



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΩΝ ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

Αλληλεπίδραση Ακτινοβολίας Λέιζερ και Οργανικών Υλικών με Εφαρμογές σε Μικρο - αισθητήρες

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
Μπουτόπουλος Χρήστος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Ιωάννα Ζεργιώτη, Επίκουρη Καθηγήτρια Ε.Μ.Π (Επιβλέπουσα)
Αλέξανδρος Α. Σεραφετινίδης, Καθηγητής Ε.Μ.Π
Δημήτρης Τσουκαλάς, Καθηγητής Ε.Μ.Π

Αθήνα 2011

“It’s better to light a candle than to curse the darkness”

(Chinese Proverb)

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική πραγματοποιήθηκε στον τομέα Φυσικής της Σχολής Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και Φυσικών Επιστημών του Ε.Μ.Π., από τον Ιούλιο του 2007 έως τον Οκτώβριο του 2011. Την τριμελή συμβουλευτική επιτροπή αποτέλεσαν η επιβλέπουσα Επικ. Καθηγήτρια Ε.Μ.Π. Ιωάννα Ζεργιώτη, ο Καθηγητής Ε.Μ.Π. Αλέξανδρος Σεραφετινίδης και ο Καθηγητής Ε.Μ.Π. Δημήτρης Τσουκαλάς.

Κατά το χρονικό διάστημα που εργάστηκα για την παρούσα διατριβή, είχα την ευκαιρία να συνεργαστώ με ένα μεγάλο αριθμό από τα μέλη του τομέα Φυσικής καθώς και αρκετούς εξωτερικούς συνεργάτες. Η συνεισφορά τους για την ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής ήταν σημαντική. Τους ευχαριστώ ξεχωριστά, εκφράζοντας εκ των προτέρων την συγνώμη μου σε όσους, δίχως πρόθεση, παρέβλεψα.

Την επιβλέπουσα Επικ. Καθηγήτρια Ιωάννα Ζεργιώτη ευχαριστώ ιδιαίτερα για την καθοδήγηση, την ενθάρρυνση και την εμπιστοσύνη που μου έδειξε τα τελευταία έξι χρόνια που είχα την ευκαιρία να συνεργαστώ μαζί της. Η καθημερινή μας αλληλεπίδραση όλα αυτά τα χρόνια αποτέλεσε για εμένα μια μοναδική ευκαιρία να αποκτήσω επαγγελματισμό και ευρύ επιστημονικό ορίζοντα. Η δυνατότητα που μου παρείχε για συμμετοχή σε ανταγωνιστικά ερευνητικά προγράμματα, εξασφάλισε για εμένα ιδανικές συνθήκες για την πραγματοποίηση της διατριβής μου, δηλαδή ερευνητικές συνεργασίες υψηλού επιπέδου και αξιοπρεπή χρηματοδότηση.

Τα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, Καθηγητή Ε.Μ.Π. Αλέξανδρο Σεραφετινίδη και Καθηγητή Ε.Μ.Π. Δημήτρη Τσουκαλά, ευχαριστώ για τις συμβουλές και την πρόσβαση σε εξοπλισμό των ερευνητικών τους εργαστηρίων.

Τον Ερευνητή Δρ. Σταύρο Χατζανδρούλη και την Μεταδιδακτορική Ερευνήτρια Δρ. Β. Τσούτη, μέλη του Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του “ΕΚΕΦΕ” Δημόκριτος, ευχαριστώ για την άριστη συνεργασία τα τελευταία πέντε χρόνια. Η ερευνητική ομάδα με επικεφαλής τον Δρ. Σταύρο Χατζανδρούλη παρείχε τον μικρο-μηχανικό αισθητήρα για την ανάπτυξη των βιολογικών και χημικών αισθητήρων με την τεχνική LIFT (Laser Induced Forward Transfer).

Το Δρ. Ελευθέριο Τουλουπάκη ευχαριστώ για την εισαγωγή μου στο πεδίο των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων. Οι γνώσεις του στο πεδίο και η πειραματική του εμπειρία αποτέλεσαν για εμένα σημαντική βοήθεια για την ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων με την τεχνική LIFT. Ευχαριστώ επίσης την Ερευνήτρια Μ.Τ. Giardi (CNR, Rome) για την παροχή των υλικών και του εξοπλισμού για την ανάπτυξη και μέτρηση των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων, καθώς και για την φιλοξενία στο εργαστήριό της.

Τον Επικ. Καθ. Ε.Μ.Π. Θανάση Παπαθανασίου και τον υποψήφιο διδάκτορα Δημήτρη Παπαγεωργίου ευχαριστώ για τις πολύ χρήσιμες σε εμένα συζητήσεις μας σε ζητήματα διαβροχής επιφανειών.

Τον Καθηγητή Ε.Μ.Π. Πολύκαρπο Πίσση ευχαριστώ για τις χρήσιμες σε εμένα συζητήσεις σε ζητήματα νανοσύνθετων πολυμερών καθώς και για την πρόσβαση στον εξοπλισμό των ερευνητικών εργαστηρίων της ομάδας Διηλεκτρικής Φασματοσκοπίας.

Τον Ερευνητή Δρ. Νίκο Μπούκο του Ινστιτούτου Επιστήμης Υλικών του “ΕΚΕΦΕ” Δημόκριτος ευχαριστώ για διεξαγωγή των μετρήσεων TEM.

Τον Δρ. Αντώνη Φλωράκη ευχαριστώ για την διεξαγωγή των προσομοιώσεων της θερμοκρασιακής εξέλιξης κατά την ακτινοβολήση με Λέιζερ.

