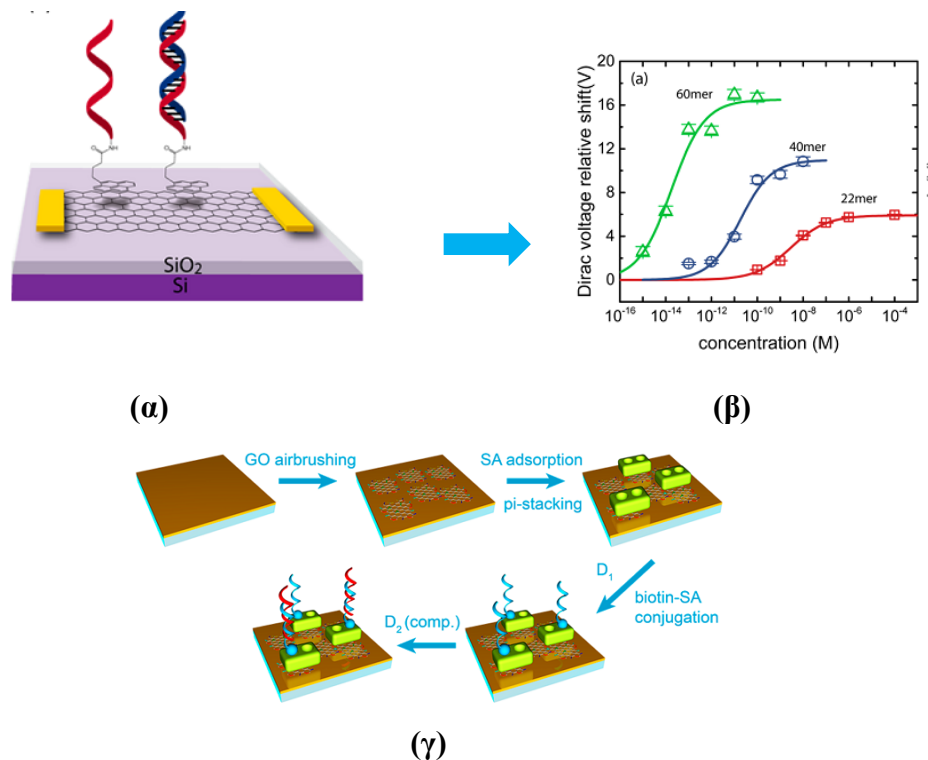
Εικόνα 2.13. (α) Εύκαμπτοι αισθητήρες υγρασίας πάνω σε παρυλένιο (parylene). (β) Η μεταβολή της χωρητικότητας του αισθητήρα συναρτῆσει της υγρασίας. (γ) Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο του αισθητήρα υγρασίας με το ευαίσθητο στρώμα να είναι πολυϊμίδιο [25]. (δ) Συστοιχία χημικών αισθητήρων, ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων πάνω σε υπόστρωμα PET [45].

2.4 Βιολογικοί αισθητήρες

Εκτός από τις χρήσεις των εύκαμπτων αισθητήρων στην παρακολούθηση της ανθρώπινης κίνησης και φυσιολογίας που αναφέρθηκαν παραπάνω, εύκαμπτοι αισθητήρες έχουν αναπτυχθεί και για την ανίχνευση διαφόρων βιομορίων ή βιοδεικτών που έχουν ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της καθημερινής ζωής. Για παράδειγμα, οι βιοαισθητήρες χρησιμοποιούνται ευρέως για την ανίχνευση: βακτηρίων (σαλμονέλα και E. Coli) [46, 47] με στόχο τη βελτίωση της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων, βαρέων μετάλλων [48], πρωτεϊνών [49] και, τέλος βιοδεικτών σοβαρών ασθενειών στις οποίες συγκαταλέγονται ο καρκίνος [50-53] ή η νόσος του Alzheimer [54-56].

Όπως έχει ήδη αναφερθεί τα τελευταία χρόνια, τα νέα υλικά όπως οι νανοσωλήνες άνθρακα (carbon nanotubes, CNT) και μια ολόκληρη κατηγορία υλικών που βασίζεται στο γραφένιο έχουν απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα και δύναται να χρησιμοποιηθούν σε πολλές εφαρμογές συμπεριλαμβανομένου και την κατασκευή βιοαισθητήρων [57-62]. Πιο συγκεκριμένα, οι βιοαισθητήρες με βάση το γραφένιο έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση πολλών βιολογικών δεικτών, όπως DNA, πρωτεΐνες και κύτταρα [63-65]. Στην οικογένεια του γραφενίου ανήκει και το ανηγμένο οξείδιο του γραφενίου το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί

αντί αυτού [66]. Μέχρι τώρα έχει χρησιμοποιηθεί στην ανίχνευση: βακτηρίων (*E. coli*) [67], ιών (Ebola) [68], νόσων όπως το Alzheimer [69], ολιγονουκλεοτιδίων χρησιμοποιώντας πρωτεΐνες [70], πρωτεϊνών [71] και άλλων βιοδεικτών [72]. Ορισμένα πραγματικά εντυπωσιακά παραδείγματα τέτοιων βιοαισθητήρων είναι: τα τρανζίστορ επίδρασης πεδίου στα οποία χρησιμοποιείται το γραφένιο (graphene field effect transistors (GFETs) για την ανίχνευση DNA αλληλουχιών (60-mer DNA oligonucleotide) με όριο ανίχνευσης 1 fM [73] (Εικόνα 2.14), οι αισθητήρες με βάση το rGO, το οποίο έχει δομή νανοπλέγματος (nanogrid), για την ανίχνευση του ιού της ηπατίτιδας Β με ευαισθησία της τάξης attomolar [74] και τέλος, τα τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET) βασισμένα στο rGO για την ανίχνευση πρωτεϊνών, με το όριο ανίχνευσης να είναι 100 pg / mL στον ορό του αίματος [75].



Εικόνα 2.14. (α) Σχηματική αναπαράσταση ενός αισθητήρα γραφενίου για την ανίχνευση DNA. Πάνω στο γραφένιο έχει ακινητοποιηθεί η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA που είναι προς ανίχνευση. (β) Η απόκριση του αισθητήρα ως προς τη συγκέντρωση του DNA για διαφορετικά μήκη [73]. (γ) Απεικόνιση της διαδικασίας ανίχνευσης της αλληλεπίδρασης δυο συμπληρωματικών αλυσίδων ολιγονουκλεοτιδίων χρησιμοποιώντας αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου [70].

2.4.1 Τρόποι ανίχνευσης και ακινητοποίησης βιομορίων πάνω στον μετατροπέα

Ο τρόπος ανίχνευσης των βιομορίων ποικίλει ανάλογα με την αρχή λειτουργίας του βιοαισθητήρα. Έτσι λοιπόν οι βιοαισθητήρες γραφενίου και οξειδίου του γραφενίου μπορούν να ταξινομηθούν σε οπτικούς και ηλεκτροχημικούς [76-79]. Στους οπτικούς αισθητήρες για παράδειγμα ανήκουν οι αισθητήρες όπου η ανίχνευση γίνεται με μικροσκοπία φθορισμού ή με Surface plasmon resonance (SPR), ενώ στους ηλεκτροχημικούς αισθητήρες ανήκουν τα τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (Field Effect Transistor, FET) και οι αισθητήρες οι οποίοι μετρούν αγωγιμότητα-αντίσταση, ρεύμα ή τάση.

Για παράδειγμα, ένας rGO βιοαισθητήρας του οποίου η αρχή λειτουργίας βασίζεται στην μεταβολή του δείκτη διάθλασης χρησιμοποιήθηκε για να ανιχνεύσει το goat anti-rabbit IgG μέσω της αλληλεπίδρασης με τα ακινητοποιημένα rabbit IgG. Ένας άλλος GO βιοαισθητήρας ο οποίος ήταν τροποποιημένος με anti-tau αντίσωμα (antibody) κατάφερε να ανιχνεύσει μέσω μικροσκοπίας φθορισμού την tau πρωτεΐνη συγκεντρώσεως μέχρι και 6.4 ng/ml [80]. Πολλοί είναι αυτοί που χρησιμοποιούν τρανζίστορ γραφενίου και οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση βιομορίων. Οι Ohno et al. [81, 82] σε δυο διαδοχικές τους εργασίες παρουσίασαν αισθητήρες γραφενίου για την ανίχνευση πρωτεϊνών όπως: αλβουμίνη ορού βοειδών (BSA), στρεπταβιδίνη (SA) και human immunoglobulin E (IgE), ενώ οι He et al. [71] ανίχνευσαν τις πρωτεΐνες fibronectin και αβιδίνη (avidin), κατά την ακινητοποίηση της πρώτης στο rGO και της δεύτερης μέσω της αλληλεπίδρασης της με τη βιοτίνη. Επιπλέον, rGO-FET βιοαισθητήρες που έχουν τροποποιηθεί με ένζυμα έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση αμινοξέων (amino acids), όπως η αργινίνη (arginine) [83], αλλά και για την ανίχνευση αλληλουχιών DNA μέσω υβριδισμού [84]. Στον Πίνακα 2.1 συνοψίζονται μερικά παραδείγματα ηλεκτροχημικών και οπτικών αισθητήρων, όπου διακρίνονται: ο μετατροπέας, το ευαίσθητο στρώμα (ακινητοποιημένα βιομόρια), το προς ανίχνευση βιομόριο (βιομόριο στόχος) αλλά και τα όρια ανίχνευσης τους.

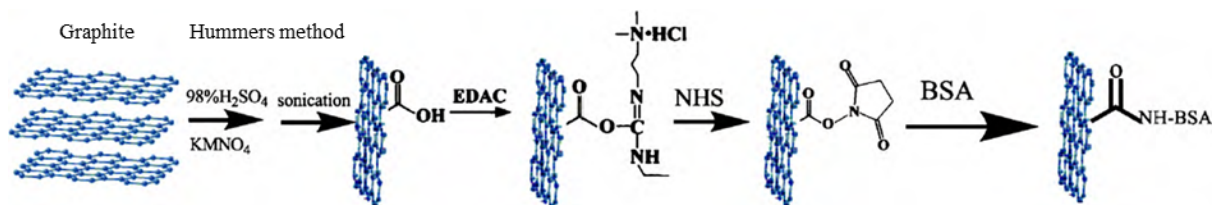
Πίνακας 2.1. Βιοαισθητήρες γραφενίου και οξειδίου του γραφενίου και η αρχή λειτουργία τους						
Τύπος αισθητήρα	Υλικό μετατροπέα	Ευαίσθητο στρώμα	Όριο ανίχνευσης ευαίσθητου στρώματος	Βιομόριο στόχος	Όριο ανίχνευσης βιομορίου στόχου	Αναφορά
Βιομόρια						
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	rGO	anti-D-Dimer		Protein: D-Dimer	100 pg/mL (serum) 10 pg/mL (PBS)	[75]
Οπτικός	rGO	rabbit IgG antibody		goat anti-rabbit IgG	0.5 µg/ml (3.33 nM)	[85]
Οπτικός	GO	anti-tau antibody		tau protein	6.4 ng/ml	[80]
Τρανζίστορ	rGO	1) - 2) biotin		1) fibronectin 2) avidin	1) 0.5 nM 2) 80nM	[71]
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	graphene	BSA	0.3nM	-	-	[86]
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	graphene	1) BSA, 2) SA, 3) IgE 4) Anti-IgE aptamer DNA oligos (45mer)	1) 30nM, 2) 100nM, 3) 30nM	4) IgE	4) 30 nM	[87]
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	rGO	Enzymes: Arginase & urease		arginine	10 µM	[83]
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	graphene	ssDNA aptamers (15mer)		protein biomarker: thrombin	10nM	[88]
DNA						
Τρανζίστορ επίδρασης πεδίου (FET)	graphene	1) 22 mer 2) 40mer 3) 60-mer DNA oligos	1) <100 pM 2) 100 fM 3) 1 fM	target or control DNA (aqueous solution)	1µM (22mer probe)	[73]
Τρανζίστορ	rGO	DNA: (22mer)		DNA- (22mer)	~5 nM	[84]
Οπτικός	GO	amino-modified ssDNA(18mer)		DNA (18mer)	200 nM	[89]

Για την ακινητοποίηση των πρωτεϊνών είναι αναγκαία η ανάπτυξη ενός πρωτοκόλλου μέσω του οποίου θα επιτυγχάνεται η αποτελεσματική ακινητοποίηση των πρωτεϊνών πάνω στους μετατροπείς προκειμένου να κατασκευαστεί ένας βιοαισθητήρας. Το γραφένιο και τα παράγωγα του είναι από τα υλικά τα οποία χρησιμοποιούνται ευρέως ως μετατροπείς γιατί επιτρέπουν την ακινητοποίηση βιομορίων λόγω των χαρακτηριστικών ομάδων που διαθέτουν.

Για την επιτυχημένη ακινητοποίηση πρωτεϊνών στην επιφάνεια του γραφενίου και των παραγώγων του έχουν προταθεί διάφορες μέθοδοι οι οποίες μπορούν να διαχωριστούν σε δυο κύριες κατηγορίες: 1) στην ομοιοπολική πρόσδεση (covalent binding) και 2) στην μη ομοιοπολική προσρόφηση (non-covalent adsorption). Γενικά, η μη ομοιοπολική σύνδεση των πρωτεϊνών στο GO οφείλεται σε: ηλεκτροστατικές (electrostatic), υδροφοβικές (hydrophobic) και π -stacking αλληλεπιδράσεις. Για παράδειγμα, η ακινητοποίηση του ενζύμου horseradish peroxidase και του ενζύμου της λυσοζύμης (lysozyme molecules) πάνω στα φύλλα του GO αποδίδεται στις ελκτικές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ των βιομορίων και του αρνητικά φορτισμένου φύλλου του GO [90], ενώ οι υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις αποτελούν την κινητήρια δύναμη για την ακινητοποίηση των υδρόφοβων ενζύμων πάνω στο rGO [91, 92]. Επίσης, έχει μελετηθεί η επίδραση του βαθμού αναγωγής του GO και προέκυψε ότι η αφθονία των μη πολικών αρωματικών δακτυλίων του GO (non polar aromatic rings) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις τύπου π -stacking. Με αυτό τον τρόπο, τα απταμερή ακινητοποιούνται μέσω της πολυαιθυλενογλυκόλης (polyethylene glycol (PEG)-protected GO) στο GO [93], σε πολυστρωματικό GO [94] ή σε επιφάνειες γραφενίου [95], ενώ σε μια διαφορετική προσέγγιση η ομάδα του Kim et al. [96] για να ακινητοποιήσει αποτελεσματικά τη BSA στην επιφάνεια του θερμικά ανηγμένου GO την μετουσίωσε, αποφεύγοντας έτσι την προσθήκη επιπλέον χημικών ομάδων που συχνά απαιτούνται για την ομοιοπολική πρόσδεση των πρωτεϊνών.

Αντίθετα, στην περίπτωση, της ομοιοπολικής πρόσδεσης οι χαρακτηριστικές ομάδες του GO που διαθέτουν οξυγόνο το καθιστούν ως μια καλή επιλογή για την ακινητοποίηση πρωτεϊνών. Η χημική αντίδραση ανάμεσα στην αμίνη που διαθέτουν οι πρωτεΐνες και των ενεργοποιημένων καρβοξυλικών ομάδων που υπάρχουν στο GO χρησιμοποιείται συνήθως για την ακινητοποίηση των πρωτεϊνών, με το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για την ενεργοποίηση των καρβοξυλίων (carboxyls) να είναι το N-αιθυλο-N'-(3-διμεθυλαμινοπροπυλο) καρβοδιιμίδιο (N-ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide, EDAC). Στις περισσότερες περιπτώσεις

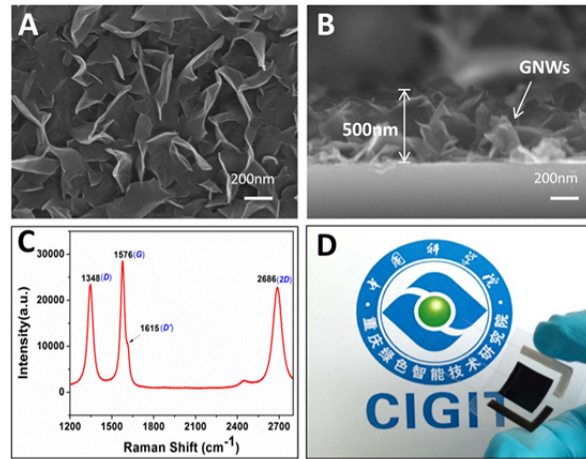
τέτοιων ακινητοποιήσεων, αρχικά σχηματίζεται ένας εστέρας παρουσία N-hydroxysuccinimide (NHS) που στη συνέχεια αντιδρά με την ελεύθερη αμίνη των πρωτεϊνών σχηματίζοντας έναν αμιδικό δεσμό (amide bond) ανάμεσα στην πρωτεΐνη και την επιφάνεια του GO [78, 97, 98] (Εικόνα 2.15). Εκτός από τους προαναφερθείς τρόπους πρόσδεσης, για την ακινητοποίηση των πρωτεϊνών στην επιφάνεια του GO συχνά χρησιμοποιούνται μόρια διασύνδεσης. Τέτοια είναι για παράδειγμα η πολυαλλαμίνη (polyallylamine, PAA) [99], η πολυλυσίνη (polylysine) και PEG diglycol acid [100]. Τέλος, σε μια άλλη προσέγγιση χρησιμοποιούνται και οι δυο προαναφερθείσες τεχνικές [101]. Ενώ, εναλλακτικές τεχνικές που οδηγούν στην αποτελεσματική ακινητοποίηση των πρωτεϊνών περιλαμβάνουν νανοσωματίδια χρυσού (gold nanoparticles) [102, 103].



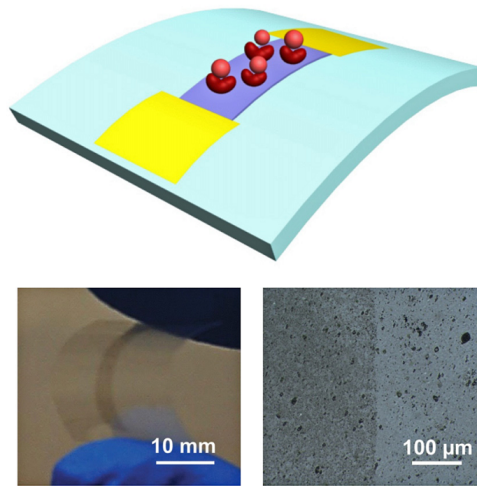
Εικόνα 2.15. Σχηματική αναπαράσταση των βημάτων ακινητοποίησης της BSA στο οξείδιο του γραφενίου (Graphene oxide nanosheets, GOS) [98].

2.4.2 Βιοαισθητήρες γραφενίου σε εύκαμπτα υποστρώματα

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται μερικά παραδείγματα εύκαμπτων βιοαισθητήρων που βασίζονται σε υλικά από την οικογένεια του γραφενίου. Μερικές από τις εφαρμογές στις οποίες χρησιμοποιούνται οι εύκαμπτοι βιοαισθητήρες είναι για την παρακολούθηση ζωτικών σημάτων, όπως αυτά που σχετίζονται με την καρδιακή συχνότητα και την αναπνοή, το διαβήτη, το DNA αλλά και καρκινικούς και άλλους βιοδείκτες [104-110]. Για παράδειγμα, ο Chen Qianwei et al. [111] και οι Labroo et al. [112] (Εικόνα 2.16 α και β) κατασκεύασαν ένα βιοαισθητήρα λακτόζης σε PET υπόστρωμα βασισμένο σε graphene nanowalls (GNW) και γραφένιο αντίστοιχα. Ο πρώτος κατάφερε να ανιχνεύσει συγκεντρώσεις από 1.0 μM έως 10.0 mM, ενώ ο δεύτερος κατάφερε να ανιχνεύσει ακόμα πιο μικρές συγκεντρώσεις της τάξης των 0.08 μM . Τέλος, οι Kafı et al. [113] κατασκεύασαν έναν εύκαμπτο αισθητήρα οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση της ντοπαμίνης (dopamine, DA) και κατάφεραν να ανιχνεύσουν έως 100 pM.



(α)



(β)

Εικόνα 2.16. (α) Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου των GNWs (πάνω αριστερά), Εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου της διατομής των GNWs (πάνω δεξιά), φάσμα Raman των GNWs (κάτω αριστερά) και η εύκαμπτη GNW/PET διάταξη (κάτω δεξιά) [111]. (β) Σχηματική αναπαράσταση του βιολογικού αισθητήρα γραφενίου στο εύκαμπτο υπόστρωμα (πάνω) και φωτογραφία από κάμερα (κάτω αριστερά) και οπτικό μικροσκόπιο (κάτω δεξιά) του γραφενίου στο PET υπόστρωμα [112].

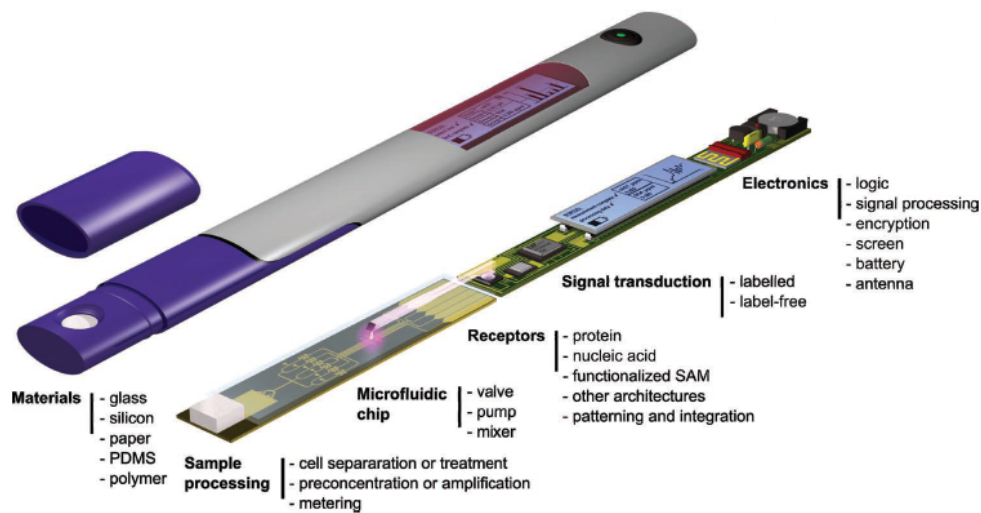
2.5 Ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (Lab-On-Chip, LOC)

Τα LOC είναι διατάξεις μικρών διαστάσεων, με μέγεθος που κυμαίνεται από μερικά τετραγωνικά χιλιοστά έως μερικά τετραγωνικά εκατοστά [114], τα οποία περιλαμβάνουν στοιχεία όπως μικροηλεκτρόδια, θερμικά στοιχεία, δίκτυο μικρορευστονικών καναλιών (microfluidics) και το σύστημα ανίχνευσης, ώστε να μπορούν να λειτουργήσουν σαν αυτόνομα μικροεργαστήρια [115]. Η έννοια των LOC προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Manz et al. [116] το 1990. Τα τελευταία χρόνια λόγω της ραγδαίας ανάπτυξης στα επιστημονικά πεδία της μικροτεχνολογίας και της μικρορευστομηχανικής, τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (Lab-On-Chip, LOC) έχουν εξελιχθεί σε ένα μεγάλο και δυναμικό διεπιστημονικό τομέα, η επίδραση του οποίου θα μπορούσε να είναι εκτεταμένη και επαναστατική. Γίνεται λοιπόν εύκολα αντιληπτό ότι τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μια πληθώρα εφαρμογών όπως η πρωτεομική και η γονιδιακή έρευνα, η διάγνωση από τον ίδιο τον ασθενή (Point of care, POC), η αναλυτική χημεία, η παρακολούθηση του περιβάλλοντος, η ασφάλεια των τροφίμων, η εγκληματολογία και πολλές άλλες εφαρμογές [115, 117-120]. Μερικές από τις εφαρμογές τους φαίνονται στην παρακάτω Εικόνα.



Εικόνα 2.17. Εφαρμογές των μικρορευστονικών διατάξεων για POC διάγνωση [121].

Αυτή η ευρεία εξάπλωση τους οφείλεται στις δυνατότητες και τα πλεονεκτήματα που προσφέρουν σε σχέση με τα συμβατικά μηχανήματα μοριακής ανάλυσης που χρησιμοποιούνται σε ακαδημαϊκά ή άλλα ερευνητικά και βιοαναλυτικά εργαστήρια. Πιο αναλυτικά, τα κυριότερα πλεονεκτήματα τους είναι: (α) το μικρό μέγεθος (φορητότητα), (β) η μειωμένη κατανάλωση ισχύος, (γ) ο μικρός όγκος δείγματος και κατά συνέπεια η μειωμένη κατανάλωση ακριβών βιολογικών αντιδραστηρίων, (δ) η ανάλυση δείγματος σε μια μόνο συσκευή, (ε) ο μειωμένος χρόνος ανάλυσης, (ζ) το μικρό κόστος κατασκευής και (η) η μεγαλύτερη ευαισθησία [121-124]. Τέλος, τα LOC επιτρέπουν την αυτοματοποίηση και την παραλληλοποίηση των διεργασιών μειώνοντας με τον τρόπο αυτό την ανάγκη για εξειδικευμένο και κατάλληλα καταρτισμένο προσωπικό [125]. Στην Εικόνα 2.18 απεικονίζεται μια τέτοια ιδεατή POC συσκευή.



Εικόνα 2.18. Απεικόνιση μιας ιδεατής συσκευής POC, στην οποία διακρίνονται όλα τα μέρη από τα οποία αποτελείται η διάταξη, όπως το δίκτυο μικρορρευστονικών καναλιών, ο μετατροπέας σήματος, κτλ. [126].

Για την κατασκευή των LOC, ανάμεσα τους και τα LOC που χρησιμοποιούνται για ανάλυση DNA [127], χρησιμοποιείται ένα μεγάλο εύρος υλικών όπως πυρίτιο και γυαλί, αλλά τα τελευταία χρόνια προτιμώνται κυρίως τα πολυμερικά υποστρώματα [122]. Μερικά από τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται είναι: ο πολυμεθακρυλικός μεθυλεστέρας (PMMA), το πολυμερές κυκλοολεφίνης (COP) ή το συμπολυμερές κυκλοολεφίνης (COC) ή ελαστομερή όπως η πολυδιμέθυλοσιλοξάνη (PDMS), τα οποία είναι βιοσυμβατά και έχουν βελτιωμένες οπτικές,

θερμικές και μηχανικές ιδιότητες [121, 128]. Πρόσφατα έχει αναπτυχθεί και η ιδέα της δημιουργίας ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος (Printed Circuit Board, PCB) [129, 130], λόγω της ευκολίας στην κατασκευή όλων των απαραίτητων στοιχείων στο ίδιο υπόστρωμα με την μικρορευστονική διάταξη και τη συσκευή ανίχνευσης. Τα υποστρώματα αυτά είναι συμβατά με τα πολυμερή που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή μικρορευστονικών καναλιών, όπως το PDMS [131], ενώ ταυτόχρονα δίνουν τη δυνατότητα μαζικής παραγωγής. Οπότε συνολικά η προσέγγιση αυτή φαίνεται να κερδίζει έδαφος στο χώρο των διαγνωστικών και των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα.

Τα μικρορευστονικά δίκτυα καναλιών είναι ένα αναπόσπαστο κομμάτι των μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα, μιας και παρέχουν τη δυνατότητα ελέγχου της ροής μικροποσοτήτων υγρών που έχουν όγκους της τάξης μερικών μικρολίτρων ($1 \mu\text{L} = 1 \text{mm}^3$). Για τον έλεγχο της ροής τα μικροκανάλια αυτά μπορούν να έχουν βαλβίδες, μείκτες, αντλίες, φίλτρα κ.λπ. [132, 133]. Τα στοιχεία αυτά επιτρέπουν την προσθήκη, την ανάμειξη, το διαχωρισμό, και την μετακίνηση των συστατικών ενός διαλύματος.

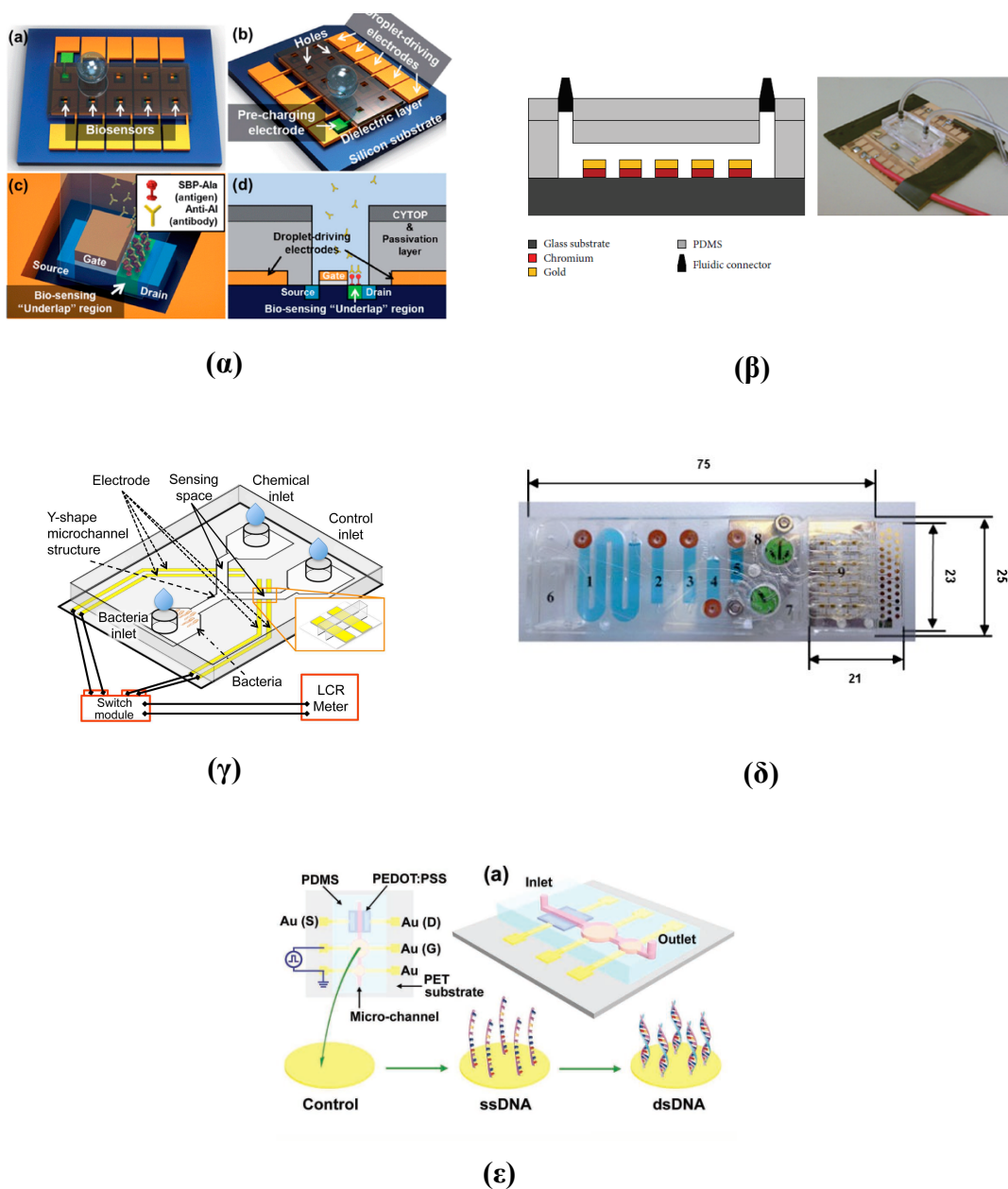
Τα μικροεργαστήρια μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους σε συνεχούς ροής [134, 135], που είναι και οι πιο συνηθισμένες, και σε μικρορευστονικές διατάξεις σταγόνων [136]. Οι συμβατικές μικρορευστονικές διατάξεις συνεχούς ροής επιτρέπουν τη συνεχή ροή υγρού μέσα σε κανάλια που μπορούν να είναι διαστάσεων μερικών μικρομέτρων. Αντίθετα, οι μικρορευστονικές διατάξεις σταγονιδίων καθιστούν δυνατή την κίνηση σταγόνων σε μικροκανάλια χρησιμοποιώντας ροές μη αναμίξιμων υγρών. Η καινοτομία της προσέγγισης αυτής έγκειται στην μειωμένη κατανάλωση δείγματος και στην αύξηση της πολυπλεξίας της ανάλυσης (δυνατότητα παραγωγής, χειρισμού και παρακολούθησης σταγόνων που μεταφέρουν διαφορετικά δείγματα (π.χ. κύτταρα) με έναν παράλληλο και υψηλής απόδοσης τρόπο).

Όπως αναφέραμε παραπάνω, τα μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (Lab-On-Chip, LOC) χρησιμοποιούνται ευρέως για την ανίχνευση βιολογικών αλληλεπιδράσεων [121], όπως ο πολλαπλασιασμός και η ανίχνευση γενετικού υλικού μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymer Chain Reaction, PCR) [137, 138]. Παράλληλα χρησιμοποιούνται και σε άλλες εφαρμογές όπως η ανίχνευση: α) της γλυκόζης μέσω του ενζύμου οξειδάσης της γλυκόζης (glucose oxidase), β) νουκλεϊκών οξέων (DNA) μέσω της μεθόδου της υβριδοποίησης ή μέσω της αλληλεπίδρασης βιοτίνης-στρεπταβιδίνης/αβιδίνης, γ) πρωτεϊνών (π.χ. thrombin) χρησιμοποιώντας αισθητήρες που βασίζονται στα απταμερή (aptamers), δ) της αλληλεπίδρασης

αντιγόνου-αντισώματος, και ε) διάφορων άλλων βιομορίων ή δεικτών. Στη συνέχεια παρουσιάζονται μερικά από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων διατάξεων.

Μια από τις εργασίες που περιγράφει ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε ψηφίδα είναι η εργασία από τους Choi et al. [139] που χρησιμοποίησαν ένα τρανζίστορ FET ως βιοαισθητήρα για την ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο αντισωμάτων που σχετίζονται με τη γρίπη των πτηνών (anti-AI) (Εικόνα 2.19α). Ένα ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο ανίχνευσης σαλμονέλας με μέτρηση εμπέδησης παρουσιάστηκε από τους Dastider et al. [140], όπως φαίνεται στην Εικόνα 2.19β. Σε μια άλλη πρόσφατη εργασία οι Kojima et al. [141] παρουσίασαν μια διάταξη με σκοπό την ανίχνευση βακτηρίων με μέτρηση χωρητικότητας (Εικόνα 2.19γ). Η ανίχνευση παθογόνων μικροοργανισμών σε τρόφιμα με τη χρήση τέτοιων μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα παρουσιάζεται στην επισκόπηση από τους Jeong-Yeol Yoon et al. [142].

Μικροεργαστήρια σε ψηφίδα που το σήμα λαμβάνεται μέσω ενός αισθητήρα μέτρησης ρεύματος μετά από την αλληλεπίδραση αντιγόνου-αντισώματος έχουν χρησιμοποιηθεί και για την ανίχνευση καρκινικών δεικτών (Εικόνα 2.19δ) [117]. Άλλες εργασίες ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων που υπάρχουν στη βιβλιογραφία είναι για διατάξεις που χρησιμοποιούνται στην ανίχνευση DNA [120] (Εικόνα 2.19ε), πρωτεϊνών [143, 144] και άλλων δεικτών όπως η γλυκόζη (ηλεκτροχημική διάταξη σε χαρτί) [145]. Τέλος, μια πρωτότυπη εργασία παρουσιάζεται από τους Walczak et al. [146] οι οποίοι δημιούργησαν ένα φορητό εργαστήριο μέσα σε μια βαλίτσα για την ανίχνευση βακτηρίων και παθογόνων ιών.



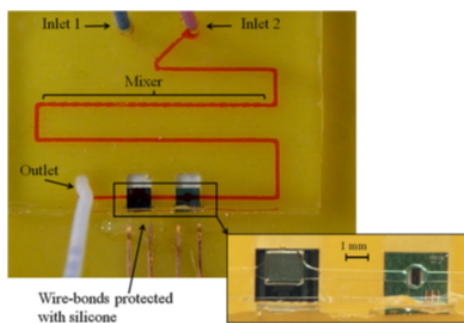
Εικόνα 2.19. (α) Σχηματική αναπαράσταση του μικροεργαστήριου σε ψηφίδα: (πάνω αριστερά) η κάτοψη, (πάνω δεξιά) η πλάγια όψη, (κάτω αριστερά) απεικόνιση σε μεγέθυνση και (κάτω δεξιά) η διατομή [139]. (β) Τομή της διάταξης ανίχνευσης της σαλμονέλας [140]. (γ) Σχηματική αναπαράσταση του ολοκληρωμένου μικροεργαστήριου από την αναφορά [141]. (δ) Κάτοψη της διάταξης ανίχνευσης των καρκινικών δεικτών CEA και CA15-3 [117]. (ε) Ανίχνευση DNA σύμφωνα με την αναφορά [120].

2.5.1 Βιβλιογραφική επισκόπηση στα ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος (Lab-On-PCB)

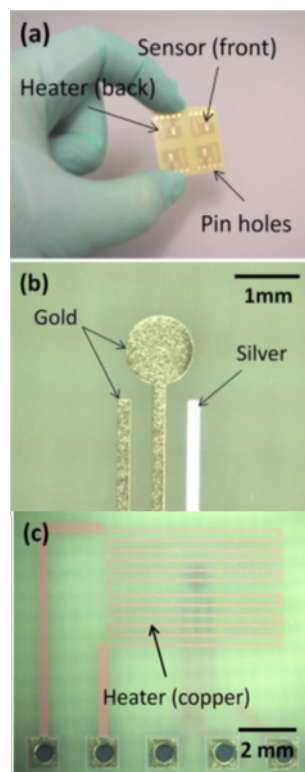
Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές ενδιαφέρουσες δημοσιεύσεις που αναφέρονται σε μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (LOC) [147]. Ωστόσο, υπάρχει περιθώριο για περαιτέρω βελτιστοποίηση των διεργασιών κατασκευής [148], αλλά και για την μείωση των περιφερειακών εξαρτημάτων που απαιτούνται για τη λειτουργία των LOC [149]. Δύο πρόσφατα άρθρα επισκόπησης [150, 151] επισημαίνουν πολλά από τα προβλήματα που εμφανίζουν τέτοια συστήματα, όπως για παράδειγμα η κακή ομοιογένεια (όταν κατασκευάζονται από διαφορετικά υλικά) ή η χαμηλή ευαισθησία και προτείνουν τρόπους για τη βελτίωση της πολυπλεξίας και την απόδοσή τους, ενώ αναφέρονται και στις προκλήσεις του μέλλοντος στο πεδίο των ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα και προτείνουν τρόπους με τους οποίους μπορούν να ξεπεραστούν. Πολλές ερευνητικές ομάδες εργάζονται με την προσέγγιση του μικροεργαστηρίου σε δίσκο ή σε CD (Lab on Disk, Lab on CD) για να αντιμετωπίσουν τους προαναφερθέντες περιορισμούς [152], ενώ άλλοι με την προσέγγιση του μικροεργαστηρίου σε χαρτί [153, 154], με πολλά από αυτά τα LOC σε χαρτί να έχουν ήδη χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση πολλαπλών στόχων DNA [155]. Εμπορικά διαθέσιμα προϊόντα που είναι κοντά στη λογική των LOC είναι τα τεστ εγκυμοσύνης και οι συσκευές μέτρησης του ζαχάρου [153, 156].

Η ενσωμάτωση όλων των στοιχείων που είναι απαραίτητα για την κατασκευή ενός τέτοιου ολοκληρωμένου μικροεργαστηρίου σε ψηφίδα στο ίδιο υπόστρωμα, και κυρίως του συστήματος ανίχνευσης, είναι ένα από τα βασικότερα προβλήματα και αποτελεί ακόμα και σήμερα μια πρόκληση, παρότι έχουν προταθεί αρκετοί τρόποι ολοκλήρωσης.

Τη λύση στα προβλήματα ομοιογένειας και ολοκλήρωσης μπορεί να την προσφέρει η κατασκευή των ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων σε PCB, λόγω των πλεονεκτημάτων που προσφέρει όπως περιγράφηκαν παραπάνω, αλλά και στις αναφορές [129, 130, 157]. Εργασίες που βασίστηκαν σε αυτή την τεχνολογία για την ανίχνευση βιολογικών αλληλεπιδράσεων υπάρχουν ήδη στη βιβλιογραφία [131, 138, 158-161]. Στην Εικόνα 2.20α απεικονίζεται ένας αισθητήρας τύπου ion selective field effect transistor (ISFET) με το μικροκανάλι από PDMS να οδηγεί το υγρό πάνω από τον αισθητήρα [131]. Σε μια άλλη εργασία παρουσιάστηκε μια προσπάθεια πολλαπλασιασμού (PCR) και ανίχνευσης DNA χρησιμοποιώντας έναν ηλεκτροχημικό βιοαισθητήρα [159] (Εικόνα 2.20β).



(α)



(β)

Εικόνα 2.20. (α) Πρωτότυπη ολοκληρωμένη μικρορευστονική διάταξη σε PCB [131]. (β) Φωτογραφία του θερμαντικού στοιχείου και του αισθητήρα της διάταξης από την αναφορά [159].

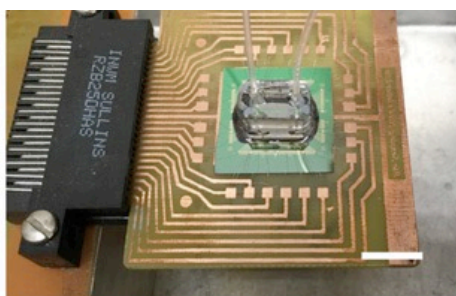
2.5.2 Βιβλιογραφική επισκόπηση στα ολοκληρωμένα μικροεργαστήρια με υλικά από την οικογένεια του άνθρακα

Το σύστημα ανίχνευσης είναι ένα πολύ σημαντικό κομμάτι του ολοκληρωμένου μικροεργαστήριου. Μέχρι σήμερα έχουν αναπτυχθεί διάφοροι τύποι αισθητήρων ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους, όπως είδαμε και στα προηγούμενα κεφάλαια. Οι οπτικοί αισθητήρες και κατά συνέπεια οι οπτικές μέθοδοι ανίχνευσης προτιμώνται από πολλούς λόγω της καλής ευαισθησίας που προσφέρουν. Ωστόσο, τα οπτικά συστήματα είναι ακριβά και δύσκολα ενσωματώνονται σε ένα υπόστρωμα [162]. Και σε αυτή την κατηγορία οι εξελίξεις στον τομέα της νανοτεχνολογίας και ιδιαίτερα στην έρευνα των διαφόρων μορφών του άνθρακα, όπως οι νανοσωλήνες άνθρακα, το γραφένιο και το οξειδίο του γραφενίου έχουν οδηγήσει πολλές ερευνητικές ομάδες στη χρησιμοποίησή τους για την κατασκευή αισθητήρων [163-171], που

ενσωματώνονται σε μικροεργαστήρια σε ψηφίδα [172, 173] και κατά συνέπεια αυξάνουν το βαθμό ολοκλήρωσης των LOC.

Για παραδείγματα οι νανοςωλήνες άνθρακα έχουν χρησιμοποιηθεί σε μικροεργαστηρία σε ψηφίδα για την ανίχνευση γλυκόζης και άλλων βιομορίων [174, 175]. Υλικά από την οικογένεια του γραφενίου όπως το οξείδιο του γραφενίου (graphene Oxide, GO) [176], έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται ως αισθητήρες σε μικροεργαστήρια σε ψηφίδα [177-182], για την ανίχνευση: παθογόνων μικροοργανισμών [183], πρωτεϊνών [184], DNA [185] και την παρακολούθηση της γλυκόζης [173, 186, 187]. Μια τέτοια προσπάθεια είναι η εργασία από τους Kazuaki Furukawa et al. [184] που τοποθέτησαν οξείδιο του γραφενίου (Graphene Oxide, GO) σε μικροκανάλι για την ανίχνευση πρωτεϊνών. Επίσης, οι Peng Zuo et al. [183] κατασκεύασαν μια μικρορευστονική διάταξη στο εσωτερικό της οποίας εναποτέθηκε οξείδιο του γραφενίου για την πρόσδεση παθογόνων μικροοργανισμών, όπως σταφυλόκοκκος (*Staphylococcus aureus*) και σαλμονέλα (*Salmonella enterica*).

Παρόλο αυτά, υπάρχει η δυνατότητα και για άλλες προσεγγίσεις που μπορούν να βελτιώσουν την ολοκλήρωση, την αυτοματοποίηση και ταυτόχρονα να μην είναι πολύπλοκες και κοστοβόρες. Πρόσφατα, σε κάποιες εργασίες που υπάρχουν στη βιβλιογραφία συνδυάζεται το γραφένιο με την τεχνολογία του PCB για την κατασκευή μιας πραγματικά ολοκληρωμένης διάταξης [188-190]. Για παράδειγμα, οι Guangyu Xu et al. [188] τοποθέτησαν πάνω σε PCB μια διάταξη που κατασκευάστηκε σε υπόστρωμα πυρίτιο και αποτελείται από τρανζίστορ γραφενίου για την ανίχνευση DNA μέσω ενός μικρορευστονικού καναλιού από PDMS. Οι Gao et al. [189] αφού κατασκεύασαν βιοαισθητήρες γραφενίου για την ανίχνευση βιομορίων, όπως το αντιγόνο του προστάτη (prostate specific antigen, PSA) τοποθέτησαν τη διάταξη που περιλάμβανε και μικρορευστονικό κανάλι από PDMS πάνω σε PCB (Εικόνα 2.21). Τα παραδείγματα αυτά δείχνουν ότι η κατασκευή μικροεργαστηρίων σε ψηφίδα χρησιμοποιώντας την τεχνολογία PCB με διατάξεις ανίχνευσης που βασίζονται στο γραφένιο βρίσκεται ακόμα σε πρώιμο στάδιο και υπάρχει περιθώριο για μεγάλες βελτιώσεις. Στην κατεύθυνση αυτή, στο κεφάλαιο 6 παρουσιάζεται ένα πρωτότυπο μικροεργαστήριο σε PCB με ενσωματωμένους αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου που επιτρέπει την ενίσχυση και την ανίχνευση DNA αλληλουχιών στην ίδια διάταξη.



Εικόνα 2.21. Φωτογραφία της διάταξης που παρουσιάστηκε από τους Gao et al. Στο πράσινο τετράγωνο βρίσκονται οι αισθητήρες πάνω από τους οποίους έχει τοποθετηθεί το μικρορευστονικό κανάλι, ενώ η όλη διάταξη έχει τοποθετηθεί πάνω σε PCB [189].

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] A. Nag, S.C. Mukhopadhyay, J. Kosel, Wearable Flexible Sensors: A Review, *IEEE Sensors Journal* 17(13) (2017) 3949-3960.
- [2] P. Peng, R. Rajamani, Flexible Microtactile Sensor for Normal and Shear Elasticity Measurements, *IEEE Transactions on Industrial Electronics* 59(12) (2012) 4907-4913.
- [3] R. Matsuzaki, A. Todoroki, Wireless flexible capacitive sensor based on ultra-flexible epoxy resin for strain measurement of automobile tires, *Sensors and Actuators A: Physical* 140(1) (2007) 32-42.
- [4] K. Elgeneidy, G. Neumann, M. Jackson, N. Lohse, Directly Printable Flexible Strain Sensors for Bending and Contact Feedback of Soft Actuators, *Frontiers in Robotics and AI* 5(2) (2018).
- [5] B. Wang, B.K. Lee, M.J. Kwak, D.W. Lee, Graphene/polydimethylsiloxane nanocomposite strain sensor, *The Review of scientific instruments* 84(10) (2013) 105005.
- [6] H. Tian, Y. Shu, Y.L. Cui, W.T. Mi, Y. Yang, D. Xie, T.L. Ren, Scalable fabrication of high-performance and flexible graphene strain sensors, *Nanoscale* 6(2) (2014) 699-705.
- [7] C. Lee, L. Jug, E. Meng, High strain biocompatible polydimethylsiloxane-based conductive graphene and multiwalled carbon nanotube nanocomposite strain sensors, *Applied Physics Letters* 102(18) (2013) 183511.
- [8] Y.L. Sang-Hoon Bae, Bhupendra K. Sharma, Hak-Joo Lee, Jae-Hyun Kim, Jong-Hyun Ahn, Graphene based transparent strain sensor, *CA R B O N* 51 (2013) 2 3 6 –2 4 2.
- [9] V. Correia, C. Caparros, C. Casellas, L. Francesch, J.G. Rocha, S. Lanceros-Mendez, Development of inkjet printed strain sensors, *Smart Materials and Structures* 22(10) (2013) 105028.
- [10] L. Do Hoon, P. Jonghyurk, L. Jong-Kwon, H. Kwang, L. Dong-Jin, L. Ye Rim, L. Byung Yang, Highly sensitive and flexible strain sensors based on patterned ITO nanoparticle channels, *Nanotechnology* 28(49) (2017) 495501.
- [11] P. Liu, W. Pan, Y. Liu, J. Liu, W. Xu, X. Guo, C. Liu, Y. Zhang, Y. Ge, Y. Huang, Fully flexible strain sensor from core-spun elastic threads with integrated electrode and sensing cell based on conductive nanocomposite, *Composites Science and Technology* 159 (2018) 42-49.
- [12] S. Chun, Y. Choi, W. Park, All-graphene strain sensor on soft substrate, *Carbon* 116 (2017) 753-759.

- [13] D. Zhang, C. Jiang, J. Tong, X. Zong, W. Hu, Flexible Strain Sensor Based on Layer-by-Layer Self-Assembled Graphene/Polymer Nanocomposite Membrane and Its Sensing Properties, *Journal of Electronic Materials* 47(4) (2018) 2263-2270.
- [14] Y.-Q. Li, P. Huang, W.-B. Zhu, S.-Y. Fu, N. Hu, K. Liao, Flexible wire-shaped strain sensor from cotton thread for human health and motion detection, *Scientific reports*, 2017, p. 45013.
- [15] Y. Wu, L. Beker, I. Karakurt, W. Cai, J. Elwood, X. Li, J. Zhong, M. Zhang, X. Wang, L. Lin, High resolution flexible strain sensors for biological signal measurements, 2017 19th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS), 2017, pp. 1144-1147.
- [16] J. Li, J.P. Longtin, S. Tankiewicz, A. Gouldstone, S. Sampath, Interdigital capacitive strain gauges fabricated by direct-write thermal spray and ultrafast laser micromachining, *Sensors and Actuators A: Physical* 133(1) (2007) 1-8.
- [17] T.F. R. Zeiser, J. Wilde, Development and testing of capacitive strain gauges, *Zwick Science Award/Ulm* (2010).
- [18] L. Cai, L. Song, P. Luan, Q. Zhang, N. Zhang, Q. Gao, D. Zhao, X. Zhang, M. Tu, F. Yang, W. Zhou, Q. Fan, J. Luo, W. Zhou, P.M. Ajayan, S. Xie, Super-stretchable, Transparent Carbon Nanotube-Based Capacitive Strain Sensors for Human Motion Detection, *Scientific Reports* 3 (2013) 3048.
- [19] D.J. Cohen, D. Mitra, K. Peterson, M.M. Maharbiz, A Highly Elastic, Capacitive Strain Gauge Based on Percolating Nanotube Networks, *Nano Letters* 12(4) (2012) 1821-1825.
- [20] S.V. Patel, T.E. Mlsna, B. Fruhberger, E. Klaassen, S. Cemalovic, D.R. Baselt, Chemicapacitive microsensors for volatile organic compound detection, *Sensors and Actuators B: Chemical* 96(3) (2003) 541-553.
- [21] K.C. Persaud, Polymers for chemical sensing, *Materials Today* (2005).
- [22] B. Robert, U. Deepak, Chemicapacitors as a versatile platform for miniature gas and vapor sensors, *Measurement Science and Technology* 28(2) (2017) 022001.
- [23] H. Bai, G. Shi, Gas Sensors Based on Conducting Polymers, *Sensors (Basel, Switzerland)* 7(3) (2007) 267-307.
- [24] A. Kaushik, R. Kumar, R.D. Jayant, M. Nair, Nanostructured Gas Sensors for Health Care: An Overview, *Journal of personalized nanomedicine* 1(1) (2015) 10-23.
- [25] C.-Y. Lee, G.-W. Wu, W.-J. Hsieh, Fabrication of micro sensors on a flexible substrate, *Sensors and Actuators A: Physical* 147(1) (2008) 173-176.
- [26] G. Lu, L.E. Ocola, J. Chen, Gas detection using low-temperature reduced graphene oxide sheets, *Applied Physics Letters* 94(8) (2009) 083111.
- [27] A. Hulanicki, S. Glab, F. Ingman, Chemical sensors: definitions and classification, *Pure and Applied Chemistry*, 1991, p. 1247.
- [28] A. Kaushik, R. Kumar, S.K. Arya, M. Nair, B.D. Malhotra, S. Bhansali, Organic-Inorganic Hybrid Nanocomposite-Based Gas Sensors for Environmental Monitoring, *Chemical Reviews* 115(11) (2015) 4571-4606.
- [29] J.D.A. Espinoza, V. Sazhnikov, S. Sabik, D. Ionov, E. Smits, S. Kalathimekkad, G. Van Steenberge, M. Alfimov, M. Pośniak, E. Dobrzyńska, M. Szewczyńska, K. Benczek, H. Schoo, Flexible Optical Chemical Sensor Platform for BTX, *Procedia Engineering* 47 (2012) 607-610.
- [30] A.V. Quintero, F. Molina-Lopez, E.C.P. Smits, E. Danesh, J.v.d. Brand, K. Persaud, A. Oprea, N. Barsan, U. Weimar, N.F.d. Rooij, D. Briand, Smart RFID label with a printed multisensor platform for environmental monitoring, *Flexible and Printed Electronics* 1(2) (2016) 025003.

- [31] J. Courbat, D. Briand, A. Oprea, N. Bârsan, U. Weimar, N.F. de Rooij, Multi sensor platform on plastic foil for environmental monitoring, *Procedia Chemistry* 1(1) (2009) 597-600.
- [32] S. Kim, J. Han, M.-A. Kang, W. Song, S. Myung, S.-W. Kim, S.S. Lee, J. Lim, K.-S. An, Flexible chemical sensors based on hybrid layer consisting of molybdenum disulphide nanosheets and carbon nanotubes, *Carbon* 129 (2018) 607-612.
- [33] E. Singh, M. Meyyappan, H.S. Nalwa, Flexible Graphene-Based Wearable Gas and Chemical Sensors, *ACS Applied Materials & Interfaces* 9(40) (2017) 34544-34586.
- [34] P.-G. Su, H.-C. Shieh, Flexible NO₂ sensors fabricated by layer-by-layer covalent anchoring and in situ reduction of graphene oxide, *Sensors and Actuators B: Chemical* 190 (2014) 865-872.
- [35] D.Z. Vasiljević, A. Mansouri, L. Anzi, R. Sordan, G.M. Stojanović, Performance Analysis of Flexible Ink-Jet Printed Humidity Sensors Based on Graphene Oxide, *IEEE Sensors Journal* 18(11) (2018) 4378-4383.
- [36] R. Park, H. Kim, S. Lone, S. Jeon, W.Y. Kwon, B. Shin, W.S. Hong, One-Step Laser Patterned Highly Uniform Reduced Graphene Oxide Thin Films for Circuit-Enabled Tattoo and Flexible Humidity Sensor Application, *Sensors* 18(6) (2018).
- [37] W. Xuan, X. He, J. Chen, W. Wang, X. Wang, Y. Xu, Z. Xu, Y.Q. Fu, J.K. Luo, High sensitivity flexible Lamb-wave humidity sensors with a graphene oxide sensing layer, *Nanoscale* 7(16) (2015) 7430-7436.
- [38] P.-G. Su, C.-F. Chiou, Electrical and humidity-sensing properties of reduced graphene oxide thin film fabricated by layer-by-layer with covalent anchoring on flexible substrate, *Sensors and Actuators B: Chemical* 200 (2014) 9-18.
- [39] P. Oikonomou, K. Manoli, D. Goustouridis, I. Raptis, M. Sanopoulou, Polymer/BaTiO₃ nanocomposites based chemocapacitive sensors, *Microelectronic Engineering* 86(4) (2009) 1286-1288.
- [40] E. Skotadis, D. Mousadakos, K. Katsabrokou, S. Stathopoulos, D. Tsoukalas, Flexible polyimide chemical sensors using platinum nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical* 189 (2013) 106-112.
- [41] U. Altenberend, F. Molina-Lopez, A. Oprea, D. Briand, N. Bârsan, N.F. De Rooij, U. Weimar, Towards fully printed capacitive gas sensors on flexible PET substrates based on Ag interdigitated transducers with increased stability, *Sensors and Actuators B: Chemical* 187 (2013) 280-287.
- [42] T. Yang, Y.Z. Yu, L.S. Zhu, X. Wu, X.H. Wang, J. Zhang, Fabrication of silver interdigitated electrodes on polyimide films via surface modification and ion-exchange technique and its flexible humidity sensor application, *Sensors and Actuators B: Chemical* 208(Supplement C) (2015) 327-333.
- [43] D. Briand, A. Oprea, J. Courbat, N. Bârsan, Making environmental sensors on plastic foil, *Materials Today* 14(9) (2011) 416-423.
- [44] A.M. Kummer, A. Hierlemann, H. Baltes, Tuning Sensitivity and Selectivity of Complementary Metal Oxide Semiconductor-Based Capacitive Chemical Microsensors, *Analytical Chemistry* 76(9) (2004) 2470-2477.
- [45] A.S.G. Reddy, B.B. Narakathu, M.Z. Atashbar, M. Rebros, E. Rebrosova, B.J. Bazuin, M.K. Joyce, P.D. Fleming, A. Pekarovicova, Printed Capacitive Based Humidity Sensors on Flexible Substrates, *Sensor Letters* 9(2) (2011) 869-871.

- [46] I.J. Dinshaw, S. Muniandy, S.J. Teh, F. Ibrahim, B.F. Leo, K.L. Thong, Development of an aptasensor using reduced graphene oxide chitosan complex to detect Salmonella, *Journal of Electroanalytical Chemistry* 806 (2017) 88-96.
- [47] A.M. Giuliadori, A. Brandi, S. Kotla, F. Perrozzi, R. Gunnella, L. Ottaviano, R. Spurio, A. Fabbretti, Development of a graphene oxide-based assay for the sequence-specific detection of double-stranded DNA molecules, *PLOS ONE* 12(8) (2017) e0183952.
- [48] G. Tsekenis, M.K. Filippidou, M. Chatzipetrou, V. Tsouti, I. Zergioti, S. Chatzandroulis, Heavy metal ion detection using a capacitive micromechanical biosensor array for environmental monitoring, *Sensors and Actuators B: Chemical* 208 (2015) 628-635.
- [49] H. Shi, B. Zhang, S. Liu, C. Tan, Y. Tan, Y. Jiang, A New Strategy Involving the Use of Peptides and Graphene Oxide for Fluorescence Turn-on Detection of Proteins, *Sensors* 18(2) (2018).
- [50] A. Balaji, J. Zhang, Electrochemical and optical biosensors for early-stage cancer diagnosis by using graphene and graphene oxide, *Cancer nanotechnology* 8(1) (2017) 10.
- [51] V. Jayanthi, A.B. Das, U. Saxena, Recent advances in biosensor development for the detection of cancer biomarkers, *Biosensors & bioelectronics* 91 (2017) 15-23.
- [52] A.A. Saeed, J.L.A. Sanchez, C.K. O'Sullivan, M.N. Abbas, DNA biosensors based on gold nanoparticles-modified graphene oxide for the detection of breast cancer biomarkers for early diagnosis, *Bioelectrochemistry* 118 (2017) 91-99.
- [53] D. sha, Detection of Calcitonin in Medullary Thyroid Carcinoma by an Electrochemical Sensor, *International Journal of Electrochemical Science* (2017) 10129-10139.
- [54] V. Tsouti, M.K. Filippidou, C. Boutopoulos, P. Broutas, I. Zergioti, S. Chatzandroulis, Self-aligned process for the development of surface stress capacitive biosensor arrays, *Sensors and Actuators B: Chemical* 166-167 (2012) 815-818.
- [55] P. Mehrotra, Biosensors and their applications – A review, *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research* 6(2) (2016) 153-159.
- [56] J. Kim, M.-S. Chae, S.M. Lee, D. Jeong, B.C. Lee, J.H. Lee, Y. Kim, S.T. Chang, K.S. Hwang, Wafer-scale high-resolution patterning of reduced graphene oxide films for detection of low concentration biomarkers in plasma, *Scientific reports* 6 (2016) 31276.
- [57] Y. Liu, X. Dong, P. Chen, Biological and chemical sensors based on graphene materials, *Chemical Society reviews* 41(6) (2012) 2283-307.
- [58] J. Filip, P. Kasák, J. Tkac, Graphene as signal amplifier for preparation of ultrasensitive electrochemical biosensors, *Chemical Papers* 69(1) (2015).
- [59] Y. Wang, Z. Li, J. Wang, J. Li, Y. Lin, Graphene and graphene oxide: biofunctionalization and applications in biotechnology, *Trends in biotechnology* 29(5) (2011) 205-12.
- [60] Y. Song, Y. Luo, C. Zhu, H. Li, D. Du, Y. Lin, Recent advances in electrochemical biosensors based on graphene two-dimensional nanomaterials, *Biosensors and Bioelectronics* 76 (2016) 195-212.
- [61] T.-T. Tran, A. Mulchandani, Carbon nanotubes and graphene nano field-effect transistor-based biosensors, *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 79 (2016) 222-232.
- [62] S. Mao, J. Chen, Graphene-based electronic biosensors, *Journal of Materials Research* 32(15) (2017) 2954-2965.
- [63] Q. He, S. Wu, Z. Yin, H. Zhang, Graphene-based electronic sensors, *Chemical Science* 3(6) (2012) 1764-1772.

- [64] N. Mohanty, V. Berry, Graphene-Based Single-Bacterium Resolution Biodevice and DNA Transistor: Interfacing Graphene Derivatives with Nanoscale and Microscale Biocomponents, *Nano Letters* 8(12) (2008) 4469-4476.
- [65] S. Jiang, R. Cheng, X. Wang, T. Xue, Y. Liu, A. Nel, Y. Huang, X. Duan, Real-time electrical detection of nitric oxide in biological systems with sub-nanomolar sensitivity, *Nature Communications* 4 (2013) 2225.
- [66] M. Larisika, C. Kotlowski, C. Steininger, R. Mastrogiacomo, P. Pelosi, S. Schütz, S.F. Peteu, C. Kleber, C. Reiner-Rozman, C. Nowak, W. Knoll, Electronic Olfactory Sensor Based on *A. mellifera* Odorant-Binding Protein 14 on a Reduced Graphene Oxide Field-Effect Transistor, *Angewandte Chemie International Edition* 54(45) (2015) 13245-13248.
- [67] B. Thakur, G. Zhou, J. Chang, H. Pu, B. Jin, X. Sui, X. Yuan, C.-H. Yang, M. Magruder, J. Chen, Rapid detection of single *E. coli* bacteria using a graphene-based field-effect transistor device, *Biosensors and Bioelectronics* 110 (2018) 16-22.
- [68] Y. Chen, R. Ren, H. Pu, X. Guo, J. Chang, G. Zhou, S. Mao, M. Kron, J. Chen, Field-Effect Transistor Biosensor for Rapid Detection of Ebola Antigen, *Scientific reports* 7(1) (2017) 10974.
- [69] M.-S. Chae, Y.K. Yoo, J. Kim, T.G. Kim, K.S. Hwang, Graphene-based enzyme-modified field-effect transistor biosensor for monitoring drug effects in Alzheimer's disease treatment, *Sensors and Actuators B: Chemical* 272 (2018) 448-458.
- [70] Y.V. Stebunov, O.A. Aftenieva, A.V. Arsenin, V.S. Volkov, Highly Sensitive and Selective Sensor Chips with Graphene-Oxide Linking Layer, *ACS applied materials & interfaces* 7(39) (2015) 21727-21734.
- [71] Q. He, S. Wu, S. Gao, X. Cao, Z. Yin, H. Li, P. Chen, H. Zhang, Transparent, Flexible, All-Reduced Graphene Oxide Thin Film Transistors, *ACS Nano* 5(6) (2011) 5038-5044.
- [72] Y.-M. Lei, M.-M. Xiao, Y.-T. Li, L. Xu, H. Zhang, Z.-Y. Zhang, G.-J. Zhang, Detection of heart failure-related biomarker in whole blood with graphene field effect transistor biosensor, *Biosensors and Bioelectronics* 91 (2017) 1-7.
- [73] J. Ping, R. Vishnubhotla, A. Vrudhula, A.T.C. Johnson, Scalable Production of High-Sensitivity, Label-Free DNA Biosensors Based on Back-Gated Graphene Field Effect Transistors, *ACS Nano* 10(9) (2016) 8700-8704.
- [74] J. Basu, C. RoyChaudhuri, Attomolar Sensitivity of FET Biosensor Based on Smooth and Reliable Graphene Nanogrids, *IEEE Electron Device Letters* 37(4) (2016) 492-495.
- [75] C. Zhang, J.-Q. Xu, Y.-T. Li, L. Huang, D.-W. Pang, Y. Ning, W.-H. Huang, Z. Zhang, G.-J. Zhang, Photocatalysis-Induced Renewable Field-Effect Transistor for Protein Detection, *Analytical Chemistry* 88(7) (2016) 4048-4054.
- [76] J. Peña-Bahamonde, H.N. Nguyen, S.K. Fanourakis, D.F. Rodrigues, Recent advances in graphene-based biosensor technology with applications in life sciences, *Journal of nanobiotechnology* 16(1) (2018) 75-75.
- [77] A. Balaji, J. Zhang, Electrochemical and optical biosensors for early-stage cancer diagnosis by using graphene and graphene oxide, *Cancer Nanotechnology* 8(1) (2017) 10.
- [78] N.-F. Chiu, T.-Y. Huang, H.-C. Lai, K.-C. Liu, Graphene oxide-based SPR biosensor chip for immunoassay applications, *Nanoscale research letters* 9(1) (2014) 445-445.
- [79] K. Furukawa, Y. Ueno, E. Tamechika, H. Hibino, Protein recognition on a single graphene oxide surface fixed on a solid support, *Journal of Materials Chemistry B* 1(8) (2013) 1119-1124.
- [80] A. Huang, L. Zhang, W. Li, Z. Ma, S. Shuo, T. Yao, Controlled fluorescence quenching by antibody-conjugated graphene oxide to measure tau protein, *Royal Society Open Science* 5(4) (2018) 171808.

- [81] Y. Ohno, K. Maehashi, K. Inoue, K. Matsumoto, Label-Free Aptamer-Based Immunoglobulin Sensors Using Graphene Field-Effect Transistors, *Japanese Journal of Applied Physics* 50(7R) (2011) 070120.
- [82] Y. Ohno, K. Maehashi, Y. Yamashiro, K. Matsumoto, Electrolyte-Gated Graphene Field-Effect Transistors for Detecting pH and Protein Adsorption, *Nano Letters* 9(9) (2009) 3318-3322.
- [83] T. Berninger, C. Bliem, E. Piccinini, O. Azzaroni, W. Knoll, Cascading reaction of arginase and urease on a graphene-based FET for ultrasensitive, real-time detection of arginine, *Biosensors and Bioelectronics* 115 (2018) 104-110.
- [84] T. Wang, H.-c. Guo, X.-y. Chen, M. Lu, Low-temperature thermal reduction of suspended graphene oxide film for electrical sensing of DNA-hybridization, *Materials Science and Engineering: C* 72 (2017) 62-68.
- [85] W.-S. Jiang, W. Xin, S.-N. Chen, C.-B. Li, X.-G. Gao, L.-T. Pan, Z.-B. Liu, J.-G. Tian, Microshell Arrays Enhanced Sensitivity in Detection of Specific Antibody for Reduced Graphene Oxide Optical Sensor, *Sensors (Basel, Switzerland)* 17(2) (2017) 221.
- [86] Ohno Yasuhide, Maehashi Kenzo, Yamashiro Yusuke, M. Kazuhiko, Electrolyte-Gated Graphene Field-Effect Transistors for Detecting pH and Protein Adsorption, *Nano Letters* 9(9) (2009) 3318-3322.
- [87] Yasuhide Ohno, Kenzo Maehashi, Koichi Inoue, K. Matsumoto, Label-Free Aptamer-Based Immunoglobulin Sensors Using Graphene Field-Effect Transistors, *Japanese Journal of Applied Physics* 50(7R) (2011) 070120.
- [88] Grant Saltzgaber, Peter M. Wojcik, Tal Sharf, Matthew R. Leyden, Jenna L. Wardini, Christopher A. Heist, Adeniyi A. Adenuga, Vincent T. Remcho, Ethan D. Minot, Scalable graphene field-effect sensors for specific protein detection, *Nanotechnology* 24(35) (2013) 355502.
- [89] F. Liu, J.Y. Choi, T.S. Seo, Graphene oxide arrays for detecting specific DNA hybridization by fluorescence resonance energy transfer, *Biosensors and Bioelectronics* 25(10) (2010) 2361-2365.
- [90] J. Zhang, F. Zhang, H. Yang, X. Huang, H. Liu, J. Zhang, S. Guo, Graphene oxide as a matrix for enzyme immobilization, *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* 26(9) (2010) 6083-5.
- [91] Y. Zhang, J. Zhang, X. Huang, X. Zhou, H. Wu, S. Guo, Assembly of graphene oxide-enzyme conjugates through hydrophobic interaction, *Small* 8(1) (2012) 154-9.
- [92] Z.K. Da Young Lee, Ji-Hoon Lee, Yong-kyu Lee, and Insik In, Blood Compatible Graphene/Heparin Conjugate through Noncovalent Chemistry, *Biomacromolecules* 12 (2011) 336-341.
- [93] L. Gao, Q. Li, R. Li, L. Yan, Y. Zhou, K. Chen, H. Shi, Highly sensitive detection for proteins using graphene oxide-aptamer based sensors, *Nanoscale* 7(25) (2015) 10903-7.
- [94] Y.K. Jung, T. Lee, E. Shin, B.S. Kim, Highly tunable aptasensing microarrays with graphene oxide multilayers, *Scientific reports* 3 (2013) 1-7.
- [95] H. Chang, L. Tang, Y. Wang, J. Jiang, J. Li, Graphene Fluorescence Resonance Energy Transfer Aptasensor for the Thrombin Detection, *Analytical Chemistry* 82(6) (2010) 2341-2346.
- [96] K.S. Kim, Y.M. Um, J.R. Jang, W.S. Choe, P.J. Yoo, Highly sensitive reduced graphene oxide impedance sensor harnessing pi-stacking interaction mediated direct deposition of protein probes, *ACS applied materials & interfaces* 5(9) (2013) 3591-8.

- [97] H. Seo Yoon, J. Lim, S. Uk Son, D.-H. Kim, I. Song, S. Chan Jun, Biotin-streptavidin detection with a graphene-oxide supported radio-frequency resonator, *Applied Physics Letters* 102(19) (2013) 193701.
- [98] J. Shen, M. Shi, B. Yan, H. Ma, N. Li, Y. Hu, M. Ye, Covalent attaching protein to graphene oxide via diimide-activated amidation, *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces* 81(2) (2010) 434-8.
- [99] J.Y. Yoo, Y.H. Park, S.Y. Park, I. In, Specific Streptavidin Binding on Biotinylated Chemically Reduced Graphene Oxide, *Chemistry Letters* 44(7) (2015) 922-924.
- [100] G. Xu, X. Chen, J. Hu, P. Yang, D. Yang, L. Wei, Immobilization of trypsin on graphene oxide for microwave-assisted on-plate proteolysis combined with MALDI-MS analysis, *The Analyst* 137(12) (2012) 2757-61.
- [101] B. Jana, G. Mondal, A. Biswas, I. Chakraborty, A. Saha, P. Kurkute, S. Ghosh, Dual functionalized graphene oxide serves as a carrier for delivering oligohistidine- and biotin-tagged biomolecules into cells, *Macromolecular bioscience* 13(11) (2013) 1478-84.
- [102] J. Chang, S. Mao, Y. Zhang, S. Cui, D.A. Steeber, J. Chen, Single-walled carbon nanotube field-effect transistors with graphene oxide passivation for fast, sensitive, and selective protein detection, *Biosensors & bioelectronics* 42 (2013) 186-92.
- [103] S. Mao, K. Yu, G. Lu, J. Chen, Highly sensitive protein sensor based on thermally-reduced graphene oxide field-effect transistor, *Nano Research* 4(10) (2011) 921-930.
- [104] N. Kahn, O. Lavie, M. Paz, Y. Segev, H. Haick, Dynamic Nanoparticle-Based Flexible Sensors: Diagnosis of Ovarian Carcinoma from Exhaled Breath, *Nano Letters* 15(10) (2015) 7023-7028.
- [105] A.S.G. Reddy, B.B. Narakathu, M.Z. Atashbar, M. Rebros, E. Hrehorova, M. Joyce, Printed electrochemical based biosensors on flexible substrates, *SENSORS*, 2010 IEEE, 2010, pp. 1596-1600.
- [106] A.N. Sokolov, M.E. Roberts, Z. Bao, Fabrication of low-cost electronic biosensors, *Materials Today* 12(9) (2009) 12-20.
- [107] Y.-T. Chang, J.-H. Huang, M.-C. Tu, P. Chang, T.-R. Yew, Flexible direct-growth CNT biosensors, *Biosensors and Bioelectronics* 41 (2013) 898-902.
- [108] S. Sivashankar, C. Sapsanis, U. Buttner, K.N. Salama, Flexible low-cost cardiovascular risk marker biosensor for point-of-care applications, *Electronics Letters* 51(22) (2015) 1746-1748.
- [109] A. Economou, C. Kokkinos, M. Prodromidis, Flexible plastic, paper and textile lab-on-a chip platforms for electrochemical biosensing, *Lab on a Chip* 18(13) (2018) 1812-1830.
- [110] J. Jung, S.J. Kim, T.S. Jung, J. Na, D.H. Yoon, M.M. Sabri, H.J. Kim, Label-Free Flexible DNA Biosensing System Using Low-Temperature Solution-Processed In-Zn-O Thin-Film Transistors, *IEEE Transactions on Electron Devices* 64(2) (2017) 515-520.
- [111] C. Qianwei, S. Tai, S. Xuefen, R. Qincui, Y. Chongsheng, Y. Jun, F. Hua, Y. Leyong, W. Dapeng, Flexible electrochemical biosensors based on graphene nanowalls for the real-time measurement of lactate, *Nanotechnology* 28(31) (2017) 315501.
- [112] P. Labroo, Y. Cui, Flexible graphene bio-nanosensor for lactate, *Biosensors and Bioelectronics* 41 (2013) 852-856.
- [113] M.A. Kafi, A. Paul, R. Dahiya, Graphene oxide-chitosan based flexible biosensor, 2017 IEEE SENSORS, 2017, pp. 1-3.
- [114] D. Erickson, D. Li, Integrated microfluidic devices, *Analytica Chimica Acta* (2004) 11–26.

- [115] Y. Temiz, R.D. Lovchik, G.V. Kaigala, E. Delamarche, Lab-on-a-chip devices: How to close and plug the lab?, *Microelectronic Engineering* 132 (2015) 156-175.
- [116] A. Manz, N. Graber, H.M. Widmer, Miniaturized Total Chemical-Analysis Systems - a Novel Concept for Chemical Sensing, *Sensor Actuat B-Chem* 1(1-6) (1990) 244-248.
- [117] C. Kellner, M.L. Botero, D. Latta, K. Drese, A. Fragoso, C.K. O'Sullivan, Automated microsystem for electrochemical detection of cancer markers, *Electrophoresis* 32(8) (2011) 926-930.
- [118] L.F.H. Vladimir Gubala, Antonio J. Ricco, Ming X. Tan, and David E. Williams, Point of Care Diagnostics: Status and Future, *Anal. Chem.* 84 (2012) 487-515.
- [119] E.K. Sackmann, A.L. Fulton, D.J. Beebe, The present and future role of microfluidics in biomedical research, *Nature* 507(7491) (2014) 181-189.
- [120] P. Lin, X. Luo, I.M. Hsing, F. Yan, Organic Electrochemical Transistors Integrated in Flexible Microfluidic Systems and Used for Label-Free DNA Sensing, *Advanced Materials* 23(35) (2011) 4035-4040.
- [121] S. Kumar, S. Kumar, M.A. Ali, P. Anand, V.V. Agrawal, R. John, S. Maji, B.D. Malhotra, Microfluidic-integrated biosensors: Prospects for point-of-care diagnostics, *Biotechnology Journal* 8(11) (2013) 1267-1279.
- [122] H. Becker, C. Gärtner, Microfluidics-Enabled Diagnostic Systems: Markets, Challenges, and Examples, *1547* (2017) 3-21.
- [123] C.D. Chin, V. Linder, S.K. Sia, Lab-on-a-chip devices for global health: Past studies and future opportunities, *Lab on a Chip* 7(1) (2007) 41-57.
- [124] G. Luka, A. Ahmadi, H. Najjaran, E. Alocilja, M. DeRosa, K. Wolthers, A. Malki, H. Aziz, A. Althani, M. Hoorfar, Microfluidics Integrated Biosensors: A Leading Technology towards Lab-on-a-Chip and Sensing Applications, *Sensors* 15(12) (2015) 30011-30031.
- [125] C.D. Chin, V. Linder, S.K. Sia, Commercialization of microfluidic point-of-care diagnostic devices, *Lab on a Chip* 12(12) (2012) 2118-2134.
- [126] N.d.R. Luc Gervais, and Emmanuel Delamarche, Microfluidic Chips for Point-of-Care Immunodiagnosics, *Adv. Mater* 23 (2011).
- [127] B. Bruijns, A. van Asten, R. Tiggelaar, H. Gardeniers, Microfluidic Devices for Forensic DNA Analysis: A Review, *Biosensors* 6(3) (2016) 41.
- [128] J.C. McDonald, G.M. Whitesides, Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices, *Accounts of Chemical Research* 35(7) (2002) 491-499.
- [129] T. Merkel, M. Graeber, L. Pagel, New technology for fluidic microsystems based on PCB technology, *Sensors and Actuators, A: Physical* 77(2) (1999) 98-105.
- [130] S. Gaßmann, I. Ibendorf, L. Pagel, Realization of a flow injection analysis in PCB technology, *Sensors and Actuators, A: Physical* 133(1) (2007) 231-235.
- [131] I. Burdallo, C. Jimenez-Jorquera, C. Fernández-Sánchez, A. Baldi, Integration of microelectronic chips in microfluidic systems on printed circuit board, *Journal of Micromechanics and Microengineering* 22(10) (2012) 105022.
- [132] K. Ellinas, A. Tserepi, E. Gogolides, Superhydrophobic, passive microvalves with controllable opening threshold: exploiting plasma nanotextured microfluidics for a programmable flow switchboard, *Microfluid Nanofluid* 17(3) (2014) 489-498.
- [133] E. Gogolides, K. Ellinas, A. Tserepi, Hierarchical micro and nano structured, hydrophilic, superhydrophobic and superoleophobic surfaces incorporated in microfluidics, microarrays and lab on chip microsystems, *Microelectron Eng* 132 (2015) 135-155.

- [134] J.G.E.G.A.v.d. Berg, Lab-on-a-chip systems for biomedical and environmental monitoring, *Anal Bioanal Chem* 378 (2004) 1700–1703.
- [135] N. Pamme, Continuous flow separations in microfluidic devices, *Lab Chip* 7 (2007) 1644–1659.
- [136] O.S.a.P.G. Tomasz S. Kaminski, Droplet microfluidics for microbiology: Techniques, applications and challenges, *Lab Chip* 16 (2016) 2168-2187.
- [137] A.M.a.B.G.C. Christian D. Ahrberg, Polymerase chain reaction in microfluidic devices, *Lab Chip* 16 (2016) 3866-3884.
- [138] S. Petralia, R. Verardo, E. Klaric, S. Cavallaro, E. Alessi, C. Schneider, In-Check system: A highly integrated silicon Lab-on-Chip for sample preparation, PCR amplification and microarray detection of nucleic acids directly from biological samples, *Sensors and Actuators B: Chemical* 187 (2013) 99-105.
- [139] K. Choi, J.-Y. Kim, J.-H. Ahn, J.-M. Choi, M. Im, Y.-K. Choi, Integration of field effect transistor-based biosensors with a digital microfluidic device for a lab-on-a-chip application, *Lab on a Chip* 12(8) (2012) 1533.
- [140] S. Ghosh Dastider, S. Barizuddin, N.S. Yuksek, M. Dweik, M.F. Almasri, Efficient and Rapid Detection of Salmonella Using Microfluidic Impedance Based Sensing, *Journal of Sensors* 2015 (2015) 1-8.
- [141] M. Kojima, Z. Wang, M. Nakajima, T. Arai, T. Fukuda, Microchip Device with Parallel Operation for Bacterial Chemotactic Analysis, *Sensors and Actuators B* <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.snb.2017.01.159> (2017).
- [142] J.-Y. Yoon, B. Kim, Lab-on-a-Chip Pathogen Sensors for Food Safety, *Sensors* 12(12) (2012) 10713-10741.
- [143] H. Wang, Y. Liu, C. Liu, J. Huang, P. Yang, B. Liu, Microfluidic chip-based aptasensor for amplified electrochemical detection of human thrombin, *Electrochemistry Communications* 12(2) (2010) 258-261.
- [144] Z. Zou, J. Kai, M.J. Rust, J. Han, C.H. Ahn, Functionalized nano interdigitated electrodes arrays on polymer with integrated microfluidics for direct bio-affinity sensing using impedimetric measurement, *Sensors and Actuators A: Physical* 136 (2007) 518–526.
- [145] Z. Nie, C.A. Nijhuis, J. Gong, X. Chen, A. Kumachev, A.W. Martinez, M. Narovlyansky, G.M. Whitesides, Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices, *Lab Chip* 10(4) (2010) 477-483.
- [146] W.K. Rafał Walczak, Portable laboratories in suitcases utilizing microfluidic chips for identification of bacteria and virus pathogens as a new tool of EU countries biological threats defense strategy, *Procedia Engineering* 168 (2016) 163 – 167.
- [147] E.-C. Yeh, C.-C. Fu, L. Hu, R. Thakur, J. Feng, L.P. Lee, Self-powered integrated microfluidic point-of-care low-cost enabling (SIMPLE) chip, *Science Advances* 3(3) (2017).
- [148] D. Chen, M. Mauk, X. Qiu, C. Liu, J. Kim, S. Ramprasad, S. Ongagna, W.R. Abrams, D. Malamud, P.L.A.M. Corstjens, H.H. Bau, An integrated, self-contained microfluidic cassette for isolation, amplification, and detection of nucleic acids, *Biomedical Microdevices* 12(4) (2010) 705-719.
- [149] Y. Sun, T.L. Quyen, T.Q. Hung, W.H. Chin, A. Wolff, D.D. Bang, A lab-on-a-chip system with integrated sample preparation and loop-mediated isothermal amplification for rapid and quantitative detection of *Salmonella* spp. in food samples, *Lab on a Chip* 15(8) (2015) 1898-1904.

- [150] A.M. Foudeh, T. Fatanat Didar, T. Veres, M. Tabrizian, Microfluidic designs and techniques using lab-on-a-chip devices for pathogen detection for point-of-care diagnostics, *Lab on a Chip* 12(18) (2012) 3249-3266.
- [151] J. Wu, W. Cao, W. Wen, R. Kodzius, Extraction, amplification and detection of DNA in microfluidic chip-based assays, *Microchimica Acta (Online)* 181(13-14) (2014) 1611-1631.
- [152] L.X. Kong, A. Perebikovskiy, J. Moebius, L. Kulinsky, M. Madou, Lab-on-a-CD: A Fully Integrated Molecular Diagnostic System, *Journal of Laboratory Automation* 21(3) (2016) 323-355.
- [153] P. Lisowski, P.K. Zarzycki, Microfluidic Paper-Based Analytical Devices (μ PADs) and Micro Total Analysis Systems (μ TAS): Development, Applications and Future Trends, *Chromatographia* 76(19) (2013) 1201-1214.
- [154] D.D. Liana, B. Raguse, J.J. Gooding, E. Chow, Recent Advances in Paper-Based Sensors, *Sensors* 12(9) (2012) 11505.
- [155] Y. Seok, H.-A. Joung, J.-Y. Byun, H.-S. Jeon, S. Jeong Shin, S. Kim, Y.-B. Shin, H. Han, M.-G. Kim, A Paper-Based Device for Performing Loop-Mediated Isothermal Amplification with Real-Time Simultaneous Detection of Multiple DNA Targets, 2017.
- [156] D.D. Liana, B. Raguse, J.J. Gooding, E. Chow, Recent Advances in Paper-Based Sensors, 12(9) (2012) 11505-11526.
- [157] D. Moschou, A. Tserepi, The lab-on-PCB approach: tackling the μ TAS commercial upscaling bottleneck, *Lab on a Chip* 17(8) (2017) 1388-1405.
- [158] D. Moschou, N. Vourdas, M.K. Filippidou, V. Tsouti, G. Kokkoris, G. Tsekenis, I. Zergioti, S. Chatzandroulis, A. Tserepi, Integrated biochip for PCR-based DNA amplification and detection on capacitive biosensors, 2013, pp. 87650L-87650L-9.
- [159] H.-Y. Tseng, V. Adamik, J. Parsons, S.-S. Lan, S. Malfesi, J. Lum, L. Shannon, B. Gray, Development of an electrochemical biosensor array for quantitative polymerase chain reaction utilizing three-metal printed circuit board technology, *Sensors and Actuators B: Chemical* 204 (2014) 459-466.
- [160] C. Duarte-Guevara, Vikhram V. Swaminathan, B. Reddy, J.-C. Huang, Y.-S. Liu, R. Bashir, On-chip electrical detection of parallel loop-mediated isothermal amplification with DG-BioFETs for the detection of foodborne bacterial pathogens, *RSC Advances* 6(106) (2016) 103872-103887.
- [161] P. Jolly, J. Rainbow, A. Regoutz, P. Estrela, D. Moschou, A PNA-based Lab-on-PCB diagnostic platform for rapid and high sensitivity DNA quantification, *Biosensors and Bioelectronics* (2018).
- [162] G.A. Lopez, M.C. Estevez, M. Soler, L.M. Lechuga, Recent advances in nanoplasmonic biosensors: applications and lab-on-a-chip integration, 6(1) (2016) 123-136.
- [163] E. Tegou, G. Pseiropoulos, M.K. Filippidou, S. Chatzandroulis, Low-temperature thermal reduction of graphene oxide films in ambient atmosphere: Infra-red spectroscopic studies and gas sensing applications, *Microelectronic Engineering* 159 (2016) 146-150.
- [164] Z. He, J. Wei, C. Gan, W. Liu, Y. Liu, A rolling circle amplification signal-enhanced immunosensor for ultrasensitive microcystin-LR detection based on a magnetic graphene-functionalized electrode, *RSC Advances* 7(63) (2017) 39906-39913.
- [165] N. Celik, W. Balachandran, N. Manivannan, Graphene-based biosensors: methods, analysis and future perspectives, *IET Circuits, Devices & Systems* 9(6) (2015) 434-445.
- [166] A.C. Ferrari, F. Bonaccorso, V. Fal'ko, K.S. Novoselov, S. Roche, P. Bøggild, S. Borini, F.H.L. Koppens, V. Palermo, N. Pugno, J.A. Garrido, R. Sordan, A. Bianco, L. Ballerini, M.

Prato, E. Lidorikis, J. Kivioja, C. Marinelli, T. Ryhänen, A. Morpurgo, J.N. Coleman, V. Nicolosi, L. Colombo, A. Fert, M. Garcia-Hernandez, A. Bachtold, G.F. Schneider, F. Guinea, C. Dekker, M. Barbone, Z. Sun, C. Galiotis, A.N. Grigorenko, G. Konstantatos, A. Kis, M. Katsnelson, L. Vandersypen, A. Loiseau, V. Morandi, D. Neumaier, E. Treossi, V. Pellegrini, M. Polini, A. Tredicucci, G.M. Williams, B. Hee Hong, J.-H. Ahn, J. Min Kim, H. Zirath, B.J. van Wees, H. van der Zant, L. Occhipinti, A. Di Matteo, I.A. Kinloch, T. Seyller, E. Quesnel, X. Feng, K. Teo, N. Rupesinghe, P. Hakonen, S.R.T. Neil, Q. Tannock, T. Löfwander, J. Kinaret, Science and technology roadmap for graphene, related two-dimensional crystals, and hybrid systems, *Nanoscale* 7(11) (2015) 4598-4810.

[167] S. Campuzano, P. Yáñez-Sedeño, J.M. Pingarrón, Electrochemical Genosensing of Circulating Biomarkers, *Sensors (Basel, Switzerland)* 17(4) (2017) 866.

[168] B. Veigas, E. Fortunato, P. Baptista, Field Effect Sensors for Nucleic Acid Detection: Recent Advances and Future Perspectives, *Sensors* 15(5) (2015) 10380.

[169] M.S. Khan, S.K. Misra, K. Dighe, Z. Wang, A.S. Schwartz-Duval, D. Sar, D. Pan, Electrically-receptive and thermally-responsive paper-based sensor chip for rapid detection of bacterial cells, *Biosensors and Bioelectronics* 110 (2018) 132-140.

[170] M.S. Khan, S.K. Misra, Z. Wang, E. Daza, A.S. Schwartz-Duval, J.M. Kus, D. Pan, D. Pan, Paper-Based Analytical Biosensor Chip Designed from Graphene-Nanoplatelet-Amphiphilic-diblock-co-Polymer Composite for Cortisol Detection in Human Saliva, *Analytical Chemistry* 89(3) (2017) 2107-2115.

[171] H. Li, Y. Zhu, M.S. Islam, M.A. Rahman, K.B. Walsh, G. Koley, Graphene field effect transistors for highly sensitive and selective detection of K⁺ ions, *Sensors and Actuators B: Chemical* 253 (2017) 759-765.

[172] S. Patel, R. Nanda, S. Sahoo, E. Mohapatra, Biosensors in Health Care: The Milestones Achieved in Their Development towards Lab-on-Chip-Analysis, *Biochemistry Research International* 2016 (2016) 12.

[173] Z. Pu, R. Wang, J. Wu, H. Yu, K. Xu, D. Li, A flexible electrochemical glucose sensor with composite nanostructured surface of the working electrode, *Sensors and Actuators B: Chemical* 230 (2016) 801-809.

[174] Y. Jingxian, R. Le Roux, G. Yunfeng, K. Yunus, S. Matthews, J.G. Shapter, A.C. Fisher, Integration of enzyme immobilised single-walled carbon nanotube arrays into microfluidic devices for glucose detection, (2008) 137-140.

[175] M.A. Ali, S. Srivastava, P.R. Solanki, V. Reddy, V.V. Agrawal, C. Kim, R. John, B.D. Malhotra, Highly Efficient Bionzyme Functionalized Nanocomposite-Based Microfluidics Biosensor Platform for Biomedical Application, *Scientific Reports* 3 (2013).

[176] S. Pei, H.-M. Cheng, The reduction of graphene oxide, *Carbon* 50(9) (2012) 3210-3228.

[177] X. Weng, S. Neethirajan, A microfluidic biosensor using graphene oxide and aptamer-functionalized quantum dots for peanut allergen detection, *Biosensors and Bioelectronics* 85 (2016) 649-656.

[178] L. Cao, C. Fang, R. Zeng, X. Zhao, F. Zhao, Y. Jiang, Z. Chen, A disposable paper-based microfluidic immunosensor based on reduced graphene oxide-tetraethylene pentamine/Au nanocomposite decorated carbon screen-printed electrodes, *Sensors and Actuators B: Chemical* 252 (2017) 44-54.

[179] X. Weng, S. Neethirajan, Ensuring food safety: Quality monitoring using microfluidics, *Trends in Food Science & Technology* 65 (2017) 10-22.

- [180] R. Chand, S. Neethirajan, Microfluidic platform integrated with graphene-gold nanocomposite aptasensor for one-step detection of norovirus, *Biosensors and Bioelectronics* 98 (2017) 47-53.
- [181] P.K. Ang, A. Li, M. Jaiswal, Y. Wang, H.W. Hou, J.T.L. Thong, C.T. Lim, K.P. Loh, Flow Sensing of Single Cell by Graphene Transistor in a Microfluidic Channel, *Nano Letters* 11(12) (2011) 5240-5246.
- [182] J. Li, Y. Huang, D. Wang, B. Song, Z. Li, S. Song, L. Wang, B. Jiang, X. Zhao, J. Yan, R. Liu, D. He, C. Fan, A power-free microfluidic chip for SNP genotyping using graphene oxide and a DNA intercalating dye, *Chemical Communications* 49(30) (2013) 3125-3127.
- [183] P. Zuo, X. Li, D.C. Dominguez, B.-C. Ye, A PDMS/paper/glass hybrid microfluidic biochip integrated with aptamer-functionalized graphene oxide nano-biosensors for one-step multiplexed pathogen detection, *Lab on a Chip* 13(19) (2013) 3921-3928.
- [184] K. Furukawa, Y. Ueno, Biosensing on a Graphene Oxide Surface, in: N.T. Review (Ed.) Vol. 11 No. 8 Aug. 2013.
- [185] C. Chan, J. Shi, Y. Fan, M. Yang, A microfluidic flow-through chip integrated with reduced graphene oxide transistor for influenza virus gene detection, *Sensors and Actuators B: Chemical* 251 (2017) 927-933.
- [186] S. Viswanathan, T.N. Narayanan, K. Aran, K.D. Fink, J. Paredes, P.M. Ajayan, S. Filipek, P. Miszta, H.C. Tekin, F. Inci, U. Demirci, P. Li, K.I. Bolotin, D. Liepmann, V. Renugopalakrishnan, Graphene-protein field effect biosensors: glucose sensing, *Materials Today* 18(9) (2015) 513-522.
- [187] Z. Pu, R. Wang, K. Xu, D. Li, H. Yu, A flexible electrochemical sensor modified by graphene and AuNPs for continuous glucose monitoring, 2015 IEEE SENSORS, 2015, pp. 1-4.
- [188] G. Xu, J. Abbott, L. Qin, K.Y.M. Yeung, Y. Song, H. Yoon, J. Kong, D. Ham, Electrophoretic and field-effect graphene for all-electrical DNA array technology, *NATURE COMMUNICATIONS* 5 (2014) 4866.
- [189] N. Gao, T. Gao, X. Yang, X. Dai, W. Zhou, A. Zhang, C.M. Lieber, Specific detection of biomolecules in physiological solutions using graphene transistor biosensors, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(51) (2016) 14633-14638.
- [190] N.C.S. Vieira, J. Borme, J. G. Machado, F. Cerqueira, P.P. Freitas, V. Zucolotto, N.M.R. Peres, P. Alpuim, Graphene field-effect transistor array with integrated electrolytic gates scaled to 200 mm, *Journal of Physics: Condensed Matter* 28(8) (2016) 085302.

Κεφάλαιο 3: Αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοπετάλια γραφενίου

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφονται τα στάδια που ακολουθούνται για την κατασκευή ενός αισθητήρα παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοπετάλια γραφενίου (Graphene Nanoplatelets, GNPs). Ο αισθητήρας κατασκευάζεται από ένα αγώγιμο πολυμερές που παρασκευάζεται με την ενσωμάτωση νανοπεταλίων γραφενίου σε πολύ(διμεθυλοσιλοξάνη) (PDMS). Σημαντικό ρόλο στην κατασκευή του αισθητήρα διαδραματίζει η ομοιογένεια του αγώγιμου πολυμερούς (GNP / PDMS) και για το λόγο αυτό πρώτα μελετάται η διασπορά των GNPs σε διάφορους διαλύτες μέσω φασματοσκοπίας υπερύθρου (Fourier Transform IR, FT-IR spectroscopy). Στη συνέχεια εξετάζεται η ειδική αγωγιμότητα του αγώγιμου πολυμερούς συναρτήσει της συγκέντρωσης των GNPs, ενώ η μορφολογία του αξιολογείται με μικροσκοπία ηλεκτρονικής σάρωσης (SEM). Με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν τελικά κατασκευάστηκε ένας χαμηλού κόστους και εύκολος στην εφαρμογή αισθητήρας παραμόρφωσης με το αγώγιμο πολυμερές (GNP / PDMS) να επιστρώνεται σε ένα PDMS υπόστρωμα.

3.1 Υλικά κατασκευής του αισθητήρα

Η πολύ(διμεθυλοσιλοξάνη) (PDMS) που είναι ένα σιλικονούχο πολυμερές (SYLGARD 184 silicone elastomer) αγοράστηκε από την Dow Corning GmbH και χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή: α) του αισθητήρα και β) του αγώγιμου υλικού. Το αγώγιμο υλικό (conductive filler) είναι τα νανοπετάλια γραφενίου (Graphene Nanoplatelets, GNP) των οποίων το πάχος κυμαίνεται από 2 έως 10 nm και αγοράστηκαν από την ACS MATERIAL [1]. Το κυκλοεξάνιο (Cyclohexane) αγοράστηκε από την Merck KGaA (M: 84,16 g/mol) και χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης του PDMS, ενώ η ισοπροπανόλη (Isopropanol) αγοράστηκε από την BASF και χρησιμοποιήθηκε ως μέσο διασποράς των GNPs.

3.2 Μέθοδοι χαρακτηρισμού

Σε αυτή την ενότητα παρουσιάζονται όλες οι μέθοδοι χαρακτηρισμού του αγώγιμου πολυμερούς και του αισθητήρα.

3.2.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας και του πάχους του αγώγιμου πολυμερούς

Η μορφολογία του αγώγιμου πολυμερούς χαρακτηρίστηκε με JEOL JSM-7401f FESEM, ενώ το πάχος του μετρήθηκε με το προφιλόμετρο Ambios XP-2 profilometer.

3.2.2 Ηλεκτρικές μετρήσεις

Οι I-V χαρακτηριστικές καμπύλες του αγώγιμου πολυμερούς μετρήθηκαν με το Prober Karl-Suss Micromanipulator 7000 LTE, μέσω των οποίων προέκυψε η καμπύλη ειδικής αγωγιμότητας του αγώγιμου πολυμερούς.

3.2.3 Φασματοσκοπία υπερύθρου (Fourier Transform IR, FT-IR spectroscopy)

Η μελέτη της διασποράς των GNPs σε διάφορους διαλύτες έγινε με FTIR. Για τη συλλογή των FT-IR φασμάτων χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο (spectrophotometer) Bruker Tensor 27 FT-IR, εξοπλισμένο με παράθυρα (windows) ZnSe, και ανάλυση 4 cm^{-1} μετά από 64 σαρώσεις.

3.2.3 Μετρήσεις χωρητικότητας

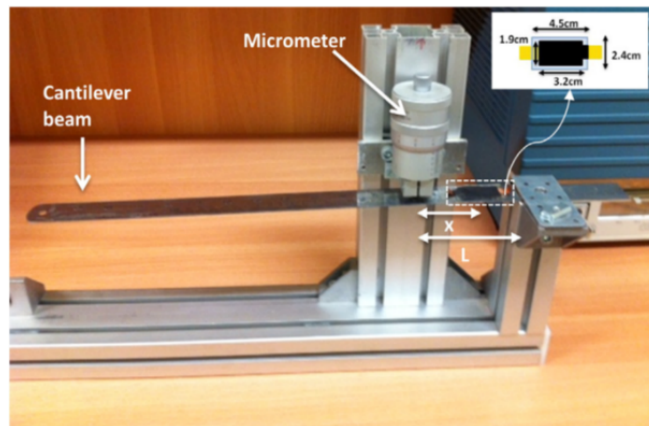
Η αξιολόγηση της απόκρισης του αισθητήρα σε διαφορετικές παραμορφώσεις πραγματοποιήθηκε μέσω των μετρήσεων χωρητικότητας. Η μεταβολή της χωρητικότητας συναρτήσει των διαφορετικών παραμορφώσεων μετρήθηκε με το HP 4278A Capacitance Meter στα 1 MHz.

3.2.4 Σύστημα μέτρησης του αισθητήρα παραμόρφωσης

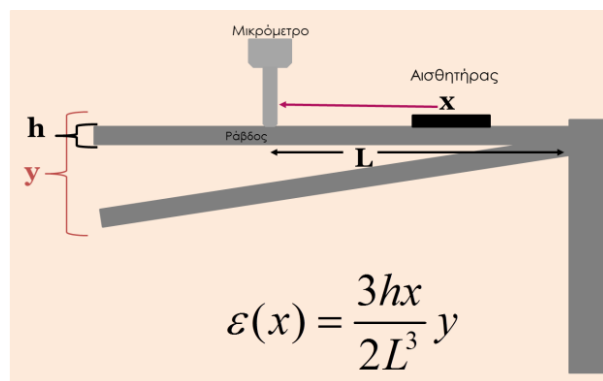
Για την μέτρηση του αισθητήρα παραμόρφωσης κατασκευάστηκε η πειραματική διάταξη της Εικόνας 3.1α. Πιο συγκεκριμένα ο αισθητήρας τοποθετείται με ταινία διπλής όψεως σε μια ράβδο, της οποίας το ένα άκρο έχει τη δυνατότητα να εκτρέπεται, ενώ το άλλο άκρο της είναι σταθερό (Εικόνα 3.1β). Η εκτροπή της ράβδους κατά την κατακόρυφη διεύθυνση ως προς τον άξονα της επιτυγχάνεται με τη χρήση ενός μικρομέτρου. Η παραμόρφωση (ϵ) που ασκείται υπολογίζεται από τη θέση του αισθητήρα επάνω στη ράβδο και από τη γεωμετρία της ράβδου:

$$\epsilon(x) = \frac{3hx}{2L^3} y \quad (3.1)$$

όπου h είναι το πάχος της ράβδου, L είναι το μήκος από το σταθερό άκρο της ράβδου μέχρι τη στρογγυλεμένη άκρη του μικρομέτρου, y είναι η κατακόρυφη εκτροπή και x είναι η απόσταση του αισθητήρα από το μικρόμετρο.



(α)



(β)

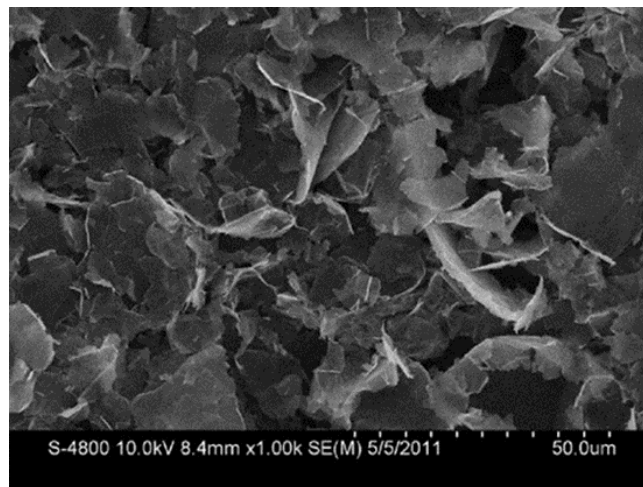
Εικόνα 3.1. (α) Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης με τον αισθητήρα τοποθετημένο επάνω στη ράβδο. Η σχηματική απεικόνιση του αισθητήρα παραμόρφωσης παρουσιάζεται σαν ένθετο στα δεξιά. (β) Σχηματική απεικόνιση της πειραματικής διάταξης στην οποία απεικονίζεται η εκτροπή της ράβδου.

3.3 Μελέτη της διασποράς των GNPs σε διάφορους διαλύτες

Στην παρασκευή του αγωγίμου πολυμερούς σημαντικό ρόλο διαδραματίζει η διασπορά του αγωγίμου υλικού μέσα στην πολυμερική μήτρα. Η καλή διασπορά έχει ως αποτέλεσμα

καλύτερες ηλεκτρικές ιδιότητες των νανοσύνθετων υλικών [2], ενισχύοντας την αγωγιμότητα τους. Για αυτό το λόγο υπάρχουν πολλές αναφορές στη βιβλιογραφία που μελετούν τις βασικές παραμέτρους που σχετίζονται με την παρασκευή νανοσύνθετων υλικών από διάφορες μορφές άνθρακα [3-6]. Μεταξύ των διάφορων μεθόδων που έχουν αναφερθεί [7], η μέθοδος ανάμιξης με διαλύτη (solvent blending) οδηγεί σε μικρότερο κατώφλι διήθησης, δηλαδή το αγωγίμο δίκτυο σχηματίζεται χρησιμοποιώντας μικρότερες συγκεντρώσεις αγωγίμου υλικού.

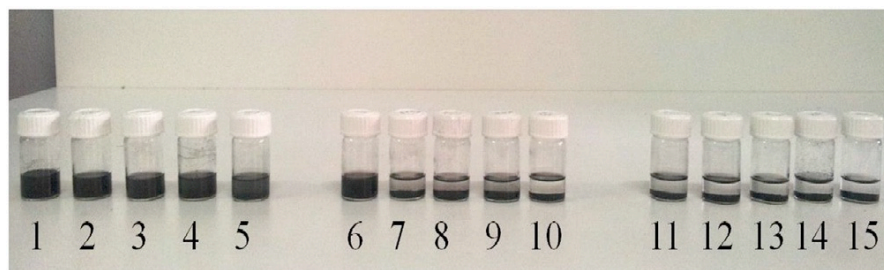
Συνήθως η παρασκευή του αγωγίμου πολυμερούς είναι μια πολύπλοκη και επίπονη διεργασία. Στην δική μας περίπτωση για την παρασκευή του αγωγίμου πολυμερούς χρησιμοποιήθηκε μια μέθοδος λίγο διαφορετική από αυτή που αναπτύχθηκε από την K. Kalaitzidou et al. [8]. Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι γίνεται χρήση υπερήχων που σπάνε τα συσσωματώματα των GNPs στο μείγμα των διαλυτών (IPA/cyclohexane), οι συγκεκριμένοι διαλύτες επιλέχτηκαν σύμφωνα με τα αποτελέσματα που περιγράφονται στη συνέχεια. Έτσι δημιουργούνται συνεχόμενοι αγωγίμοι δρόμοι και μπορεί να επιτευχθεί μικρότερο κατώφλι διήθησης στην καμπύλη ειδικής αγωγιμότητας. Στην Εικόνα 3.2 απεικονίζεται η μορφολογία των GNPs που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του αισθητήρα.



Εικόνα 3.2. Εικόνα από μικροσκόπιο σάρωσης ηλεκτρονίων (SEM) των GNPs πάχους μεταξύ 2-10 nm και διάμετρο περίπου 5 μm.

Προκειμένου να βελτιστοποιήσουμε την ομοιογένεια του αγωγίμου πολυμερούς GNP/PDMS μελετήθηκε η διασπορά των GNPs σε διαφορετικούς διαλύτες. Για αυτό το σκοπό αρχικά τα GNPs προστίθενται σε διάφορους διαλύτες (1mg/mL) και τοποθετούνται στους υπέρηχους για 2

ώρες. Αμέσως μετά τους υπέρηχους η διασπορά των GNPs σε όλους τους διαλύτες φαίνεται καλή. Ωστόσο μετά από 24 ώρες τα GNPs κάθονται ως ίζημα στους περισσότερους διαλύτες εκτός από τους διαλύτες 1–5 (Εικόνα 3.3).

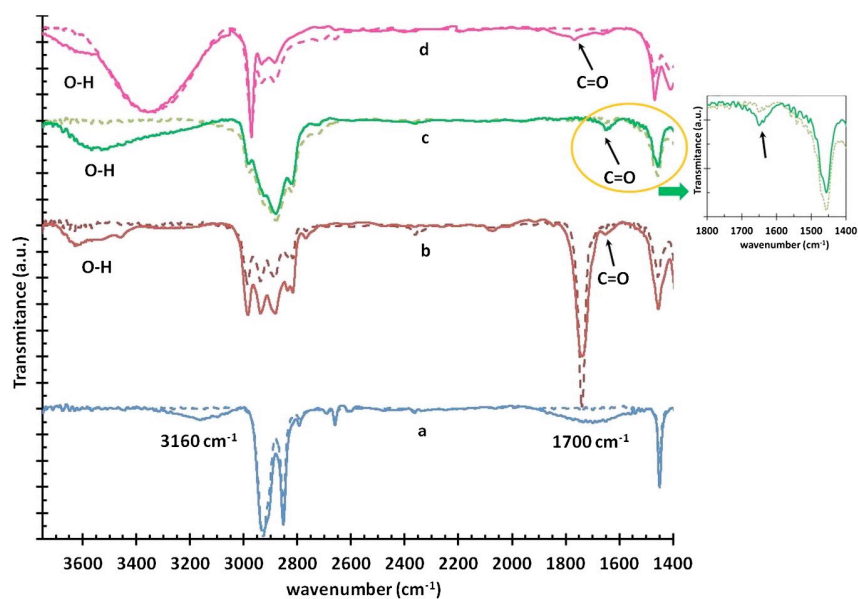


Εικόνα 3.3. Απεικόνιση της διασπορά των GNPs στους διάφορους διαλύτες μετά από 24 ώρες από τη χρονική στιγμή που βγήκαν τα διαλύματα από τους υπέρηχους. Στη φωτογραφία παρουσιάζονται από τα αριστερά προς τα δεξιά οι πιο κατάλληλοι διαλύτες προς τους λιγότερους ικανούς. Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν είναι: 1. Γλυκερίνη (Glycerin), 2. Διμεθυλαιθέρας διαιθυλενογλυκόλης (DEGDME), 3. Ισοπροπανόλη (IPA), 4. Αιθυλενογλυκόλη (Ethylene glycol), 5. Mineral spirits, 6. Οξικός μεθυλαιθέρας προπυλενογλυκόλης (PGMEA), 7. Αιθανόλη (Ethanol), 8. Ακετόνη (Acetone), 9. Τετραϋδροφουράνιο THF, 10. Ξυλόλιο (o-Xylene), 11. Κυκλοεξάνιο (Cyclohexane), 12. Τολουόλιο (Toluene), 13. 1- βουτανόλη (1-butanol), 14. Νερό (Water), και 15. Μεθανόλη (Methanol).

Επιπλέον, μελετήθηκε η διασπορά των GNPs στους διάφορους διαλύτες με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) (Εικόνα 3.4). Πριν την μελέτη με το FT-IR τα διαλύματα τα οποία είχαν ίζημα αναδεύτηκαν με μαγνήτη έτσι ώστε να εξασφαλιστεί ότι όλα τα διαλύματα έχουν την ίδια ποσότητα GNPs. Για λόγους σύγκρισης με διακεκομμένη γραμμή παρουσιάζονται και τα φάσματα των διαλυτών χωρίς GNP: a) cyclohexane, b) PGMEA, c) DEGDME και d) isopropanol. Πιο συγκεκριμένα για τη διεξαγωγή της μέτρησης επιλέχτηκε ένας αντιπροσωπευτικός διαλύτης από κάθε ομάδα της Εικόνας 3.3, π.χ. από την Εικόνα 3.3 φαίνεται ότι το DEGDME και η IPA αποτελούν ένα καλό μέσο διασποράς για τα GNP, το PGMEA είναι ένα μέτριο μέσο διασποράς και το cyclohexane δεν αποτελεί τόσο καλό μέσο διασποράς. Έτσι λοιπόν συγκρίνοντας τα φάσματα του cyclohexane και του cyclohexane με GNPs (Εικόνα 3.4a), παρατηρούμε στο φάσμα του cyclohexane με τα GNPs δυο κορυφές απορρόφησης στα 3150

cm^{-1} και 1700 cm^{-1} λόγω της παρουσίας των GNPs στο cyclohexane, οι οποίες δεν υπάρχουν στο φάσμα του cyclohexane. Πιο συγκεκριμένα, η κορυφή στα 3150 cm^{-1} , οφείλεται στις δονήσεις τάσης των O–H (μόρια νερού που έχουν απορροφηθεί), και στα 1700 cm^{-1} , οφείλεται στις δονήσεις τάσης των καρβοξυλικών ομάδων που βρίσκονται στην άκρη του επίπεδου στρώματος ή στις συζευγμένες καρβονυλικές ομάδες, που δηλώνουν την μερική οξείδωση των GNPs [9]. Αυτές οι κορυφές παρουσιάζονται επίσης και στα φάσματα όπου έχει χρησιμοποιηθεί ως μέσο διασποράς των GNPs το PGMEA, το DEGDMΕ και η IPA (Εικόνα 3.4 b, c και d). Παρόλα αυτά δεν διακρίνονται εύκολα εξαιτίας της αλληλοεπικάλυψης των κορυφών και λόγω του μικρού ποσοστού των οξειδωμένων περιοχών (oxidized sites) του GNP. Ωστόσο σε αυτά τα φάσματα, όπου η διασπορά των GNPs είναι πιο αποτελεσματική, διακρίνεται μια κορυφή περίπου στα 3550 cm^{-1} , που αποδίδεται στις ομάδες υδροξυλίου και είναι πιο σαφής στο φάσμα του DEGDMΕ με τα GNPs. Η νέα αυτή κορυφή που εμφανίζεται στο DEGDMΕ και στο PGMEA με τα GNPs υποδηλώνει ότι αυτοί οι διαλύτες απορροφώνται καλύτερα από τα GNPs και αυτό γίνεται μάλλον εξαιτίας των δεσμών υδρογόνων που σχηματίζονται ανάμεσα στις ομάδες των διαλυτών που περιέχουν οξυγόνο και των οξειδωμένων περιοχών (oxidized sites) των GNPs. Όσον αφορά την IPA όπου η διασπορά των GNPs είναι σχεδόν τόσο καλή όσο στην περίπτωση του DEGDMΕ, εμφανίζεται μια κορυφή στα 3620 cm^{-1} στην ήδη υπάρχουσα κορυφή των υδροξυλίων της IPA. Έτσι λοιπόν μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τη φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) ως εργαλείο για την αξιολόγηση του βαθμού διασποράς των GNPs στους διάφορους διαλύτες μέσω της παρακολούθησης της παρουσίας ή της απουσίας της κορυφής των υδροξυλίων περίπου στα 3550 cm^{-1} .

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα είναι προφανές ότι τα GNPs απαιτούν ένα καλό μέσο διασποράς όπως η IPA για την παρασκευή ενός αγωγίμου πολυμερούς που θα είναι ομογενές. Ταυτόχρονα, για το PDMS απαιτείται ένας καλός και ακίνδυνος διαλύτης, με υψηλή πτητικότητα όπως το κυκλοεξάνιο (η τάση ατμών του στους 20°C είναι 10.3 kPa), που να μην επηρεάζει σημαντικά το PDMS [10]. Έτσι λοιπόν επιλέξαμε το μείγμα IPA/cyclohexane ως μέσο διασποράς/διαλύτη για την κατασκευή του αγωγίμου πολυμερούς.



Εικόνα 3.4. Απεικόνιση των φασμάτων των GNP σε διάφορους διαλύτες χρησιμοποιώντας τη φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR): a) cyclohexane, b) PGMEA, c) DEGDME και d) isopropanol. Για λόγους σύγκρισης παρουσιάζονται τα φάσματα των διαλυτών χωρίς GNP με διακεκομμένη γραμμή. Στο ένθετο πάνω δεξιά φαίνεται σε μεγέθυνση το φάσμα του DEGDME στο οποίο έχουν ενσωματωθεί τα GNPs για την περιοχή 1800–1400 cm^{-1} .

3.4 Προετοιμασία του GNP/PDMS αγώγιμου πολυμερούς

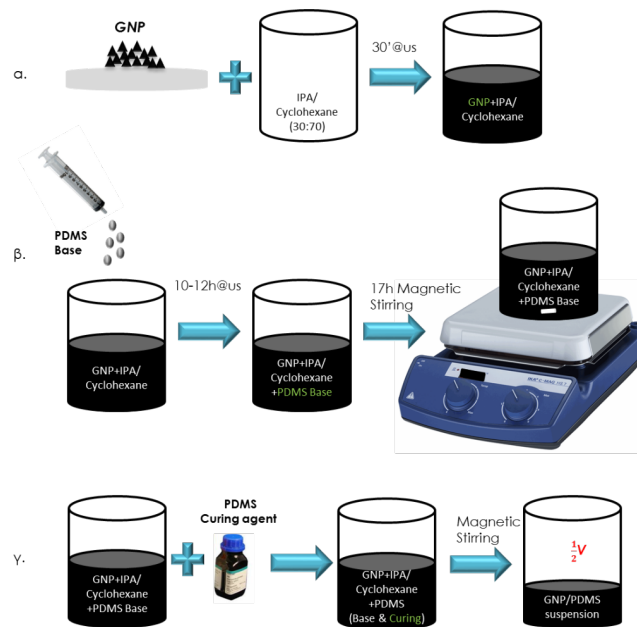
Με βάση την μελέτη της διασποράς των GNPs σε διάφορους διαλύτες που έγινε στην προηγούμενη παράγραφο χρησιμοποιήθηκαν οι διαλύτες IPA και cyclohexane για τη δημιουργία του αγώγιμου πολυμερούς. Έτσι λοιπόν για την παρασκευή του αγώγιμου πολυμερούς αρχικά τοποθετούνται σε ένα δοχείο οι διαλύτες IPA και cyclohexane σε αναλογία 30:70. Στην συνέχεια σε 5ml του μείγματος των διαλυτών προστίθενται τα GNPs (ποσότητα από 0.03 g έως 0.2 g) και το δοχείο τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων. Μετά από ένα χρονικό διάστημα 30 λεπτών προστίθεται η βάση του PDMS (0.91 g) και το μείγμα τοποθετείται ξανά σε λουτρό υπερήχων, ενώ μετά το πέρας 10-12 ωρών αναδεύεται με μαγνήτη για 17 ώρες. Τέλος, προστίθεται ο διασταυρωτής του PDMS (0.091 g), με την αναλογία της βάση του PDMS ως προς το διασταυρωτή να είναι 10:1, και ακολουθεί ανάδευση με μαγνήτη μέχρι να εξατμιστεί ο μισός όγκος και να επιτύχουμε το επιθυμητό ιξώδες.

Σε αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι παρασκευάσαμε αγώγιμα πολυμερή διαφορετικής περιεκτικότητας για να μπορέσουμε να μελετήσουμε την μεταβολή της ειδικής αγωγιμότητας

του αγώγιμου πολυμερούς σε σχέση με την περιεκτικότητα του σε GNPs, δηλαδή για να βρούμε την καμπύλη ειδικής αγωγιμότητας του αγώγιμου πολυμερούς. Για το σκοπό αυτό η ποσότητα των GNPs αλλάζει και μάλιστα κυμαίνεται από 0.03 g έως 0.2 g για την παρασκευή αγώγιμων πολυμερών περιεκτικότητας από 3 έως 20 wt.% αντίστοιχα. Πιο συγκεκριμένα η περιεκτικότητα του αγώγιμου πολυμερούς υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\frac{\text{Graphene}}{\text{συνολικό PDMS(βάση & διασταυρωτή)}} = \% \text{ wt} \quad (3.2)$$

Στην Εικόνα 3.5 απεικονίζονται σχηματικά όλα τα βήματα για την παρασκευή του αγώγιμου πολυμερούς που χρησιμοποιείται για την κατασκευή του αισθητήρα παραμόρφωσης.



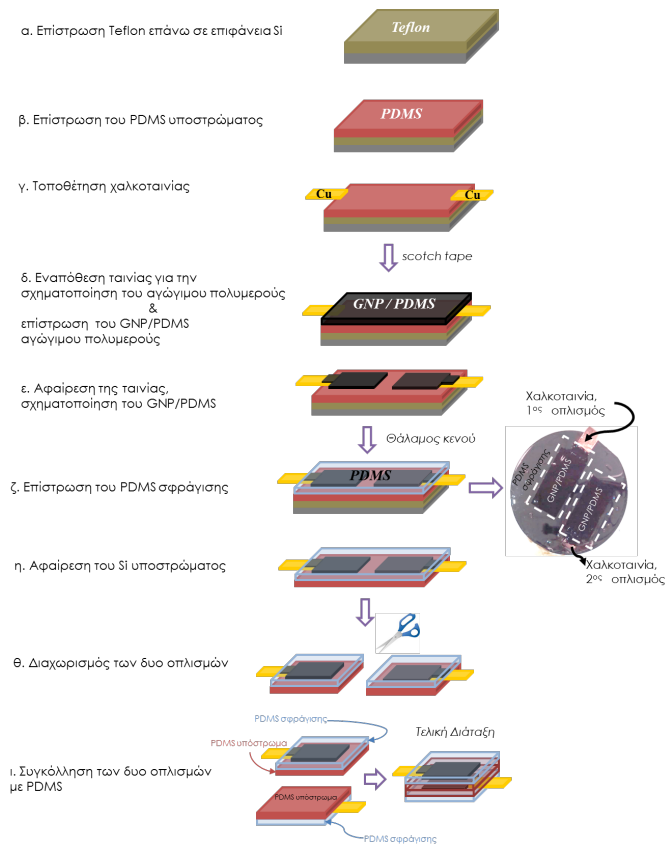
Εικόνα 3.5. Σχηματική αναπαράσταση του τρόπου παρασκευής του GNP/PDMS αγώγιμου πολυμερούς.

3.5 Κατασκευή του αισθητήρα παραμόρφωσης από GNP/PDMS αγώγιμο πολυμερές

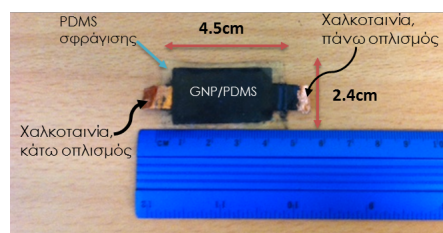
Τα βασικά υλικά τα οποία χρησιμοποιούνται για την κατασκευή του αισθητήρα είναι το PDMS και τα GNPs, με το πρώτο να αποτελεί την πολυμερική μήτρα και τα δεύτερο το αγώγιμο υλικό. Η όλη διαδικασία κατασκευής του αισθητήρα παραμόρφωσης αποτελείται από 9 βήματα (Εικόνα 3.6) και υλοποιείται επάνω σε ένα υπόστρωμα πυριτίου (Silicon, Si). Το πρώτο βήμα που λαμβάνει μέρος είναι η επίστρωση ενός φιλμ τεφλόν (7000rpm για 10s και θέρμανση για 5' στους 95°C) που επιτρέπει την εύκολη αποκόλληση του εύκαμπτου αισθητήρα από το υπόστρωμα πυριτίου (Εικόνα 3.6 βήμα α). Το επόμενο βήμα περιλαμβάνει την επίστρωση του PDMS υποστρώματος, 1000rpm για 10s, το οποίο θερμαίνεται για 1h στους 100°C προκειμένου να σκληρύνει. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία ενός φιλμ πάχους 244 μm (Εικόνα 3.6 βήμα β) το οποίο μετρήθηκε με προφιλόμετρο.

Το σήμα κατά την παραμόρφωση του αισθητήρα λαμβάνεται από τις χαλκοταινίες που αποτελούν τις επαφές του αισθητήρα και τοποθετούνται πάνω στο PDMS υπόστρωμα με τη βοήθεια PDMS, το οποίο στην προκειμένη περίπτωση λειτουργεί ως κόλλα (Εικόνα 3.6 βήμα γ). Η διάταξη θερμαίνεται για 45 min στους 100°C. Στη συνέχεια τοποθετούνται επάνω στη διάταξη ταινίες για τη σχηματοποίηση του αγώγιμου πολυμερούς. Με αυτό τον τρόπο συγκεκριμένα τμήματα του PDMS υποστρώματος καλύπτονται από την ταινία, ενώ τα τμήματα τα οποία επιθυμούμε να έχουν το αγώγιμο πολυμερές παραμένουν ακάλυπτα από ταινία. Μετά από αυτό το βήμα γίνεται επίστρωση του GNP/PDMS αγώγιμου πολυμερούς (Εικόνα 3.6 βήμα δ). Με την αφαίρεση της ταινίας από την διάταξη σχηματοποιείται τελικά το αγώγιμο πολυμερές, πάχους 750 μm, σε παραλληλόγραμμα τα οποία στη συνέχεια θα αποτελέσουν τους δυο οπλισμούς του αισθητήρα (Εικόνα 3.6 βήμα ε). Αμέσως μετά τη σχηματοποίηση η διάταξη τοποθετείται σε θάλαμο κενού για 20' με σκοπό την απομάκρυνση οποιασδήποτε περίσσειας διαλύτη από το διάλυμα του αγώγιμου πολυμερούς. Ακολουθεί η θέρμανση της διάταξης για 30 λεπτά στους 100°C και η επίστρωση του PDMS σφράγισης, 1000 rpm για 10 s (Εικόνα 3.6 βήμα ζ). Τέλος, μετά τη θέρμανση της διάταξης για 1 ώρα στους 100°C, η διάταξη αποκολλιέται από το υπόστρωμα πυριτίου (Εικόνα 3.6 βήμα η) και κόβεται σε δυο κομμάτια, όπου κάθε κομμάτι αποτελεί τον οπλισμό ενός πυκνωτή (Εικόνα 3.6 βήμα θ). Οι δυο οπλισμοί ενώνονται μεταξύ

τους χρησιμοποιώντας PDMS και η τελική διάταξη θερμαίνεται για 1 ώρα στους 100°C (Εικόνα 3.6 βήμα ι). Στην Εικόνα 3.6α απεικονίζονται τα εννέα βήματα που απαιτούνται για την κατασκευή του αισθητήρα, ενώ στην Εικόνα 3.6β παρουσιάζεται μια φωτογραφία του αισθητήρα.



(α)



(β)

Εικόνα 3.6. (α) Σχηματική αναπαράσταση των βημάτων που απαιτούνται για την υλοποίηση του αισθητήρα. Στα δεξιά ως ένθετο παρουσιάζεται η φωτογραφία της διάταξης πριν από την αποκόλληση της από το υπόστρωμα πυριτίου. **(β)** Φωτογραφία του τελικού αισθητήρα με τις διαστάσεις του.

3.6 Χαρακτηρισμός του GNP/PDMS αισθητήρα παραμόρφωσης

Τα GNPs είναι ένα υλικό οικονομικό αλλά και συγχρόνως πολύ αποδοτικό καθώς χαρακτηρίζεται από πολύ υψηλή τιμή ειδικής αγωγιμότητας 8×10^4 S/m [1]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία [11-15] αυτή η τιμή είναι πολύ μεγαλύτερη από την τιμή της ειδικής αγωγιμότητας του ανηγμένου οξειδίου του γραφενίου (reduced graphene oxide) και λίγο μικρότερη από την ειδική αγωγιμότητα του pristine graphene. Όσον αφορά το PDMS αυτό είναι μη αγώγιμο και παρουσιάζει χαμηλές τιμές ειδικής αγωγιμότητας (10^{-14} S/m) [16-18].

Για να μελετήσουμε την ειδική αγωγιμότητα του αγώγιμου πολυμερούς από GNP και PDMS παρασκευάστηκαν αγώγιμα πολυμερή με διαφορετική περιεκτικότητα από 3 έως 9.5 wt.%. Για τον υπολογισμό της ειδικής αντίστασης, και κατά συνέπεια της ειδικής αγωγιμότητας, τα αγώγιμα πολυμερή με τις διαφορετικές περιεκτικότητες εναποτέθηκαν με τη χρήση πιπέτας επάνω σε ηλεκτρόδια αλουμινίου (5000 Å) τα οποία είχαν σχηματοποιηθεί επάνω σε επιφάνεια SiO₂ (2000 Å). Μετά την εναπόθεση του αγώγιμου πολυμερούς σε αυτές τις διατάξεις αρχικά τα δείγματα με τις διαφορετικές περιεκτικότητες τοποθετήθηκαν σε θάλαμο κενού για 10' προκειμένου να εξατμιστεί η περίσσεια διαλύτη και στη συνέχεια θερμάνθηκαν στους 100°C για 30 λεπτά. Η αντίσταση υπολογίζεται από τις I-V χαρακτηριστικές, οι οποίες σε όλες τις περιπτώσεις (για τα αγώγιμα πολυμερή διαφορετικής περιεκτικότητας) παρουσιάζει γραμμική συμπεριφορά. Η ειδική αγωγιμότητα (σ) υπολογίζεται από τις εξισώσεις (3.3) και (3.4):

$$\rho = \frac{R \cdot L \cdot t}{Gap} \quad (3.3)$$

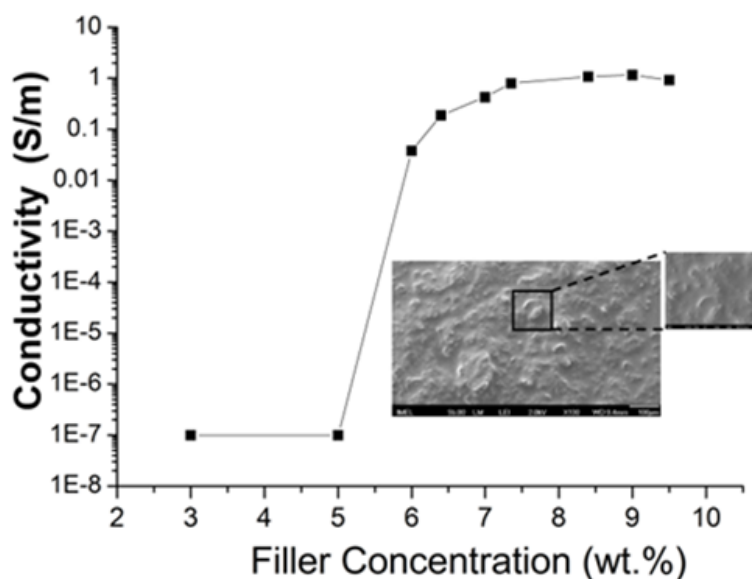
$$\sigma = \frac{1}{\rho} \quad (3.4)$$

, όπου ρ είναι η ειδική αντίσταση, R είναι η ηλεκτρική αντίσταση, L είναι το μήκος των ηλεκτροδίων που καλύπτονται από το αγώγιμο πολυμερές, t είναι το πάχος του αγώγιμου πολυμερούς και Gap είναι η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων.

Στην Εικόνα 3.7 απεικονίζεται η καμπύλη ειδικής αγωγιμότητας του αγώγιμου πολυμερούς από GNP και PDMS. Από το γράφημα αυτό προκύπτει ότι η ειδική αγωγιμότητα αυξάνεται απότομα (4 τάξεις μεγέθους) για περιεκτικότητες μεταξύ 5.5 και 7.5 wt.%, πράγμα το οποίο σημαίνει ότι δημιουργούνται αγώγιμοι δρόμοι. Αυτά τα αποτελέσματα είναι σε συμφωνία με τις τιμές που παρουσιάζονται στη βιβλιογραφία για τα GNP σύνθετα υλικά [19]. Ωστόσο, για να εξασφαλίσουμε ότι οι αγώγιμοι δρόμοι που σχηματίζονται μέσα στο GNP/PDMS αγώγιμο πολυμερές επαρκούν για την καλή λειτουργία του αισθητήρα παρασκευάζουμε αγώγιμο

πολυμερές με υψηλή περιεκτικότητα σε GNP (20wt.%). Η χρήση αγώγιμου υλικού επηρεάζει τις μηχανικές ιδιότητες του PDMS, πχ. αυξάνοντας το μέτρο ελαστικότητας (Young's modulus) [20, 21] και επομένως και τη δύναμη που απαιτείται για την εκτροπή του υποστρώματος του αισθητήρα, αλλά παρόλο αυτά δεν επηρεάζει την απόκριση του αισθητήρα σε σχέση με την παραμόρφωση.

Η μορφολογία του αγώγιμου πολυμερούς χαρακτηρίζεται με SEM (που φαίνεται στην Εικόνα 3.7). Πιο συγκεκριμένα η φωτογραφία του SEM δείχνει το βαθμό διασποράς του αγώγιμου υλικού μέσα στη πολυμερική μήτρα. Τέλος, σε αυτή τη φωτογραφία φαίνεται και η μορφολογία της επιφάνειας του αγώγιμου πολυμερούς (λόφοι και κοιλότητες).



Εικόνα 3.7. Απεικόνιση της καμπύλης ειδικής αγωγιμότητας του GNP/PDMS αγώγιμου πολυμερούς συναρτήσει της wt.% περιεκτικότητας του αγώγιμου υλικού (GNP). Αξίζει να σημειωθεί ότι καθώς η περιεκτικότητα του αγώγιμου υλικού αυξάνεται, αυξάνεται και η ειδική αγωγιμότητα καθώς σχηματίζεται αγώγιμο δίκτυο, ενώ τελικά η καμπύλη φτάνει σε ένα πλατό. Η μορφολογία του αγώγιμου πολυμερούς που έχει περιεκτικότητα σε αγώγιμο υλικό 8 wt.%, όπως αυτή λαμβάνεται από το SEM, παρουσιάζεται σαν ένθετο στα δεξιά ($\times 130$ μεγέθυνση).

Η αρχή λειτουργίας του αισθητήρα βασίζεται στην μεταβολή της χωρητικότητας λόγω: 1) της επέκτασης των δυο οπλισμών του υπό την επίδραση εφελκυστικής παραμόρφωσης και συστολής τους κατά τη συμπίεση και 2) της αντίστοιχης μεταβολής του πάχους του ενδιάμεσου PDMS που

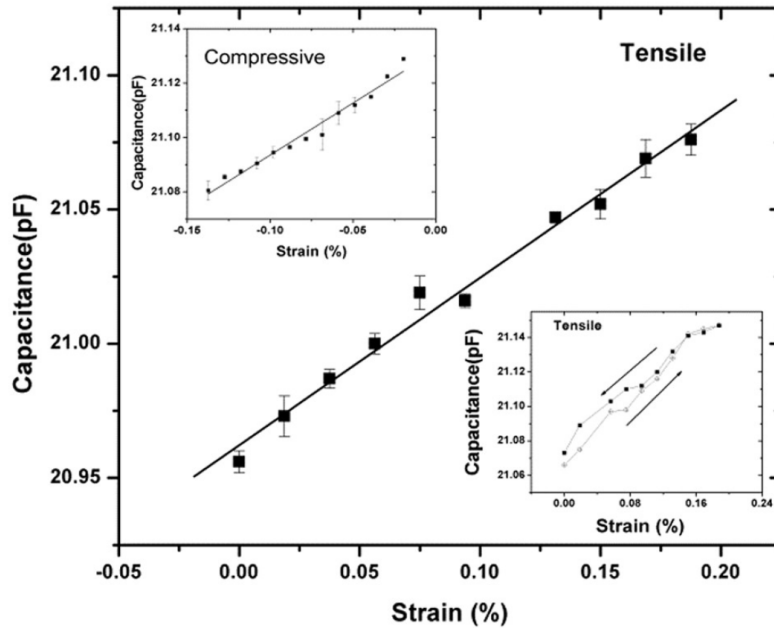
βρίσκεται ανάμεσα στους οπλισμούς. Γενικά η απόκριση του αισθητήρα, για μικρές παραμορφώσεις ή για μικρή επίδραση του παράγοντα poisson είναι γραμμική και δίνεται από τον τύπο:

$$\Delta C = C_{\text{stretch}} - C_0 = \epsilon_0 \epsilon_r \frac{(1-\nu \epsilon_x)w(1+\epsilon_x)L}{(1-\nu \epsilon_x)d} - \epsilon_0 \epsilon_r \frac{wL}{d} = \epsilon_x C_0 \quad (3.5)$$

, όπου C_{stretch} είναι η χωρητικότητα του αισθητήρα όταν τεντώνεται, $C_0 = \epsilon_0 \epsilon_r \frac{wL}{d}$ είναι η αρχική χωρητικότητα του αισθητήρα, L είναι το αρχικό μήκος και w το αρχικό πλάτος των ηλεκτροδίων του πυκνωτή, d είναι η απόσταση των ηλεκτροδίων, ϵ_r είναι η σχετική διηλεκτρική σταθερά του υλικού, $\epsilon_0 = 8.854 \text{ pF/m}$ είναι η διαπερατότητα του κενού, $\epsilon_x = \frac{\Delta L}{L}$ είναι η εφαρμοζόμενη παραμόρφωση που είναι παράλληλη στον x άξονα, και ν είναι ο λόγος poisson.

Η αξιολόγηση της απόκρισης του αισθητήρα σε διαφορετικές παραμορφώσεις πραγματοποιήθηκε μέσω των μετρήσεων χωρητικότητας. Η απόκριση του εύκαμπτου αισθητήρα από GNP/PDMS ως προς την παραμόρφωση που του ασκείται παρουσιάζεται στην Εικόνα 3.8

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ο αισθητήρας που χρησιμοποιήθηκε έχει αγώγιμο υλικό περιεκτικότητας 20 wt.%. Αυτού του είδους ο αισθητήρας που έχει υψηλή περιεκτικότητα σε αγώγιμο υλικό αποκρίθηκε σχεδόν γραμμικά στην εφαρμοζόμενη παραμόρφωση για εφαρμοζόμενο φορτίο παραμόρφωσης από 0% έως 0.2%. Στην Εικόνα 3.8 φαίνεται ως ένθετο ένας κύκλος κατά τον οποίο ο αισθητήρας αρχικά τεντώνεται (αύξηση της παραμόρφωσης) και στη συνέχεια επανέρχεται σιγά σιγά στην αρχική του κατάσταση (μείωση της παραμόρφωσης).



Εικόνα 3.8. Απεικόνιση των μετρήσεων χωρητικότητας συναρτήσει της παραμόρφωσης για τον αισθητήρα παραμόρφωσης που κατασκευάστηκε από GNP/PDMS αγώγιμο πολυμερές. Στα ένθετα παρουσιάζονται: (κάτω δεξιά) ένας κύκλος όπου ο αισθητήρας αρχικά τεντώνεται (αύξηση της παραμόρφωσης) και κατόπιν επανέρχεται στην αρχική του κατάσταση (μείωση της παραμόρφωσης), (πάνω αριστερά) η απόκριση του αισθητήρα σε συμπιεστική παραμόρφωση.

Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας στον αισθητήρα. Για αυτό το σκοπό ο αισθητήρας από τη θερμοκρασία δωματίου θερμάνθηκε μέχρι τους 80°C αυξάνοντας κάθε φορά τη θερμοκρασία κατά 10°C. Τα πειραματικά αποτελέσματα που προέκυψαν κατά τη διάρκεια του τεστ συγκρίθηκαν με τα αποτελέσματα από έναν αισθητήρα αντίστασης, ο οποίος επίσης είχε κατασκευαστεί από 20 wt.% GNP/PDMS αγώγιμο πολυμερές και έδειξαν ότι ο αισθητήρας τύπου χωρητικότητας δεν επηρεάζεται σημαντικά από τη θερμοκρασία. Έτσι λοιπόν για τον αισθητήρα αυτό ο συντελεστής θερμοκρασίας (TC) είναι 0.18%/°C, ενώ του αισθητήρα αντίστασης είναι 1.5%/°C. Η τιμή αυτή του συντελεστή θερμοκρασίας (TC) είναι παρόμοια με τις τιμές που αναφέρονται στη βιβλιογραφία για αισθητήρες τύπου χωρητικότητας (0.1%/°C) [22] και μικρότερη από το TC αισθητήρων τύπου αντίστασης (~0.4%/°C) [23]. Τέλος, όσον αφορά το συντελεστή ευαισθησίας του αισθητήρα (gauge factor, GF) αυτός υπολογίζεται από τον τύπο $\Delta C/C/\epsilon$ και από την Εικόνα 3.8 προκύπτει ότι είναι ίσος με 3. Σε

αυτό το σημείο αξίζει να σημειωθεί ότι ο συντελεστής ευαισθησίας ενός χωρητικού αισθητήρα είναι μικρότερος από το GF ενός αισθητήρα τύπου αντίστασης. Πράγματι οι Wang et al. [24], κατασκεύασαν έναν αισθητήρα τύπου αντίστασης από γραφένιο και PDMS, και έδειξαν ότι ο GF εξαρτάται από τη συγκέντρωση του γραφενίου και για αυτό το λόγο οι τιμές του κυμαίνονται από 3.9 έως 233. Οι Tian et al. [25] αναφέρονται στην κατασκευή ενός εύκαμπτου αισθητήρα γραφενίου ο οποίος δημιουργείται με χάραξη από λέιζερ. Αυτός ο αισθητήρας τύπου αντίστασης έχει GF ίσο με 0.11, ενώ όταν χρησιμοποιείται graphene micro-ribbons ο GF αυξάνεται και ισούται με 9.49. Αντίθετα, οι Cohen et al. [22] κατασκεύασαν έναν αισθητήρα παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας από νανοσωλήνες άνθρακα (carbon nanotubes) ο οποίος είχε GF ίσο με 0.99.

3.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάστηκε ο τρόπος παρασκευής ενός αγώγιμου πολυμερούς από νανοπετάλια γραφενίου (GNP) και PDMS (πολυμερική μήτρα), το οποίο στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκε για την κατασκευή ενός αισθητήρα παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας. Χρησιμοποιήθηκε φασματοσκοπία FT-IR για την μελέτη της διασποράς των GNPs σε διαφορετικούς διαλύτες και την τελική παρασκευή ομογενούς αγώγιμου πολυμερούς από GNP / PDMS. Ο αισθητήρας που κατασκευάστηκε μέτρησε επιτυχώς μικρές παραμορφώσεις ($\leq 0,2\%$) και εμφάνισε γραμμική συμπεριφορά. Το πιο σημαντικό, είναι ότι ο αισθητήρας κατασκευάστηκε με πολύ χαμηλό κόστος, χρησιμοποιώντας έναν εύκολο στην εφαρμογή και ταχύ τρόπο. Το κεφάλαιο αυτό έχει δημοσιευτεί ως εργασία σε περιοδικό με κριτές: “A flexible strain sensor made of graphene nanoplatelets/polydimethylsiloxane nanocomposite”, M.K. Filippidou, E. Tegou, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 142 (2015) 7–11.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] <https://www.acsmaterial.com/graphene-nanoplatelets-2-10nm-1263.html>.
- [2] M. Moniruzzaman, K.I. Winey, Polymer Nanocomposites Containing Carbon Nanotubes, *Macromolecules* 39(16) (2006) 5194-5205.
- [3] Y. Wan, C. Xiong, J. Yu, D. Wen, Effect of processing parameters on electrical resistivity and thermo-sensitive properties of carbon-black/styrene-butadiene-rubber composite membranes, *Composites Science and Technology* 65(11-12) (2005) 1769-1779.
- [4] S.-P. Rwei, F.-H. Ku, K.-C. Cheng, Dispersion of carbon black in a continuous phase: Electrical, rheological, and morphological studies, *Colloid and Polymer Science* 280(12) (2002) 1110-1115.
- [5] M. Norkhairunnisa, A. Azizan, M. Mariatti, H. Ismail, L.C. Sim, Thermal stability and electrical behavior of polydimethylsiloxane nanocomposites with carbon nanotubes and carbon black fillers, *Journal of Composite Materials* 46(8) (2011) 903-910.
- [6] H. Kim, A.A. Abdala, C.W. Macosko, Graphene/Polymer Nanocomposites, *Macromolecules* 43(16) (2010) 6515-6530.
- [7] T.K. Das, S. Prusty, Graphene-Based Polymer Composites and Their Applications, *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 52(4) (2013) 319-331.
- [8] K. Kalaitzidou, H. Fukushima, L.T. Drzal, A new compounding method for exfoliated graphite-polypropylene nanocomposites with enhanced flexural properties and lower percolation threshold, *Composites Science and Technology* 67(10) (2007) 2045-2051.
- [9] C. Hontoria-Lucas, A.J. López-Peinado, J.d.D. López-González, M.L. Rojas-Cervantes, R.M. Martín-Aranda, Study of oxygen-containing groups in a series of graphite oxides: Physical and chemical characterization, *Carbon* 33(11) (1995) 1585-1592.
- [10] J.N. Lee, C. Park, G.M. Whitesides, Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices, *Analytical Chemistry* 75(23) (2003) 6544-6554.
- [11] T. Schwamb, B.R. Burg, N.C. Schirmer, D. Poulidakos, An electrical method for the measurement of the thermal and electrical conductivity of reduced graphene oxide nanostructures, *Nanotechnology* 20(40) (2009) 405704.
- [12] Y.B. Zhi Xu, Lei Liu, Wenlong Wang, Xuedong Bai, and Dmitri Golberg, Electrical Conductivity, Chemistry, and Bonding Alternations under Graphene Oxide to Graphene Transition As Revealed by In Situ TEM, *acs.nano* 5 (2011) 4401-4406.
- [13] H. Liu, L. Zhang, Y. Guo, C. Cheng, L. Yang, L. Jiang, G. Yu, W. Hu, Y. Liu, D. Zhu, Reduction of graphene oxide to highly conductive graphene by Lawesson's reagent and its electrical applications, *Journal of Materials Chemistry C* 1(18) (2013) 3104.
- [14] Y. Lin, J. Jin, O. Kusmartsev, M. Song, Preparation of Pristine Graphene Sheets and Large-Area/Ultrathin Graphene Films for High Conducting and Transparent Applications, *The Journal of Physical Chemistry C* 117(33) (2013) 17237-17244.
- [15] A.H. Reshak, S.A. Khan, S. Auluck, Thermoelectric properties of a single graphene sheet and its derivatives, *Journal of Materials Chemistry C* 2(13) (2014) 2346.
- [16] L. Kubisz, A. Skumiel, T. Hornowski, A. Szlaferek, E. Pankowski, The effect of temperature on the electric conductivity of poly(dimethyl siloxane) ferromagnetic gel, *Journal of physics. Condensed matter : an Institute of Physics journal* 20(20) (2008) 204118.
- [17] N. Roy, A.K. Bhowmick, In situ preparation, morphology and electrical properties of carbon nanofiber/polydimethylsiloxane nanocomposites, *Journal of Materials Science* 47(1) (2011) 272-281.

- [18] W.P. Shih, L.C. Tsao, C.W. Lee, M.Y. Cheng, C. Chang, Y.J. Yang, K.C. Fan, Flexible temperature sensor array based on a graphite-polydimethylsiloxane composite, *Sensors* 10(4) (2010) 3597-610.
- [19] S. Kim, I. Do, L.T. Drzal, Multifunctional xGnP/LLDPE Nanocomposites Prepared by Solution Compounding Using Various Screw Rotating Systems, *Macromolecular Materials and Engineering* 294(3) (2009) 196-205.
- [20] E. Guth, Theory of Filler Reinforcement, *Journal of Applied Physics* 16(1) (1945) 20-25.
- [21] L. Gan, S. Shang, C.W.M. Yuen, S.-x. Jiang, N.M. Luo, Facile preparation of graphene nanoribbon filled silicone rubber nanocomposite with improved thermal and mechanical properties, *Composites Part B: Engineering* 69 (2015) 237-242.
- [22] D.J. Cohen, D. Mitra, K. Peterson, M.M. Maharbiz, A highly elastic, capacitive strain gauge based on percolating nanotube networks, *Nano Lett* 12(4) (2012) 1821-5.
- [23] C. Lee, L. Jug, E. Meng, High strain biocompatible polydimethylsiloxane-based conductive graphene and multiwalled carbon nanotube nanocomposite strain sensors, *Applied Physics Letters* 102(18) (2013) 183511.
- [24] B. Wang, B.K. Lee, M.J. Kwak, D.W. Lee, Graphene/polydimethylsiloxane nanocomposite strain sensor, *The Review of scientific instruments* 84(10) (2013) 105005.
- [25] H. Tian, Y. Shu, Y.L. Cui, W.T. Mi, Y. Yang, D. Xie, T.L. Ren, Scalable fabrication of high-performance and flexible graphene strain sensors, *Nanoscale* 6(2) (2014) 699-705.

Κεφάλαιο 4: Χημικοί αισθητήρες τύπου χωρητικότητας με ευαίσθητο στρώμα πολυμερών

Στο κεφάλαιο αυτό περιγράφεται μια πρωτότυπη μέθοδος για την κατασκευή χημικών αισθητήρων πολυμερών τύπου χωρητικότητας. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην τεχνική της αποκόλλησης υμενίων (lift – off) μέσω της οποίας επιτυγχάνεται η επιλεκτική εναπόθεση των ευαίσθητων στρωμάτων του αισθητήρα (πολυμερών) τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό. Με βάση αυτή την μέθοδο και χρησιμοποιώντας ένα υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης (Polyvinyl alcohol, PVA) κατασκευάζονται αισθητήρες ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων αλουμινίου πάνω σε υπόστρωμα πολυϊμιδίου, με τη σχηματοποίηση της PVA στο υπόστρωμα του πολυϊμιδίου να οδηγεί στην επιλεκτική εναπόθεση πολυμερών. Τέλος, παρουσιάζεται η απόκριση των διαφορετικών διατάξεων αισθητήρων που κατασκευάστηκαν σε υγρασία, ατμούς μεθανόλης και αιθανόλης.

4.1 Υλικά για την κατασκευή του αισθητήρα

Το υπόστρωμα του αισθητήρα είναι ένα εύκαμπτο φύλλο πολυϊμιδίου (polyimide foil) πάχους 75 μm του οποίου η μια πλευρά είναι επικαλυμμένη με ένα στρώμα αλουμινίου (Al) πάχους 30 nm (GoodFellow, Kapton HN). Για τη σχηματοποίηση των πολυμερών πάνω στα ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια του υποστρώματος παρασκευάστηκε ένα υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης PVA/water (Polyvinyl alcohol με μοριακό βάρος $M_w=15000$) περιεκτικότητας 15% κβ., ενώ η σχηματοποίηση των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων και του PVA φιλμ έγινε με τη χρήση της εμπορικής φωτοευαίσθητης ρητίνης νεολάκας/διαζωναφθοκινόνης AZ 5214 (Microchemicals GmbH).

Τα πολυμερή που χρησιμοποιήθηκαν ως ευαίσθητα στρώματα και οι διαλύτες τους ήταν:

- 2 % κβ. πολυ(μεθακρυλικός μεθυλεστέρας) (Poly(methyl methacrylate), PMMA) σε οξικό εστέρα του μεθυλαιθέρα της προπυλενογλυκόλης (Propylene Glycol Methyl Ether Acetate, PGMEA) ($MW = 996K$),
- 1.5 % κβ. πολυ(μεθακρυλικός υδροξυαιθυλεστέρας) (poly(2-hydroxyethyl methacrylate), PHEMA) ($MW=300K$) σε γαλακτικό αιθυλεστέρα (Ethyl Lactate, EL),
- 2.5 % κβ. εποξειδική ρητίνη (Epoxy novolac resin, EPN) ($M_w=1835$) σε PGMEA,
- 5 % κβ. (πολυ(υδροξυ στυρένιο) (Poly(hydroxy styrene), PHS) ($MW = 5400$) σε EL,

- 5 % κβ. ΡΗΙΤΑ (συμπολυμερές που αποτελείται από μεθακρυλικό τριτοταγή βουτυλεστέρα (tert-butyl methacrylate, TBMA), μεθακρυλικό ισοβορνυλεστέρα (isobornyl methacrylate, IBMA), ακρυλικό οξύ (acrylic acid, AA) και μεθακρυλικό 2-υδροξυαιθυλεστέρα (hydroxyethylmethacrylate, HEMA) σε EL ($M_n=3630$) [1]).

4.2 Αναλύτες για τη μελέτη της απόκρισης του αισθητήρα

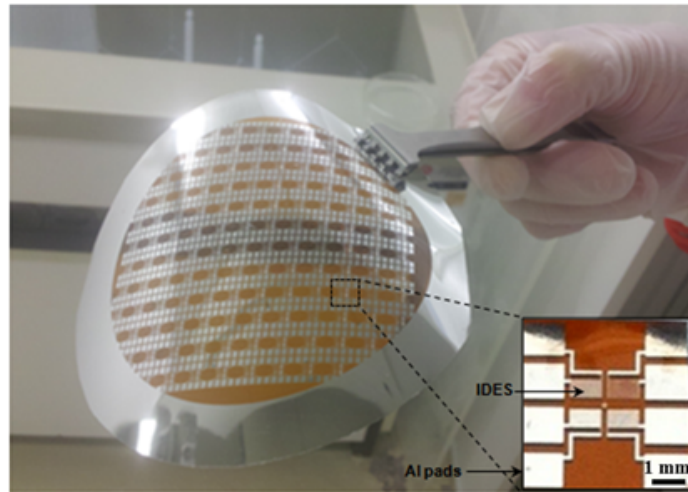
Οι αναλύτες που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της απόκρισης των χημικών αισθητήρων που κατασκευάστηκαν είναι:

1. Υδρατμοί (water vapors, H_2O). Η μελέτη της απόκρισης των αισθητήρων σε υδρατμούς κρίθηκε αναγκαία καθώς η υγρασία είναι παρούσα στην ατμόσφαιρα. Επιπλέον, για τα περισσότερα πολυμερή το νερό αποτελεί καλό διαλύτη με αποτέλεσμα τα πολυμερή αυτά να είναι ευαίσθητα στις μεταβολές της υγρασίας.
2. Ατμοί αιθανόλης (ethanol vapors, CH_3CH_2OH). Την αιθανόλη, η οποία είναι από τις πιο γνωστές αλκοόλες, τη συναντάμε στην καθημερινότητα μας, αφού υπάρχει σε πολλά είδη διατροφής π.χ. στα οινοπνευματώδη ποτά.
3. Ατμοί μεθανόλης (methanol vapors, CH_3OH). Η αλκοόλη αυτή, που έχει παρόμοιες ιδιότητες με την αιθανόλη αλλά είναι μικρότερη σε μέγεθος, χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να γίνει σύγκριση με την αιθανόλη ως αναφορά το μέγεθος του αναλύτη και τρόπο απορρόφησης του από το ευαίσθητο στρώμα.

4.3 Διεργασία κατασκευής του αισθητήρα

Για την κατασκευή των αισθητήρων χρησιμοποιήθηκαν εύκαμπτα φιλμ πολυϊμιδίου με επικάλυψη αλουμινίου από τη μια πλευρά τους. Τα φιλμ τοποθετήθηκαν πάνω σε 4" δισκία πυριτίου προκειμένου να διευκολυνθεί η όλη διαδικασία αφού γίνεται ευκολότερος ο χειρισμός του εύκαμπτου υποστρώματος. Κάθε συστοιχία αισθητήρων αποτελείται από τέσσερις αισθητήρες οι οποίοι διαφέρουν μόνο ως προς την απόσταση των ηλεκτροδίων η οποία μπορεί να είναι: 2, 5, 10 και 30 μm (Εικόνα 4.1). Η σχηματοποίηση των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων αλουμινίου (Al) πάνω στο υπόστρωμα του πολυϊμιδίου περιλαμβάνει δυο στάδια: 1) οπτική λιθογραφία με λάμπα υδραργύρου (i-line 365nm) (Karl Suss MJB3 mask aligner) χρησιμοποιώντας τη φωτοευαίσθητη ρητίνη AZ 5214 και 2) εγχάραξη αλουμινίου σε διάλυμα φωσφορικού οξέος και προπανόλης (H_3PO_4 /Propanol) το οποίο θερμαίνεται στους 65°C. Στην

Εικόνα 4.1 απεικονίζονται οι συστοιχίες αισθητήρων των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων που έχουν κατασκευαστεί πάνω στο φιλμ πολυϊμιδίου που έχει διαστάσεις 4" δισκίου.

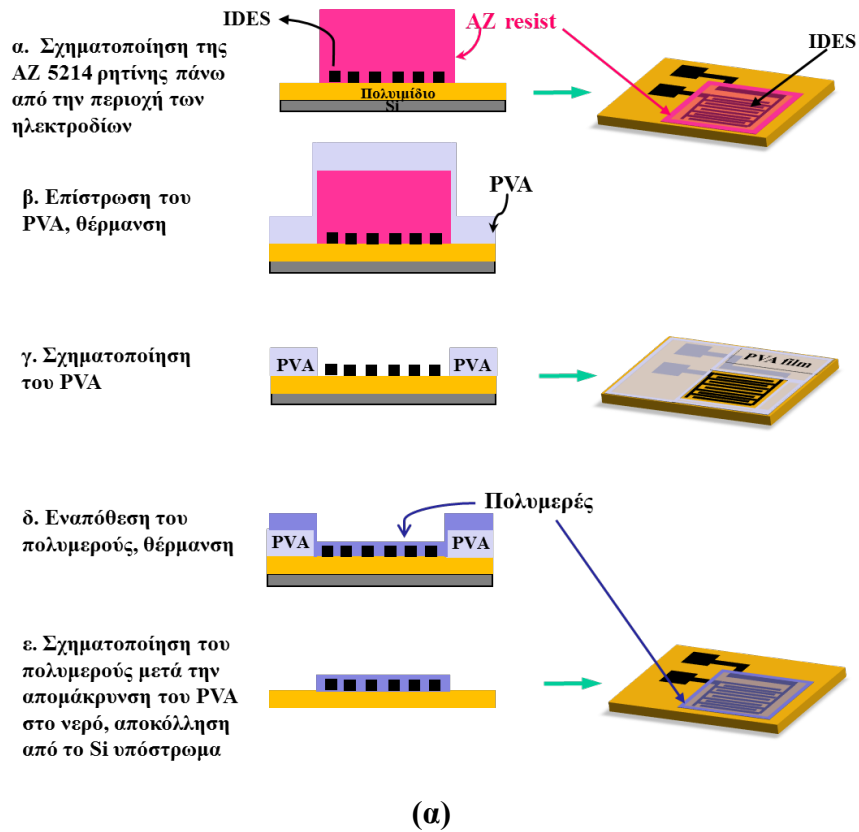


Εικόνα 4.1. Φωτογραφία των εύκαμπτων αισθητήρων αλουμινίου πάνω στο 4" φιλμ πολυϊμιδίου. Με μαύρο πλαίσιο απεικονίζεται μια συστοιχία αισθητήρων, η μεγέθυνση της οποίας παρουσιάζεται στα δεξιά, με τους τέσσερις αισθητήρες της να διαφέρουν ως προς την απόσταση των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων.

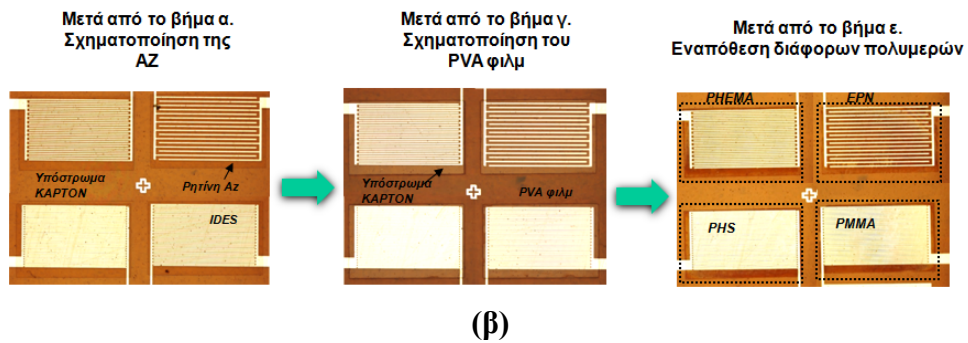
Η σχηματοποίηση του ευαίσθητου στρώματος γίνεται χρησιμοποιώντας μια μέθοδο που περιλαμβάνει δυο στάδια επιλεκτικής αποκόλλησης υμενίων (two-step lift-off method) και η όλη διαδικασία επιτρέπει τη σχηματοποίηση πολυμερών τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό. Αρχικά η φωτοευαίσθητη ρητίνη (AZ 5214) επιστρώνεται με συνθήκες: 1500rpm για 30 s και σχηματοποιείται επιλεκτικά μόνο επάνω από την περιοχή των ηλεκτροδίων του αλουμινίου μέσω της μεθόδου της φωτολιθογραφίας, δημιουργώντας ένα φιλμ πάχους 3μm (Εικόνα 4.2α, βήμα α). Στη συνέχεια, το διάλυμα του PVA (15 % κβ.), το οποίο παρασκευάζεται διαλύοντας την επιθυμητή ποσότητα του PVA σε νερό και αναδεύοντας το με θέρμανση στους 80°C για 10min για τη δημιουργία ενός ομογενούς διαλύματος, επιστρώνεται για 2 min στα 1500rpm και θερμαίνεται στους 80°C για 10 min επιτυγχάνοντας έτσι την καλύτερη πρόσφυση του φιλμ πάνω στο υπόστρωμα (Εικόνα 4.2α, βήμα β). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός PVA φιλμ πάχους 1μm το οποίο σχηματοποιείται επιλεκτικά με τη μέθοδο της αποκόλλησης ύστερα από την αφαίρεση της ρητίνη AZ 5214 από την επιφάνεια των αισθητήρων εμβαπτίζοντας τους αισθητήρες σε ακετόνη και κάνοντας χρήση υπερήχων (Εικόνα 4.2α, βήμα γ). Μετά από αυτό το

βήμα το PVA φιλμ καλύπτει όλη την υπόλοιπη περιοχή πλην της περιοχής των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων. Τα επόμενα βήματα περιλαμβάνουν την εναπόθεση του πολυμερούς με τη χρήση μικροπιπέτας και τη θέρμανση του στους 100 °C για 10 min προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης του πολυμερούς και να ενισχυθεί η πρόσφυση του στο υπόστρωμα (Εικόνα 4.2α, βήμα δ). Στις πρώτες δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν εναποτέθηκε το συμπολυμερές PHITA, το οποίο θα μπορούσε εναλλακτικά να επιστρωθεί στο υπόστρωμα επιτρέποντας έτσι τη μαζική παραγωγή αισθητήρων. Η σχηματοποίηση του πολυμερούς επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας για δεύτερη φορά την μέθοδο της αποκόλλησης στην οποία οι αισθητήρες εμβαπτίζονται σε απιονισμένο νερό χρησιμοποιώντας λουτρό υπερήχων. Με αυτό τον τρόπο, αφαιρείται το PVA φιλμ και το πολυμερές παραμένει μόνο πάνω από την περιοχή των ηλεκτροδίων (Εικόνα 4.2α, βήμα ε). Η τελική μορφή του αισθητήρα πολυμερούς μετά από την αποκόλληση του από το υπόστρωμα πυριτίου παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.2α.

Για την κατασκευή μιας συστοιχίας αισθητήρων με διαφορετικά ευαίσθητα στρώματα, η οποία μπορεί να βελτιώσει τις ικανότητες του αισθητήρα ως προς την ανίχνευση, χρησιμοποιείται η ίδια διεργασία που περιγράφηκε παραπάνω. Σε αυτή τη περίπτωση γίνεται εναπόθεση με τη χρήση μικροπιπέτας τεσσάρων διαφορετικών πολυμερών (PHEMA, EPN, PHS and PMMA) που το καθένα σχηματοποιείται πάνω από έναν από τους τέσσερις αισθητήρες δημιουργώντας τη συστοιχία αισθητήρων από διαφορετικά πολυμερή. Τα πολυμερή αμέσως μετά την εναπόθεση τους και πριν τη σχηματοποίηση τους θερμαίνονται στους 100°C για 10 min. Στην Εικόνα 4.2β παρουσιάζονται φωτογραφίες της συστοιχίας αισθητήρων από το οπτικό μικροσκόπιο μετά από τα τρία βασικά βήματα της διεργασίας κατασκευής της που είναι: η σχηματοποίηση της AZ 5214 (βήμα α), η σχηματοποίηση του PVA φιλμ (βήμα γ) και η μορφοποίηση των πολυμερών (βήμα ε).



Φωτογραφίες των βημάτων κατασκευής μιας συστοιχίας αισθητήρων πολυμερών από οπτικό μικροσκόπιο



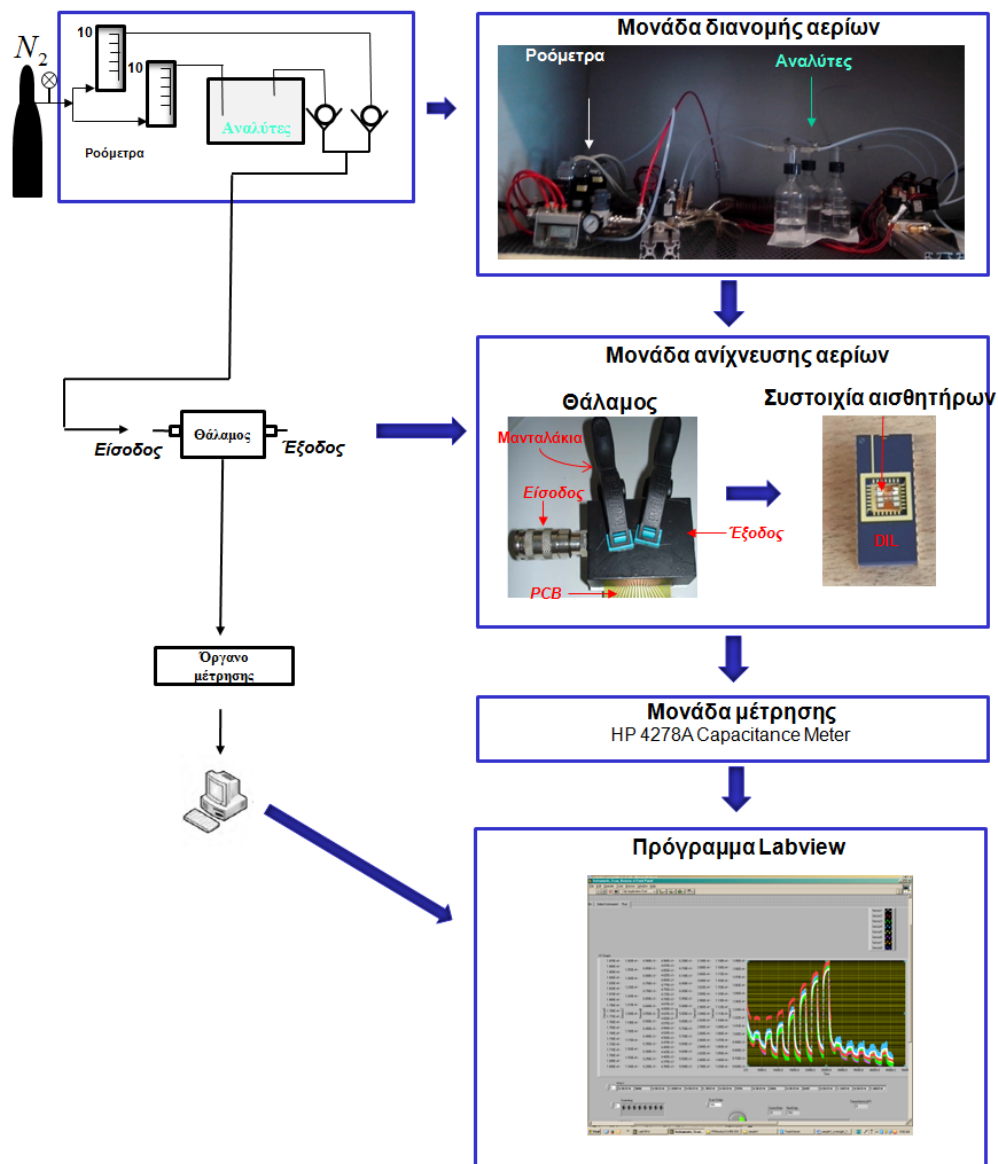
Εικόνα 4.2. (α) Σχηματική αναπαράσταση της διεργασίας κατασκευής για την επιλεκτική σχηματοποίηση του πολυμερούς. (β) Φωτογραφίες μιας συστοιχίας αισθητήρων μετά από τα βασικά βήματα κατασκευής που απαιτούνται για την επιλεκτική εναπόθεση τεσσάρων διαφορετικών πολυμερών (PHEMA, EPN, PMMA και PHS).

4.4 Σύστημα μέτρησης των χημικών αισθητήρων

Στην πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε οι χημικοί αισθητήρες τοποθετούνται αρχικά σε ένα dual in line package (DIL) το οποίο στη συνέχεια τοποθετείται σε μια πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (Printed Circuit Board, PCB). Η πλακέτα αυτή προσαρμόζεται σε ένα θάλαμο μικρού όγκου, $\sim 7\text{cm}^3$, μέσα στον οποίο ελέγχεται και ρυθμίζεται η σχετική υγρασία και η θερμοκρασία (0.1%RH και 0.1°C, αντίστοιχα). Για την αποφυγή τυχόν διαρροών του αναλύτη από το θάλαμο, αυτός σφραγίζεται με μανταλάκια κατά τη διάρκεια του πειράματος. Η πλακέτα με το θάλαμο τελικά προσαρμόζονται σε μια μεγαλύτερη πλακέτα η οποία περιέχει κύκλωμα από μικρούς ηλεκτρονόμους (relay), που επιτρέπει τη σχεδόν ταυτόχρονη μέτρηση των αισθητήρων της συστοιχίας των αισθητήρων. Η σύνδεση της πλακέτας αυτής με το όργανο μέτρησης χωρητικότητας (HP 4278A) γίνεται μέσω δύο υποδοχών για καλώδιο BNC.

Επιπλέον, η διάταξη διαθέτει μια μονάδα διανομής των αερίων που αποτελείται από: δοχεία, τα οποία περιέχουν τους αναλύτες (bubbler) και από ροόμετρα, τα οποία ρυθμίζουν τη ροή ενός αδρανούς αερίου (π.χ. ξηρό άζωτο, N_2) που χρησιμοποιείται για να ρυθμιστεί η συγκέντρωση των ατμών του αναλύτη και το διαχωρίζουν σε δυο μέρη: 1) σε ένα μέρος το οποίο περνάει από τα δοχεία των αναλυτών και μέσω των φυσαλίδων που δημιουργούνται μεταφέρει του ατμούς του αναλύτη και 2) σε ένα δεύτερο μέρος που αναμιγνύεται με το πρώτο ώστε να έχουμε την επιθυμητή συγκέντρωση του αναλύτη στον θάλαμο.

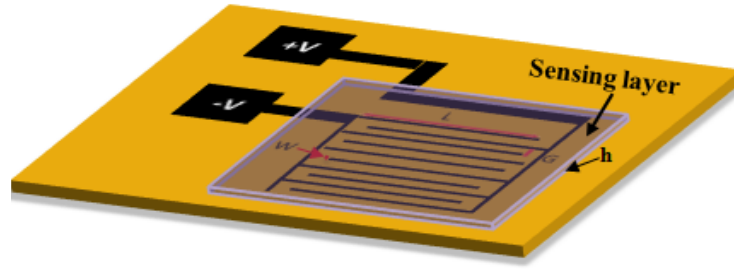
Τέλος, η μέτρηση ελέγχεται μέσω υπολογιστή με λογισμικό LabView. Το λογισμικό αυτό επιτρέπει τον έλεγχο της μονάδας διανομής των αερίων και του οργάνου μέτρησης. Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση ατμών παρουσιάζεται στην Εικόνα 4.3.



Εικόνα 4.3. Σχηματική αναπαράσταση του συστήματος μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση των αισθητήρων (αριστερά) και εικόνες των βασικών τμημάτων του (δεξιά).

4.5 Η διάταξη του χημικού αισθητήρα πολυμερών τύπου χωρητικότητας

Οι διατάξεις που βασίζονται σε ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια και έχουν ως ευαίσθητο στρώμα τους κάποιο πολυμερές αποτελούν την πιο απλή μορφή ενός χημικού αισθητήρα. Σε αυτού του είδους τους αισθητήρες το πολυμερές απορροφά τα μόρια του αναλύτη επηρεάζοντας την χωρητικότητα της διάταξης. Στην Εικόνα 4.4 απεικονίζεται ένας τέτοιος αισθητήρας, μαζί με τη γεωμετρία των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων: πλάτος (W) και μήκος (L) ηλεκτροδίων, την απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων (G) και το πάχος του ευαίσθητου στρώματος (h).



Εικόνα 4.4. Σχηματική αναπαράσταση του αισθητήρα στον οποίο διακρίνονται: η γεωμετρία των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων (πλάτος (W) και μήκος (L) ηλεκτροδίων, η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων (G)) και το ευαίσθητο στρώμα (h είναι το πάχος του ευαίσθητου στρώματος).

Η συνολική χωρητικότητα αυτής της διάταξης των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων με το ευαίσθητο στρώμα (διηλεκτρική σταθερά, ϵ_{layer}) που έχει κατασκευαστεί σε ένα παχύ υπόστρωμα (διηλεκτρική σταθερά, ϵ_{sub}) μελετήθηκε από την ομάδα του Igreja και δίνεται από τον παρακάτω τύπο [2]:

$$C = (N - 3) \frac{C_I}{2} + 2 \frac{C_I C_E}{C_I + C_E} \quad (4.1)$$

, όπου N είναι ο αριθμός των ηλεκτροδίων, C_I είναι η μισή χωρητικότητα του εσωτερικού ηλεκτροδίου και C_E είναι η χωρητικότητα του εξωτερικού ηλεκτροδίου.

$$C_I = \epsilon_0 L \left[\frac{K(k_{I_\infty})}{K(k'_{I_\infty})} + (\epsilon_{layer} - 1) \frac{K(k_{I_{layer}})}{K(k'_{I_{layer}})} + \epsilon_{sub} \frac{K(k_{I_\infty})}{K(k'_{I_\infty})} \right] \quad (4.2)$$

$$C_E = \epsilon_0 L \left[\frac{K(k_{E_\infty})}{K(k'_{E_\infty})} + (\epsilon_{layer} - 1) \frac{K(k_{E_{layer}})}{K(k'_{E_{layer}})} + \epsilon_{sub} \frac{K(k_{E_\infty})}{K(k'_{E_\infty})} \right] \quad (4.3)$$

Στις παραπάνω σχέσεις, ϵ_0 είναι η διαπερατότητα του κενού, L είναι το μήκος των ηλεκτροδίων και K είναι το ελλειπτικό ολοκλήρωμα πρώτου βαθμού. Οι τρεις όροι των εξισώσεων (4.2) και (4.3) είναι η συνεισφορά στη χωρητικότητα από: ένα στρώμα αέρα που εκτείνεται στο άπειρο, του ευαίσθητου στρώματος, και του υποστρώματος μεγάλου πάχους, αντίστοιχα. Οι εξισώσεις (4.2) και (4.3) δείχνουν ότι η χωρητικότητα εξαρτάται άμεσα από τη διηλεκτρική σταθερά του ευαίσθητου στρώματος (ϵ_{layer}), εάν οι άλλες παράμετροι έχουν σταθερή τιμή.

4.6 Ανίχνευση υγρασίας, ατμών αιθανόλης και μεθανόλης

Η απόκριση των χημικών αισθητήρων ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων τύπου χωρητικότητας εξαρτάται από τη φυσική προσρόφηση της αναλυόμενης ουσίας στο πολυμερικό ευαίσθητο στρώμα. Αρχικά, τα μόρια του αναλύτη προσροφώνται στην επιφάνεια του ευαίσθητου στρώματος και στη συνέχεια απορροφούνται μέσα στην πολυμερική μήτρα. Αυτό οδηγεί: **α)** σε μια απόκριση λόγω της μεταβολής της διαπερατότητας του ευαίσθητου στρώματος ($\frac{\partial C}{\partial \varepsilon} \Delta \varepsilon$), καθώς τα μόρια του αναλύτη διαχέονται μέσα στο στρώμα (dielectric response) και **β)** σε μια απόκριση λόγω της διόγκωσης ($\frac{\partial C}{\partial r} \Delta r$), καθώς το ευαίσθητο στρώμα επεκτείνεται κατά την απορρόφηση των μορίων του αναλύτη (swelling response). Επομένως, η συνολική απόκριση του αισθητήρα είναι το άθροισμα αυτών των δυο αποκρίσεων [3]:

$$\Delta C = \frac{\partial C}{\partial \varepsilon} \Delta \varepsilon + \frac{\partial C}{\partial r} \Delta r \quad (4.4)$$

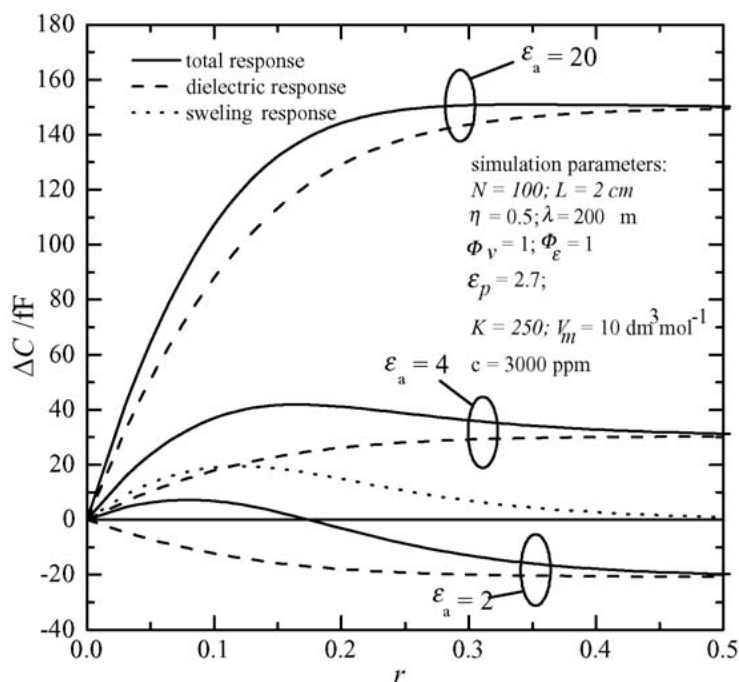
Η αναλυτική έκφραση της της εξίσωσης 4.4 για την περίπτωση όπου το στρώμα πάνω από τα ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια είναι πεπερασμένο είναι [3]:

$$\Delta C(\eta, r) = \left(\frac{\partial C}{\partial \varepsilon} \frac{\varepsilon_a - \varepsilon_{layer}}{2\varepsilon_{layer} + \varepsilon_a} \Phi_\varepsilon + \frac{\partial C}{\partial r} r \Phi_\nu \right) \nu \quad (4.5)$$

, όπου το $\eta = \frac{W}{W+G}$ (metallization ratio), το αδιάστατο μέγεθος r ($r=h/\lambda$) είναι ο λόγος μεταξύ του πάχους του ευαίσθητου στρώματος (h) και του χωρικού μήκους κύματος (λ) (spatial wavelength), το οποίο ορίζεται από τον τύπο: $\lambda = 2(W + G)$, ε_a και ε_{layer} είναι η διηλεκτρική σταθερά του αναλύτη και του ευαίσθητου στρώματος αντίστοιχα, ν είναι η σχετική μεταβολή του όγκου του ευαίσθητου στρώματος (relative sensing layer volume change), Φ_ε είναι ένας συντελεστής που σχετίζεται με τη διαπερατότητα του ευαίσθητου στρώματος στους αναλύτες και Φ_ν είναι ένας συντελεστής που σχετίζεται με την απόκριση λόγω διόγκωσης [2, 3].

Η επίδραση του μεγέθους r έχει μελετηθεί αναλυτικά από τους Igreja and Dias [2, 3]. Σύμφωνα με την μελέτη τους, όταν η διηλεκτρική σταθερά του αναλύτη (ε_a) είναι πολύ μεγαλύτερη από τη διηλεκτρική σταθερά του ευαίσθητου στρώματος (ε_{layer}) (όπως στην περίπτωση μας) η απόκριση λόγω διόγκωσης είναι μικρή και η συνολική μεταβολή της χωρητικότητας επηρεάζεται κυρίως από την μεταβολή της διαπερατότητας του ευαίσθητου στρώματος, ενώ όταν το ε_a και το ε_{layer} είναι συγκρίσιμα η συνολική χωρητικότητα επηρεάζεται και από τους δυο όρους (εξίσωση 4.4). Μάλιστα κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η συνολική απόκριση ΔC , αυξάνεται με το r και

φτάνει σε πλατό όταν το $r \sim 0.5$, που είναι το σημείο στο οποίο οι δυναμικές γραμμές του ηλεκτρικού πεδίου δεν επεκτείνονται πέρα από το ευαίσθητο στρώμα (Εικόνα 4.5).



Εικόνα 4.5. Απεικόνιση της συνολικής απόκρισης, ΔC του αισθητήρα, και της συνεισφορά από την απόκριση λόγω μεταβολής της διηλεκτρικής σταθεράς (dielectric response) και της απόκρισης λόγω μεταβολής της διόγκωσης (swelling response) για τρεις περιπτώσεις όπου: 1) $\epsilon_a \gg \epsilon_p$, 2) $\epsilon_a > \epsilon_p$ και 3) $\epsilon_a < \epsilon_p$ [3].

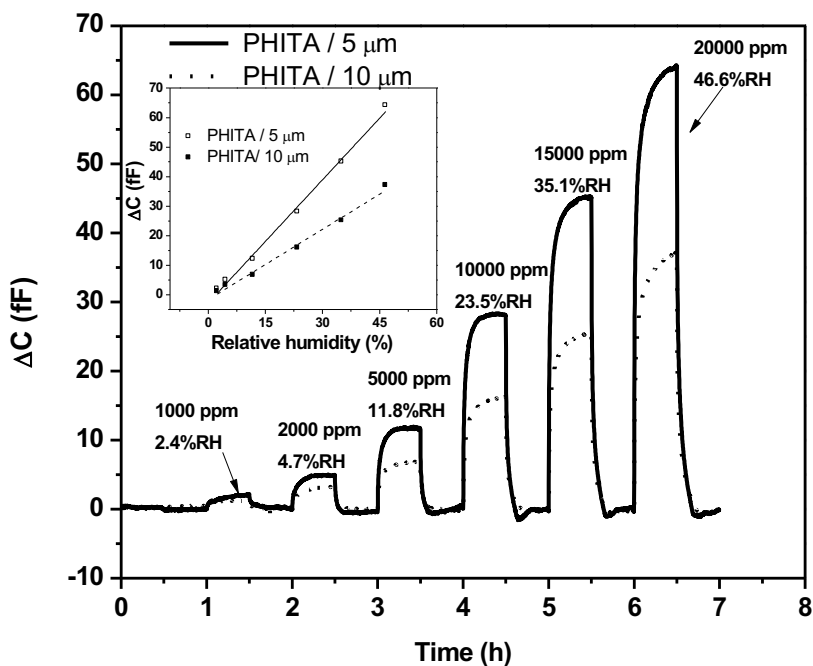
Για την κατασκευή του αισθητήρα ακολουθήθηκε η διεργασία της διπλής αποκόλλησης υμενίων που περιγράφεται παραπάνω. Το πάχος του πολυμερούς, όπως ήδη έχει περιγράψει διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην απόκριση του χημικού αισθητήρα ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων όσο και στη διεργασία της αποκόλλησης που χρησιμοποιείται για την παρασκευή των αισθητήρων. Έτσι, για να πετύχει η αποκόλληση του PVA φιλμ θα πρέπει το πάχος της θυσιαζόμενης ρητίνης (AZ5214) να είναι μεγαλύτερο από το PVA, και το PVA με τη σειρά του θα πρέπει να είναι πιο παχύ από το φιλμ που βρίσκεται από πάνω του και θέλουμε να σχηματοποιηθεί. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων μας παρασκευάστηκαν πέντε διαλύματα πολυμερών: 1) 5 % κβ. για το PHITA, 2.5 % κβ. για το EPN, 5 % κβ. για το PHS, 1.5 % κβ. για το PHEMA και 2 % κβ. για το PMMA. Το πάχος των πολυμερών μετρήθηκε με προφιλόμετρο (Ambios XP-2 profilometer) και είναι 330 nm, 245 nm, 720nm, 225 nm και 200 nm αντίστοιχα.

Στον Πίνακα 4.1 συνοψίζονται τα πάχη των πολυμερών τα οποία είναι πιο λεπτά από το PVA (πάχος 1μm), πράγμα το οποίο εξασφαλίζει την επιτυχημένη σχηματοποίηση του ευαίσθητου στρώματος.

Πίνακας 4.1. Η συγκέντρωση και το πάχος του ευαίσθητου στρώματος (πολυμερών) μετά από την διπλή διεργασία αποκόλλησης.

Πολυμερές	PHEMA (1.5κβ.%)	PHITA (5κβ.%)	PMMA (2κβ.%)	PHS (5κβ.%)	EPN (2.5κβ.%)
Πάχος (nm)	225±45	330±29	200±12	720±100	245±28

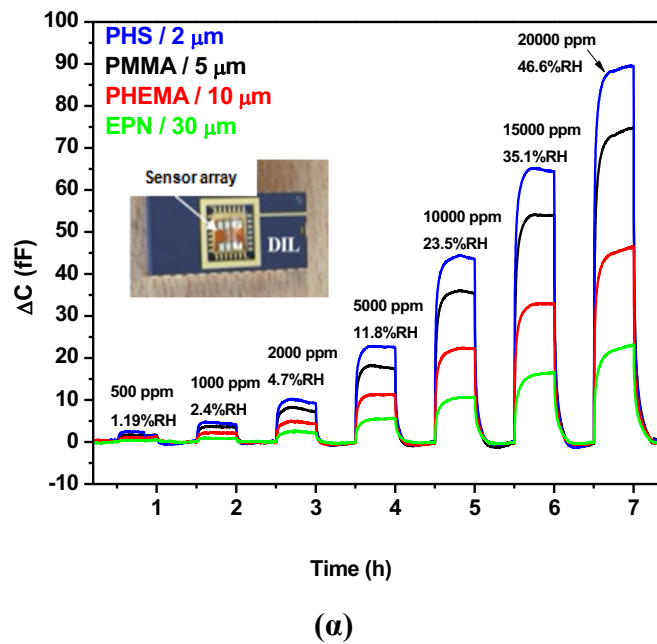
Στην Εικόνα 4.6 απεικονίζεται η απόκριση των αισθητήρων στους οποίους έχει εναποτεθεί και σχηματοποιηθεί το PHITA πολυμερές και η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων είναι 5 και 10 μm. Αρχικά οι αισθητήρες εκτίθενται σε ξηρό άζωτο προκειμένου να απομακρυνθεί η υγρασία και στη συνέχεια οι επιθυμητές συγκεντρώσεις του αναλύτη ελέγχονται πάλι με ανάμιξη με ξηρό άζωτο. Εξαιτίας της μεγάλης διηλεκτρικής σταθεράς του νερού ($\epsilon_{\text{νερού}} \sim 80$) που είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του PHITA ($\epsilon_{\text{πολυμερές}} \sim 4$) η απόκριση των αισθητήρων εξαρτάται κυρίως από την μεταβολή της διαπερατότητας του ευαίσθητου στρώματος στον αναλύτη (και όχι από την διόγκωση του πολυμερούς), η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της χωρητικότητας του αισθητήρα κατά την έκθεση του στα μόρια του νερού. Καθώς και στους δυο αισθητήρες το πάχος του πολυμερούς είναι το ίδιο, η απόκριση τους εξαρτάται από τη γεωμετρία των αισθητήρων, με τον αισθητήρα του οποίου η απόσταση των ηλεκτροδίων είναι 5μm ($r=0.011$) να είναι μεγαλύτερη από αυτόν με τα 10 μm ($r=0.008$) [4]. Επιπλέον, η μεταβολή της χωρητικότητας ΔC συναρτήσει των διαφορετικών συγκεντρώσεων των ατμών του νερού απεικονίζεται σαν ένθετο αριστερά στην Εικόνα 4.6 και επιβεβαιώνει ότι και οι δυο αισθητήρες παρουσιάζουν γραμμική συμπεριφορά για όλες τις συγκεντρώσεις των ατμών του νερού που δοκιμάστηκαν. Η κλίση του γραφήματος αυτού χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ευαισθησίας ($S=\Delta C/RH\%$) [5]. Η μεταβολή της χωρητικότητας είναι 32 fF και 19 fF στα 10000 ppm ατμών νερού και η αντίστοιχη ευαισθησία είναι 1.28 fF / %RH και 0.76 fF / %RH όταν η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων είναι 5 μm και 10 μm αντίστοιχα, και οι τιμές αυτές είναι συγκρίσιμες με τα αποτελέσματα άλλων εργασιών για αυτού του είδους τους αισθητήρες (3.25fF/RH% [6] και 5.46fF/RH% [7]).

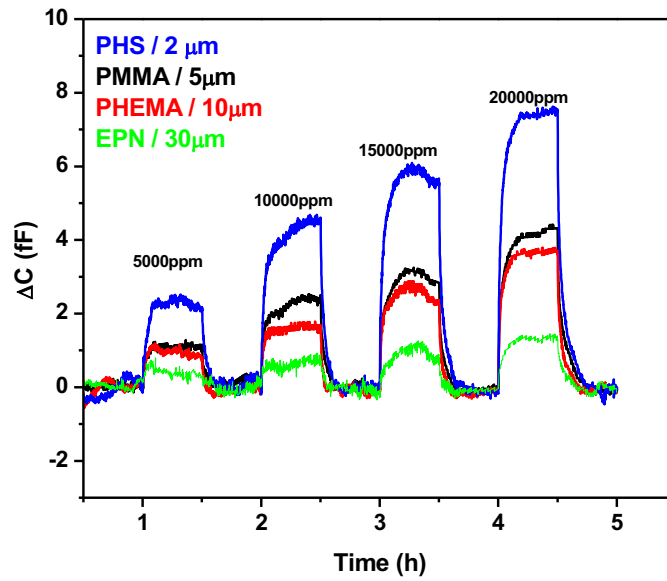


Εικόνα 4.6 . Η απόκριση των αισθητήρων (PHITA / gap 5 μ m και PHITA / gap 10 μ m) με το ίδιο πολυμερές όταν εκτίθενται σε ατμούς νερού για συγκεντρώσεις από 1000 μέχρι 20000 ppm που αντιστοιχεί σε 2.4 - 46.6%RH. Η μεταβολή της χωρητικότητας των PHITA αισθητήρων συναρτήσει της συγκέντρωσης του αναλύτη παρουσιάζεται σαν ένθετο αριστερά. Η θερμοκρασία λειτουργίας του αισθητήρα είναι 30°C.

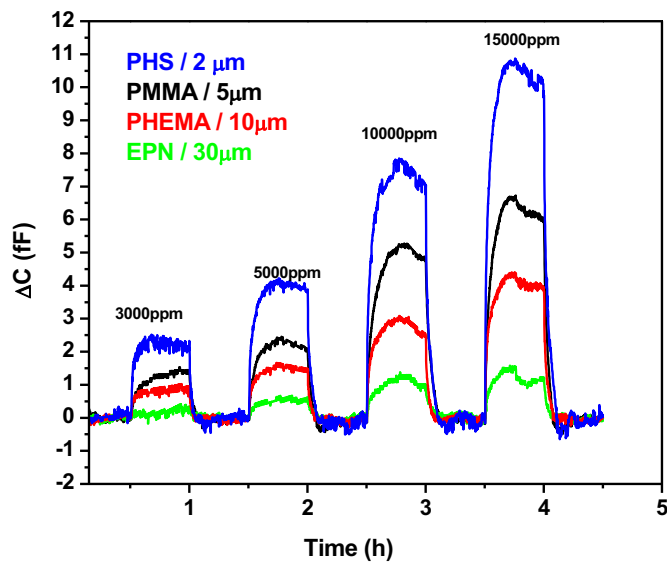
Στην Εικόνα 4.7 παρουσιάζεται το διάγραμμα της απόκριση μιας συστοιχίας αισθητήρων, στην οποία τα τέσσερα διαφορετικά πολυμερή (PHS, PMMA, PHEMA, και EPN) έχουν εναποτεθεί και σχηματοποιηθεί πάνω από την περιοχή των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων, σε ατμούς νερού, αιθανόλης και μεθανόλης. Όλα τα πολυμερή επιδεικνύουν μεγαλύτερη απόκριση στους ατμούς του νερού, εξαιτίας της μεγάλης διηλεκτρικής σταθεράς που έχει το νερό σε σχέση με αυτή των πολυμερών, η οποία κυμαίνεται από 2.6 μέχρι 4.3. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την απόκριση του αισθητήρα (αλλά σε μικρότερο βαθμό) είναι οι ιδιότητες διαβροχής του πολυμερούς (wetting properties), καθώς και το μέγεθος των μορίων του αναλύτη, με τα μικρότερα μόρια να είναι πιο ικανά να κινηθούν μέσα στο πολυμερές και να απορροφηθούν. Επιπλέον, από την Εικόνα 4.7α φαίνεται ότι ο PHS αισθητήρας που έχει το μεγαλύτερο r ($r \sim 0.03$) εμφανίζει την μεγαλύτερη απόκριση, ενώ ο EPN αισθητήρας με το μικρότερο r ($r \sim 0.003$) παρουσιάζει τη μικρότερη απόκριση.

Σε αντίθεση με το νερό, η αιθανόλη και η μεθανόλη έχουν μικρότερη διηλεκτρική σταθερά ($\epsilon_{\text{MeToh}} \sim 33$ και $\epsilon_{\text{EtOh}} \sim 24$) και είναι μεγαλύτερα μόρια και επομένως είναι πιο δύσκολο για αυτά να απορροφηθούν από το πολυμερές. Λόγω αυτών των δυο παραγόντων η απόκριση των αισθητήρων στους ατμούς της αιθανόλης και της μεθανόλης είναι μικρότερη, όπως φαίνεται και από τις Εικόνες 4.7 (β) και (γ). Και σε αυτή την περίπτωση η απόκριση των αισθητήρων εξαρτάται κυρίως από την μεταβολή της διαπερατότητας και όχι τόσο από τη διόγκωση, καθώς η διηλεκτρική σταθερά της αιθανόλης και της μεθανόλης είναι μεγαλύτερη από αυτή των πολυμερών που χρησιμοποιούνται [3]. Από την Εικόνα 4.7 (β) και (γ) φαίνεται ότι το μέγεθος r επηρεάζει σημαντικά την απόκριση των αισθητήρων και για αυτό το λόγο ο PHS αισθητήρας με το μεγαλύτερο r ($r \sim 0.03$) έχει την καλύτερη απόκριση στους ατμούς της αιθανόλης και της μεθανόλης. Τέλος, στην Εικόνα 4.7α απεικονίζεται η συστοιχία αισθητήρων σαν ένθετο αριστερά έτοιμη για μέτρηση.





(β)



(γ)

Εικόνα 4.7. Τα διαγράμματα της απόκριση της συστοιχίας αισθητήρων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις: **(α)** υγρασίας από 1.19 έως 46.6%RH που αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις ατμών νερού από 500 έως 20000 ppm, **(β)** ατμών αιθανόλης (5000– 20000 ppm), και **(γ)** ατμών μεθανόλης (3000 -15000 ppm). Η θερμοκρασία λειτουργίας του αισθητήρα είναι 30°C.

Τα παραπάνω αποτελέσματα έδειξαν πως ο PHS αισθητήρας έχει καλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τους αισθητήρες στους οποίους εναποτέθηκαν το PMMA, το PHEMA και το EPN και επιβεβαιώνει τη σχέση που υπάρχει ανάμεσα στο μέγεθος r και την ευαισθησία. Η μεταβολή της χωρητικότητας του PHS αισθητήρα είναι 44 fF για ατμούς νερού συγκέντρωσης 10000 ppm, ενώ η ευαισθησία του είναι 1.87 fF / %RH για την υγρασία, και οι τιμές αυτές είναι συγκρίσιμες με τα αποτελέσματα άλλων δημοσιευμένων εργασιών για αισθητήρες ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων [6-8]. Για τους ατμούς μεθανόλης και αιθανόλης η μεταβολή της χωρητικότητας είναι 7.4 fF και 4.6 fF για συγκεντρώσεις 10000 ppm. Τέτοιου είδους αποκρίσεις της τάξεως μερικών femtofarad μπορούν εύκολα να αναγνωστούν από τις σύγχρονες ηλεκτρονικές συσκευές ανάγνωσης. Για παράδειγμα, ο 24-bit ψηφιακός μετατροπέας χωρητικότητας AD7746 [9] έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την ανάγνωση χημικών δεδομένων αισθητήρων τύπου χωρητικότητας [10], αποδεικνύοντας έτσι ότι αυτού του είδους οι αισθητήρες μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εφαρμογές της πραγματικής ζωής. Στην περίπτωση όμως που απαιτείται περαιτέρω βελτιστοποίηση της απόκρισης του αισθητήρα, αυτή μπορεί να επιτευχθεί με επανασχεδιασμό της γεωμετρίας των IDEs (πλάτος, απόσταση και αριθμό ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων) και του πάχους του ευαίσθητου στρώματος.

Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι χρησιμοποιώντας την προτεινόμενη μέθοδο των δυο αποκολλήσεων (two step lift-off method) είναι δυνατόν να εναποτεθούν με ακρίβεια και να σχηματιστούν τα επιθυμητά ευαίσθητα στρώματα στην περιοχή των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων, επιτρέποντας την επιλεκτική και ταυτόχρονα πλήρη και ομοιογενή κάλυψη των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρησιμοποιώντας μια μέθοδο που μπορεί να γίνει μαζικής κλίμακας, καθιστώντας έτσι ικανή την μαζική παραγωγή χημικών αισθητήρων. Επιπλέον, τα αποτελέσματα αυτού του κεφαλαίου δείχνουν ότι η απόκριση του αισθητήρα μπορεί να ρυθμιστεί επιλέγοντας το σωστό ευαίσθητο στρώμα, την επιθυμητή γεωμετρία των ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων αλλά και το πάχος του ευαίσθητου στρώματος (παράμετρος r).

4.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάστηκε μια πρωτότυπη μέθοδος για την κατασκευή χημικών αισθητήρων πολυμερών τύπου χωρητικότητας. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην τεχνική της αποκόλλησης υμενίων (lift-off) μέσω της οποίας επιτρέπεται η επιλεκτική εναπόθεση πολυμερών τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό. Με βάση αυτή την μέθοδο και χρησιμοποιώντας ένα υδατικό διάλυμα πολυβινυλικής αλκοόλης (Polyvinyl alcohol, PVA) αρχικά κατασκευάζεται ένας αισθητήρας ενδοπλεκόμενων ηλεκτροδίων αλουμινίου πάνω σε υπόστρωμα πολυϊμιδίου, με τη σχηματοποίηση της PVA στο υπόστρωμα του πολυϊμιδίου να οδηγεί στην επιλεκτική εναπόθεση του PHITA πολυμερούς. Κατόπιν, δοκιμάστηκαν και άλλα πολυμερή ως ευαίσθητα στρώματα, όπως: EPN, PHS, PHEMA και PMMA για την κατασκευή μιας συστοιχίας αισθητήρων. Η απόκριση των διατάξεων αυτών εξετάστηκε σε ατμούς νερού, μεθανόλης και αιθανόλης και τα αποτελέσματα έδειξαν πως ο PHS αισθητήρας έχει καλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τους αισθητήρες στους οποίους εναποτέθηκαν το PMMA, το PHEMA και το EPN. Η μεταβολή της χωρητικότητας του PHS αισθητήρα είναι 44 fF για τους ατμούς του νερού, 7.4 fF για τους ατμούς της μεθανόλης και 4.6 fF για τους ατμούς της αιθανόλης στα 10000 ppm. Τέλος, διατυπώθηκαν οι παράγοντες που επηρεάζουν την απόκριση ενός χημικού αισθητήρα τύπου χωρητικότητας.

Το κεφάλαιο αυτό έχει δημοσιευτεί ως εργασία σε περιοδικό με κριτές: A fabrication process of flexible IDE capacitive chemical sensors using a two step lift-off method based on PVA patterning, M.K. Filippidou, M. Chatzichristidi, S. Chatzandroulis, *Sensors & Actuators: B. Chemical* 284 (2019) 7–12.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] M. Chatzichristidi, Photosensitive polymeric materials for the fabrication of microsystems, Department of Chemistry, National and Kapodistrian University of Athens, 2004.
- [2] R. Igreja, C.J. Dias, Analytical evaluation of the interdigital electrodes capacitance for a multi-layered structure, *Sensors and Actuators A: Physical* 112(2-3) (2004) 291-301.
- [3] R. Igreja, C.J. Dias, Dielectric response of interdigital chemocapacitors: The role of the sensitive layer thickness, *Sensors and Actuators B: Chemical* 115(1) (2006) 69-78.
- [4] U. Altenberend, A. Oprea, N. Barsan, U. Weimar, Contribution of polymeric swelling to the overall response of capacitive gas sensors, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405(20) (2013) 6445-6452.
- [5] M. Matsuguchi, T. Kuroiwa, T. Miyagishi, S. Suzuki, T. Ogura, Y. Sakai, Stability and reliability of capacitive-type relative humidity sensors using crosslinked polyimide films, *Sensors and Actuators B: Chemical* 52(1) (1998) 53-57.
- [6] A.V. Quintero, F. Molina-Lopez, E.C.P. Smits, E. Danesh, J. van den Brand, K. Persaud, A. Oprea, N. Barsan, U. Weimar, N.F. de Rooij, D. Briand, Smart RFID label with a printed multisensor platform for environmental monitoring, *Flexible and Printed Electronics* 1(2) (2016) 025003.
- [7] F. Molina-Lopez, D. Briand, N.F. de Rooij, Inkjet Printing of Interdigitated Capacitive Chemical Sensors with Reduced Size by the Introduction of a Dielectric Interlayer, *Procedia Engineering* 47 (2012) 1173-1176.
- [8] E. Skotadis, D. Mousadakos, K. Katsabrokou, S. Stathopoulos, D. Tsoukalas, Flexible polyimide chemical sensors using platinum nanoparticles, *Sensors and Actuators B: Chemical* 189 (2013) 106-112.
- [9] http://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/AD7745_7746.pdf.
- [10] A. Botsialas, P. Oikonomou, D. Goustouridis, T. Ganetsos, I. Raptis, M. Sanopoulou, A miniaturized chemocapacitor system for the detection of volatile organic compounds, *Sensors and Actuators B: Chemical* 177 (2013) 776-784.

Κεφαλαίο 5: Αισθητήρες βασισμένοι στο οξείδιο του γραφενίου

Σε αυτό το κεφάλαιο παρουσιάζεται ο τρόπος κατασκευής χημικών και βιολογικών αισθητήρων οξειδίου του γραφενίου. Στην κατεύθυνση αυτή πρώτα μελετάται η μορφολογία του οξειδίου του γραφενίου (ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης) και το πάχος του (προφιλόμετρο). Στη συνέχεια, μελετάται η χημική δομή του με φασματοσκοπία υπερύθρου (FTI-R) και φασματοσκοπία φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (X-Ray Photoelectron Spectroscopy, XPS) και η ειδική αγωγιμότητα του. Επιπλέον, μελετάται η συμπεριφορά του τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου. Κατόπιν, κατασκευάζονται χημικοί αισθητήρες υγρασίας στους οποίους το οξείδιο του γραφενίου υφίσταται θερμική επεξεργασία σε χαμηλές θερμοκρασίες και εξετάζεται η μεταβολή της απόκρισης με τη θερμοκρασία. Μετέπειτα, κατασκευάζονται βιολογικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου και διερευνάται η ικανότητα ακινητοποίησης βιομορίων (b-BSA και στρεπταβιδίνης) στο οξείδιο του γραφενίου, καθώς το κομμάτι της ακινητοποίησης, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανίχνευση βιομορίων. Τέλος, παρουσιάζονται οι μετρήσεις από την ανίχνευση διάφορων βιομορίων όπως αυτές προκύπτουν από την μεταβολή της αντίστασης (ανίχνευση της αλληλεπίδρασης της b-BSA με τη στρεπταβιδίνη, της DNA αλληλουχίας μήκους 25 βάσεων, που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του RET γονιδίου και ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας που περιέχει το εξονότιο 20 του BRCA1 γονιδίου).

5.1 Υλικά για την κατασκευή των χημικών και βιολογικών αισθητήρων

Για την κατασκευή των χημικών και των βιολογικών αισθητήρων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα GO διασπαρμένο σε αιθανόλη συγκέντρωσης 5 mg/mL (Single Layer Graphene Oxide Dispersed in Ethanol) που αγοράστηκε από τη ACS Material και το οποίο παρασκευάστηκε με την μέθοδο Hummer.

5.1.1 Αναλύτης για τη μελέτη της απόκρισης του χημικού αισθητήρα

Για την μελέτη της απόκρισης των χημικών αισθητήρων που κατασκευάστηκαν, χρησιμοποιήθηκαν ατμοί νερού (water vapors, H₂O) στο σύστημα μέτρησης που παρουσιάστηκε στην παράγραφο 4.4.

5.1.2 Υλικά και διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στους βιολογικούς αισθητήρες

Η ενεργοποίηση των υποστρωμάτων SiO₂ έγινε με: hexamethyldisilazane (HMDS, VWR international LLC), 3-glycidoxypropyl trimethoxysilane (GOPTS, Sigma-Aldrich Co.) και 3-aminopropyl triethoxysilane (APTES, Sigma-Aldrich Co).

Η αλβουμίνη ορού βοοειδών (Bovine serum albumin, BSA, Cohn fraction V, RIA grade) με ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point, pI) 5.0 αγοράστηκε από τη Sigma-Aldrich Co. Η επισημασμένη στρεπταβιδίνη (Streptavidin labeled with AlexaFluor 546 (AF546), και η υψηλής ποιότητας πρωτεΐνη της στρεπταβιδίνης με pI = 6.8 –7.5 αγοράστηκαν από τη Thermo Fisher Scientific. Η βιοτινυλιωμένη BSA (Biotinylated BSA, b-BSA), παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας το πρωτόκολλο που παρουσιάζεται στην αναφορά [1].

Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (Phosphate buffer solution) συγκέντρωσης 50 mM το οποίο είχε pH 7.4, χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του b-BSA διαλύματος και για την έκπλυση των δειγμάτων κατά την ανάπτυξη του πρωτοκόλλου ακινητοποίησης πρωτεϊνών και για τη βελτιστοποίηση της πρόσφυσης του GO στα SiO₂ υποστρώματα, ενώ το ρυθμιστικό διάλυμα Tris (τρις(υδροξυμεθυλ)αμινομεθάνιο) συγκέντρωσης 1 μM με pH ίσο με 8.3 χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα ανίχνευσης μέσω ηλεκτρικών μετρήσεων.

Για την ανίχνευση της DNA αλληλουχίας, μήκους 25 βάσεων, που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του RET γονιδίου χρησιμοποιήθηκε η επισημασμένη με βιοτίνη στο 5' άκρο αλληλουχία ολιγονουκλεοτιδίων (b-oligo): 5' GGG AGC CCA GGC AGC CAC ACT CCT C 3' (b-oligos), που αγοράστηκε από την VBC Biotech, Vienna.

Για την ενίσχυση της DNA αλληλουχίας, 157 ζεύγη βάσεων, που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCAl* γονιδίου μέσω της αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) χρησιμοποιείται το KAPA2G Fast HotStart ReadyMix Kit (Kapa Biosystems; Lab Supplies Scientific, Greece) σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν 0.55 ng ανθρώπινου DNA που περιέχει τη DNA μήτρα (DNA template target), 249 ζεύγη βάσεων, τα οποία προμηθευτικάμε από το FORTH (Heraklion, Greece). Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν (target-specific primers) αγοράστηκαν από τη Metabion (Germany) με τον έναν (forward primer) να είναι επισημασμένος με βιοτίνη στο 5' άκρο του. Στον Πίνακα 5.1 παρουσιάζονται η αλληλουχία και το μήκος της DNA μήτρας (template), του ενισχυμένου DNA (DNA amplicon), του εξονίου 20 (exon 20) και των εκκινητών που

χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση. Τέλος, για το σχηματισμό των ηλεκτροδίων του βιοαισθητήρα χρησιμοποιήθηκε βαφή από άργυρο (Ag, silver paint conductive adhesive) (RS-186-3593) που αγοράστηκε από την RS.

Πίνακας 5.1. Η αλληλουχία και το μήκος των ολιγονουκλεοτιδίων		
Ολιγονουκλεοτίδιο	Αλληλουχία	Μήκος
DNA amplicon	5'- <i><u>tcctgatgggttggtttggtttctttcagcatgattttgaagtcagaggagatg</u></i> <i><u>tggtcaatggaagaaccaccaagggtccaaagcgagcaagagaatccc</u></i> <i><u>aggacagaaaggtaaagctccctccctcaagtgacaaaaatctcacccca</u></i> <i><u>cca</u></i> -3'	157
Exon 20	<i>catgattttgaagtcagaggagatgtggtcaatggaagaaccaccaag</i> <i>gtccaaagcgagcaagagaatcccaggacagaaag</i>	84
Primer F	<i><u>5'-biotin-tcctgatgggttggtttggtttg-3'</u></i>	20
Primer R	<i><u>5'-tgg tgg ggt gag att ttt gtc-3'</u></i>	21
DNA template	5'- <i><u>tcctgatgggttggtttggtttctttcagcatgattttgaagtcagaggagatg</u></i> <i><u>tggtcaatggaagaaccaccaagggtccaaagcgagcaagagaatccc</u></i> <i><u>aggacagaaaggtaaagctccctccctcaagtgacaaaaatctcacccca</u></i> <i><u>ccactctgtattccactcccctttgcagagatgggcccgttcattttgaagactt</u></i> <i><u>attacatacatcacagtctagatactttcacacaggt</u></i> -3'	249

5.2 Μέθοδοι

5.2.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας και πάχους του οξειδίου του γραφενίου

Η μορφολογία του θερμικά επεξεργασμένου GO μελετήθηκε χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (field emission scanning electron microscopy (FESEM, JSM -7401f, JEOL), ενώ το πάχος των GO και των prGO υμενίων (partially reduced graphene oxide) μετρήθηκε με το προφیلόμετρο XP-2 της AmbiosTechnology. Για το σκοπό αυτό αρχικά το GO επιστρώθηκε σε 4" δισκίο πυριτίου (400 rpm για 30 s) για τη δημιουργία ομοιόμορφων υμενίων

πάχους ~500 nm (συγκεκριμένα έγιναν πολλαπλές επιστρώσεις δέκα σε αριθμό, η μονή επίστρωση δημιουργεί υμένια πάχους ~45 nm). Στη συνέχεια το δισκίο κόπηκε σε δείγματα διαστάσεων ~2.5x2 cm τα οποία επεξεργάστηκαν θερμικά στην ατμόσφαιρα για 1 ώρα (90°C, 120°C, 150°C, 180°C, 200°C και 300°C).

5.2.2 Χαρακτηρισμός της χημικής δομής του οξειδίου του γραφενίου

Η χημική δομή του prGO μελετήθηκε με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) και με φασματοσκοπία φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (X-Ray Photoelectron Spectroscopy, XPS). Πιο συγκεκριμένα για το χαρακτηρισμό των prGO υμενίων με φασματοσκοπία υπερύθρου (FT-IR) χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Perkin Elmer με ανιχνευτή DTGS (deuterated triglycine sulfate), ενώ για τη διεξαγωγή των μετρήσεων ακολουθείται η ίδια διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω για το χαρακτηρισμό της μορφολογίας του οξειδίου του γραφενίου. Για την ανάλυση με τη φασματοσκοπία Φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (XPS) ορθογώνια δείγματα (~11x15mm²) του GO και του θερμικά επεξεργασμένου GO (90, 120, 150, 180 και 200°C) τοποθετήθηκαν για 1 ώρα στην ατμόσφαιρα στο θάλαμο του συστήματος Leybold-Specs MAX200. Οι XPS μετρήσεις έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου και σε πίεση ~10⁸ mbar, χρησιμοποιώντας μη μονοχρωματικές ακτίνες X MgKα (ενέργεια φωτονίων 1253,6 eV). Ο αναλυτής (analyser) λειτουργεί υπό βελτιστοποιημένες συνθήκες για να επιτευχθεί η καλύτερη ένταση του σήματος (ενέργεια σταθερής διέλευσης 100 eV), ενώ η περιοχή ανάλυσης του δείγματος ήταν 4x7 mm² κοντά στο κέντρο κάθε δείγματος.

5.2.3 Ηλεκτρικές μετρήσεις

Για τον ηλεκτρικό χαρακτηρισμό του prGO αρχικά το GO εναποτέθηκε με τη χρήση μικροπιπέτας ανάμεσα σε δυο ηλεκτρόδια χρυσού, τα οποία κατασκευάστηκαν με βάση την τεχνική της φωτολιθογραφίας (standard lithographic Techniques) πάνω σε ένα μονωτικό στρώμα διοξειδίου του πυριτίου που αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα πυριτίου. Στη συνέχεια τα δείγματα θερμάνθηκαν στην ατμόσφαιρα και μετρήθηκαν πάλι στην ατμόσφαιρα χρησιμοποιώντας τη τεχνική των δυο ακίδων (two-point probe technique) στον Prober Karl-SussMicromanipulator 7000 LTE σε συνδυασμό με το HP4140B pA meter/DC voltage source. Τέλος, από τη κλίση των I-V χαρακτηριστικών που προέκυψαν αρχικά υπολογίζεται η αντίσταση και στη συνέχεια η ειδική αγωγιμότητα (conductivity, σ), η οποία υπολογίζεται από τη σχέση (3.4) του κεφαλαίου 3: $\sigma=1/\rho$ (όπου $\rho = \frac{R_{ολ} \cdot L \cdot t}{gap}$: είναι η ειδική αντίσταση, L : το μήκος των ηλεκτροδίων που είναι καλυμμένα με τη σταγόνα, t : το πάχος της σταγόνας πάνω από τα ηλεκτρόδια και gap : η

απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων). Για την μέτρηση του τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου χρησιμοποιήθηκε επίσης ο Prober Karl-SussMicromanipulator 7000 LTE.

Για την μέτρηση της μεταβολής της αντίστασης κατά την ανίχνευση της ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη, όπως επίσης και της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας που περιέχει το εξόνιο 20 του γονιδίου *BRCA1* και της DNA αλληλουχίας που σχετίζεται με την μετάλλαξη G533C του γονιδίου *RET* χρησιμοποιήθηκε το Labview software το οποίο ήταν συνδεδεμένο με το όργανο HP34401 Digital Multimeter.

5.2.4 Ηλεκτροφόρηση γέλης

Τα αντίγραφα του DNA που προέκυψαν οπτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ηλεκτροφόρηση γέλης (gel electrophoresis) (Bio-Rad Wide Mini-Sub Cell GT GT). Πιο συγκεκριμένα για την αξιολόγηση της ενίσχυσης του DNA μέσω της PCR και της RPA μεθόδου χρησιμοποιήθηκε γέλη αγαρόζης (agarose gel) 2% επισημασμένη με EtBr. Το ρυθμιστικό διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε είναι 1x TBE (10x TBE: 890 mM Tris, 890 mM Boric acid, 20 mM EDTA, pH 8.0), ενώ 5 μl μιας κλίμακας (ladder) 100 ζευγών βάσεων (base pair long, bp) (12 bands, 100-3000 bp, 50 μg, από την Nippon Genetics) χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης αναφοράς του DNA.

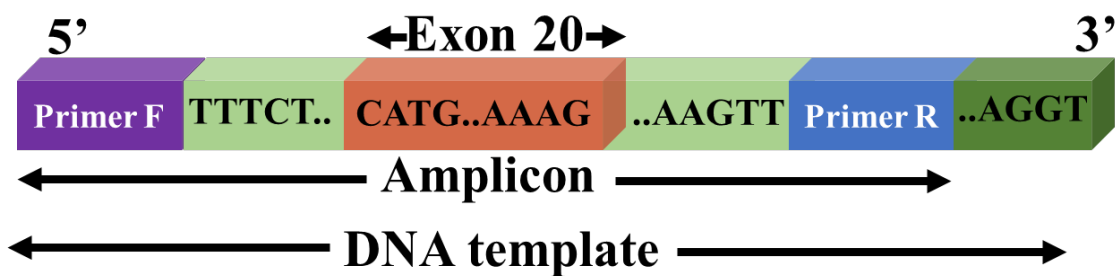
5.2.5 Μικροσκοπία φθορισμού

Για την αξιολόγηση της ικανότητας ακινητοποίησης των βιομορίων στο οξύδιο του γραφενίου μέσω των χαρακτηριστικών ομάδων που διαθέτει χρησιμοποιήθηκε το μικροσκόπιο φθορισμού Axioskop 2 plus της εταιρείας Carl Zeiss (Γερμανία), το οποίο είναι εξοπλισμένο με ψηφιακή κάμερα (Sony Cyber-Shot 8-bit digital camera). Για αυτό το σκοπό μελετήθηκε η αλληλεπίδραση της b-BSA με την επισημασμένη στρεπταβιδίνη (Alexa Fluor 546) πάνω στο prGO μετά από τη θερμική του επεξεργασία σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Η ένταση φθορισμού (fluorescence intensity) προέκυψε μέσω της ψηφιακής επεξεργασίας των εικόνων από το λογισμικό ImagePro Plus software (Media Cybernetics, Inc.).

5.2.6 Πρωτόκολλο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης

Το πρωτόκολλο αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR) που χρησιμοποιήθηκε για την ενίσχυση της DNA αλληλουχίας που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου είναι δύο θερμοκρασιών και πραγματοποιήθηκε σε ένα θερμοκυκλοποιητή (benchtop thermocycler, icycler, Biorad, USA). Το πρωτόκολλο της PCR ξεκινά με ένα βήμα μετουσίωσης (denaturation) 3 λεπτών στους 95°C. Ακολουθούν 35 κύκλοι μετουσίωσης στους

95°C για 10 s και η ανόπτηση / επέκταση στους 65°C για 30 s. Ο τελικός όγκος της αντίδρασης (20 μ L) που χρησιμοποιήθηκε για την PCR περιλαμβάνει: 10 μ L διαλύματος το οποίο δεν περιέχει τους εκκινητές (primer-free kappa PCR mastermix), 0.5 μ M από κάθε εκκινητή (ο ένας εκκινητής είναι επισημασμένος με βιοτίνη στο 5' άκρο του), 1 μ L από το DNA που είναι προς ανίχνευση και νερό ειδικό για τη PCR. Τα αντίγραφα του ενισχυμένου DNA οπτικοποιήθηκαν μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης (gel electrophoresis) και συγκρίθηκαν με ένα δείγμα ελέγχου (no template control). Το δείγμα ελέγχου περιέχει όλα τα αντιδραστήρια (π.χ. τους επισημασμένους με βιοτίνη εκκινητές) που απαιτούνται για το πρωτόκολλο της PCR χωρίς τη DNA μήτρα.

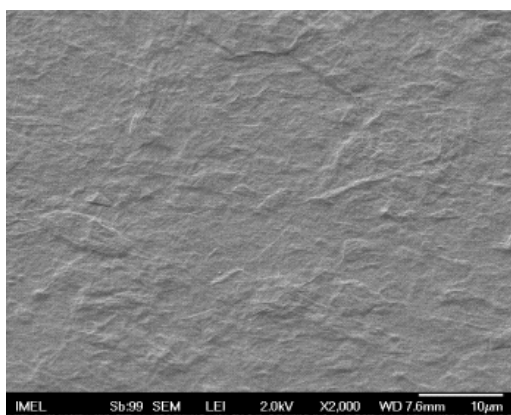


Εικόνα 5.1. Σχηματική αναπαράσταση της DNA μήτρας (template), του ενισχυμένου DNA (DNA amplicon), του εξονίου 20 (exon 20) και των εκκινητών που χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση).

5.3 Χαρακτηρισμός του οξειδίου του γραφενίου

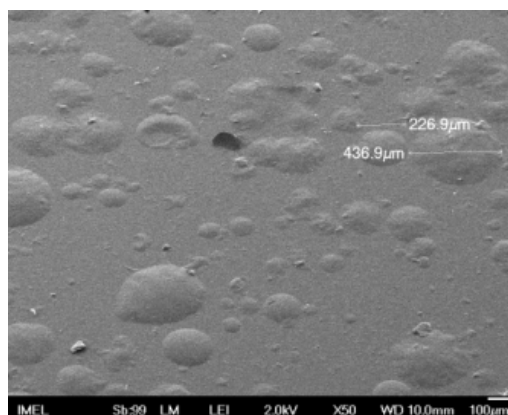
5.3.1 Χαρακτηρισμός της μορφολογίας του οξειδίου του γραφενίου

Όλα τα δείγματα τα οποία θερμάνθηκαν μέχρι και τους 200°C εμφανίζουν τραχύτητα με μορφή πτυχώσεων παρόμοια με τις επιφάνειες που δεν έχουν υποστεί θερμική κατεργασία (Εικόνα 5.2). Αντίθετα στους 300°C η μορφολογία της επιφάνειας έχει λιγότερες πτυχώσεις αλλά παρουσιάζονται φουσκάλες. Αυτό το φαινόμενο οφείλεται στο ότι κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας παρατηρείται η παγίδευση πτητικών προϊόντων (ατμοί νερού (H_2O), CO_2 , CO ή άλλα αέρια μικρού μεγέθους) με αποτέλεσμα να δημιουργούνται φουσκάλες στην επιφάνεια των υμενίων. Για υψηλότερες θερμοκρασίες (500°C) εμφανίζονται σχισμές στην επιφάνεια των υμενίων πράγμα το οποίο υποδηλώνει τη διαφυγή των πτητικών προϊόντων από τα εσωτερικά στρώματα των υμενίων καταστρέφοντας έτσι το πλέγμα.



200°C, 1 h

(α)



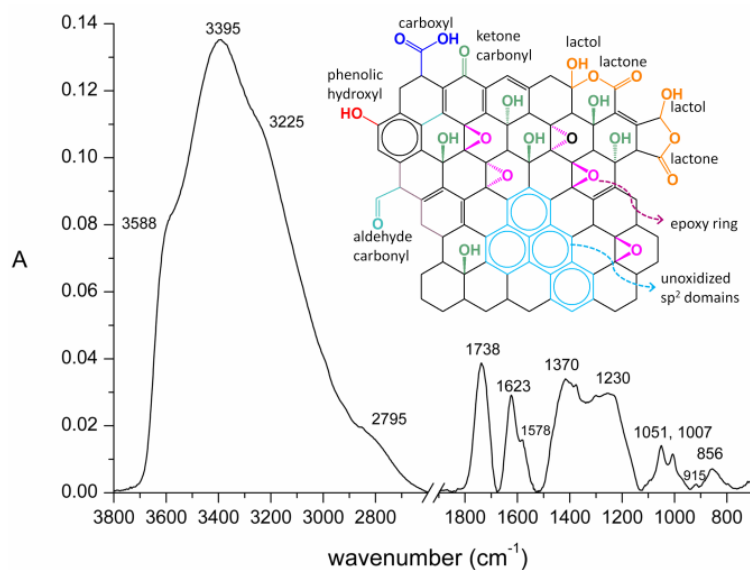
300°C, 1 h

(β)

Εικόνα 5.2. Φωτογραφίες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης (SEM) των GO υμενίων μετά τη θερμική τους επεξεργασία για 1 ώρα στους: **(α)** 200°C και **(β)** 300°C. Στις φωτογραφίες αυτές διακρίνονται πτυχώσεις στους 200°C παρόμοιες με τα ακατέργαστα δείγματα, ενώ στους 300°C παρατηρούνται φουσκάλες λόγω ύπαρξης πτητικών ενώσεων.

5.3.2 Χαρακτηρισμός της χημικής δομής και της αγωγιμότητας του οξειδίου του γραφενίου

Η διερεύνηση της εξέλιξης των χαρακτηριστικών ομάδων του GO κατά τη θερμική επεξεργασία των υμενίων στην ατμόσφαιρα έγινε μέσω της φασματοσκοπίας υπεράθρου (FT-IR). Στην Εικόνα 5.3. παρουσιάζεται το φάσμα FT-IR του GO σε θερμοκρασία δωματίου (25° C).

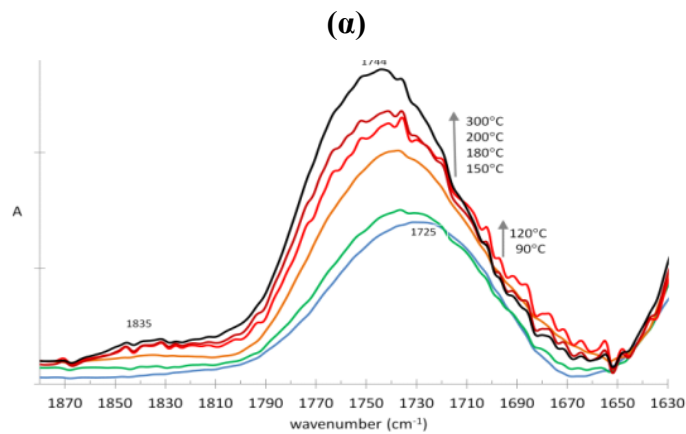
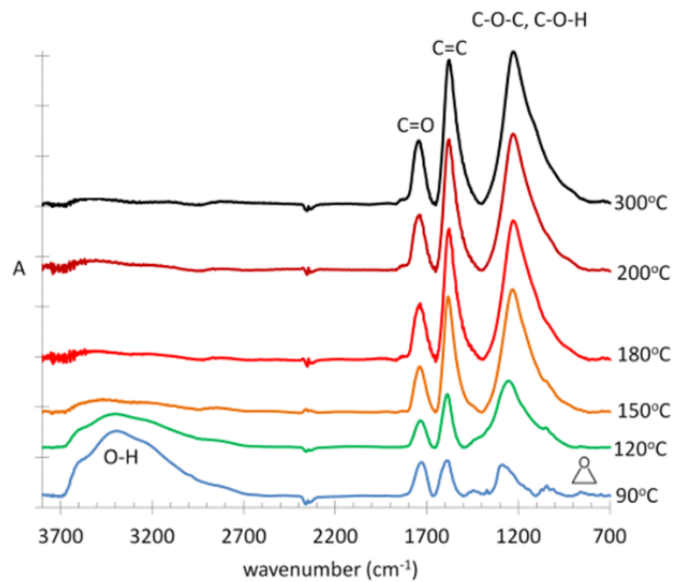


Εικόνα 5.3. Φάσμα FT-IR του GO σε θερμοκρασία δωματίου. (Ενθετο) Σχηματική αναπαράσταση του συνόλου των χαρακτηριστικών ομάδων που αναγνωρίζονται στο φάσμα του GO.

Στην Εικόνα 5.4α απεικονίζονται τα φάσματα καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία. Παρατηρούμε ότι τα φάσματα από μια τιμή θερμοκρασίας και μετά δεν αλλάζουν σημαντικά, που σημαίνει ότι η τελική δομή του rGO έχει διαμορφωθεί μέχρι αυτήν την κρίσιμη θερμοκρασία. Αυτή η θερμοκρασία στην περίπτωση μας είναι οι 150°C και πάνω από αυτή τη θερμοκρασία δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές. Επιπλέον, η θερμική αναγωγή του GO επιβεβαιώνεται και από τη βαθμιαία μείωση των ομάδων του υδροξυλίου στα 2600-3700 cm⁻¹ κατά τη θέρμανση. Το φαινόμενο ισχύει και για την ασθενή κορυφή στα 856 cm⁻¹, που αντιστοιχεί στον εποξειδικό δακτύλιο που χρησιμοποιείται ευρέως για τις εποξειδικές ομάδες, και μειώνεται συγχρόνως με τις ομάδες των υδροξυλίων. Ταυτόχρονα, το γραφιτικό πλέγμα αποκαθίσταται. Η αποκατάσταση αυτή παρατηρείται με το σχηματισμό C=C που φαίνεται από την αύξηση του ύψους της κορυφής στα 1.578 cm⁻¹ [41,42,44,45], ενώ παράλληλα αυξάνεται και η κορυφή στα 1738 cm⁻¹ και στα 1230 cm⁻¹ που αντιστοιχεί στο δεσμό C=O και C-O-C αντίστοιχα.

Λόγω της παρουσίας του ατμοσφαιρικού οξυγόνου κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας, λαμβάνει χώρα και η οξείδωση του GO. Η αντίδραση της οξείδωσης επιβεβαιώνεται από τις μεταβολές της απορρόφησης της ομάδας του C=O κατά τη θέρμανση (Εικόνα 5.4β). Καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία παρατηρούνται τα εξής τρία ποιοτικά χαρακτηριστικά: α) πλάτυνση

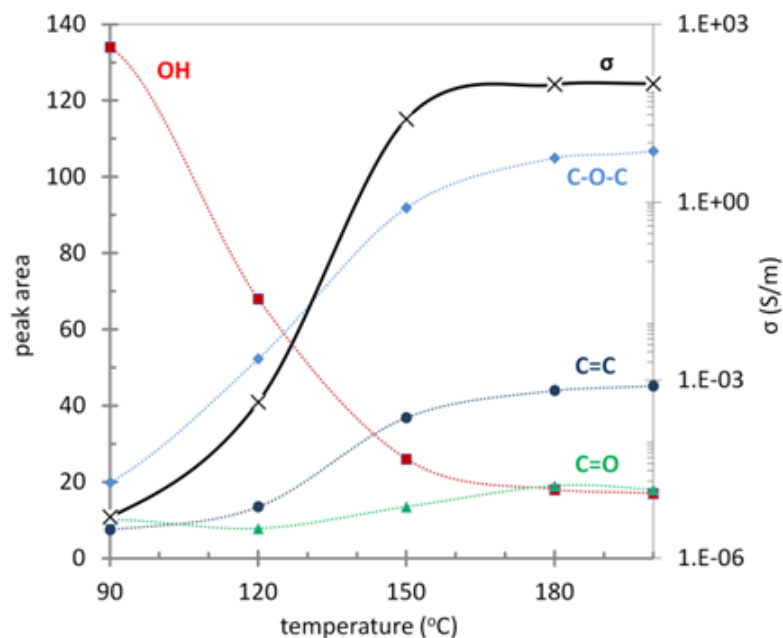
της κορυφής, β) μετατόπιση της κορυφής σε υψηλότερους κυματαριθμούς (από το 1725 cm^{-1} στο 1744 cm^{-1}), και γ) εμφάνιση μια καινούργιας κορυφής στα 1837 cm^{-1} (για θερμοκρασίες πάνω από τους $150\text{ }^{\circ}\text{C}$). Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν το σχηματισμό ανυδριτών και εστέρων.



(β)

Εικόνα 5.4. (α) Τα FT-IR φάσματα των GO υμενίων για διαφορετικές θερμοκρασίες. (β) Μεγέθυνση της περιοχής των καρβονυλίων μετά από κάθε θερμική επεξεργασία. Με την αύξηση της θερμοκρασίας η περιοχή πλαταίνει και μετατοπίζεται από το 1725 cm^{-1} στο 1744 cm^{-1} . Η κορυφή στα 1835 cm^{-1} δείχνει το σχηματισμό ανυδριτών.

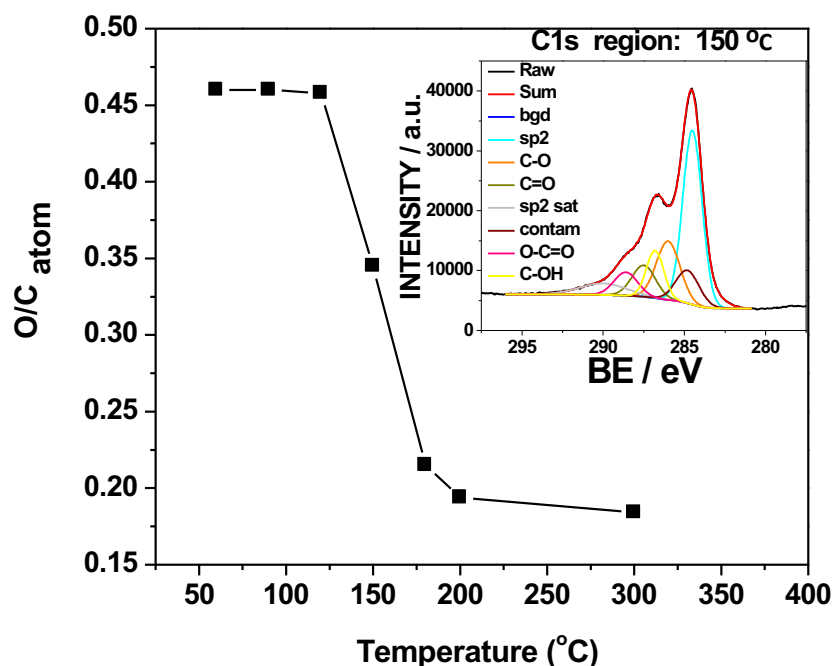
Τέλος, στην Εικόνα 5.5 απεικονίζεται ο τρόπος με τον οποίο μεταβάλλονται οι χαρακτηριστικές ομάδες του GO με τη θερμοκρασία (OH, C=O, C-OC και C=C). Επιπλέον, στην Εικόνα 5.5 παρουσιάζεται η μεταβολή της ειδικής αγωγιμότητας του GO με τη θερμοκρασία, η οποία οφείλεται στην μείωση των OH και των εποξειδικών ομάδων παράλληλα με την αποκατάσταση του sp^2 δικτύου. Η ειδική αγωγιμότητα αρχίζει να αυξάνεται πάνω από τους 90°C, που υποδηλώνει ότι αρχίζει να δημιουργείται μια δομή παρόμοια με αυτή του γραφενίου μέχρι τους 150°C. Πάνω από αυτή την κρίσιμη θερμοκρασία και για το εύρος των θερμοκρασιών που εξετάστηκαν δεν σημειώνεται κάποια περαιτέρω σημαντική αύξηση της ειδικής αγωγιμότητας.



Εικόνα 5.5. Απεικόνιση της μεταβολής των χαρακτηριστικών ομάδων του GO κατά τη θερμική αναγωγή: 1) απομάκρυνση των ομάδων υδροξυλίου, 2) σχηματισμός καρβονυλικών ομάδων και 3) αποκατάσταση του sp^2 πλέγματος του γραφενίου το οποίο οφείλεται στους C=C δεσμούς (1.578 cm^{-1}), και η συσχέτιση τους με την ενίσχυση της ειδικής αγωγιμότητας (σ). Στους 150°C η δομή του rGO έχει σχηματιστεί: οι ομάδες των OH έχουν μειωθεί, σχηματίζονται C=O και C-O-C ομάδες, το ποσοστό των C=C δεσμών έχει αυξηθεί και η ειδική αγωγιμότητα αυξάνεται απότομα.

Η χημική δομή του prGO μελετήθηκε και μέσω φασματοσκοπίας φωτοηλεκτρονίων ακτίνων X (X-Ray Photoelectron Spectroscopy, XPS). Για το σκοπό αυτό, το GO υφίσταται μιας ήπιας μορφής θερμική επεξεργασία για 1 ώρα σε διαφορετικές θερμοκρασίες: 90°C, 120°C, 150°C, 180°C και 200°C, στην ατμόσφαιρα. Για όλα τα δείγματα στα φάσματα παρατηρήθηκαν οι O και C κορυφές. Τόσο οι κορυφές C1s όσο και O1s ήταν ευρείες και υποδηλώνουν την ύπαρξη ατόμων C και O που βρίσκονται στις διάφορες χαρακτηριστικές ομάδες του GO.

Το πρώτο βήμα για την ποσοτικοποίηση των XPS δεδομένων είναι να ληφθεί ο συνολικός λόγος των ατόμων O και C (atomic O/C ratio) από τους κατάλληλους σχετικούς παράγοντες ευαισθησίας (relative sensitivity factors, RSF) και οι συνολικές αναλογίες επιφανειών κορυφής O1s/C1s αφού αφαιρεθεί από τις κορυφές C1s και O1s η συνεισφορά του στρώματος μόλυνσης από την ατμόσφαιρα (~ 0,8 nm). Στην Εικόνα 5.6 απεικονίζεται η ταχεία μείωση της αναλογίας O/C μεταξύ 120°C και 180°C, που προκαλείται από τις αλλαγές που συμβαίνουν στο GO κατά τη διάρκεια της θερμικής αναγωγής του, που συμβάλλουν στην αποκατάσταση του sp² δικτύου του. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα αποτελέσματα του FTIR.



Εικόνα 5.6. Η μεταβολή του λόγου των O και C ατόμων (O/C) σαν συνάρτηση της θερμοκρασίας κατά τη θερμική επεξεργασία του GO για 1 ώρα. Ένθετο: το XPS φάσμα του C1s μετά από θερμική επεξεργασία στους 150°C (sp2 στα 284.5, C-O στα 286.0, C=O στα 287.5, O-C=O στα 288.6, CHx στα 284.8, C-OH στα 286.8).

Στον Πίνακα 5.2 συγκρίνεται ο λόγος C/O και η ειδική αγωγιμότητα ενός θερμικά επεξεργασμένου για 1 ώρα υμενίου GO στους 200 °C στην ατμόσφαιρα, που είναι 79 S/m, με άλλες δημοσιευμένες εργασίες που υπάρχουν στην βιβλιογραφία. Σύμφωνα με τον Πίνακα 5.2 αυτός ο λόγος C/O είναι συγκρίσιμος με άλλους προτεινόμενους τρόπους προετοιμασίας του γραφενίου. Στα παραδείγματα του Πίνακα 5.2, το γραφένιο παρασκευάστηκε ως εξής: 1) σε χαμηλές θερμοκρασίες στην ατμόσφαιρα [2, 3], 2) με θέρμανση του GO σε N,N-dimethylacetamide και νερό (DMAc/H₂O) σε ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης χρησιμοποιώντας αέριο άζωτο για θερμοκρασίες κάτω των 150°C [4], 3) σε περιβάλλον Ar, Ar/H₂ ή συνθήκες υψηλού κενού (ultra-high vacuum, UHV) για θερμοκρασίες από 200°C έως 1000°C [5, 6] και 4) με θερμική αποφλοίωση και αναγωγή του οξειδίου του γραφίτη χρησιμοποιώντας κενό και χαμηλές θερμοκρασίες [7].

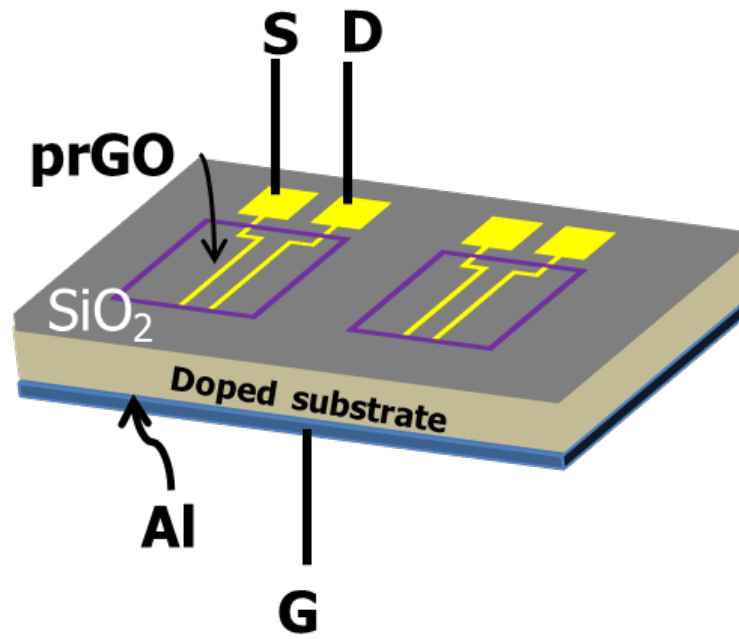
Πίνακας 5.2. Σύγκριση του λόγου C/O και της ειδικής αγωγιμότητας του προτεινόμενου τρόπου παρασκευής γραφενίου σε σχέση με άλλους τρόπους που προτείνονται στη βιβλιογραφία.

Θερμική αναγωγή του GO						
Θερμοκρασία (°C)	C/O	σ(S/m)				Αναφορά
1 h στους 200°C	5.15	Στην ατμόσφαιρα				Προτεινόμενος τρόπος
		79				
1 h στους 300°C	2.3-5.7	Στην ατμόσφαιρα	N₂ στους 300°C	Ar/H₂ στους 550°C	Hydrazine στους 95°C	[3]
		1068	~1000	~1300	~1200	
260 min στους 150°C	3.45	Στην ατμόσφαιρα				[2]
		5.4*10 ⁻⁴				
Θερμική αναγωγή του GO με τη χρήση διαλυτών σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης						
5 h στους 150°C	2.09-4.7	1h στους 150°C: 230 S/m (rGO paper)				[4]
Θερμική αναγωγή του GO @ UHV						
2 min στους 200°C	2.92	NA				[6]
Θερμική αποφλοιώση και αναγωγή του οξειδίου του γραφίτη με UHV						
24 h στους 135°C	5	NA				[7]
Θερμική αναγωγή του GO με Ar & Ar/H₂						
30 min στους 200°C	Ar	Ar/H ₂	NA			[5]
	3.9	3.9	NA			

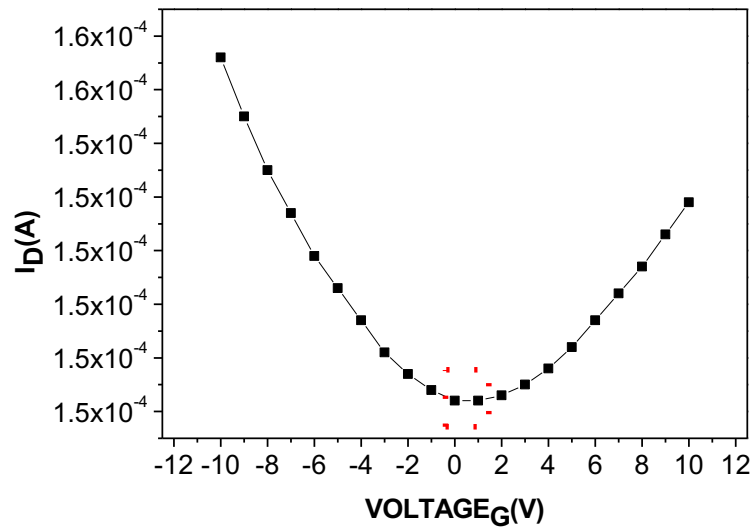
5.4 Τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου

Καθώς οι αισθητήρες τύπου τρανζίστορ βασισμένοι στο οξείδιο του γραφενίου χρησιμοποιούνται ευρέως για την ανίχνευση βιομορίων μελετήθηκε η συμπεριφορά τους για μελλοντικές εφαρμογές. Για την κατασκευή του τρανζίστορ χρησιμοποιήθηκε υπόστρωμα πυριτίου (n τύπου), στο οποίο έγινε εμφύτευση φωσφόρου και στις δυο πλευρές (δόση: 10^{16} cm⁻², ενέργεια: 60keV), με διοξείδιο του πυριτίου πάχους 140 Å πάνω στο οποίο σχηματοποιήθηκαν με την τεχνική της φωτολιθογραφίας ηλεκτρόδια χρυσού πάχους 60 nm, ενώ στην πίσω πλευρά του πυριτίου εναποτέθηκε αλουμίνιο. Ανάμεσα σε αυτά τα ηλεκτρόδια εναποτέθηκε το GO με τη χρήση μικροπιπέτας, το οποίο κατόπιν επεξεργάστηκε θερμικά σε χαμηλές θερμοκρασίες στην ατμόσφαιρα για 1 ώρα στους 250°C. Πριν την εναπόθεση του GO τα υποστρώματα καθαρίστηκαν με ακετόνη, προπανάλη και απιονισμένο νερό και στη συνέχεια στεγνώθηκαν με άζωτο.

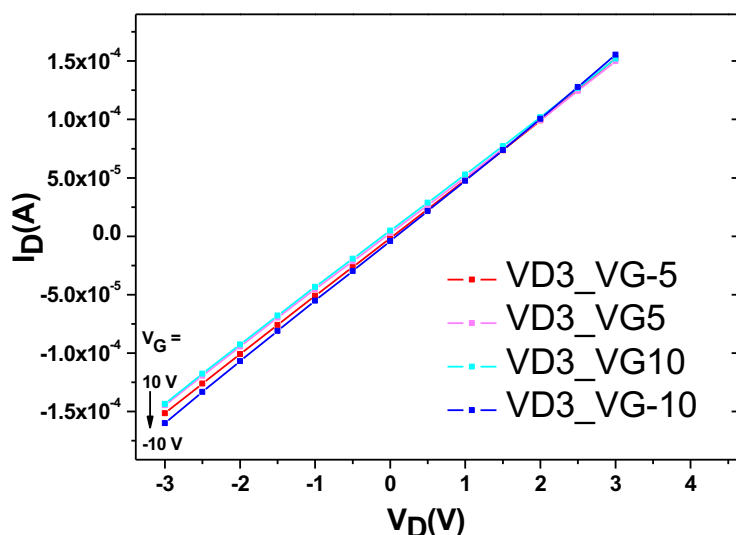
Στην Εικόνα 5.7α απεικονίζεται η σχηματική αναπαράσταση του τρανζίστορ οξειδίου του γραφενίου που κατασκευάστηκε. Επιπλέον, διακρίνονται οι ακροδέκτες της πηγής, της πύλης και του απαγωγού. Από τη χαρακτηριστική μεταφοράς ($I_{DS}-V_G$) διακρίνεται η διπολική συμπεριφορά του prGO, ενώ η ελάχιστη μετατόπιση του σημείου Dirac προς τα δεξιά υποδηλώνει ότι το prGO είναι τύπου p. Για την περαιτέρω διερεύνηση των ηλεκτρικών χαρακτηριστικών των prGO τρανζίστορ μελετήθηκε η χαρακτηριστική εξόδου ($I_{DS}-V_{DS}$) για διαφορετικά V_G (Εικόνα 5.7β). Σύμφωνα με την Εικόνα 5.7β το τρανζίστορ prGO παρουσιάζει ωμική συμπεριφορά [8]. Επιπλέον, η μεταβολή του ρεύματος I_{DS} όταν μεταβάλλεται η τάση πύλης V_G δείχνει ότι η απόκριση της διάταξης είναι ευαίσθητη στις μεταβολές της V_G [8].



(α)



(β)

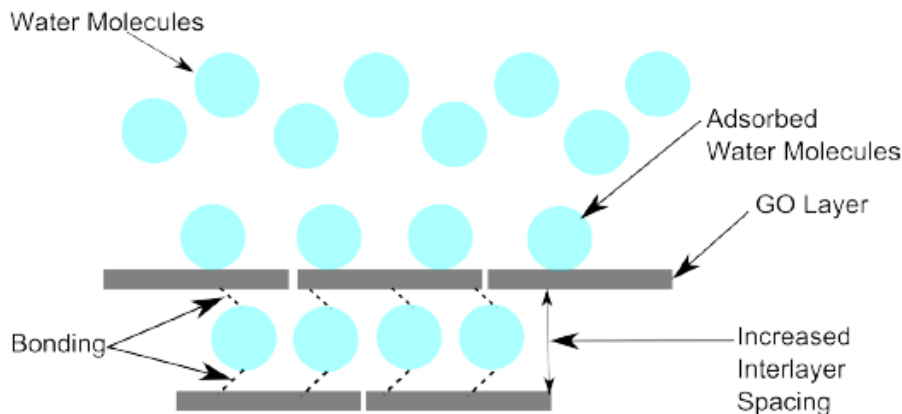


(γ)

Εικόνα 5.7. (α) Σχηματική αναπαράσταση του p-rGO τρανζίστορ, στην οποία διακρίνονται οι ακροδέκτες της πύλης, του απαγωγού και της πηγής. **(β)** Η χαρακτηριστική μεταφοράς και **(γ)** η χαρακτηριστική εξόδου του p-rGO τρανζίστορ.

5.5 Χημικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου

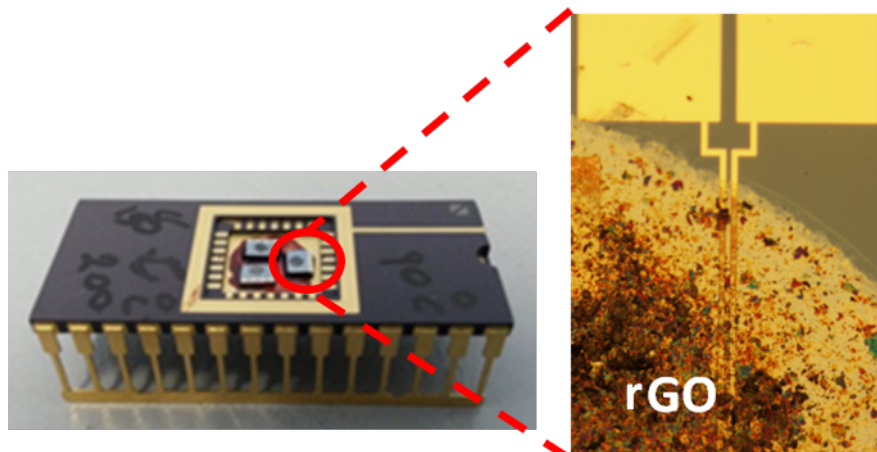
Οι χημικοί αισθητήρες γραφενίου μπορούν να ανιχνεύσουν την προσρόφηση μέχρι και ενός μόνο μορίου [9]. Ο μηχανισμός ανίχνευσης βασίζεται στη μεταφορά φορτίου που προκαλείται από την προσρόφηση / εκρόφηση των μορίων (που δρουν ως δότες ή αποδέκτες ηλεκτρονίων) επάνω στην επιφάνεια του γραφενίου, το οποίο οδηγεί σε μεταβολές της αγωγιμότητας του γραφενίου. Ο μηχανισμός ανίχνευσης στους περισσότερους αισθητήρες υγρασίας τύπου αντίστασης οφείλεται κυρίως στη συνεισφορά των κατιόντων υδροξωνίου (H_3O^+) και η εμπέδηση μειώνεται με την υγρασία [10]. Υπάρχουν βέβαια και περιπτώσεις στις οποίες η αντίσταση αυξάνεται με την σχετική υγρασία [10]. Η αρχή λειτουργίας των αισθητήρων σε αυτές τις περιπτώσεις βασίζεται στις ιδιότητες του rGO (ημιαγωγός τύπου p) και του φαινομένου της διόγκωσης (swelling effect) [10, 11]. Πιο συγκεκριμένα, κατά την προσρόφηση των μορίων του νερού, αυτά δρουν ως δότες ηλεκτρονίων με αποτέλεσμα να μειώνονται οι σπές που κυριαρχούν στο rGO (ημιαγωγός τύπου p) και έτσι η αντίσταση αυξάνεται. Επιπλέον, τα μόρια του νερού που εισέρχονται στα ενδιάμεσα στρώματα του rGO αυξάνουν τη μεταξύ τους απόσταση (φαινόμενο διόγκωσης) με αποτέλεσμα και πάλι η αντίσταση να αυξάνεται.



Εικόνα 5.8. Απεικόνιση του φαινομένου της διόγκωσης κατά την προσρόφηση των μορίων νερού στα ενδιάμεσα στρώματα του GO που συμβάλει στην αύξηση της αντίστασης του αισθητήρα υγρασίας [11].

5.5.1 Κατασκευή του χημικού αισθητήρα οξειδίου του γραφενίου

Για την κατασκευή του χημικού αισθητήρα οξειδίου του γραφενίου αρχικά κατασκευάστηκαν ηλεκτρόδια χρυσού πάνω σε υπόστρωμα διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2), πάχους 300nm, με φωτολιθογραφία. Στη συνέχεια το οξείδιο του γραφενίου εναποτέθηκε με τη χρήση μικροπιπέτας ανάμεσα στα ηλεκτρόδια χρυσού, τα οποία μετέπειτα επεξεργάστηκαν θερμικά για 1 ώρα σε διαφορετικές θερμοκρασίες: 120°C, 150°C, 180°C, 200°C και 300°C (Εικόνα 5.9). Η απόκριση των αισθητήρων αυτών μελετήθηκε για διαφορετικές συγκεντρώσεις υγρασίας χρησιμοποιώντας το σύστημα μέτρησης της παραγράφου 4.4.



Εικόνα 5.9. Φωτογραφία τριών χημικών αισθητήρων, στους οποίους το GO επεξεργάστηκε θερμικά σε διαφορετικές θερμοκρασίες, έτοιμοι για χρήση. Η φωτογραφία του prGO ανάμεσα στα ηλεκτρόδια χρυσού από το οπτικό μικροσκόπιο παρουσιάζεται σαν ένθετο δεξιά

5.5.2 Μελέτη της απόκρισης των αισθητήρων prGO σε ατμούς αναλυτών μετά από επεξεργασία του GO σε διαφορετικές θερμοκρασίες

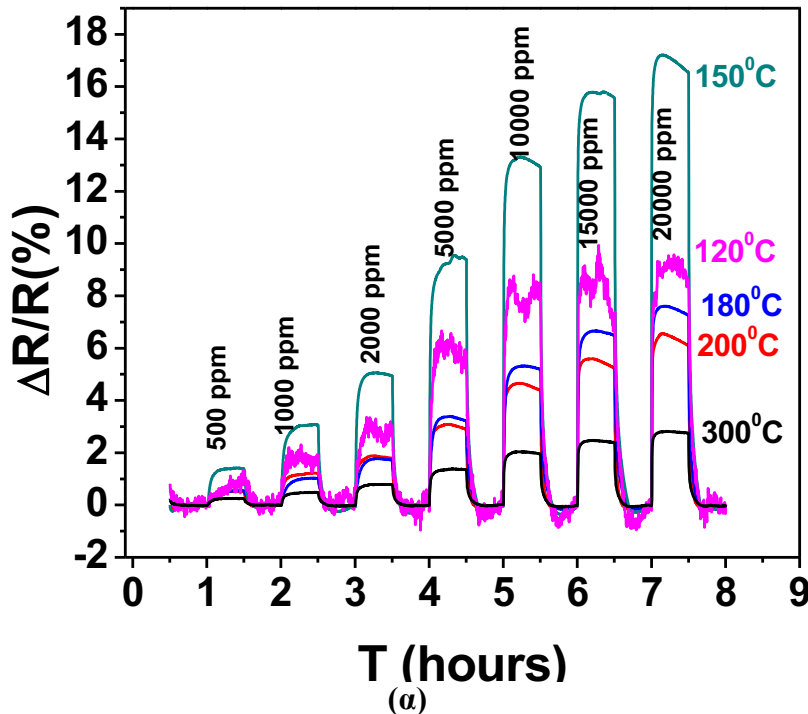
Προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της θερμοκρασίας αναγωγής του GO στην απόκριση του αισθητήρα κατασκευάστηκαν πέντε αισθητήρες στους οποίους το οξείδιο του γραφενίου επεξεργάστηκε θερμικά για 1 ώρα στους 120°C, 150°C, 180°C, 200°C και 300°C στην ατμόσφαιρα. Κατά τη μέτρηση και των πέντε αισθητήρων εξετάστηκε ένα μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων ατμών νερού (500–20,000 ppm). Στην Εικόνα 5.10 παρουσιάζεται η ποσοστιαία απόκριση $\Delta R/R_0(\%)$ των prGO αισθητήρων κατά την έκθεση τους σε διαφορετικές συγκεντρώσεις υγρασίας. Το $\Delta R/R_0 (\%)$ ορίζεται ως εξής:

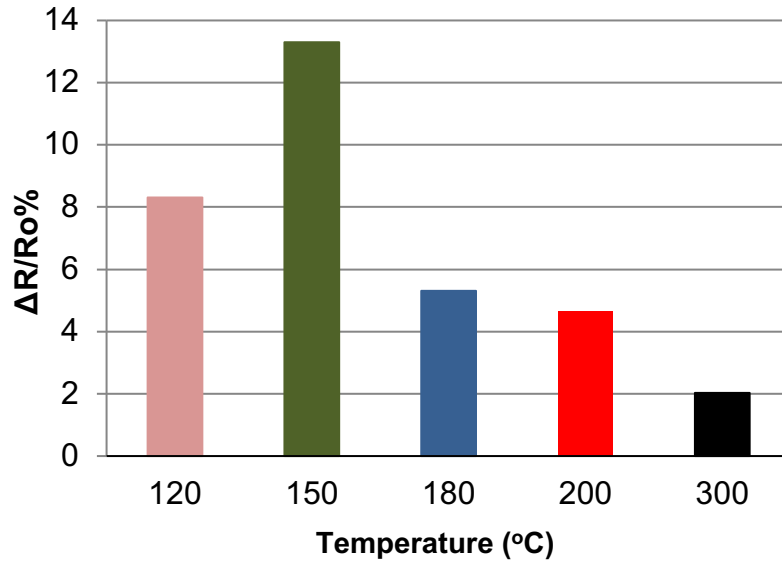
$$\frac{\Delta R}{R_0} (\%) = 100 \times \frac{\Delta R}{R_0} = 100 \times \frac{R - R_0}{R_0} \quad (5.1)$$

, όπου το R_0 είναι η αρχική αντίσταση του κάθε αισθητήρα πριν την έκθεση του στους ατμούς του αναλύτη και R είναι η αντίσταση του αισθητήρα όταν αυτός εκτίθεται στους ατμούς του αναλύτη.

Σύμφωνα με την Εικόνα 5.10α η αντίσταση του αισθητήρα υγρασίας αυξάνεται καθώς η αρχή λειτουργίας του βασίζεται στις ιδιότητες του p τύπου prGO αισθητήρα και του φαινομένου της διόγκωσης, όπως περιγράφηκε παραπάνω. Επιπλέον, από την Εικόνα 5.10β προκύπτει ότι η ευαισθησία των αισθητήρων εξαρτάται από τη θερμοκρασία αναγωγής του GO. Ειδικότερα, ο αισθητήρας που επεξεργάστηκε θερμικά στους 150°C παρουσιάζει την υψηλότερη απόκριση,

και άρα είναι πιο ευαίσθητος σε σχέση με τους άλλους αισθητήρες. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να εξηγηθεί αν λάβουμε υπόψη τα FT-IR φάσματα τα οποία δείχνουν την εξέλιξη των χαρακτηριστικών ομάδων του GO κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας. Εάν συσχετίσουμε την απόκριση του αισθητήρα με τα δεδομένα της Εικόνας 5.4, προκύπτει ότι η υψηλότερη απόκριση επιτυγχάνεται μόλις η prGO δομή σχηματιστεί για πρώτη φορά, η οποία συμπίπτει με τη θερμοκρασία στην οποία η ειδική αγωγιμότητα αυξάνεται απότομα, π.χ. στους 150 °C. Σε αυτή τη θερμοκρασία, το prGO έχει γίνει αρκετά αγωγίμο αλλά ταυτόχρονα διατηρεί μια μικρή ποσότητα ομάδων OH. Από την άλλη πλευρά, η απόκριση του αισθητήρα που επεξεργάστηκε θερμικά στο 300°C είναι η χαμηλότερη αφού τα υδροξύλια εξαλείφονται στις υψηλότερες θερμοκρασίες αναγωγής και το prGO γίνεται πυκνότερο. Με άλλα λόγια, η απόσταση μεταξύ των φύλλων του prGO μειώνεται. Και κατά συνέπεια τα μόρια του νερού διεισδύουν πιο δύσκολα στα στρώματα του prGO, σε σχέση με την αρχική τρισδιάστατη (3D) δομή GO. Η αυξημένη αλλά ταυτόχρονα θορυβώδης απόκριση του αισθητήρα που παρατηρείται π.χ. στους 120°C, εξηγείται και πάλι με βάση τον ίδιο συλλογισμό, αφού οι υδρόφιλες και χαμηλής αγωγιμότητας 3D δομές αλληλεπιδρούν έντονα με τους υδρατμούς.





(β)

Εικόνα 5.10. (α) Ποσοστιαία απόκριση ($\Delta R/R_0\%$) των prGO χημικών αισθητήρων, το GO θερμάνθηκε στους 120°C, 150°C, 180°C, 200°C και 300°C για 1 ώρα, για διαφορετικές συγκεντρώσεις υγρασίας. (β) Σύγκριση των αισθητήρων prGO κατά την απόκρισή τους σε 10,000 ppm υγρασίας. Ο αισθητήρας που θερμάνθηκε στους 150°C παρουσιάζει την υψηλότερη απόκριση.

Το σχήμα 5.10 δείχνει ότι η βέλτιστη θερμοκρασία αναγωγής του GO βρίσκεται γύρω στους 150°C. Στη θερμοκρασία αυτή η δομή του prGO είναι αρκετά αγωγίμη, αλλά και αρκετά υδρόφιλη, χωρίς να είναι πολύ συμπαγής.

5.6 Βιολογικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου για την ανίχνευση βιομορίων

5.6.1 Βελτιστοποίηση της πρόσφυσης του GO σε υποστρώματα SiO₂

Για να βελτιστοποιήσουμε την πρόσφυση του GO στα υποστρώματα SiO₂ απαιτείται αρχικά ένα βήμα υδροφιλοποίησης (hydrophilization step) των υποστρωμάτων και στη συνέχεια η ενεργοποίηση τους (functionalization procedure). Η υδροφιλοποίηση των υποστρωμάτων επιτυγχάνεται, είτε εμβαπτίζοντας τα δείγματα σε διάλυμα Piranha (1:1 H₂O₂/H₂SO₄), είτε με πλάσμα οξυγόνου (10 mTorr, 400 Watt, 50 sccm, 30 s) χρησιμοποιώντας αντιδραστήρα πλάσματος (radio frequency (RF) Alcatel reactive ion etching (RIE) plasma reactor). Με το βήμα

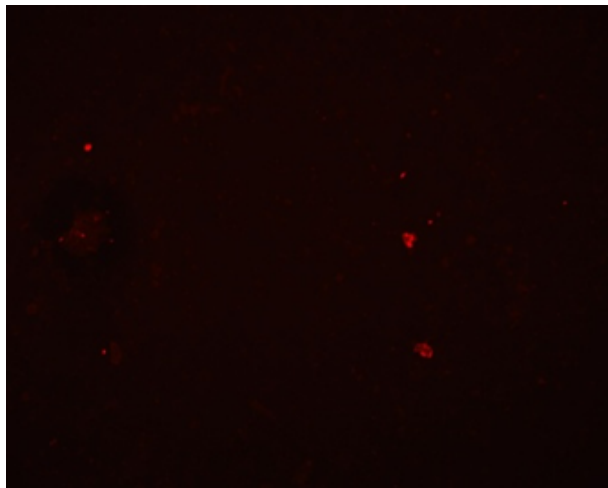
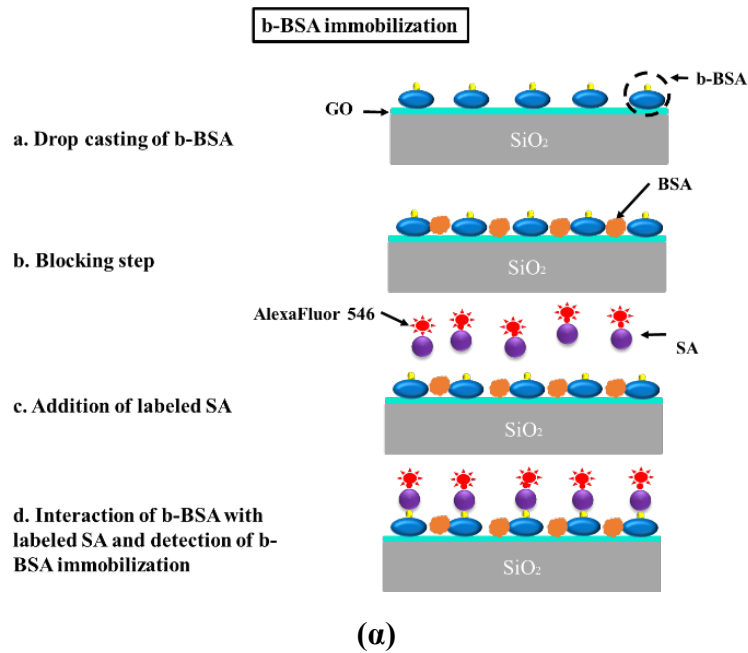
αυτό διασφαλίζεται η απομάκρυνση των οργανικών μολύνσεων, ενώ παράλληλα εμπλουτίζονται τα υποστρώματα με ομάδες υδροξυλίου.

Για την επιτυχημένη εναπόθεση του GO μελετήθηκε η χημική ενεργοποίηση των υποστρωμάτων με χρήση σιλανίων [12, 13]. Πιο συγκεκριμένα η πρόσφυση του GO και του prGO μελετήθηκε χρησιμοποιώντας τις ακόλουθες τεχνικές: 1) πλάσμα οξυγόνου, 2) πλάσμα οξυγόνου και εμβάπτιση σε διάλυμα APTES (2% v/v) για 20 λεπτά και στη συνέχεια θέρμανση για 20 λεπτά στους 120°C, 3) πλάσμα οξυγόνου και επίστρωση HMDS (7000 rpm για 30 s), ακολούθησε θέρμανση των υποστρωμάτων για 1.5 λεπτά στους 110°C, και 4) εμβάπτιση σε διάλυμα piranha και στη συνέχεια σε διάλυμα GOPTS (1%v/v). Για την παρασκευή του GOPTS διαλύματος χρησιμοποιήθηκε άνυδρο τολουόλιο (250μl GOPTS σε 25ml τολουόλιο), ενώ μετά από 17 ώρες τα υποστρώματα ξεπλύθηκαν με τολουόλιο και αιθανόλη και στεγνώθηκαν με άζωτο. Επιπλέον, εξετάστηκε η πρόσφυση του GO και του prGO σε υποστρώματα στα οποία δεν έγινε κάποια επεξεργασία υδροφιλοποίησης και ενεργοποίησης.

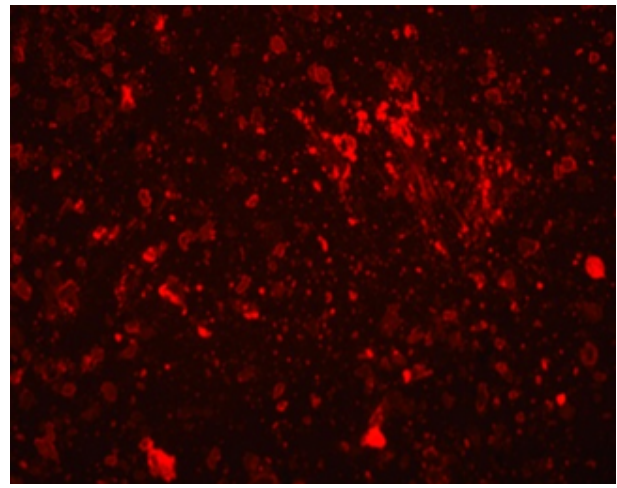
Τέλος, η πρόσφυση των GO και prGO (το GO μετατράπηκε σε prGO μετά από τη θερμική του επεξεργασία στους 200°C για 1 ώρα) στα τροποποιημένα υποστρώματα, μετά από το στάδιο της υδροφιλοποίησης και της ενεργοποίησης τους, δοκιμάστηκε ύστερα από την εμβάπτιση των υποστρωμάτων σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος (phosphate buffer) όλο το βράδυ. Αρχικά, η πρόσφυση τους αξιολογήθηκε ελέγχοντας οπτικά την ακεραιότητα του σχήματος της σταγόνας που εναποτέθηκε στα υποστρώματα. Η πρόσφυση θεωρήθηκε επιτυχής όταν δεν παρατηρήθηκε αλλοίωση του σχήματος τους υπό οπτικό μικροσκόπιο. Στη συνέχεια, το πάχος των σταγόνων μετρήθηκε με προφιλόμετρο. Σε αυτή την περίπτωση, τα GO και prGO υμένια που έχασαν λιγότερο από 20% του αρχικού τους πάχους θεωρήθηκαν ότι προσκολλώνται αποτελεσματικά στα υποστρώματα. Με βάση τα παραπάνω δύο κριτήρια επιλέχθηκαν οι καταλληλότερες συνθήκες. Και για τις δυο περιπτώσεις (GO και prGO) το καλύτερο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε για τα υποστρώματα στα οποία έγινε: α) πλάσμα οξυγόνου και εμβάπτιση σε APTES διάλυμα, και β) piranha και εμβάπτιση σε GOPTS διάλυμα. Στα πειράματα που ακολουθούν τα SiO₂ υποστρώματα τροποποιήθηκαν με πλάσματος οξυγόνου και APTES λόγω της απλότητας του πρωτοκόλλου αυτού και την αποφυγή οργανικών διαλυτών.

5.6.2 Μελέτη της ακινητοποίησης της b-BSA στο οξείδιο του γραφενίου

Το πρωτόκολλο το οποίο ακολουθείται για την ακινητοποίηση της βιοτινυλιωμένης BSA (b-BSA) πάνω στο οξείδιο του γραφενίου αλλά και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη αποτελείται από τρία κύρια στάδια και δυο στάδια ξεπλύματος για την απομάκρυνση των βιομορίων που δεν έχουν προσδεθεί ειδικά, ενώ η όλη διαδικασία πραγματοποιείται σε θερμοκρασία δωματίου (Εικόνα 5.11). Αρχικά, αναπτύσσεται με θερμικό τρόπο ένα μονωτικό στρώμα διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2), πάχους 3000 Å, σε υπόστρωμα πυριτίου το οποίο στη συνέχεια τροποποιείται για να ενισχυθεί η πρόσφυση του GO όπως περιγράφηκε στην προηγούμενη παράγραφο. Το GO εναποτίθεται με τη χρήση μικροπιπέτας στα τροποποιημένα υποστρώματα και στη συνέχεια καλύπτεται με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος το οποίο περιέχει b-BSA συγκεντρώσεως 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (Εικόνα 5.11α βήμα a). Εξετάστηκαν δυο διαφορετικοί χρόνοι επώασης: 1 ώρα και 17 ώρες, ενώ οι ελεύθερες θέσεις του prGO καλύφθηκαν μέσω της εμβάπτισης του δείγματος για 1 ώρα σε διάλυμα φωσφορικού άλατος το οποίο περιέχει BSA συγκεντρώσεως 10 g/L (Εικόνα 5.11α βήμα b), αφού με αυτό τον τρόπο αποτρέπεται η μη ειδική πρόσδεση. Μετά από το ξέπλυμα με απιονισμένο νερό (deionized DI) τα δείγματα επώαστηκαν σε 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ διάλυμα στρεπταβιδίνης (AlexaFluor 546) για 30 λεπτά (Εικόνα 5.11α βήματα c και d). Ένα τελικό στάδιο ξεπλύματος με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος και DI νερό είναι απαραίτητο για να μελετηθεί η ακινητοποίηση της πρωτεΐνης με το μικροσκόπιο φθορισμού. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η 1 ώρα δεν επαρκούσε (Εικόνα 5.11β) για την ακινητοποίηση της b-BSA, ενώ η επώαση για 17 ώρες παρείχε καλύτερα αποτελέσματα (Εικόνα 5.11γ). Έτσι, για την επιτυχημένη ακινητοποίηση της b-BSA απαιτείται ένα μακρύ στάδιο επώασης μεγάλης χρονικής διάρκειας.



(β)

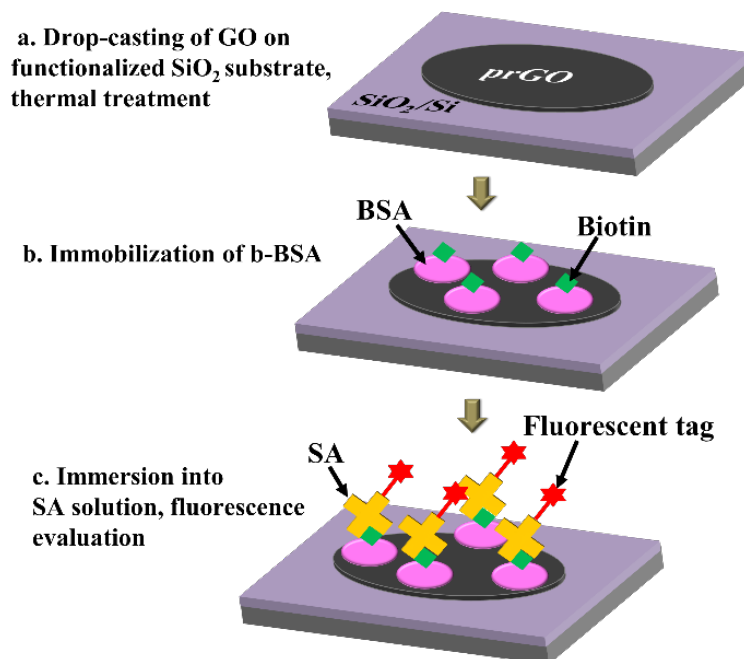


(γ)

Εικόνα 5.11. (α) Σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου ακινητοποίησης της b-BSA. Φωτογραφίες από το μικροσκόπιο φθορισμού των τροποποιημένων GO υμενίων με b-BSA μετά από την αλληλεπίδραση τους με την επισημασμένη στρεπταβιδίνη (AlexaFluor 546) για: (β) 1 ώρα και (γ) μετά από 17 ώρες.

Στη συνέχεια μελετήθηκε η ακινητοποίηση της b-BSA πάνω στο prGO μετά τη θερμική επεξεργασία του GO σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Για αυτό το σκοπό μετά την εναπόθεση του GO στα τροποποιημένα με πλάσμα οξυγόνου και APTES υποστρώματα SiO₂ αυτό υφίσταται

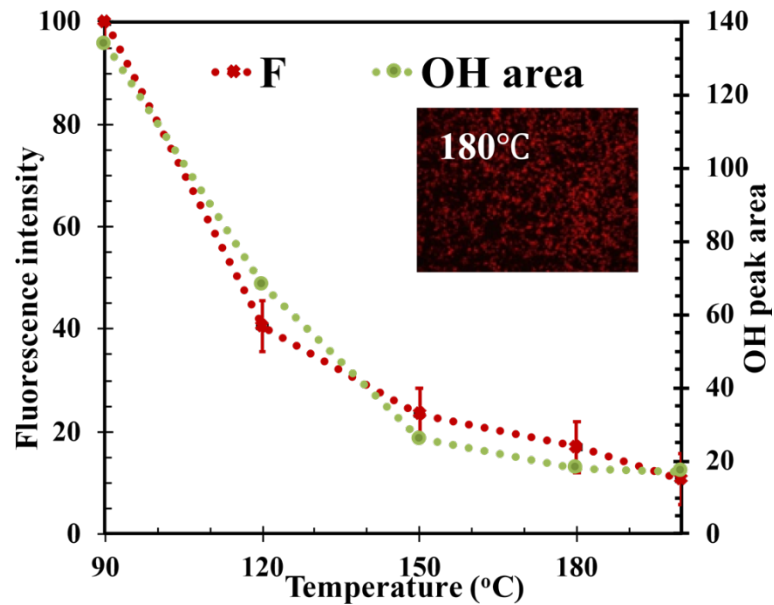
θερμική επεξεργασία για 1 ώρα στην ατμόσφαιρα προκειμένου να μετατραπεί σε αγώγιμο υλικό: 90°C, 120°C, 150°C, 180°C και 200°C. Στη συνέχεια ακολουθείται η ίδια διαδικασία με προηγούμενως (Εικόνα 5.11 βήματα a-d). Συνοπτικά, αρχικά εναποτίθεται επάνω στο prGO διάλυμα b-BSA συγκέντρωσεως 100 µg/mL (Εικόνα 5.12 βήμα b) και η επώαση διαρκεί 17 ώρες προκειμένου να ακινητοποιηθούν με επιτυχία οι πρωτεΐνες πάνω στο prGO. Για την αποφυγή της μη ειδικής πρόσδεσης, όπως και προηγούμενως, το prGO καλύπτεται για 1 ώρα με BSA διάλυμα συγκέντρωσεως 10 g/L. Αφού τα υποστρώματα ξεπλυθούν εναποτίθεται η επισημασμένη στρεπταβιδίνη (streptavidin AlexaFluor 546), συγκέντρωσεως 5 µg/mL και αφήνεται να επωαστεί για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (Εικόνα 5.12 βήμα c). Τελικά, τα υποστρώματα ξεπλένονται με ρυθμιστικό διάλυμα και απιονισμένο νερό, και αφού στεγνωθούν με άζωτο παρατηρούνται σε μικροσκόπιο φθορισμού. Στην Εικόνα 5.12 παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με την επισημασμένη στρεπταβιδίνη.



Εικόνα 5.12. Σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με την επισημασμένη στρεπταβιδίνη πάνω στο prGO.

Στην Εικόνα 5.13 απεικονίζεται το σήμα φθορισμού κατά τη θερμική επεξεργασία του GO για διαφορετικές θερμοκρασίες. Σε όλες τις περιπτώσεις οι πρωτεΐνες (b-BSA) ακινητοποιήθηκαν με επιτυχία πάνω στο rGO. Ωστόσο, στους 90°C η ένταση του φθορισμού είναι πολύ μεγαλύτερη

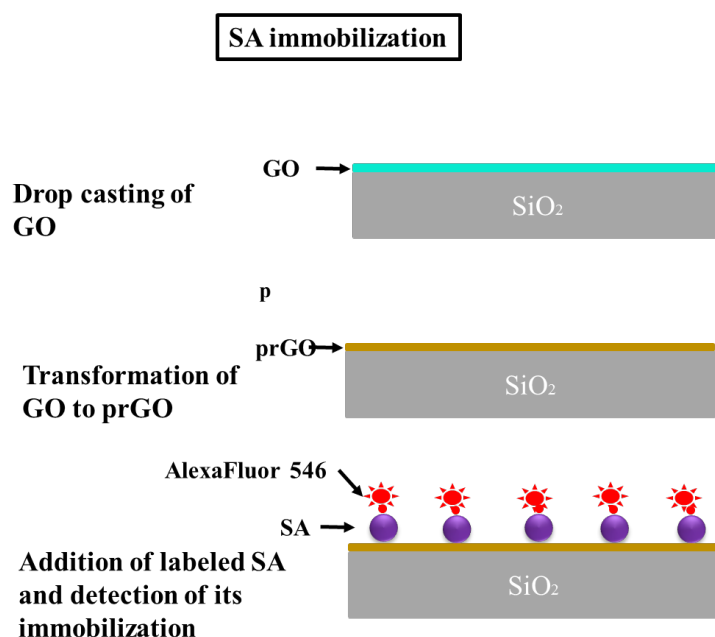
σε σχέση με τις άλλες θερμοκρασίες, ενώ η ένταση φθορισμού μειώνεται προοδευτικά για υψηλότερες θερμοκρασίες. Στην ίδια Εικόνα απεικονίζεται και ο τρόπος με τον οποίο μεταβάλλονται οι ομάδες υδροξυλίου σε σχέση με τη θερμοκρασία. Τα υδροξύλια μειώνονται με τον ίδιο ρυθμό όπως η ένταση φθορισμού. Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι οι ομάδες του υδροξυλίου που βρίσκονται τόσο στην επιφάνεια όσο και στις άκρες του prGO αρκούν για την αποτελεσματική ακινητοποίηση της b-BSA.



Εικόνα 5.13. Μείωση της έντασης φθορισμού συναρτήσει των θερμοκρασιών όπου πραγματοποιήθηκε η θερμική επεξεργασία του GO. Σε όλες τις θερμοκρασίες που δοκιμάστηκαν οι b-BSA πρωτεΐνες ακινητοποιήθηκαν με επιτυχία πάνω στο prGO. Στο ίδιο γράφημα απεικονίζεται η μείωση των ομάδων υδροξυλίων κατά την θερμική επεξεργασία του GO. Η φωτογραφία από το μικροσκόπιο φθορισμού κατά την αλληλεπίδραση της b-BSA, που ακινητοποιήθηκε επάνω στο prGO το οποίο έχει επεξεργαστεί θερμικά στους 180°C για 1 ώρα, με την επισημασμένη στρεπταβιδίνη παρουσιάζεται σαν ένθετο, επιβεβαιώνοντας την ύπαρξη ομάδων υδροξυλίου σε αυτή τη θερμοκρασία.

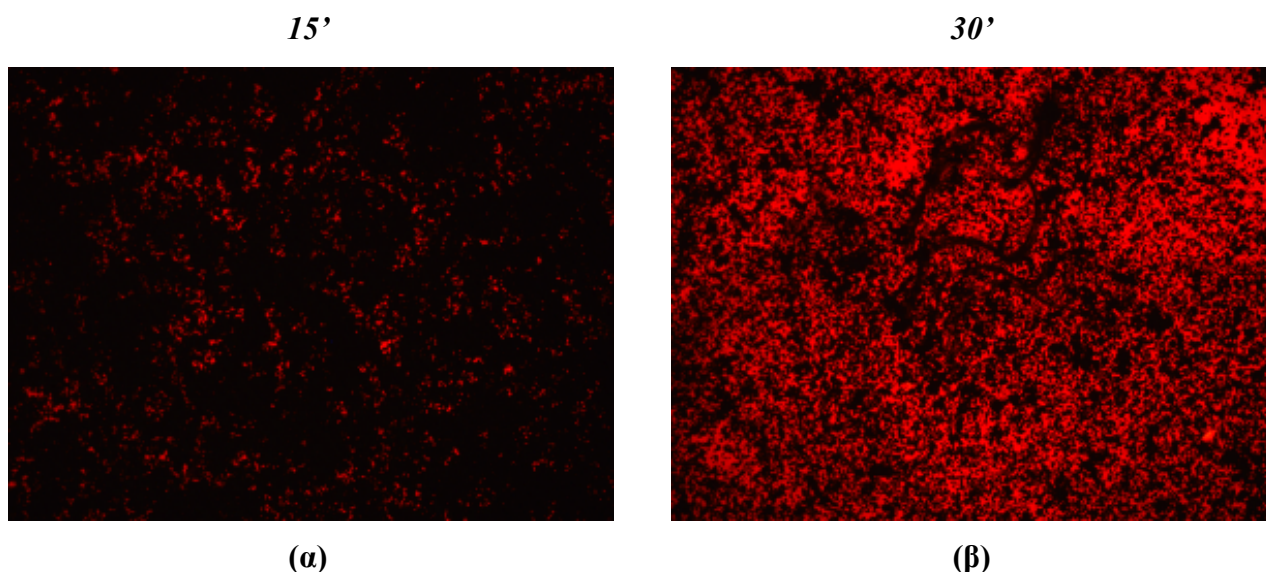
5.6.3 Μελέτη της ακινητοποίησης της στρεπταβιδίνης στο οξείδιο του γραφενίου

Υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες απαιτείται η απευθείας ακινητοποίηση της στρεπταβιδίνης πάνω στο οξείδιο του γραφενίου. Για το σκοπό αυτό το προς ανίχνευση βιομόριο πρέπει να είναι επισημασμένο με βιοτίνη προκειμένου να εκμεταλλευτούμε την υψηλή συγγένεια της στρεπταβιδίνης με τη βιοτίνη. Για τη μελέτη της ακινητοποίησης (Εικόνα 5.14) της στρεπταβιδίνης στα τροποποιημένα SiO₂ υποστρώματα (με πλάσμα οξυγόνου και APTES) αρχικά εναποτίθεται το GO το οποίο μετέπειτα θερμαίνεται στους 180°C για 1 ώρα. Στη συνέχεια εναποτίθεται στο prGO με τη χρήση μικροπιπέτας ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος που περιέχει την επισημασμένη στρεπταβιδίνη (AlexaFluor 546), συγκέντρωσης 25 µg/mL. Εξετάστηκαν δυο διαφορετικοί χρόνοι επώασης στη στρεπταβιδίνη: 15 λεπτά και 30 λεπτά (Εικόνα 5.16). Μετά το πέρας της επώασης στους διαφορετικούς αυτούς χρόνους τα δείγματα ξεπλύθηκαν με ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικού άλατος και απιονισμένο νερό, και στη συνέχεια στεγνώθηκαν με άζωτο. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται τα μόρια της στρεπταβιδίνης που δεν έχουν προσδεθεί ειδικά και τα δείγματα εξετάζονται με το μικροσκόπιο φθορισμού.



Εικόνα 5.14. Σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου ακινητοποίησης της στρεπταβιδίνης στο prGO.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα 15 λεπτά δεν είναι αρκετά για την επιτυχημένη ακινητοποίηση της στρεπταβιδίνης (Εικόνα 5.16α), ενώ όταν η επώαση διαρκεί 30 λεπτά τα αποτελέσματα είναι καλύτερα (Εικόνα 5.16β). Σύμφωνα με την Εικόνα 5.16 αρκούν 30 λεπτά για να ακινητοποιηθεί η στρεπταβιδίνη πάνω στο prGO, καθώς σε αυτό το χρονικό διάστημα λαμβάνεται η μεγαλύτερη ένταση φθορισμού.

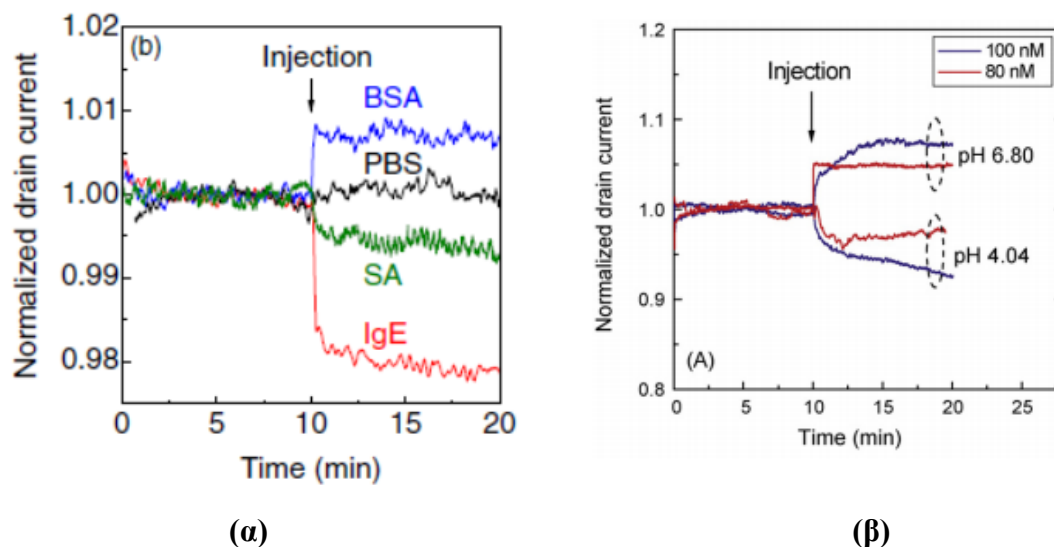


Εικόνα 5.16. Φωτογραφίες από το μικροσκόπιο φθορισμού για διαφορετικούς χρόνους επώασης των prGO υμενίων στο διάλυμα της στρεπταβιδίνης: **(α)** για 15 λεπτά και **(β)** για 30'.

5.6.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την απόκριση ενός αισθητήρα τύπου τρανζίστορ

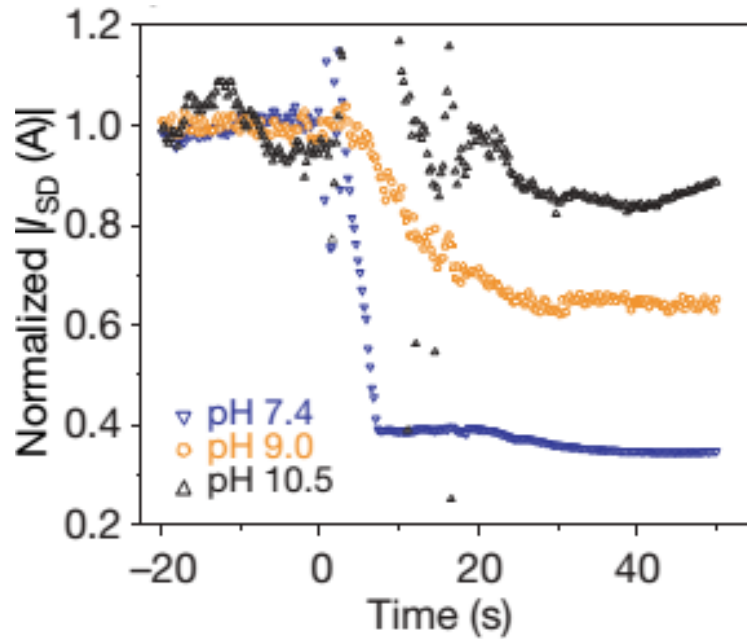
Σημαντικό ρόλο στην απόκριση του αισθητήρα κατέχουν:

- 1) Το ισοηλεκτρικό σημείο (isoelectric point, pI) που καθορίζει εάν το βιομόριο είναι θετικά ή αρνητικά φορτισμένο. Πιο συγκεκριμένα, όταν το $pI > pH$ το βιομόριο είναι θετικά φορτισμένο, ενώ για $pI < pH$ το βιομόριο είναι αρνητικά φορτισμένο. Στη Εικόνα 5.17 απεικονίζεται η επίδραση του φορτίου του βιομορίου στην απόκριση του αισθητήρα [14].



Εικόνα 5.17. Απεικόνιση της απόκρισης του αισθητήρα γραφενίου τύπου τρανζίστορ: **(α)** με την προσθήκη ρυθμιστικού διαλύματος (phosphate-buffered solution PBS) και πρωτεϊνών διαφορετικού φορτίου. Σε ρυθμιστικό διάλυμα με pH 6.8, η IgE και η στρεπταβιδίνη (SA) είναι θετικά φορτισμένες και το ρεύμα να μειώνεται. Αντίθετα, η BSA είναι αρνητικά φορτισμένη και το ρεύμα αυξάνεται, ενώ η προσθήκη PBS δεν μεταβάλλει τη απόκριση του αισθητήρα [14]. **(β)** Με την προσθήκη BSA διαφορετικής συγκέντρωσης, 80nM (κόκκινη γραμμή) και 100nM (μπλε γραμμή) σε ρυθμιστικό διάλυμα 10mM phthalate buffer solution με pH 4.0 η BSA φορτίζεται θετικά και το ρεύμα μειώνεται, ενώ σε 10mM phosphate buffer solution με pH 6.8 η BSA αποκτά αρνητικό φορτίο και το ρεύμα αυξάνεται [15].

Για να βελτιωθεί η απόκριση του αισθητήρα θα πρέπει η διαφορά $|pH_{\text{solution}} - pI|$ να είναι όσο το δυνατό μεγαλύτερη. Στο διάγραμμα της Εικόνας 5.18 παρουσιάζεται η επίδραση του pH στην απόκριση ενός αισθητήρα νανοημάτων τύπου τρανζίστορ κατά την ανίχνευση της αβιδίνης, η οποία είναι θετικά φορτισμένη αφού έχει υψηλό ισοηλεκτρικό σημείο $pI \approx 10.5$ [16].



Εικόνα 5.18. Απεικόνιση της εξάρτησης της απόκρισης ενός αισθητήρα νανοημάτων τύπου τρανζίστορ από το pH κατά την ανίχνευση της αβιδίνης [16]. Όσο το pH μειώνεται η ευαισθησία του αισθητήρα αυξάνεται.

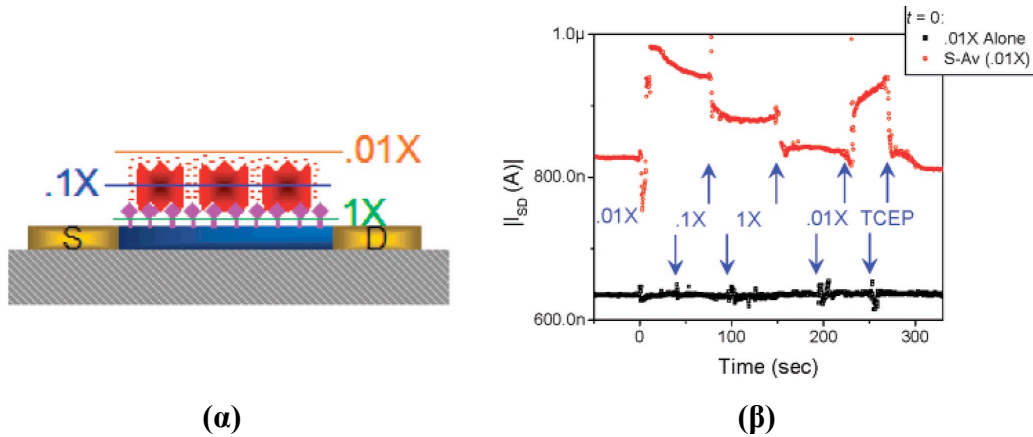
- 2) Το μήκος debye (debye length, λ_D). Το λ_D αποτελεί το ύψος του διπλού στρώματος (double layer) που δημιουργείται από τη συσσώρευση των ιόντων του ρυθμιστικού διαλύματος κοντά στα βιομόρια και υπολογίζεται από τον τύπο [17]:

$$\lambda_D = \frac{1}{\sqrt{4\pi l_B \sum_i \rho_i z_i^2}} \quad (5.2)$$

, όπου l_B είναι το μήκος Bjerrum που ισούται με 0.7 nm, \sum_i είναι το άθροισμα των ιόντων, ρ_i η πυκνότητα των ιόντων και z_i το χημικό σθένος τους.

Το μήκος debye εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος και η τιμή του αυξάνεται όσο μειώνεται η συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος [17]. Τέλος, προκειμένου ο αισθητήρας να είναι ευαίσθητος θα πρέπει η βιολογική αλληλεπίδραση να γίνεται εντός του διπλού στρώματος, το οποίο ουσιαστικά σημαίνει ότι πρέπει το μήκος debye να είναι μεγαλύτερο από το μέγεθος του βιομορίου που έχει ακινητοποιηθεί στην επιφάνεια του αισθητήρα και του βιομορίου που θέλουμε να ανιχνευτεί (Εικόνα 5.19). Με βάση αυτά τα

αποτελέσματα για την διεξαγωγή των ηλεκτρικών μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε ρυθμιστικό διάλυμα Tris buffer συγκέντρωσης 1μM με pH: 8.3.

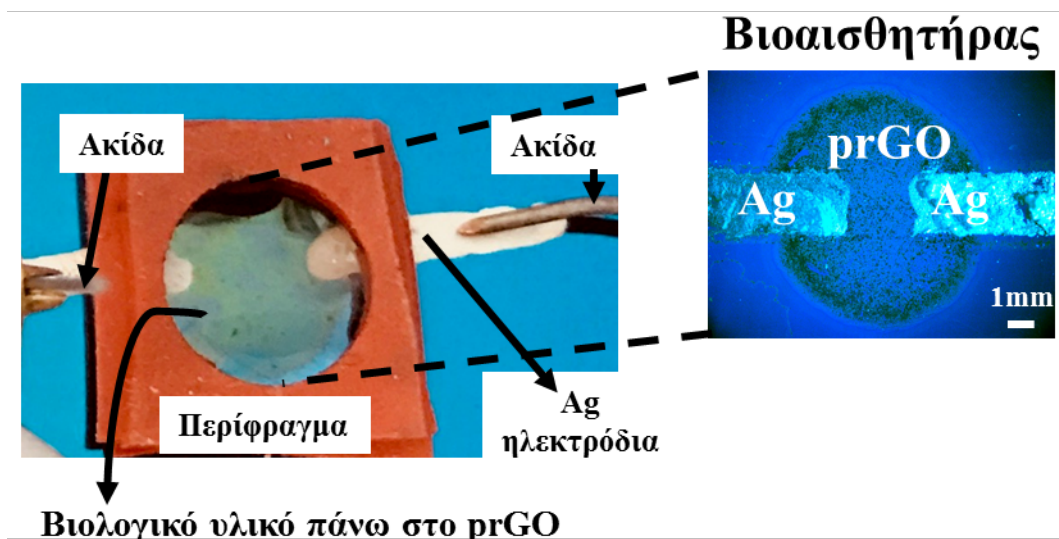


Εικόνα 5.19. (α) Σχηματική αναπαράσταση του ύψους του διπλού στρώματος ανάλογα με τη συγκέντρωση του ρυθμιστικού διαλύματος (0.01x PBS, 0.1x PBS, 1x PBS). **(β)** Η εξάρτηση της απόκρισης του αισθητήρα για διαφορετικές συγκεντρώσεις ρυθμιστικών διαλυμάτων. Για μικρές συγκεντρώσεις ρυθμιστικού διαλύματος έχουμε καλύτερη απόκριση του αισθητήρα αφού η βιολογική αλληλεπίδραση πραγματοποιείται μέσα στο λ_D [17].

Καθώς ο prGO αισθητήρας που παρουσιάζεται στις επόμενες παραγράφους είναι τύπου p οποιαδήποτε αλληλεπίδραση του με αρνητικά φορτισμένα βιομόρια θα προκαλέσει αύξηση του ρεύματος και κατά συνέπεια μείωση της αντίστασης λόγω αύξησης των οπών [18].

5.6.5 Ανίχνευση της ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη

Μετά την επιτυχημένη ακινητοποίηση της b-BSA στο prGO κατασκευάστηκε ένας απλός και εύκολος στην εφαρμογή αισθητήρας. Για το σκοπό αυτό, το GO εναποτέθηκε με τη χρήση μικροπιπέτας σε ένα τροποποιημένο υπόστρωμα Si / SiO₂ (πάχους 3000 Å) και αφέθηκε να στεγνώσει. Στη συνέχεια, τα ηλεκτρόδια της διάταξης σχηματίστηκαν ζωγραφίζοντας τα με βαφή από άργυρο σε δυο αντιδιαμετρικά άκρα του GO, όπως φαίνεται στο ένθετο της Εικόνας 5.19. Στο τέλος η διάταξη θερμαίνεται για να αναχθεί το οξείδιο του γραφενίου.



Εικόνα 5.20. Φωτογραφία του prGO βιοαισθητήρα. Η φωτογραφία του prGO από το οπτικό μικροσκόπιο με τα ηλεκτρόδια από άργυρο (Ag) παρουσιάζεται σαν ένθετο δεξιά.

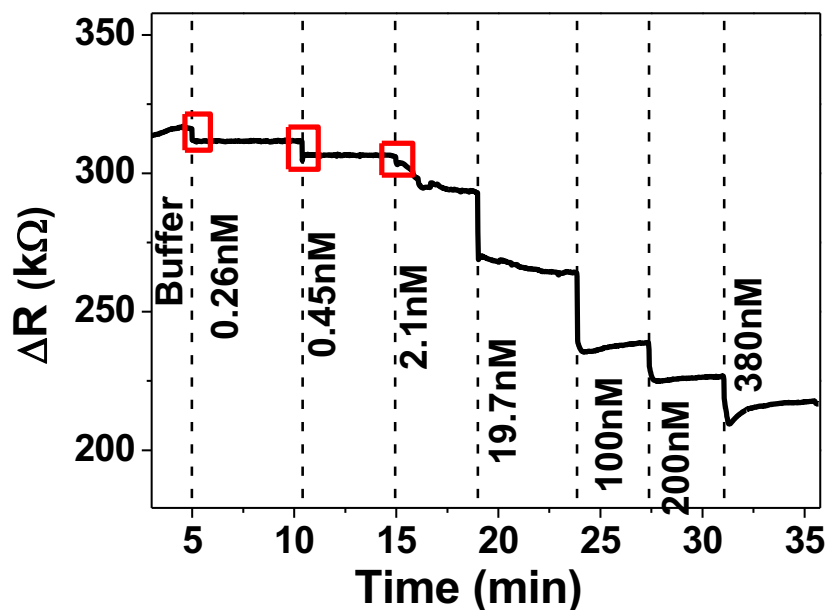
Για να προσδιοριστεί η σωστή θερμοκρασία θέρμανσης, πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι αν και τα καλύτερα αποτελέσματα της ακινητοποίησης της b-BSA επιτεύχθηκαν για χαμηλές θερμοκρασίες (90°C και 120°C), η τιμή της ειδικής αγωγιμότητας του θερμικά επεξεργασμένου GO είναι χαμηλή (όπως φαίνεται στα διαγράμματα των Εικόνων 5.5 και 5.13), και δεν θα ήταν δυνατή η ηλεκτρική ανίχνευση. Έτσι, προκειμένου να επιτευχθεί τόσο η ακινητοποίηση της πρωτεΐνης όσο και η αγωγή κατάσταση του GO, απαιτούνται θερμοκρασίες υψηλότερες από 150°C για την κατασκευή ενός βιοαισθητήρα και για αυτό το λόγο η θερμική επεξεργασία των δειγμάτων έγινε στους 180°C για 1 ώρα. Σε αυτή τη θερμοκρασία η ειδική αγωγιμότητα φθάνει σε ένα πλατό, ενώ ταυτόχρονα εξακολουθούν να υπάρχουν αρκετές χαρακτηριστικές ομάδες ώστε να επιτευχθεί η ακινητοποίηση της πρωτεΐνης (ένθετο στην Εικόνα 5.13).

Για την ηλεκτρική ανίχνευση της ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη, τοποθετήθηκε ένα πλαστικό πλαίσιο γύρω από το prGO (Εικόνα 5.20), για να περιοριστούν τα διάφορα διαλύματα που χρησιμοποιούνται για την υλοποίηση του πειράματος μόνο επάνω από την επιφάνεια του prGO και να αποφευχθεί το βραχυκύκλωμα. Η ηλεκτρική ανίχνευση πραγματοποιείται μέσω αλλαγών που παρατηρούνται στην αντίσταση κατά τη διάρκεια της ακινητοποίησης και της αλληλεπίδρασης των βιομορίων. Η διαδικασία που ακολουθείται για τη μέτρηση είναι η εξής: α) εισαγωγή ρυθμιστικού διαλύματος (Tris buffer)

μέσα στο πλαίσιο και πάνω από το prGO, β) προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων b-BSA και παρακολούθηση της ακινητοποίησης της, γ) εμφάνιση του βιοαισθητήρα σε BSA διάλυμα κάλυψης (blocking solution) και δ) προσθήκη στρεπταβιδίνης σε διάφορες συγκεντρώσεις.

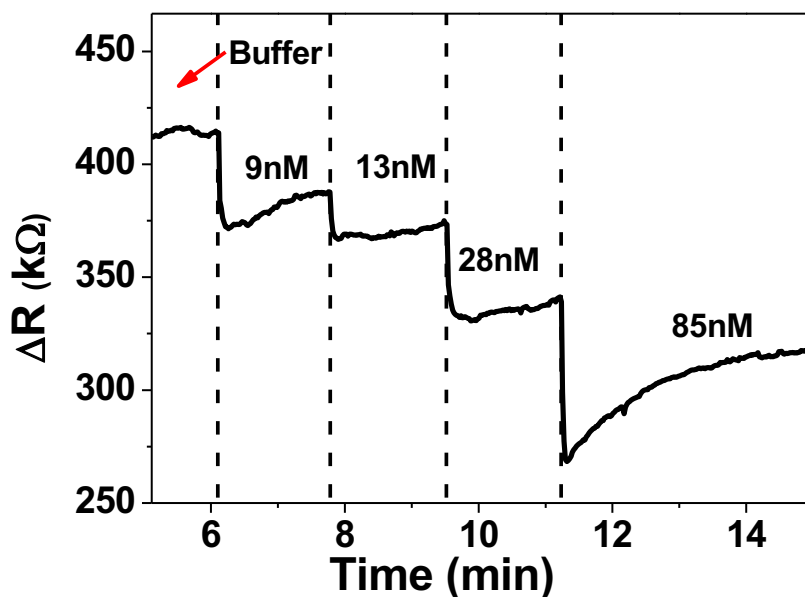
Χρησιμοποιώντας την παραπάνω διαδικασία, αρχικά εναποτέθηκαν με τη χρήση μικροπιπέτας 80 μl ρυθμιστικού διαλύματος (Tris buffer, pH: 8.3), προκειμένου η τιμή της αντίστασης να σταθεροποιηθεί και να υπάρξει μια στάθμη αναφοράς που θα διευκολύνει την παρακολούθηση του πειράματος. Στη συνέχεια προστέθηκε η πρώτη σταγόνα 10 μl b-BSA διαλύματος που έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία 0.26 nM συγκέντρωσης b-BSA εντός του πλαστικού πλαισίου όπου βρίσκεται ο αισθητήρας. Το πείραμα συνεχίστηκε με την προσθήκη περισσότερων 10μl σταγόνων b-BSA, η κάθε μια από τις οποίες συμβάλει στην αλλαγή της συγκέντρωσης της b-BSA στον θάλαμο αντίδρασης επάνω στο prGO στα 0.45, 2.1, 19.7, 100, 200 και 380 nM. Τέλος, η επώαση της b-BSA στο prGO διήρκησε περίπου 17 ώρες πριν την αλληλεπίδραση της με τη στρεπταβιδίνη.

Στην Εικόνα 5.21, παρουσιάζεται η μεταβολή της τιμής της αντίστασης του αισθητήρα καθώς η b-BSA προστίθεται στον θάλαμο αντίδρασης. Με το ισοηλεκτρικό σημείο της b-BSA να είναι χαμηλότερο από το pH του διαλύματος, το βιομόριο είναι αρνητικά φορτισμένο [15], και επομένως η προσρόφηση του στον p τύπου prGO αισθητήρα [18] έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης του αισθητήρα (Εικόνα 5.21). Ακολουθώντας την παραπάνω διαδικασία ο αισθητήρας ήταν ικανός να ανιχνεύει συγκεντρώσεις b-BSA έως 260 pM.



Εικόνα 5.21. Ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο της ακινητοποίησης της b-BSA για συγκεντρώσεις από 0.26 nM μέχρι 380 nM. Ο βιοαισθητήρας είναι ικανός να ανιχνεύσει τη b-BSA με συγκέντρωση έως και 0.26 nM.

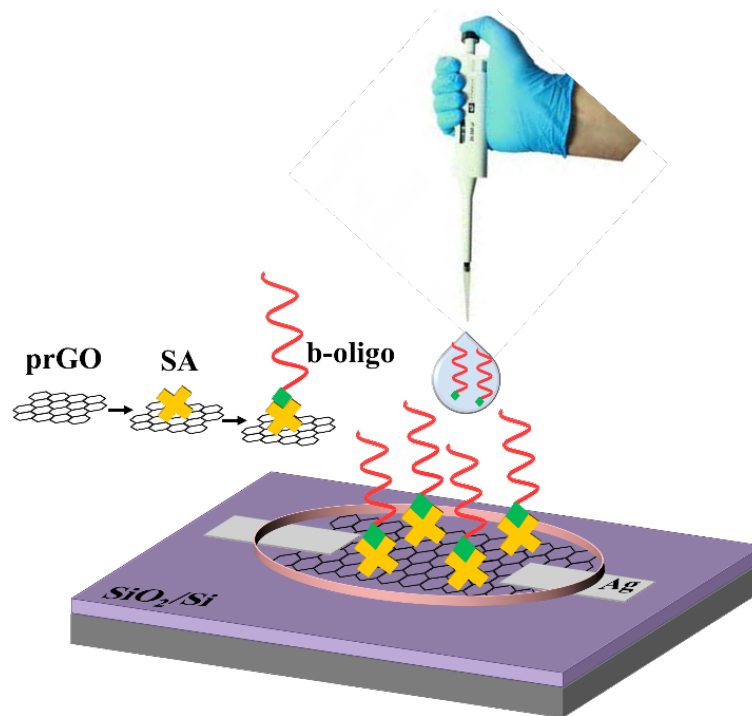
Μετά την ακινητοποίηση της b-BSA, το πλαστικό πλαίσιο απομακρύνθηκε και ο αισθητήρας βυθίστηκε σε BSA διάλυμα κάλυψης (0.2% w/v) για 1 ώρα για να αποτραπεί η μη ειδική πρόσδεση. Μετά από αυτό το βήμα, το πλαστικό πλαίσιο τοποθετήθηκε και πάλι πάνω από τον αισθητήρα και το Tris buffer ρυθμιστικό διάλυμα χρησιμοποιήθηκε για να γεμίσει ξανά τον θάλαμο με υγρό. Στη συνέχεια προστέθηκαν 10 μl στρεπταβιδίνης, με τον ίδιο τρόπο που ακολουθήθηκε και για τη b-BSA, με αποτέλεσμα τη δημιουργία συγκεντρώσεων 9, 13, 28 και 85 nM εντός του θαλάμου. Η μεταβολή της τιμής της αντίστασης του αισθητήρα κατά τη διάρκεια της αλληλεπίδρασης της στρεπταβιδίνης με την ακινητοποιημένη b-BSA παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.22 και ο αισθητήρας μπορεί να ανιχνεύσει μέχρι και 9 nM.



Εικόνα 5.22. Ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο της αλληλεπίδρασης της b-BSA με τη στρεπταβιδίνη, με τη συγκέντρωση της στρεπταβιδίνης να μεταβάλλεται από 9 nM μέχρι 85 nM. Ο βιοαισθητήρας είναι ικανός να ανιχνεύσει στρεπταβιδίνη με συγκέντρωση 9 nM.

5.6.6 Ανίχνευση DNA αλληλουχίας που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του RET γονιδίου

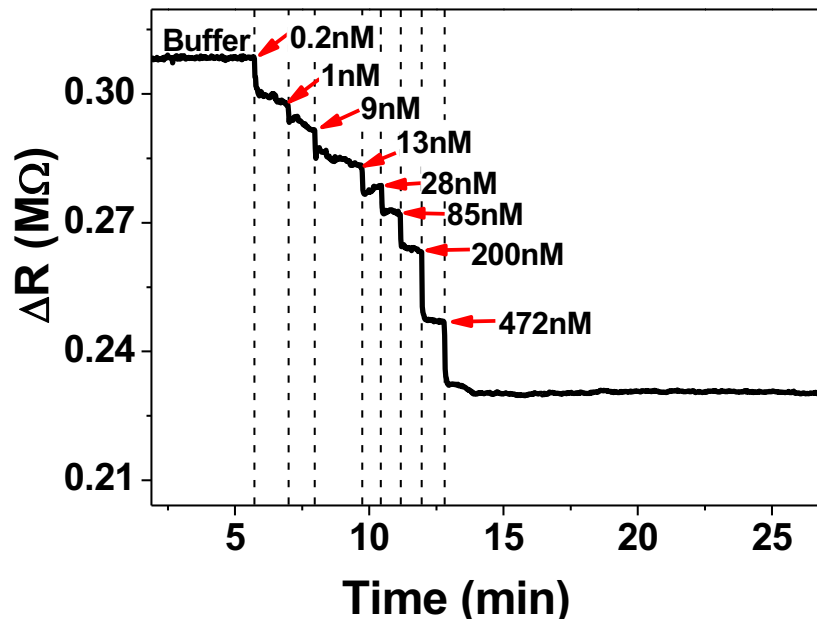
Βασισμένοι στα επιτυχημένα αποτελέσματα από την ανίχνευση βιομορίων από τους prGO αισθητήρες, η ίδια διάταξη χρησιμοποιήθηκε σε μία ιατρική εφαρμογή, για την ανίχνευση της DNA αλληλουχίας, μήκους 25 βάσεων, που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του γονιδίου RET [19]. Οι μεταλλάξεις του πρωτοεγκογονιδίου RET σχετίζονται με το κληρονομικό μυελοειδές καρκίνωμα του θυρεοειδούς (medullary thyroid carcinoma, MTC) και η ανίχνευση τους έχει μεγάλη σημασία για την έγκαιρη πρόγνωση του MTC με στόχο την επιβίωση των ασθενών με MTC. Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιείται μια αλληλουχία ολιγονουκλεοτιδίων η οποία είναι επισημασμένη με βιοτίνη στο 5' άκρο της (biotinylated oligonucleotide, b-oligos) επιτρέποντας την ανίχνευση της μέσω της υψηλής συγγένειας της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη. Στην Εικόνα 5.23 παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση των b-oligos μετά την αλληλεπίδραση τους με την ακινητοποιημένη στρεπταβιδίνη στον prGO βιοαισθητήρα.



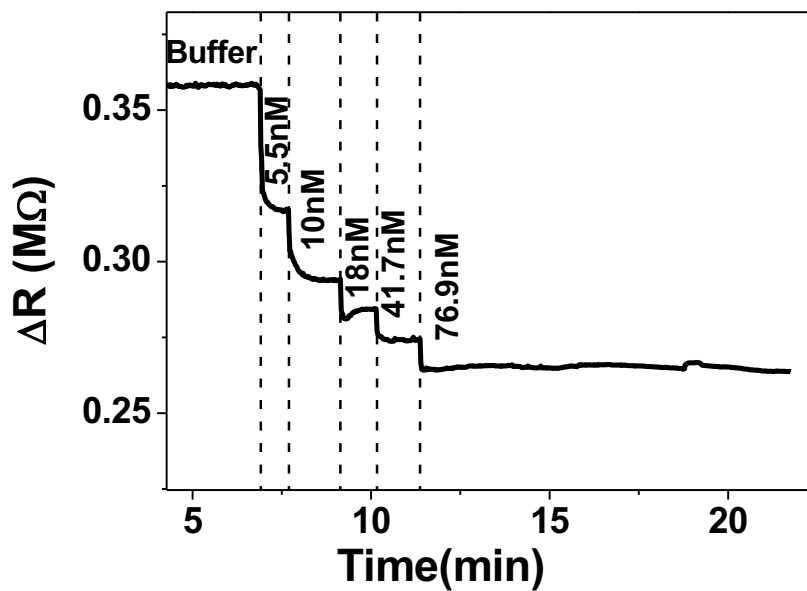
Εικόνα 5.23. Σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της b-DNA αλληλουχίας από τον prGO βιοαισθητήρα. Το b-DNA προσδένεται στη στρεπταβιδίνη που είναι ακινητοποιημένη στο prGO.

Για την ηλεκτρική ανίχνευση της b-DNA αλληλουχίας, αρχικά εισήχθησαν 80 μl ρυθμιστικού διαλύματος (Tris buffer solution, pH: 8.3) στο πλαστικό πλαίσιο πάνω από την περιοχή του prGO. Στη συνέχεια εναποτέθηκαν με τη χρήση μικροπιπέτας διαφορετικές συγκεντρώσεις στρεπταβιδίνης (0.2, 1, 9, 13, 28, 85, 200 και 472 nM), με τον όγκο κάθε σταγόνας να είναι 10 μl, και καταγράφηκε η ικανότητα ακινητοποίησης των βιομορίων πάνω στο prGO (Εικόνα 5.24α). Λόγω του ότι η στρεπταβιδίνη είναι αρνητικά φορτισμένη η τιμή της αντίστασης του prGO βιοαισθητήρα μειώθηκε, με τη μικρότερη συγκέντρωση που μπόρεσε να ανιχνεύσει να είναι 200 pM. Στη συνέχεια, ο αισθητήρας εμβαπτίζεται σε BSA διάλυμα κάλυψης (0.2% w/v) για 1 ώρα προκειμένου να αποφευχθεί η μη ειδική πρόσδεση. Τελικά, εισήχθησαν με τη χρήση μικροπιπέτας 10 μl της b-DNA αλληλουχίας, με αυξανόμενες συγκεντρώσεις, στον θάλαμο αντίδρασης όπως αυτός ορίζεται από το πλαστικό πλαίσιο. (Εικόνα 5.24β). Η απόκριση του βιοαισθητήρα κατά την αλληλεπίδραση των b-DNA με τη στρεπταβιδίνη εξετάστηκε για μια σειρά συγκεντρώσεων ξεκινώντας από 5.5 έως 76.9 nM. Το ΔR συναρτήσει των διαφορετικών συγκεντρώσεων του b-DNA που εναποτέθηκαν παρουσιάζεται στην Εικόνα 5.24γ στην οποία

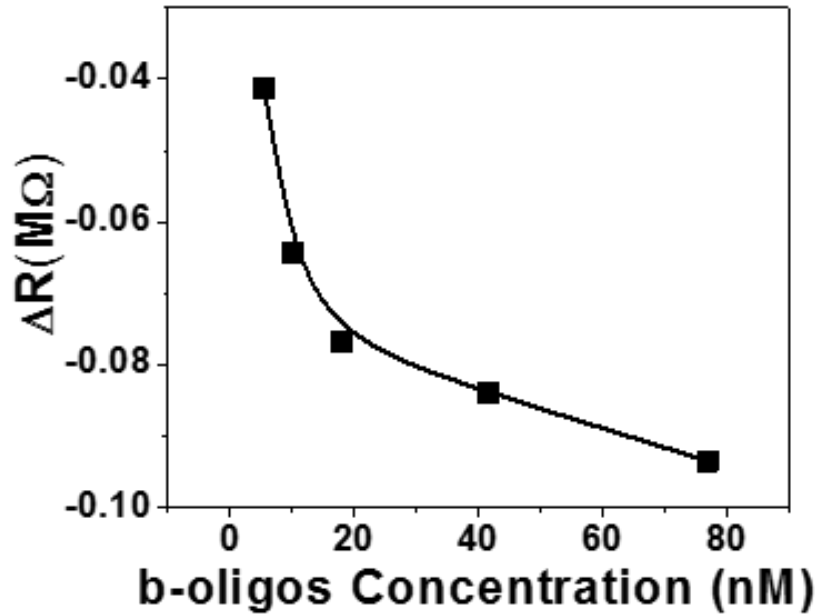
φαίνονται οι αλλαγές της αντίστασης καθώς αυξάνει η συγκέντρωση. Τα αποτελέσματα αυτά επιτρέπουν τη χρήση του αισθητήρα σε ιατρικές εφαρμογές όπου ο στόχος της ανίχνευσης θα είναι το προϊόν ενός πραγματικού δείγματος που θα έχει ενισχυθεί από αλυσωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).



(α)



(β)



(γ)

Εικόνα 5.24. (α) Η απόκριση του βιοαισθητήρα για διαφορετικές συγκεντρώσεις στρεπταβιδίνης (0.2, 1, 9, 13, 28, 85, 200 και 472nM) δείχνει την επιτυχημένη ακινητοποίηση της στρεπταβιδίνης πάνω στο prGO. (β) Μέτρηση σε πραγματικό χρόνο της αλληλεπίδρασης της στρεπταβιδίνης με τη b-DNA αλληλουχία. Ο βιοαισθητήρας ήταν ικανός να ανιχνεύσει διαφορετικές συγκεντρώσεις b-DNA (5.5, 10, 18, 41.7 και 76.9nM). (γ) ΔR συναρτήσεως της συγκέντρωσης των b-oligos (b-DNA).

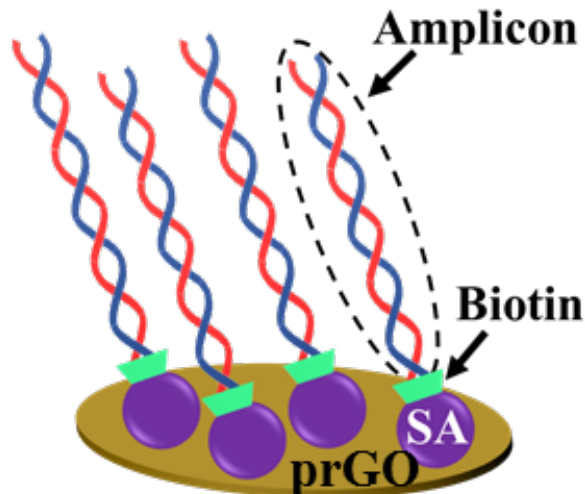
5.6.7 Ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας του *BRC1* γονιδίου

Στη συνέχεια ο prGO βιοαισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας, 157 ζεύγη βάσεων, που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 του *BRC1* γονιδίου. Η ενίσχυση της DNA αλληλουχίας πραγματοποιείται μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR), όπως αυτή περιγράφεται στη παράγραφο 5.2.6. Με αυτού του είδους τα πειράματα εξετάστηκε η ικανότητα του prGO βιοαισθητήρα να ανιχνεύει ενισχυμένο DNA, όπως απαιτείται και στη περίπτωση παθογόνων μικροοργανισμών (πχ. βακτηρίων).

Το *BRC1* είναι ένα ανθρώπινο γονίδιο υπεύθυνο για την παραγωγή ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών που βοηθούν στην αποκατάσταση του κατεστραμμένου DNA. Έτσι, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην εξασφάλιση της σταθερότητας του γενετικού υλικού των κυττάρων. Όταν

το *BRCA1* γονίδιο μεταλλάσσεται ή μεταβάλλεται με τρόπο που το πρωτεϊνικό του προϊόν δεν παράγεται ή δεν λειτουργεί σωστά, μπορεί να οδηγήσει σε ακατάλληλη επισκευή του. Για το λόγο αυτό, τα κύτταρα είναι πιο επιρρεπή στην ανάπτυξη γενετικών αλλαγών που οδηγούν σε καρκίνο. Το *BRCA1*, είναι υπεύθυνο για τον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών [20]. Μια πρόσφατη μελέτη εκτιμά ότι οι γυναίκες που κληρονομούν μια επιβλαβή μετάλλαξη *BRCA1* έχουν 72% πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο του μαστού και 44% πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο των ωοθηκών έως την ηλικία των 80 ετών [21]. Στα πειράματα που ακολουθούν χρησιμοποιούμε τη συγκεκριμένη αλληλουχία που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 το οποίο μπορεί να φιλοξενεί τη μετάλλαξη 5382insC, που βρίσκεται συνήθως στο ρωσικό και ευρωπαϊκό πληθυσμό [22], και εάν η DNA αλληλουχία περιέχει τη μετάλλαξη τότε και το μεταλλαγμένο DNA θα ενισχυθεί και θα ανιχνευθεί. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι υπάρχουν στη βιβλιογραφία αισθητήρες που χρησιμοποιούν την αλληλεπίδραση της βιοτίνης με την αβιδίνη για την ανίχνευση PCR προϊόντων χωρίς να χρησιμοποιούν τη μέθοδο του υβριδισμού [23].

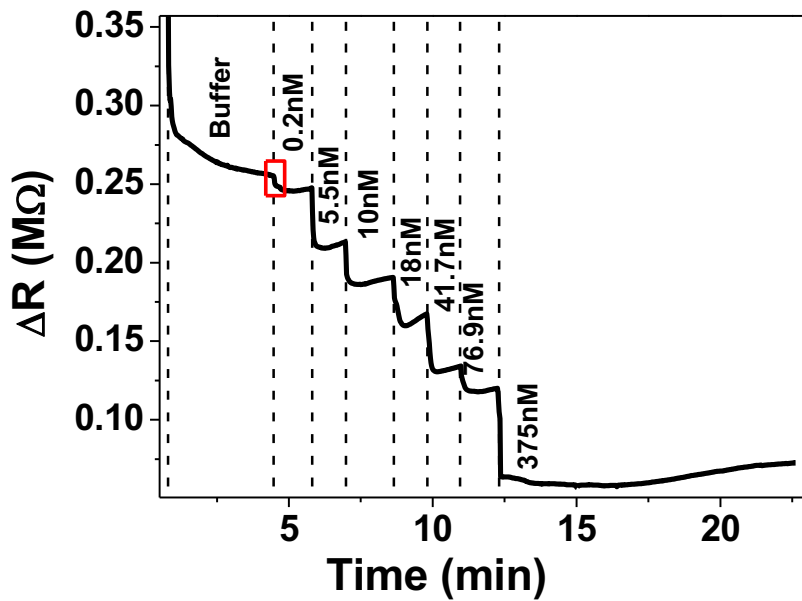
Για την ηλεκτρική ανίχνευση της βιοτινυλιωμένης DNA αλληλουχίας αρχικά ακινητοποιήθηκε στον prGO αισθητήρα η στρεπταβιδίνη μέσω μη-ομοιοπολικής σύνδεσης (non-covalent binding), σύμφωνα με το πρωτόκολλο που περιγράφηκε και παραπάνω. Αρχικά εισήχθησαν 80 μl ρυθμιστικού διαλύματος (Tris buffer, pH: 8.3) εντός του πλαστικού πλαισίου, στη συνέχεια εναποτέθηκαν με τη χρήση μικροπιπέτας 10μl από το διάλυμα της στρεπταβιδίνης (25μg/ml ή 472nM) και έγινε επώαση για 30 λεπτά. Ακολούθως, το πλαστικό πλαίσιο απομακρύνθηκε και ο αισθητήρας εμβαπτίστηκε σε BSA διάλυμα κάλυψης (0.2% w/v) για 1 ώρα. Κατόπιν, το πλαστικό πλαίσιο επανατοποθετήθηκε στη διάταξη γύρω από την περιοχή του prGO και προστέθηκαν και πάλι 80μl ρυθμιστικού διαλύματος (Tris buffer, pH: 8.3) ώστε να καλυφθεί η επιφάνεια πάνω από το prGO. Τέλος, προστέθηκαν διαδοχικές σταγόνες όγκου 10μl διαλύματος διαφορετικών συγκεντρώσεων b-DNA ξεκινώντας από 200pM μέχρι 375 nM. Στην Εικόνα 5.25 παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση του πρωτοκόλλου που ακολουθήθηκε για την ανίχνευση του b-DNA μετά την αλληλεπίδραση του με τη στρεπταβιδίνη.



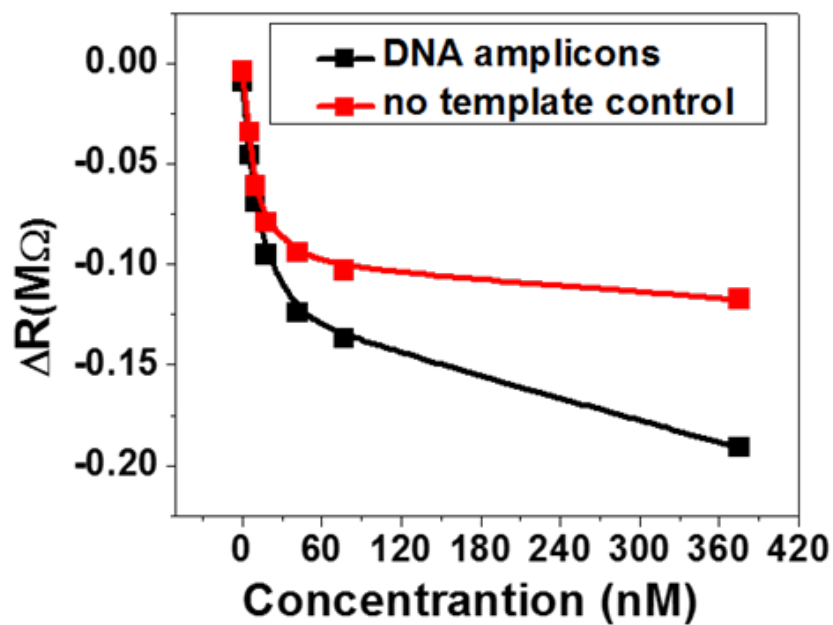
Εικόνα 5.25. Σχηματική αναπαράσταση της ανίχνευσης του ενισχυμένου b-DNA (amplicon) από τον prGO βιοαισθητήρα που κατασκευάστηκε σε SiO₂ υπόστρωμα. Το b-DNA συνδέεται με την ακινητοποιημένη στο prGO στρεπταβιδίνη.

Στην Εικόνα 5.26α παρουσιάζεται η απόκριση του αισθητήρα καθώς το b-DNA προστίθεται στο πλαίσιο αντίδρασης. Η αντίσταση του βιοαισθητήρα μειώνεται καθώς τα b-DNA μόρια αλληλεπιδρούν με την ακινητοποιημένη στρεπταβιδίνη (SA) στο prGO και οι αλλαγές στην αντίσταση γίνονται μεγαλύτερες όταν προστίθενται υψηλότερες συγκεντρώσεις. Η μικρότερη συγκέντρωση ανίχνευσης σε αυτή την εφαρμογή του βιοαισθητήρα ήταν 0.2 nM. Στην Εικόνα 5.26β φαίνεται η αλλαγή της αντίστασης του αισθητήρα (ΔR) συναρτήσει των διαφορετικών συγκεντρώσεων του ενισχυμένου DNA (μαύρη γραμμή), ενώ η αλλαγή της αντίστασης (ΔR) που καταγράφηκε κατά την αλληλεπίδραση της στρεπταβιδίνης με το δείγμα ελέγχου, το οποίο περιέχει τους βιοτινυλιωμένους εκκινητές (b-primers) και δεν περιλαμβάνει τη DNA μήτρα, παρουσιάζεται ως κόκκινη γραμμή (no template control). Έτσι, από την Εικόνα 5.26β φαίνεται ότι ο prGO βιοαισθητήρας είναι ικανός να διακρίνει επιτυχώς το ενισχυμένο DNA καθώς η αλλαγή της αντίστασης (ΔR) για αυτό είναι υψηλότερη από το δείγμα ελέγχου. Έτσι σε περίπτωση που η PCR είναι ανεπιτυχής ο αισθητήρας μπορεί να το διακρίνει. Αυτό επιτρέπει τη χρήση του αισθητήρα σε μικροεργαστήρια σε ψηφίδα (Lab on Chip), όπου το PCR προϊόν θα περάσει πάνω από τον αισθητήρα για ανίχνευση. Τέλος, στην Εικόνα 5.26γ απεικονίζεται η επιτυχημένη ενίσχυση του DNA μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης. Το ενισχυμένο DNA ενισχύεται επιτυχώς με τη μέθοδο PCR καθώς παρατηρείται μια μπάνα ανάμεσα στα 100 και

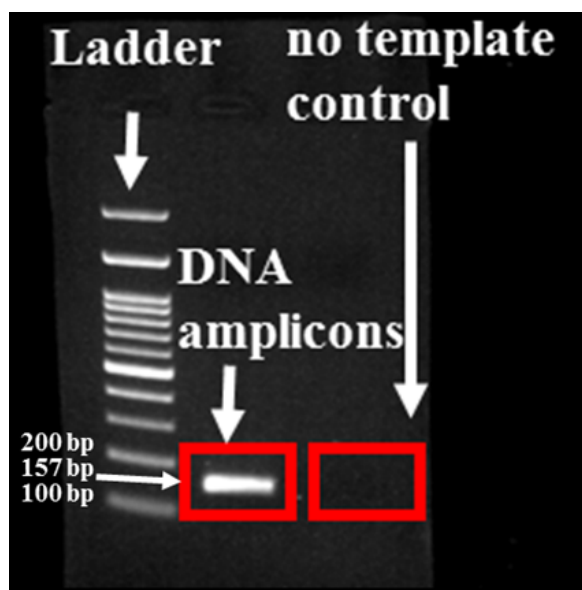
στα 200 ζεύγη βάσεων της κλίμακας (ladder), ενώ για το δείγμα ελέγχου δεν παρατηρείται καμία μπάνα, όπως ήταν αναμενόμενο αφού το δείγμα ελέγχου δεν περιέχει τη DNA μήτρα.



(a)



(β)



(γ)

Εικόνα 5.26. (α) Αλλαγή της αντίστασης του rGO βιοαισθητήρα κατά την εναπόθεση με τη χρήση μικροπιπέτας σταγόνων ενισχυμένου DNA διαφορετικών συγκεντρώσεων. Ο βιοαισθητήρας ανιχνεύει το ενισχυμένο DNA, με τη μικρότερη συγκέντρωση που μπορεί να ανιχνεύσει να είναι 0.2 nM. **(β)** Το ΔR συναρτήσει των διαφορετικών συγκεντρώσεων του ενισχυμένου DNA και του δείγματος ελέγχου, μαύρη και κόκκινη γραμμή αντίστοιχα, δείχνει την ικανότητα του βιοαισθητήρα να διακρίνει το ενισχυμένο DNA. **(γ)** Οπτικοποίηση του ενισχυμένου DNA και του δείγματος ελέγχου μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης για την επιβεβαίωση της επιτυχημένης ενίσχυσης του DNA.

Συνολικά ο αισθητήρας ήταν σε θέση να ανιχνεύσει έως 260 pM (17 ng/ml) b-BSA κατά την ακινητοποίηση της, 9 nM (0.5 μg/ml) στρεπταβιδίνης μέσω της πρόσδεσης της σε ακινητοποιημένη b-BSA, 5.5 nM μιας αλληλουχίας DNA που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του γονιδίου RET και 200 pM της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 του γονιδίου *BRCA1*. Η απόδοση του προτεινόμενου βιοαισθητήρα είναι συγκρίσιμη με τους βιοαισθητήρες γραφενίου και rGO τύπου τρανζίστορ που πρόσφατα αναφέρθηκαν (Πίνακας 2.1) [24-28], ενώ υπάρχουν και μερικά παραδείγματα αισθητήρων με χαμηλότερα όρια ανίχνευσης [29, 30]. Παρόλα αυτά, η απλή διαδικασία κατασκευής του προτεινόμενου rGO αισθητήρα σε συνδυασμό με τις πολλά υποσχόμενες επιδόσεις του τον καθιστούν μια ελκυστική λύση για γρήγορη και ακριβή ανίχνευση βιομορίων σε διάφορες εφαρμογές.

5.7 Συμπεράσματα κεφαλαίου

Στο κεφάλαιο αυτό ερευνήθηκαν τα απαραίτητα βήματα προς την κατασκευή χημικών και βιολογικών αισθητήρων με βάση το prGO. Ειδικότερα μελετήθηκαν: η μορφολογία του οξειδίου του γραφενίου, το πάχος του, η χημική δομή του με FTI-R και XPS και η αγωγιμότητα του. Για τη μελέτη της εξάρτησης της απόκρισης ενός χημικού αισθητήρα από τη θερμοκρασία αναγωγής του GO κατασκευάστηκαν διαφορετικοί χημικοί αισθητήρες στους οποίους το οξείδιο του γραφενίου επεξεργάστηκε θερμικά για 1 ώρα σε διαφορετικές θερμοκρασίες (120°C, 150°C, 180°C, 200°C και 300°C). Ο αισθητήρας με την υψηλότερη απόκριση ήταν αυτός όπου το GO θερμάνθηκε στους 150°C που είναι η κρίσιμη θερμοκρασία στην οποία η prGO δομή σχηματίζεται για πρώτη φορά. Στη συνέχεια, κατασκευάστηκε ένας απλός και εύχρηστος prGO βιοαισθητήρας αποτελούμενος από ηλεκτρόδια αργύρου. Ο βιοαισθητήρας ήταν σε θέση να ανιχνεύσει την ακινητοποιημένη b-BSA με συγκέντρωση κάτω των 260 pM και την αλληλεπίδραση b-BSA-στρεπταβιδίνης με συγκέντρωση στρεπταβιδίνης έως 9 nM. Ο ίδιος βιοαισθητήρας χρησιμοποιήθηκε κατόπιν σε μία ιατρική εφαρμογή, για την ανίχνευση μιας βιοτινυλιωμένης DNA αλληλουχίας που σχετίζεται με τη G533C μετάλλαξη του γονιδίου RET, με συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 5.5 έως 76.9 nM, κατά την αλληλεπίδραση της με την ακινητοποιημένη στρεπταβιδίνη πάνω στο prGO. Τέλος, ο ίδιος βιοαισθητήρας χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCAl* γονιδίου, το οποίο σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών. Ο βιοαισθητήρας κατάφερε να ανιχνεύσει μικρές συγκεντρώσεις του βιοτινυλιωμένου DNA της τάξης των 200 pM.

Το κεφάλαιο αυτό έχει δημοσιευτεί ως μέρος των παρακάτω δημοσιεύσεων: Low-temperature thermal reduction of graphene oxide films in ambient atmosphere: Infra-red spectroscopic studies and gas sensing applications, E. Tegou, G. Pseiropoulos, M.K. Filippidou, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 159 (2016) 146–150 και Detection of *BRCAl* gene on partially reduced graphene oxide biosensors, M.K. Filippidou, C. Moritz Loukas, G. Kaprou, E. Tegou, P. Petrou, S. Kakabakos, A.Tserepi, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 216 (2019) 111093.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] G. Koukouvinos, P.S. Petrou, K. Misiakos, D. Drygiannakis, I. Raptis, D. Goustouridis, S.E. Kakabakos, A label-free flow-through immunosensor for determination of total- and free-PSA in human serum samples based on white-light reflectance spectroscopy, *Sensors and Actuators B: Chemical* 209 (2015) 1041-1048.
- [2] H. Chang, Z. Sun, Q. Yuan, F. Ding, X. Tao, F. Yan, Z. Zheng, Thin film field-effect phototransistors from bandgap-tunable, solution-processed, few-layer reduced graphene oxide films, *Advanced materials* 22(43) (2010) 4872-6.
- [3] Z.L. Wang, D. Xu, Y. Huang, Z. Wu, L.M. Wang, X.B. Zhang, Facile, mild and fast thermal-decomposition reduction of graphene oxide in air and its application in high-performance lithium batteries, *Chemical communications* 48(7) (2012) 976-8.
- [4] W. Chen, L. Yan, Preparation of graphene by a low-temperature thermal reduction at atmosphere pressure, *Nanoscale* 2(4) (2010) 559-63.
- [5] D. Yang, A. Velamakanni, G. Bozoklu, S. Park, M. Stoller, R.D. Piner, S. Stankovich, I. Jung, D.A. Field, C.A. Ventrice, R.S. Ruoff, Chemical analysis of graphene oxide films after heat and chemical treatments by X-ray photoelectron and Micro-Raman spectroscopy, *Carbon* 47(1) (2009) 145-152.
- [6] A. Ganguly, S. Sharma, P. Papakonstantinou, J. Hamilton, Probing the Thermal Deoxygenation of Graphene Oxide Using High-Resolution In Situ X-ray-Based Spectroscopies, *The Journal of Physical Chemistry C* 115(34) (2011) 17009-17019.
- [7] H.-B. Zhang, J.-W. Wang, Q. Yan, W.-G. Zheng, C. Chen, Z.-Z. Yu, Vacuum-assisted synthesis of graphene from thermal exfoliation and reduction of graphite oxide, *Journal of Materials Chemistry* 21(14) (2011) 5392.
- [8] J. Chang, S. Mao, Y. Zhang, S. Cui, G. Zhou, X. Wu, C.-H. Yang, J. Chen, Ultrasonic-assisted self-assembly of monolayer graphene oxide for rapid detection of Escherichia coli bacteria, *Nanoscale* 5(9) (2013) 3620-3626.
- [9] F. Schedin, A.K. Geim, S.V. Morozov, E.W. Hill, P. Blake, M.I. Katsnelson, K.S. Novoselov, Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene, *Nature Materials* 6 (2007) 652.
- [10] C. Chen, X. Wang, M. Li, Y. Fan, R. Sun, Humidity sensor based on reduced graphene oxide/lignosulfonate composite thin-film, *Sensors and Actuators B: Chemical* 255 (2018) 1569-1576.
- [11] G. Naik, S. Krishnaswamy, Room-Temperature Humidity Sensing Using Graphene Oxide Thin Films, *Graphene* Vol.05No.01 (2016) 13.
- [12] S.P. Pujari, L. Scheres, A.T. Marcelis, H. Zuilhof, Covalent surface modification of oxide surfaces, *Angewandte Chemie* 53(25) (2014) 6322-56.
- [13] M.J. Banuls, R. Puchades, A. Maquieira, Chemical surface modifications for the development of silicon-based label-free integrated optical (IO) biosensors: a review, *Analytica chimica acta* 777 (2013) 1-16.
- [14] O. Yasuhide, M. Kenzo, I. Koichi, M. Kazuhiko, Label-Free Aptamer-Based Immunoglobulin Sensors Using Graphene Field-Effect Transistors, *Japanese Journal of Applied Physics* 50(7R) (2011) 070120.
- [15] Y. Ohno, K. Maehashi, K. Matsumoto, Chemical and biological sensing applications based on graphene field-effect transistors, *Biosensors and Bioelectronics* 26(4) (2010) 1727-1730.

- [16] E. Stern, J.F. Klemic, D.A. Routenberg, P.N. Wyrembak, D.B. Turner-Evans, A.D. Hamilton, D.A. LaVan, T.M. Fahmy, M.A. Reed, Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires, *Nature* 445 (2007) 519.
- [17] E. Stern, R. Wagner, F.J. Sigworth, R. Breaker, T.M. Fahmy, M.A. Reed, Importance of the Debye Screening Length on Nanowire Field Effect Transistor Sensors, *Nano letters* 7(11) (2007) 3405-3409.
- [18] N. Mohanty, V. Berry, Graphene-Based Single-Bacterium Resolution Biodevice and DNA Transistor: Interfacing Graphene Derivatives with Nanoscale and Microscale Biocomponents, *Nano Letters* 8(12) (2008) 4469-4476.
- [19] H.L. Sarika, A. Papatoma, M. Garofalaki, V. Vasileiou, B. Vlassopoulou, E. Anastasiou, M. Alevizaki, High prevalence of exon 8 G533C mutation in apparently sporadic medullary thyroid carcinoma in Greece, *Clinical endocrinology* 77(6) (2012) 857-62.
- [20] P.A. Vorkas, K. Christopoulos, C. Kroupis, E.S. Lianidou, Mutation scanning of exon 20 of the BRCA1 gene by high-resolution melting curve analysis, *Clinical Biochemistry* 43(1) (2010) 178-185.
- [21] K.B. Kuchenbaecker, J.L. Hopper, D.R. Barnes, K.-A. Phillips, T.M. Mooij, M.-J. Roos-Blom, S. Jervis, F.E. van Leeuwen, R.L. Milne, N. Andrieu, D.E. Goldgar, M.B. Terry, M.A. Rookus, D.F. Easton, A.C. Antoniou, B. and the, B.C. Consortium, Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers, *JAMA* 317(23) (2017) 2402-2416.
- [22] A. Ladopoulou, C. Kroupis, I. Konstantopoulou, L. Ioannidou-Mouzaka, A.C. Schofield, A. Pantazidis, S. Armaou, I. Tsiagas, E. Lianidou, E. Efstathiou, C. Tsionou, C. Panopoulos, M. Mihalatos, G. Nasioulas, D. Skarlos, N.E. Haites, G. Fountzilias, N. Pandis, D. Yannoukakos, Germ line BRCA1 & BRCA2 mutations in Greek breast/ovarian cancer families: 5382insC is the most frequent mutation observed, *Cancer Letters* 185(1) (2002) 61-70.
- [23] G. Papadakis, N. Skandalis, A. Dimopoulou, P. Glynos, E. Gizeli, Bacteria Murmur: Application of an Acoustic Biosensor for Plant Pathogen Detection, *PLoS One* 10(7) (2015) e0132773-e0132773.
- [24] Y. Ohno, K. Maehashi, K. Inoue, K. Matsumoto, Label-Free Aptamer-Based Immunoglobulin Sensors Using Graphene Field-Effect Transistors, *Japanese Journal of Applied Physics* 50(7R) (2011) 070120.
- [25] Y. Ohno, K. Maehashi, Y. Yamashiro, K. Matsumoto, Electrolyte-Gated Graphene Field-Effect Transistors for Detecting pH and Protein Adsorption, *Nano Letters* 9(9) (2009) 3318-3322.
- [26] Q. He, S. Wu, S. Gao, X. Cao, Z. Yin, H. Li, P. Chen, H. Zhang, Transparent, Flexible, All-Reduced Graphene Oxide Thin Film Transistors, *ACS Nano* 5(6) (2011) 5038-5044.
- [27] T. Berninger, C. Bliem, E. Piccinini, O. Azzaroni, W. Knoll, Cascading reaction of arginase and urease on a graphene-based FET for ultrasensitive, real-time detection of arginine, *Biosensors and Bioelectronics* 115 (2018) 104-110.
- [28] T. Wang, H.-c. Guo, X.-y. Chen, M. Lu, Low-temperature thermal reduction of suspended graphene oxide film for electrical sensing of DNA-hybridization, *Materials Science and Engineering: C* 72 (2017) 62-68.
- [29] J. Ping, R. Vishnubhotla, A. Vrudhula, A.T.C. Johnson, Scalable Production of High-Sensitivity, Label-Free DNA Biosensors Based on Back-Gated Graphene Field Effect Transistors, *ACS Nano* 10(9) (2016) 8700-8704.

[30] C. Zhang, J.-Q. Xu, Y.-T. Li, L. Huang, D.-W. Pang, Y. Ning, W.-H. Huang, Z. Zhang, G.-J. Zhang, Photocatalysis-Induced Renewable Field-Effect Transistor for Protein Detection, *Analytical Chemistry* 88(7) (2016) 4048-4054.

Κεφάλαιο 6: Ανίχνευση βιομορίων σε ολοκληρωμένα μικροεργαστηρία σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (Lab-On-PCB, LOPCB)

*Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάζεται η κατασκευή ενός ολοκληρωμένου μικροεργαστηρίου σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (PCB). Η προσέγγιση αυτή διευκολύνει τη μαζική παραγωγή και επιτρέπει τη μεγαλύτερη ολοκλήρωση των επιμέρους στοιχείων που είναι απαραίτητα για τη λειτουργία τέτοιων διατάξεων. Η διάταξη αποτελείται από μια μονάδα ενίσχυσης του γενετικού υλικού και μια μονάδα ανίχνευσης και σαν πρώτη εφαρμογή ενισχύεται μια αλληλουχία DNA που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου μέσω της RPA μεθόδου και μετέπειτα ανιχνεύεται από τους *prGO* αισθητήρες οι οποίοι βρίσκονται ενσωματωμένοι στη ίδια διάταξη.*

6.1 Υλικά κατασκευής του μικροεργαστηρίου σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος

Για το μετατροπέα (transducer layer) του βιοαισθητήρα χρησιμοποιήθηκε GO συγκεντρώσεως 5 mg/mL, “Single Layer Graphene Oxide Ethanol Dispersion”, το οποίο παρασκευάστηκε με τη μέθοδο Hummer και αγοράστηκε από την ACS Material®.

Ένα φιλμ πολυολεφίνης πάχους 50 μm που έχει κολλητική επιστρώση στην μια πλευρά του (Self-adhesive Polyolefin) χρησιμοποιήθηκε για τη σφράγιση του μικρορευστονικού καναλιού και αγοράστηκε από τη Star Lab.

Μια φωτοευαίσθητη ξηρή ρητίνη βασισμένη στο πολυϊμίδιο με πάχος 64 μm (photopatternable/photosensitive dry resin polyimide based, PC 1025) χρησιμοποιήθηκε για να αυξήσει το πάχος του μικρορευστονικού καναλιού και αγοράστηκε από τη DuPont.

Η στρεπταβιδίνη που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα και έχει pI = 6.8 – 7.5 αγοράστηκε από τη Thermo Fisher Scientific, ενώ η αλβουμίνη ορού βοοειδών (Bovine serum albumin, BSA, Cohn fraction V, RIA grade) με pI = 5 αγοράστηκε από τη Sigma-Aldrich Co.

Ρυθμιστικό διάλυμα Tris (τρικ(υδροξυμεθυλ)αμινομεθάνιο) με συγκέντρωση 1μM και pH ίσο με 8.3 χρησιμοποιήθηκε κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

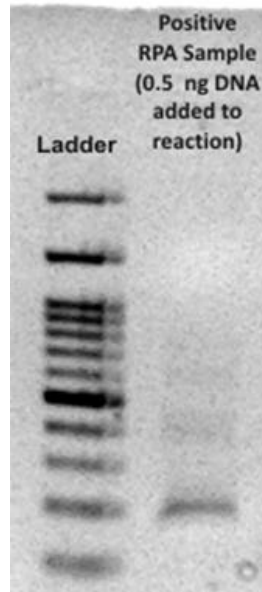
Για την υλοποίηση της ενίσχυσης της αλληλουχίας DNA, 157 ζεύγη βάσεων, που περιλαμβάνει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου μέσω της ενίσχυσης ανασυνδυασμένης πολυμεράσης (Recombinase Polymerase Amplification, RPA) χρησιμοποιήθηκε το TwistAmp® Basic Kit

(TwistDx Limited, UK). Πιο συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 0.55 ng ανθρώπινου DNA που περιέχουν τη DNA μήτρα, 249 ζεύγη βάσεων, που τα προμηθευτίκαμε από το FORTH (Heraklion, Greece), ενώ οι εκκινητές (Target-specific primers) αγοράστηκαν από τη Metabion (Germany). Ο ένας από τους δυο εκκινητές είναι επισημασμένος με βιοτίνη στο 5' άκρο (HR1 F: 5'-biotin-TCC TGA TGG GTT GTG TTT GG-3', HR1 R: 5'-TGG TGG GGT GAG ATT TTT GTC-3').

6.2 Μέθοδοι

6.2.1 Πρωτόκολλο ενίσχυσης ανασυνδυασμένης πολυμεράσης

Η ενίσχυση της αλληλουχίας DNA, 157 ζεύγη βάσεων, που περιλαμβάνει το εξονό 20 του *BRCAl* γονιδίου πραγματοποιείται μέσω της ισοθερμικής μεθόδου ενίσχυσης ανασυνδυασμένης πολυμεράσης (Recombinase Polymerase Amplification, RPA) είτε σε ένα θερμοκυκλοποιητή (benchtop thermocycler, icycler, Biorad, USA) (παράγραφος 6.6) είτε στο μικροεργαστήριο σε PCB. Για την ενίσχυση παρασκευάζεται ένα διάλυμα όγκου 50 μL το οποίο περιέχει: 29.5 μL από ένα μείγμα επανυδάτωσης που δεν περιέχει εκκινητές, 0.5 μM από τον κάθε εκκινητή και 1 μL από το DNA. Τέλος, προστέθηκαν 15 μL από το MgCl_2 (25 mM) και οι αντιδράσεις με την RPA μέθοδο διήρκησαν 1 ώρα στους 39°C. Για την οπτικοποίηση του ενισχυμένου DNA μέσω γέλη ηλεκτροφόρησης (Bio-Rad Wide Mini-Sub Cell GT GT), όπως αυτή περιγράφεται στην ενότητα 5.2.4, γίνεται και ένα βήμα θέρμανσης μετά την αντίδραση με την RPA μέθοδο στους 95°C για 15 λεπτά [1]. Στην Εικόνα 6.1 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ενίσχυση του DNA μέσω της RPA μεθόδου στον θερμοκυκλοποιητή των πειραμάτων της παραγράφου 6.6.



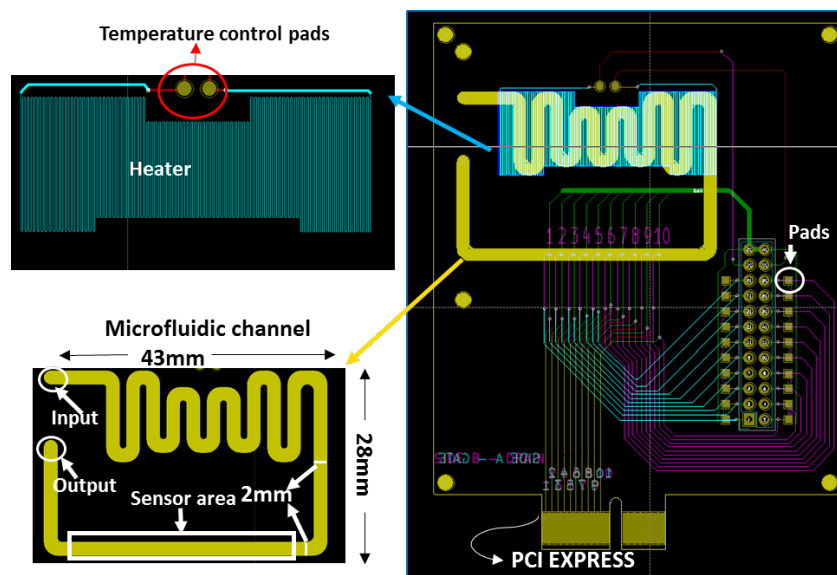
Εικόνα 6.1. Φωτογραφία του ενισχυμένου DNA όπως αυτό προκύπτει από τη γέλη ηλεκτροφόρησης.

6.3 Σχεδιασμός και κατασκευή του μικροεργαστηρίου σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος

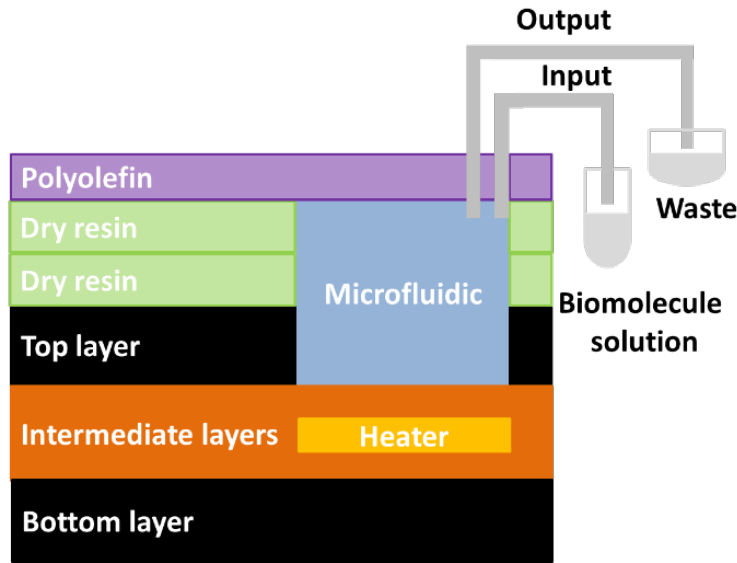
Το μικροεργαστήριο με τους prGO βιοαισθητήρες κατασκευάστηκε σε πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (printed circuit board, PCB), που επιτρέπει τη μαζική παραγωγή και περιέχει όλες τις ηλεκτρικές συνδέσεις που απαιτούνται για την καλή λειτουργία της διάταξης. Η προτεινόμενη διάταξη σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό Kicad και κατασκευάστηκε από την Eurocircuits (<https://www.eurocircuits.com/>). Το μικροεργαστήριο περιλαμβάνει μια μονάδα για την ενίσχυση του γενετικού υλικού και μια μονάδα ανίχνευσης του ενισχυμένου γενετικού υλικού από prGO βιοαισθητήρες. Το μικροεργαστήριο παρουσιάζει μεγάλο βαθμό ολοκλήρωσης, καθώς τόσο η ενίσχυση του γενετικού υλικού (π.χ. DNA) όσο και η ανίχνευση του πραγματοποιούνται στο ίδιο υπόστρωμα. Η μονάδα ενίσχυσης του DNA αποτελείται από ένα μαιανδρικό κανάλι και από ένα θερμαντικό στοιχείο το οποίο υλοποιείται κάνοντας χρήση των στρωμάτων χαλκού του PCB (η αντίσταση του θερμαντικού στοιχείου είναι 40 Ω και μέσω δύο ηλεκτροδίων εφαρμόζεται η κατάλληλη τάση που απαιτείται για τη θέρμανση), ενώ η μονάδα ανίχνευσης αποτελείται από ένα ευθύγραμμο κανάλι όπου βρίσκονται οι prGO βιοαισθητήρες. Το συνολικό μικροερευστονικό κανάλι (μαιανδρικό και ευθύγραμμο κανάλι) έχει

διαστάσεις 28x43 mm, ενώ το πλάτος είναι 2 mm και το βάθος του 28 μm (Εικόνα 6.2α). Επιπλέον, το μικρορευστονικό κανάλι έχει μία είσοδο και μία έξοδο διαμέσου της οποίας ρέουν τα υγρά, ενώ η περιοχή ανίχνευσης περιέχει δέκα ζεύγη ηλεκτροδίων που επιτρέπουν την ταυτόχρονη ανίχνευση του γενετικού υλικού από διαφορετικούς αισθητήρες. Κάθε ζεύγος αποτελείται από δύο ορθογώνια παραλληλεπίπεδα χρυσού (Au) (0.25 x 0.5 mm) και η απόσταση μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων είναι 0.2 mm. Ο μετατροπέας (στην περίπτωση μας είναι το GO) εναποτίθεται μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων κάθε ζεύγους ηλεκτροδίων και η σύνδεση της διάταξης με το σύστημα μέτρησης μπορεί να γίνει είτε από μια Peripheral Component Interconnect Express (PCI express) (που βρίσκεται στο κάτω μέρος του PCB) ή μέσω ηλεκτροδίων (που βρίσκονται στα δεξιά του μικροεργαστηρίου σε PCB στην Εικόνα 6.2α). Αξίζει να σημειωθεί ότι το μικροκανάλι στη μονάδα ενίσχυσης σχεδιάστηκε με μαιανδρικό σχήμα προκειμένου να αυξηθεί σε μήκος και επομένως να αυξηθεί και ο όγκος του χωρίς να αυξηθούν οι διαστάσεις του θερμαντικού στοιχείου και η συνολική διάσταση της διάταξης. Μετά το σχεδιασμό και την κατασκευή του παραπάνω μικροεργαστηρίου σε PCB κρίθηκε αναγκαία η αύξηση του βάθους του μικρορευστονικού καναλιού για να αποφευχθούν προβλήματα απόφραξης κατά τη σφράγιση της συσκευής και να διευκολυνθεί η διέλευση των διαλυμάτων μέσα από το κανάλι. Για το σκοπό αυτό τοποθετούνται πάνω στη διάταξη δυο στρώματα φωτοευαίσθητης ξηρής ρητίνης, που ουσιαστικά είναι ένα φιλμ πολυϊμιδίου, στα οποία αποτυπώνεται το ίδιο κανάλι που υπάρχει στο PCB. Η ρητίνη αυτή είναι απόλυτα συμβατή με την τεχνολογία τυπωμένου κυκλώματος, ενώ το πάχος του κάθε φιλμ είναι 64 μm . Η διαδικασία αύξησης του βάθους περιλαμβάνει τα εξής βήματα: αρχικά το πρώτο στρώμα πολυϊμιδίου τοποθετείται στη διάταξη. Για να βελτιστοποιηθεί η πρόσφυση του πολυϊμιδίου πάνω στο PCB υπόστρωμα, η διάταξη με το πολυϊμίδιο διέρχεται από ένα πλαστικοποιητή (laminator), του οποίου η θερμοκρασία έχει ρυθμιστεί στους 80°C και μετά από αυτό το βήμα η διάταξη θερμαίνεται για 2 λεπτά στους 120°C. Ακολουθεί ένα βήμα οπτικής λιθογραφίας (αρνητική λιθογραφία), χρησιμοποιώντας τον ευθυγραμιστή μασκών Karl Suss MJB3 mask aligner με λυχνία υδραργύρου (i-line 365nm), για την ακριβή αποτύπωση του φιλμ πολυϊμιδίου στις επιθυμητές περιοχές. Τα παραπάνω βήματα επαναλαμβάνονται και για το δεύτερο στρώμα πολυϊμιδίου. Τελικά, η διάταξη με τα δύο στρώματα πολυϊμιδίου εμβαπτίζεται σε ένα υδατικό διάλυμα Na_2CO_3 , που αφαιρεί αποτελεσματικά το φιλμ πολυϊμιδίου στην περιοχή του μικρορευστονικού καναλιού καθώς και στην περιοχή των ηλεκτροδίων και μετά την εμφάνιση η

διάταξη θερμαίνεται στους 160°C για 2 ώρες. Το τελικό πάχος του κάθε στρώματος πολυϊμιδίου μετά το ψήσιμο είναι 55 μm . Στην Εικόνα 6.2β παρουσιάζεται η διατομή του μικροεργαστηρίου σε PCB (το τελικό βάθος του μικρορευστονικού καναλιού είναι 138 μm και ο όγκος του $\sim 50 \mu\text{l}$) η οποία αποτελείται από το κάτω στρώμα (bottom layer), που ουσιαστικά είναι το υπόστρωμα της διάταξης, το πάνω στρώμα (top layer) στο οποίο έχει αρχικά σχεδιαστεί το μικρορευστονικό κανάλι (microfluidic channel), τα ενδιάμεσα στρώματα (intermediate layers) που βρίσκεται το θερμαντικό στοιχείο (Heater), τα δυο στρώματα της ξηρής ρητίνης που χρησιμοποιούνται για να αυξηθεί το βάθος του μικρορευστονικού καναλιού και το στρώμα σφράγισης της πολυολεφίνης (polyolefin).



(a)

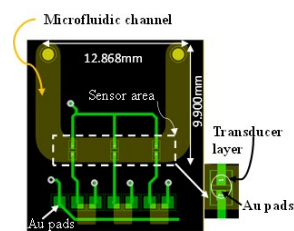


(β)

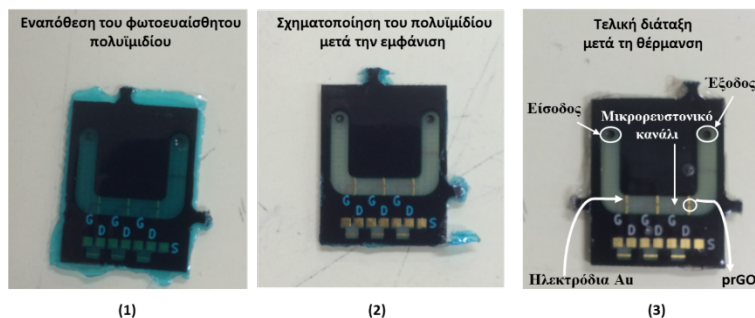
Εικόνα 6.2. (α) Φωτογραφία του μικροεργαστηρίου σε PCB, όπως αυτό σχεδιάστηκε με το πρόγραμμα kicad. Στην Εικόνα διακρίνονται το μικρορευστονικό κανάλι (η μαιανδρική περιοχή και η περιοχή των βιοαισθητήρων), το θερμαντικό στοιχείο και οι τρόποι σύνδεσης με το σύστημα μέτρησης: η PCI express (στο κάτω μέρος του PCB) και τα ηλεκτρόδια σύνδεσης (δεξιά του PCB). **(β)** Σχηματική αναπαράσταση της διατομής του μικροεργαστηρίου σε PCB στην οποία διακρίνονται τα στρώματα από τα οποία αποτελείται: η περιοχή του θερμαντικού στοιχείου και του μικρορευστονικού καναλιού. Επίσης διακρίνονται τα δυο στρώματα ξηρής ρητίνης και το φιλμ σφράγισης (polyolefin).

Για να εξεταστεί η απόκριση των prGO βιοαισθητήρων που είναι ενσωματωμένοι στο μικρορευστονικό κανάλι κατασκευάστηκε και μια απλούστερη διάταξη (Εικόνα 6.3α). Η διάταξη αυτή έχει ένα μικρορευστονικό κανάλι σχήματος "U" με πλάτος 2 mm και βάθος 28 μm, και διαθέτει τις απαραίτητες ηλεκτρικές συνδέσεις που το καθιστούν λειτουργικό. Το μικρορευστονικό κανάλι έχει διαστάσεις 12.868 x 9.9 mm (όμως το τελικό βάθος του μικρορευστονικού καναλιού αυξάνεται ξανά στα 138 μm σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός μικρορευστονικού καναλιού όγκου ~ 7 μl) και περιλαμβάνει την περιοχή των βιοαισθητήρων. Επιλέξαμε το μικρορευστονικό κανάλι να έχει σχήμα "U" για να αυξήσουμε τον όγκο της διάταξης και παράλληλα να διατηρήσουμε το μέγεθος της διάταξης μικρό. Οι οπές για την είσοδο και την έξοδο των διαλυμάτων βρίσκονται στο πάνω μέρος του μικρορευστονικού καναλιού, ενώ η

περιοχή των βιοαισθητήρων βρίσκεται στο κάτω μέρος. Η περιοχή των βιοαισθητήρων που ουσιαστικά είναι η περιοχή ανίχνευσης των βιομορίων αποτελείται από 3 ζεύγη ηλεκτροδίων χρυσού (Au) ανάμεσα στα οποία εναποτίθεται το GO (transducer layer). Επίσης, η διάταξη διαθέτει στο κάτω μέρος της ηλεκτρόδια μέσω των οποίων γίνονται οι απαραίτητες συνδέσεις για την πραγματοποίηση της ανίχνευσης. Στην Εικόνα 6.3β παρουσιάζονται τα βασικά βήματα που ακολουθούνται για την αύξηση του βάθους του μικρορευστονικού καναλιού. Τέλος, με αυτή τη διάταξη σχήματος "U", που παρουσιάζεται στην παρακάτω Εικόνα, έγιναν τα πρώτα δοκιμαστικά πειράματα ανίχνευσης βιομορίων χρησιμοποιώντας prGO βιοαισθητήρες (Εικόνα 6.3β).



(α)



(β)

Εικόνα 6.3. (α) Απεικόνιση της διάταξης σε PCB όπως αυτή σχεδιάστηκε στο πρόγραμμα Kicad. Στην Εικόνα διακρίνονται το μικρορευστονικό κανάλι με την περιοχή των βιοαισθητήρων. (β) Φωτογραφίες από τα βασικά βήματα που ακολουθούνται για την αύξηση του βάθους του μικρορευστονικού καναλιού: 1) εναπόθεση των δυο φιλμ πολυιμιδίου, 2) σχηματοποίηση των φιλμ μετά την εμφάνισή τους στον εμφανιστή Na_2CO_3 και 3) η τελική διάταξη μετά το τελικό ψήσιμο. Χρησιμοποιώντας αυτά τα δύο φιλμ ξηρής ρητίνης το τελικό βάθος του μικρορευστονικού καναλιού φτάνει τα 138 μm .

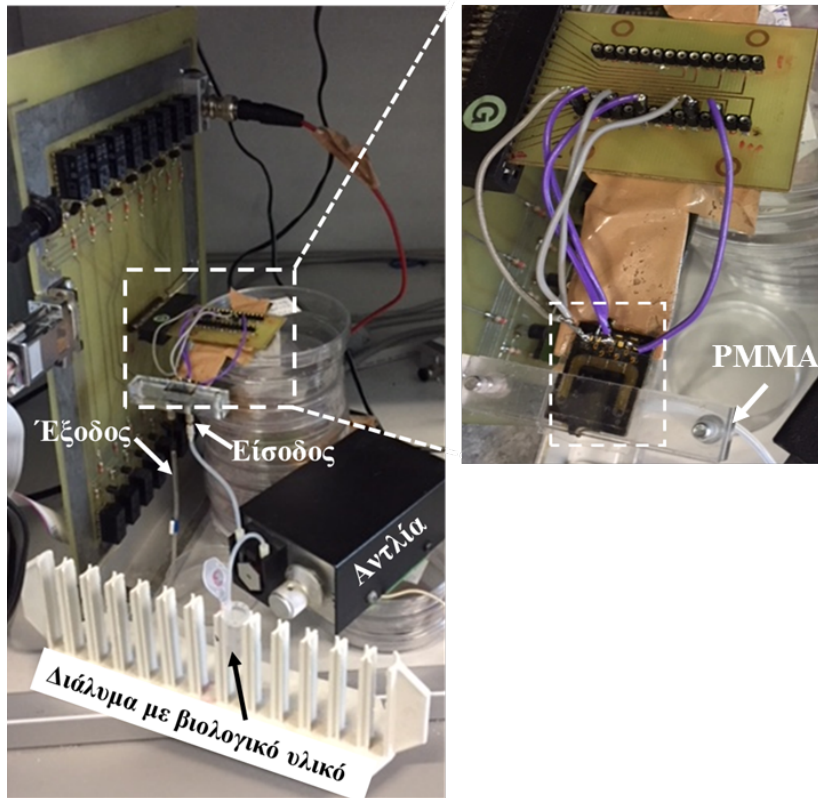
6.4 Διαδικασία κατασκευής των prGO βιοαισθητήρων

Μετά την αύξηση του βάθους του μικρορευστονικού καναλιού κατασκευάζονται οι prGO βιοαισθητήρες. Για αυτό το σκοπό εναποτίθεται το GO με τη χρήση μικροπιπέτας μεταξύ των δυο ηλεκτροδίων χρυσού, με την ίδια διαδικασία που περιγράφεται στο Κεφάλαιο 5. Στη συνέχεια, το GO υφίσταται θερμική επεξεργασία στους 180°C για 1 ώρα. Με αυτό τον τρόπο το GO μετατρέπεται σε αγώγιμο υλικό (λεπτομέρειες για τη αναγωγή του οξειδίου του γραφενίου υπάρχουν στο Κεφάλαιο 5), ενώ παράλληλα εξακολουθούν να υπάρχουν αρκετές χαρακτηριστικές ομάδες που επιτρέπουν την ακινητοποίηση των βιομορίων [2]. Πριν από την εναπόθεση του GO και μετά την αύξηση του βάθους του μικρορευστονικού καναλιού, γίνεται ένα βήμα καθαρισμού για την αφαίρεση οργανικών ρύπων και την ενίσχυση της πρόσφυσης του GO πάνω στα ηλεκτρόδια χρυσού [3]. Για το σκοπό αυτό η διάταξη εμβαπτίζεται: α) για 10 λεπτά σε ένα διάλυμα που περιλαμβάνει 5 μέρη νερό, ένα μέρος από το διάλυμα της αμμωνίας (ammonium hydroxide) (20%) και ένα μέρος υπεροξειδίου του υδρογόνου (hydrogen peroxide) (30%), β) για 5 λεπτά σε ακετόνη, χρησιμοποιώντας λουτρό υπερήχων, γ) για 5 λεπτά σε προπανόλη, χρησιμοποιώντας ξανά λουτρό υπερήχων και τέλος δ) η διάταξη ξεπλένεται με νερό.

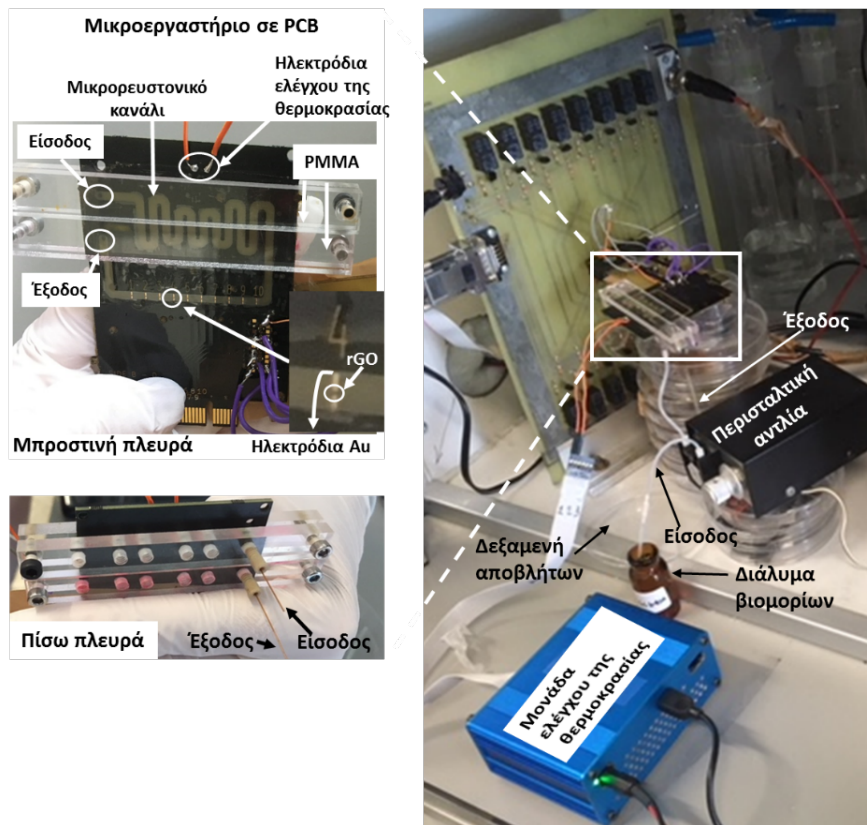
6.5 Σύστημα μέτρησης του μικροεργαστηρίου για την ανίχνευση βιολογικών αλληλεπιδράσεων

Το σύστημα μέτρησης που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση των βιομορίων παρουσιάζεται στην Εικόνα 6.4 και περιλαμβάνει: α) μία περισταλτική αντλία (INSTECH P.625 / 900,143) η οποία είναι τοποθετημένη στην είσοδο του μικρορευστονικού καναλιού και εξυπηρετεί στη διακίνηση των διαλυμάτων (αντλεί τα διαλύματα από τη δεξαμενή και μετά τη διέλευση τους από το μικρορευστονικό κανάλι αυτά συλλέγονται σε μια εξωτερική δεξαμενή αποβλήτων με ροή 10 μl/min), και β) μία πλακέτα που περιέχει κύκλωμα από μικρούς ηλεκτρονόμους (relay), που επιτρέπει την ταυτόχρονη μέτρηση 8 αισθητήρων, και διαθέτει δυο υποδοχές για τη σύνδεση BNC καλωδίων που στη συνέχεια συνδέονται με το όργανο μέτρησης (Digital Multimeter HP34401). Η παρακολούθηση της απόκρισης των διαφορετικών αισθητήρων γίνεται μέσω ενός λογισμικού Labview. Τα ηλεκτρόδια των διατάξεων, που βρίσκονται κάτω από το μικρορευστονικό κανάλι στην Εικόνα 6.4α και δεξιά και κάτω από την περιοχή των αισθητήρων Εικόνα 6.4β, συνδέονται μέσω καλωδίων με ένα άλλο PCB (κίτρινο PCB) του οποίου το άκρο τοποθετείται στην υποδοχή της πλακέτας με τους ηλεκτρονόμους (Εικόνα 6.4α και β). Επιπλέον,

για την υλοποίηση της μέτρησης χρησιμοποιούνται στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης κατασκευασμένα από Poly(methyl methacrylate) (PMMA) μέσω των οποίων γίνονται οι απαραίτητες διασυνδέσεις για τη ροή των διαλυμάτων μέσα από το μικρορευστονικό κανάλι. Τέλος, για την περίπτωση όπου η ενίσχυση γίνεται στο PCB στο σύστημα μέτρησης προστίθεται και μια μονάδα ελέγχου της θερμοκρασίας για τη λειτουργία του θερμαντικού στοιχείου (Εικόνα 6.4β).



(α)

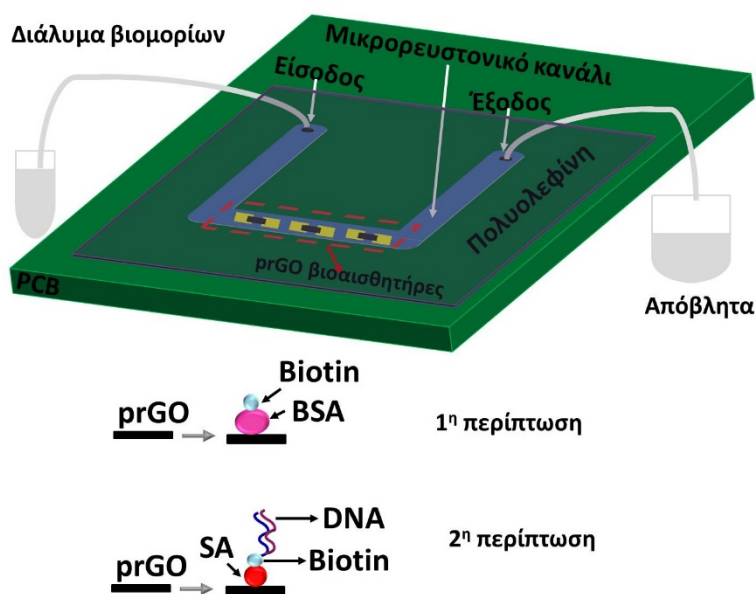


(β)

Εικόνα 6.4. Απεικόνιση της πειραματικής διάταξης που χρησιμοποιείται: (α) για την αξιολόγηση των βιοαισθητήρων και (β) για την ενίσχυση και τη μετέπειτα ανίχνευση του ενισχυμένου γενετικού υλικού (π.χ. DNA) από τους rGO βιοαισθητήρες. Στην Εικόνα (α) και (β) διακρίνονται: η περισταλτική αντλία, η πλακέτα με τους ηλεκτρονόμους και τα PMMA στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης, ενώ στην Εικόνα (β) διακρίνεται και η μονάδα ελέγχου της θερμοκρασίας που είναι απαραίτητη για την ενίσχυση του γενετικού υλικού. Στο ένθετο της Εικόνας (α) φαίνονται με μεγαλύτερη ευκρίνεια το μικροεργαστήριο σε PCB, τα PMMA στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης και ο τρόπος σύνδεσης της διάταξης μέσω καλωδίων με το PCB (κίτρινο) το οποίο συνδέεται στη πλακέτα με τους ηλεκτρονόμους. Στο ένθετο της Εικόνας (β): φαίνεται στο πάνω μέρος η μπροστινή πλευρά του μικροεργαστηρίου σε PCB, όπου διακρίνεται το μαιανδρικό κανάλι και η περιοχή των βιοαισθητήρων, τα ηλεκτρόδια χρυσού, η είσοδος και η έξοδος του μικρορευστονικού καναλιού και τα PMMA στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης, ενώ στο κάτω μέρος απεικονίζεται η πίσω πλευρά του μικροεργαστηρίου σε PCB.

6.6 Αξιολόγηση της απόκρισης των prGO βιοαισθητήρων

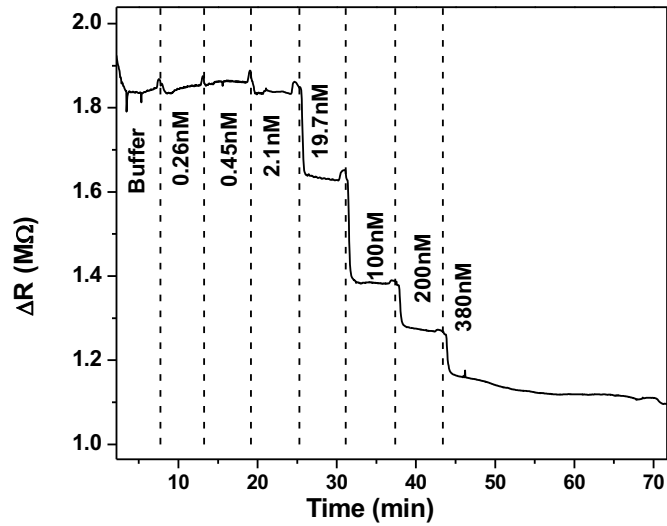
Τα πρώτα πειράματα διεξήχθησαν χρησιμοποιώντας την απλή διάταξη σχήματος “U” και αποσκοπούσαν στον έλεγχο των prGO βιοαισθητήρων. Με αυτήν τη διάταξη ανιχνεύτηκαν δυο είδη βιομορίων: η βιοτινυλιωμένη- BSA (biotinylated BSA, b-BSA) και η ενισχυμένη αλληλουχία DNA που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου. Στην Εικόνα 6.5 παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση της διάταξης αυτής που κατασκευάστηκε σε PCB υπόστρωμα κατά τη χρήση της για την ανίχνευση των βιομορίων και για τις δυο περιπτώσεις ανίχνευσης: 1) ανίχνευση της ακινητοποιημένης b-BSA και 2) ανίχνευση της ενισχυμένης αλληλουχίας DNA μέσω της αλληλεπίδρασης βιοτίνης – στρεπταβιδίνης, καθώς το DNA είναι επισημασμένο με βιοτίνη (biotinylated DNA, b-DNA). Παρακάτω περιγράφεται με λεπτομέρειες η διεξαγωγή του κάθε πειράματος.



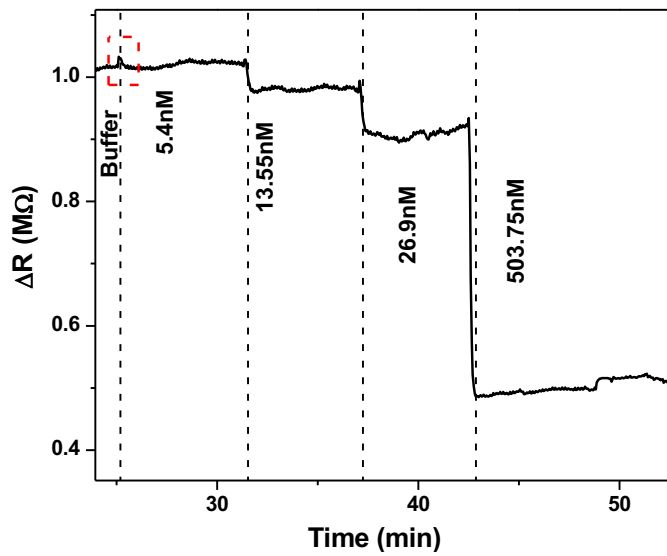
Εικόνα 6.5. Σχηματική αναπαράσταση της απλής διάταξης σε PCB με σχήμα “U” για την αξιολόγηση των βιοαισθητήρων κατά την ανίχνευση των βιομορίων. Στην αναπαράσταση διακρίνονται το μικρορευστονικό κανάλι, η περιοχή των prGO βιοαισθητήρων και το φιλμ (πολυολεφίνη) σφράγισης του καναλιού. Η ροή των διαλυμάτων γίνεται μέσω της περισταλτικής αντλίας, από την είσοδο προς την έξοδο όπου τα διαλύματα τελικά συλλέγονται στη δεξαμενή αποβλήτων. Επίσης, διακρίνονται οι δυο περιπτώσεις ανίχνευσης βιομορίων: 1) της b-BSA και 2) της ενισχυμένης αλληλουχίας DNA (b-DNA).

Για την ηλεκτρική ανίχνευση των βιομορίων αρχικά κατασκευάζονται οι βιοαισθητήρες prGO όπως περιγράφεται στη παράγραφο 6.4. Στην 1^η περίπτωση μετά από την κατασκευή των βιοαισθητήρων η διάταξη σφραγίζεται με ένα φιλμ πολυολεφίνης και τοποθετείται ανάμεσα στα PMMA στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης για να συνδεθούν η είσοδος και η έξοδος. Για την ανίχνευση της ακινητοποίησης της b – BSA, αρχικά ρέει μέσα στο κανάλι ρυθμιστικό διάλυμα Tris buffer 1μM (pH: 8.3) για να επέλθει ισορροπία στην επιφάνεια του βιοαισθητήρα και για να διευκολυνθεί η καταγραφή των αλλαγών στην αντίσταση. Κατόπιν, διαφορετικές συγκεντρώσεις b–BSA σε Tris ρυθμιστικό διάλυμα εισέρχονται στο κανάλι και λόγω του ότι τα βιομόρια είναι αρνητικά φορτισμένα (δες παράγραφο 5.6.4) προκαλούν μείωση της αντίστασης. Στην Εικόνα 6.6α παρουσιάζεται η μεταβολή της αντίστασης για συγκεντρώσεις από 0.26 nM έως 380 nM. Η διάταξη αυτή μπορεί να ανιχνεύσει μικρές συγκεντρώσεις της τάξης των 0.26 nM.

Για την ανίχνευση της ενισχυμένης αλληλουχίας DNA που αποτελείται από 157 ζεύγη βάσεων και περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου (2^η περίπτωση), αρχικά ενισχύεται το DNA με ισοθερμική μέθοδο RPA, όπως περιγράφεται στην ενότητα 6.2.1, και στη συνέχεια το ενισχυμένο DNA ανιχνεύεται από τους βιοαισθητήρες. Πιο συγκεκριμένα, για την ηλεκτρική ανίχνευση του ενισχυμένου DNA, πρώτα εναποτέθηκε με τη χρήση μικροπιπέτας η στρεπταβιδίνη (472nM). Μετά από 30 λεπτά και αφού η διάταξη ξεπλύθηκε με Tris ρυθμιστικό διάλυμα (1μM, pH: 8.3) και νερό το μικρορευστονικό κανάλι καλύφθηκε για περίπου 1 ώρα με BSA διάλυμα κάλυψης. Αφού πάλι το κανάλι ξεπλύθηκε με Tris ρυθμιστικό διάλυμα (1μM, pH: 8.3) και νερό το κανάλι τελικά σφραγίστηκε με το φιλμ της πολυολεφίνης και τοποθετήθηκε ανάμεσα στα στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης. Στη συνέχεια εισάγεται στο κανάλι Tris ρυθμιστικό διάλυμα (1μM, pH: 8.3) και ακολουθεί η προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων (5.4nM με 503.75 nM) ενισχυμένου DNA σε διάλυμα κάλυψης. Τελικά, το DNA ανιχνεύεται μέσω της αλληλεπίδρασης στρεπταβιδίνης – βιοτίνης και η σύνδεση αυτή έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης (Εικόνα 6.6β). Η προτεινόμενη διάταξη με του prGO βιοαισθητήρες μπορεί να ανιχνεύσει συγκέντρωση μέχρι 5.4 nM.



(α)

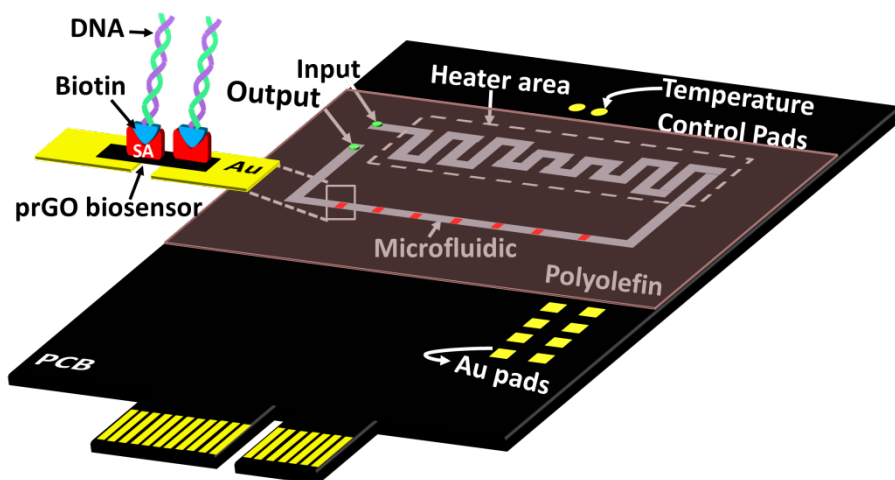


(β)

Εικόνα 6.6. (α) Ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο της ακινητοποίησης της b-BSA. (β) Η απόκριση της διάταξης κατά τη προσθήκη διαφορετικών συγκεντρώσεων b-DNA. Οι prGO βιοαισθητήρες μπορούν να ανιχνεύσουν 5.4 nM ενισχυμένου DNA χρησιμοποιώντας αυτή τη διάταξη.

6.7 Ισοθερμική ενίσχυση και ανίχνευση αλληλουχίας DNA με τη χρήση μικροεργαστηρίων σε πλακέτες τυπωμένου κυκλώματος

Μετά την ολοκλήρωση των πειραμάτων αξιολόγησης της απόκρισης των βιοαισθητήρων με τη διάταξη σχήματος “U” πραγματοποιήθηκαν τα πρώτα πειράματα με το μικροεργαστήριο σε PCB που επιτρέπει εκτός από την ανίχνευση και την ενίσχυση του γενετικού υλικού. Και σε αυτά τα πειράματα η ηλεκτρική ανίχνευση της ενισχυμένης DNA αλληλουχίας που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCA1* γονιδίου, επιτυγχάνεται μέσω της αλληλεπίδρασης βιοτίνης-στρεπταβιδίνης, καθώς ένας από τους δυο εκκινητές που χρησιμοποιούνται για την ενίσχυση του DNA είναι επισημασμένος με βιοτίνη (βιοτινυλιωμένο- DNA, b-DNA). Ολόκληρη η διαδικασία αποτελείται από έξι στάδια: α) εναπόθεση της στρεπταβιδίνης (SA) στο prGO, β) σφράγιση του μικρορευστονικού καναλιού με φιλμ πολυολεφίνης, γ) τοποθέτηση του μικροεργαστηρίου σε PCB ανάμεσα στα στηρίγματα συγκράτησης της διάταξης που κατασκευάστηκαν από PMMA, δ) εισαγωγή του BSA διαλύματος κάλυψης μέσα στο κανάλι για την αποφυγή της μη ειδικής πρόσδεσης (BSA blocking solution), ε) ενίσχυση του DNA και ζ) τέλος, ανίχνευση του ενισχυμένου DNA από τους prGO βιοαισθητήρες. Στην Εικόνα 6.7 παρουσιάζεται η σχηματική αναπαράσταση του μικροεργαστηρίου σε PCB στο οποίο διακρίνεται το μικρορευστονικό κανάλι με την περιοχή ενίσχυσης (μαιανδρικό τμήμα) και τη μονάδα ανίχνευσης (ευθύγραμμο τμήμα). Επιπλέον, στην Εικόνα 6.7 απεικονίζεται η αλληλεπίδραση του ενισχυμένου DNA, που είναι επισημασμένο με βιοτίνη, με τη στρεπταβιδίνη που είναι ακινητοποιημένη στο prGO.



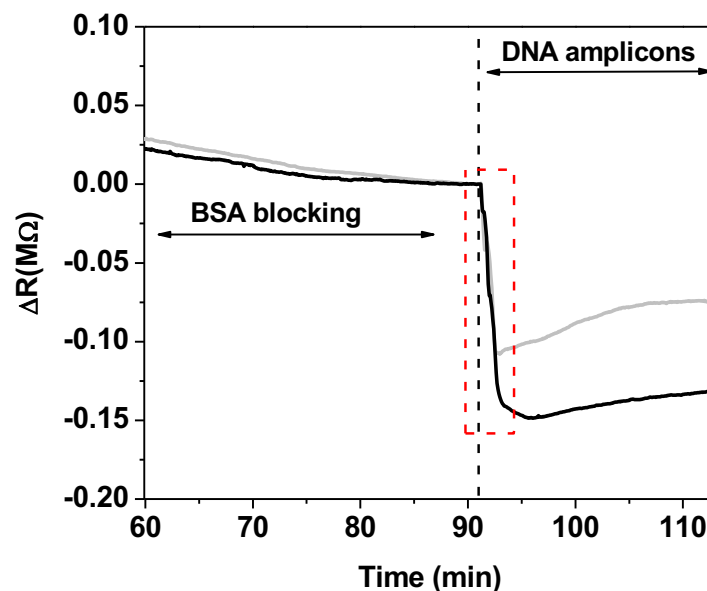
Εικόνα 6.7. Σχηματική αναπαράσταση του προτεινόμενου μικροεργαστηρίου σε PCB (LoPCB) για την ενίσχυση και τη μετέπειτα ανίχνευση του DNA. Τα κύρια μέρη της διάταξης είναι: το μικρορευστονικό κανάλι (μονάδα ενίσχυσης και ανίχνευσης), το θερμαντικό στοιχείο και τα ηλεκτρόδια μέσω των οποίων ρυθμίζεται η θερμοκρασία (temperature control pads) για την ενίσχυση του DNA. Στο ένθετο αριστερά απεικονίζεται η αλληλεπίδραση του ενισχυμένου DNA, που είναι επισημασμένο με βιοτίνη, με την ακινητοποιημένη SA στο prGO. Τέλος, διακρίνεται το φιλμ της πολυολεφίνης που χρησιμοποιείται για τη σφράγιση των μικρορευστονικών καναλιών.

Πιο συγκεκριμένα, 3μl από το διάλυμα της στρεπταβιδίνης (25μg/ml), το οποίο για να παρασκευαστεί χρησιμοποιήθηκε Tris ρυθμιστικό διάλυμα (1μM, pH: 8.3), προστέθηκε με τη χρήση μικροπιπέτας πάνω στο prGO. Μετά την επώαση της στρεπταβιδίνης για 30 λεπτά, ακολουθεί ξέπλυμα της διάταξης πρώτα με ρυθμιστικό διάλυμα (Tris buffer: 1μM, pH: 8.3) και μετά με απιονισμένο νερό. Στη συνέχεια το μικρορευστονικό κανάλι σφραγίζεται με φιλμ πολυολεφίνης, το οποίο περιορίζει τα διαλύματα μέσα στην επιθυμητή περιοχή (την μαιανδρική περιοχή και την περιοχή των βιοαισθητήρων) και απομονώνει τις ηλεκτρικές συνδέσεις, και η διάταξη τοποθετείται ανάμεσα στα δυο στηρίγματα συγκράτησης, μέσω των οποίων επιτυγχάνεται και η σύνδεση της εισόδου και της εξόδου της διάταξης με την περισταλτική αντλία.

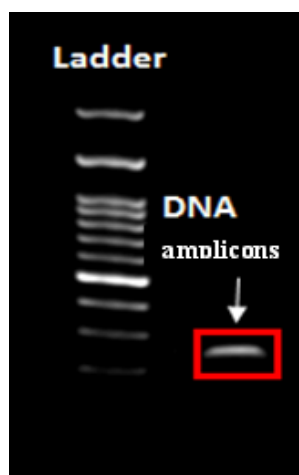
Εν συνεχεία, εισέρχεται στο μικρορευστονικό κανάλι πάνω από την περιοχή των βιοαισθητήρων prGO το BSA διάλυμα κάλυψης (0.2% w/v). Κατόπιν, το διάλυμα που περιέχει το DNA, εισάγεται αρχικά μόνο στη μαιανδρική περιοχή του μικρορευστονικού καναλιού (μονάδα

ενίσχυσης) και γίνεται η ενίσχυση του DNA μέσω της RPA μεθόδου. Κατά τη διάρκεια του βήματος της ενίσχυσης η θερμοκρασία ρυθμίζεται στους 39°C. Μετά από περίπου 1 ώρα το ενισχυμένο DNA ρέει πάνω από την περιοχή των prGO βιοαισθητήρων και καταγράφεται η αλληλεπίδραση της στρεπταβιδίνης με το b-DNA (Εικόνα 6.8α). Μετά το πείραμα, το ενισχυμένο DNA συλλέγεται και οπτικοποιείται μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης, επαληθεύοντας την επιτυχία της προτεινόμενης μεθόδου ενίσχυσης DNA μέσα στο μικροεργαστήριο σε PCB υπόστρωμα (Εικόνα 6.8 β).

Στην Εικόνα 6.8α παρουσιάζεται η ανίχνευση του ενισχυμένου DNA από δύο prGO βιοαισθητήρες στους οποίους έχει ακινητοποιηθεί στρεπταβιδίνη. Καθώς το b-DNA αλληλεπιδρά με τη στρεπταβιδίνη, η αντίσταση μειώνεται και η αλλαγή αυτή παρακολουθείται σε πραγματικό χρόνο. Έτσι, οι prGO βιοαισθητήρες είναι σε θέση να ανιχνεύσουν την ενισχυμένη αλληλουχία DNA όταν αυτή διέρχεται πάνω από την επιφάνειά τους. Τέλος, στην Εικόνα 6.8β επιβεβαιώνεται η ενίσχυση του DNA μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης. Μία μπάντα διακρίνεται ανάμεσα στη μπάντα των 100 και των 200 ζευγών βάσεων του ladder, όπως και ήταν αναμενόμενο, επαληθεύοντας την επιτυχημένη ενίσχυση του DNA μέσα στο μικροεργαστήριο χρησιμοποιώντας την RPA μέθοδο.



(α)



(β)

Εικόνα 6.8. (α) Ανίχνευση σε πραγματικό χρόνο του ενισχυμένου DNA, μετά την αλληλεπίδραση του με τη στρεπταβιδίνη, από δύο prGO βιοαισθητήρες όταν το ενισχυμένο DNA ρέει πάνω από τη περιοχή ανίχνευσης. Η αλληλεπίδραση του b-DNA με τη στρεπταβιδίνη έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης. **(β)** Φωτογραφία της μάντας του ενισχυμένου DNA μέσω της ηλεκτροφόρησης γέλης που επιβεβαιώνει την επιτυχημένη ενίσχυση του DNA μέσα στο μικροεργαστήριο που κατασκευάσαμε σε PCB υπόστρωμα.

6.8 Συμπεράσματα κεφαλαίου

Στο κεφάλαιο αυτό παρουσιάστηκε ένα πρωτότυπο μικροεργαστήριο σε υπόστρωμα τυπωμένου κυκλώματος (PCB) με ενσωματωμένους αισθητήρες prGO. Η διάταξη αυτή επιτρέπει την ενίσχυση DNA και εν συνεχεία την ανίχνευση του στην ίδια διάταξη. Αυτού του τύπου η προσέγγιση, μικροεργαστήριο σε PCB (LOPCB), επιτρέπει τη μαζική παραγωγή ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων που είναι κατάλληλα για ιατρικές και άλλες εφαρμογές (ανίχνευση διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών και διάγνωση ασθενειών). Ως πρώτη εφαρμογή χρησιμοποιήθηκε μια αλληλουχία DNA, 157 ζεύγη βάσεων, που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCAl* γονιδίου που σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών με την ενίσχυση να πραγματοποιείται μέσω της μεθόδου RPA, ενώ η ανίχνευση από τους βιοαισθητήρες prGO βασίζεται στην αλληλεπίδραση της βιοτίνης με τη στρεπταβιδίνη, δεδομένου ότι το DNA ήταν επισημασμένο με βιοτίνη και στο prGO είχε ακινητοποιηθεί στρεπταβιδίνη. Η επιτυχία της ενίσχυσης του DNA επιβεβαιώθηκε και με ηλεκτροφόρηση γέλης.

Βιβλιογραφικές αναφορές

- [1] M.A. Londoño, C.L. Harmon, J.E. Polston, Evaluation of recombinase polymerase amplification for detection of begomoviruses by plant diagnostic clinics, *Virology Journal* 13 (2016) 48.
- [2] E. Tegou, G. Pseiropoulos, M.K. Filippidou, S. Chatzandroulis, Low-temperature thermal reduction of graphene oxide films in ambient atmosphere: Infra-red spectroscopic studies and gas sensing applications, *Microelectronic Engineering* 159 (2016) 146-150.
- [3] P. Jolly, J. Rainbow, A. Regoutz, P. Estrela, D. Moschou, A PNA-based Lab-on-PCB diagnostic platform for rapid and high sensitivity DNA quantification, *Biosensors and Bioelectronics* (2018).

Κεφάλαιο 7: Συμπεράσματα διατριβής –Μελλοντικοί στόχοι

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή χρησιμοποιήθηκαν υλικά από την οικογένεια του γραφενίου και ευαίσθητα στρώματα πολυμερών για την κατασκευή αισθητήρων σε πλαστικά υποστρώματα. Συγκεκριμένα κατασκευάστηκαν και δοκιμάστηκαν: α) αισθητήρες παραμόρφωσης τύπου χωρητικότητας χρησιμοποιώντας GNPs και PDMS, β) χημικοί αισθητήρες τύπου χωρητικότητας με ευαίσθητα στρώματα πολυμερών σε υπόστρωμα πολυϊμιδίου για την ανίχνευση υγρασίας και ατμών αιθανόλης και μεθανόλης, γ) χημικοί και βιολογικοί αισθητήρες από prGO σε υποστρώματα διοξειδίου του πυριτίου και δ) μικροεργαστήρια σε PCB με ενσωματωμένους βιοαισθητήρες prGO. Για την κατασκευή όλων των αισθητήρων χρησιμοποιήθηκαν καινοτόμες τεχνολογίες κατασκευής (τεχνολογία μικροηλεκτρονικής, τεχνολογία τυπωμένων ηλεκτρονικών διατάξεων και νανοτεχνολογία) που επιτρέπουν τη μεγαλύτερη ολοκλήρωση και τη δυνατότητα μαζικής παραγωγής διατάξεων ανίχνευσης όσο και ολοκληρωμένων μικροεργαστηρίων. Πιο συγκεκριμένα, ο αισθητήρας παραμόρφωσης που κατασκευάστηκε μέτρησε επιτυχώς μικρές παραμορφώσεις ($\leq 0,2\%$), είχε μικρή εξάρτηση από τη θερμοκρασία και εμφάνισε σχεδόν γραμμική συμπεριφορά. Το πιο σημαντικό, είναι ότι ο αισθητήρας κατασκευάστηκε με πολύ χαμηλό κόστος, χρησιμοποιώντας έναν εύκολο στην εφαρμογή και ταχύ τρόπο. Για την κατασκευή του χημικού αισθητήρα πολυμερών παρουσιάστηκε μια πρωτότυπη μέθοδος που βασίζεται στην τεχνική της λιθογραφίας (επίστρωση και αποκόλληση υμενίων) μέσω της οποίας επιτρέπεται η επιλεκτική εναπόθεση πολυμερών τα οποία δεν είναι διαλυτά στο νερό. Οι χημικοί και βιολογικοί αισθητήρες prGO σε υποστρώματα διοξειδίου του πυριτίου χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση υγρασίας και βιομορίων (ανίχνευση της ακινητοποίησης της b-BSA και της αλληλεπίδρασης της με τη στρεπταβιδίνη, ανίχνευση αλληλουχίας DNA, μήκους 25 βάσεων, που σχετίζεται με τη μετάλλαξη G533C του RET γονιδίου και ανίχνευση ενισχυμένης αλληλουχίας DNA, 157 ζεύγη βάσεων, που περιέχει το εξόνιο 20 του *BRCAl* γονιδίου). Οι τελευταίοι βιολογικοί αισθητήρες οξειδίου του γραφενίου είναι αυτοί που ενσωματώθηκαν στο καινοτόμο, ολοκληρωμένο μικροεργαστήριο σε υπόστρωμα PCB που σχεδιάστηκε κατά τη διάρκεια της διατριβής. Η διάταξη αυτή επιτρέπει την ενίσχυση του DNA όσο και την ανίχνευση του μέσα στην ίδια διάταξη.

Η απόκριση όλων των διατάξεων που κατασκευάστηκαν συγκρίθηκε με αισθητήρες από τη βιβλιογραφία και βρέθηκε να είναι ανταγωνιστική με τις περισσότερες από τις διατάξεις, ενώ ταυτόχρονα οι τρόποι κατασκευής των διατάξεων που χρησιμοποιήσαμε είναι απλοί και γρήγοροι. Από την παρούσα διατριβή προέκυψαν πρωτότυπες δημοσιεύσεις σε περιοδικά με κριτές, ενώ τα επιμέρους αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί και σε διάφορα συνέδρια. Η παρούσα διατριβή μπορεί να αποτελέσει προπομπό και για νέες πιο βελτιωμένες διατάξεις ανίχνευσης καθώς και για μια νέα γενιά μικροεργαστηρίων με μεγαλύτερη ευαισθησία, μεγαλύτερη ολοκλήρωση και δυνατότητα μαζικής παραγωγής.

Κάποιοι από τους μελλοντικούς στόχους αφορούν τη βελτιστοποίηση της επιλεκτικότητας των αισθητήρων που κατασκευάστηκαν. Για παράδειγμα, για τη βελτίωση της επιλεκτικότητας των βιοαισθητήρων σκοπεύουμε να αναπτύξουμε και να χρησιμοποιήσουμε τη μέθοδο του υβριδισμού, αντί του μοντέλου βιοτίνης - στρεπταβιδίνης. Άλλοι ερευνητικοί στόχοι αφορούν την κατασκευή νέων μικροεργαστηρίων σε PCB που θα χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση DNA παθογόνων μικροοργανισμών για εφαρμογές τόσο στην ασφάλεια τροφίμων όσο και στην ιατρική (διάγνωση λοιμώξεων).

Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά με κριτές

1. “A flexible strain sensor made of graphene nanoplatelets/polydimethylsiloxane nanocomposite”, **M.K. Filippidou**, E. Tegou, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 142 (2015) 7–11.
2. “A fabrication process of flexible IDE capacitive chemical sensors using a two step lift-off method based on PVA patterning”, **M.K. Filippidou**, M. Chatzichristidi, S. Chatzandroulis, *Sensors & Actuators: B. Chemical* 284 (2019) 7–12.
3. “Low-temperature thermal reduction of graphene oxide films in ambient atmosphere: Infra-red spectroscopic studies and gas sensing applications”, E. Tegou, G. Pseiropoulos, **M.K. Filippidou**, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 159 (2016) 146–150.
4. “Detection of *BRCA1* gene on partially reduced graphene oxide biosensors”, **M.K. Filippidou**, C. Moritz Loukas, G. Kaprou, E. Tegou, P. Petrou, S. Kakabakos, A. Tserepi, S. Chatzandroulis, *Microelectronic Engineering* 216 (2019) 111093.
5. “DNA Amplification and Detection inside a Lab on PCB with Integrated Graphene Oxide Biosensors”, **M.K. Filippidou**, C. Moritz Loukas, G. Kaprou, P. Petrou, S. Kakabakos, A. Tserepi, S. Chatzandroulis, σε προετοιμασία για υποβολή.

Ανακοινώσεις σε συνέδρια

- «A Chemical Sensor Fabricated by a Versatile, Two Step Lift-off Method Using PVA Film as Sacrificial Layer to Precisely Pattern its Chemically Selective Layer», M.K. Filippidou, M. Chatzichristidi, V. Tsouti, E. Tegou, S. Chatzandroulis, 40th Micro and Nano Engineering (MNE 2014).
- «A Flexible Strain Sensor Made of Graphene Nano Platelets /Polydimethylsiloxane Nanocomposite», M.K. Filippidou, E. Tegou, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, 40th Micro and Nano Engineering (MNE 2014).
- «All-printed reduced graphene oxide gas sensors», Symeon Papazoglou, Marina Makrygianni, Myrto K. Filippidou, Stavros Chatzandroulis, Ioanna Zergioti (SPIE 2015).
- «Electrical detection of bacteria on reduced graphene oxide surfaces», E. Tegou, A. Katsogridaki, M.K. Filippidou, A. Ioannidis, S. Chatzipanagiotou, G. Tegos, S. Chatzandroulis (Micro & Nano 2015).
- «Graphene Nanoplatelet/Polymer Composite Sensors for Volatile Organic Compounds

Detection», M.K. Filippidou, V.Liakopoulos, E. Tegou, M. Chatzichristidi, S. Chatzandroulis (Micro & Nano 2015).

- «Aptamer-based bioassay for the sensitive detection of atrazine», L. Madianos, M.K. Filippidou, G. Tsekenis, E. Skotadis, S. Chatzandroulis, D. Tsoukalas (Micro & Nano 2015).

- «Design and fabrication of Lab –on –Chip (LoC) incorporating DNA amplification and detection on partially reduced graphene oxide biosensors», M. Filippidou, A. Stamouli, E. Tegou, G. Kaprou, Y. Petrou, A. Tserepi, and S. Chatzandroulis, 20th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (MicroTAS 2016).

- «GO biosensor for the detection of DNA with pM sensitivity», Myrto-Kyriaki Filippidou, Evangelia Tegou, Georgia Kaprou, Christos-Moritz Loukas, Angeliki Tserepi, Stavros Chatzandroulis (MRS 2018).