Τους Δρ. Emanuel Verelli, Δρ. Χρήστο Πανδή, Δρ. Κώστα Ραυτόπουλο, Δρ. Γιώργο Τσέκενη, Δρ. Ελλάς Σπυράτου, κα. Μυρτώ Φιλλιπίδου, κ. Bernard Klinkenberg και κ. Σπήλιο Ζιδρόπουλο ευχαριστώ για την βοήθειά τους σε πειραματικά και τεχνικά ζητήματα.

Την Ερευνήτρια του Ε.Ι.Ε. Δρ. Μαρία Κάνδυλα ευχαριστώ για την εμπύχωση, τις συζητήσεις μας σε ζητήματα Λείζερ και την βοήθεια στην υλοποίηση του προγράμματος LabVIEW.

Τέλος, ευχαριστώ όλους τους μεταπτυχιακούς και διδακτορικούς φοιτητές της Επικ. Καθ. Ι Ζεργιώτη για την συνεργασία μας τα χρόνια που μοιραστήκαμε τα ίδια ερευνητικά εργαστήρια. Ιδιαίτερα ευχαριστώ τους “νεότερους” υποψήφιους διδάκτορες Μαρίνα Μακρύγιαννη, Μαριαννέζα Χατζηπέτρου και Γιάννη Καλύρη.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	i
Περιεχόμενα	iii
Εισαγωγή	1
Κεφάλαιο 1: Ανασκόπηση των τεχνικών ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ ...	5
1.1 Μικρο-εναπόθεση	5
1.2 Ανάπτυξη μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (LIFT)	6
1.2.1 Εφαρμογή σε υποστρώματα δότες στερεάς φάσης.....	6
1.2.2 Περιορισμοί στην αρχική πειραματική προσέγγιση της τεχνικής.....	8
1.2.3 Ενδιάμεσο απορροφητικό στρώμα.....	9
1.2.4 Εφαρμογή σε υποστρώματα δότες υγρής φάσης	11
1.2.5 Πειραματική μελέτη του μηχανισμού εναπόθεσης	13
1.2.6 Θεωρητική προσέγγιση του μηχανισμού εναπόθεσης jet	15
1.3 Συναφείς τεχνικές μικρο-εναπόθεσης με χρήση Λέιζερ	17
1.3.1 Εκτόξευση βιολογικού υλικού με χρήση Λέιζερ (Laser Catapulting).....	17
1.3.2 Θερμική εκτύπωση με Λέιζερ (Laser Thermal Imaging)	18
1.4 Βασικές αρχές αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας Λέιζερ και ύλης	19
1.4.1 Διάδοση της ακτινοβολίας Λέιζερ στην ύλη	20
1.4.2 Μηχανισμοί απορρόφησης της ακτινοβολίας Λέιζερ	21
1.4.3 Η εξίσωση διάδοσης της θερμότητας.....	23
Αναφορές	25
Κεφάλαιο 2: Αισθητήρες χωρητικότητας επιφανειακής τάσης και Φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες.....	31
2.1 Χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών	31
2.1.1 Αρχή λειτουργίας	31
2.1.2 Τεχνικές επίστρωσης του πολυμερικού στρώματος	32
2.1.3 Αισθητήρες μικροπροβόλων.....	33
2.1.4 Αισθητήρες μεμβράνης.....	34
2.2 Βιολογικοί αισθητήρες χωρητικότητας επιφανειακής τάσης.....	35
2.3 Φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες	37
2.3.1 Φωτοσύνθεση	37
2.3.2 Αντίδραση Hill	38
2.3.3 Ζιζανιοκτόνα αναστολείς της φωτοσυνθετικής δράσης.....	39
2.3.4 Τεχνικές ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού	41
2.3.5 Τύποι φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων	41
2.4 Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή της τεχνικής LIFT στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων	42
Αναφορές	44
Κεφάλαιο 3: Πειραματικές διατάξεις, υλικά και μέθοδοι χαρακτηρισμού	49
3.1 Πειραματική διάταξη απευθείας εναπόθεσης υλικών υγρής φάσης με χρήση Λέιζερ	49
3.2 Μέθοδοι προετοιμασίας του υποστρώματος δότη	55
3.3 Μέθοδοι χαρακτηρισμού	56

3.3.1	Οπτική μικροσκοπία.....	56
3.3.2	Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης	57
3.3.3	Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης.....	57
3.3.4	Μικροσκοπία ατομικής δύναμης.....	57
3.4	Υλικά και μέθοδοι ανάπτυξης φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων	57
3.4.1	Απομόνωση θυλακοειδών μεμβρανών	57
3.4.2	Προσδιορισμός συγκέντρωσης της χλωροφύλλης.....	58
	Αναφορές	60
Κεφάλαιο 4: Διερεύνηση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων.....		61
4.1	Προσομοίωση της θερμοκρασιακής εξέλιξης στο υπόστρωμα δότη	61
4.2	Εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης	64
4.2.1	Επιλογή του μήκους κύματος	64
4.2.2	Επίδραση του ιξώδους στην διαδικασία LIFT υγρής φάσης	66
4.2.3	Η εξάρτηση του μεγέθους των εναποτιθέμενων δομών από την πυκνότητα ενέργειας 68	
4.3	Η εξάρτηση της γωνίας επαφής από την πυκνότητα ενέργειας.....	70
	Αναφορές	76
Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων ...		79
5.1	Περιγραφή του μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητας.....	79
5.2	Πειραματική διάταξη μέτρησης	81
5.3	Βελτιστοποίηση συνθηκών εναπόθεσης πολυμερών.....	81
5.4	Βελτιστοποίηση της απόκρισης του αισθητήρα μέσω επιλεκτικής κάλυψης των μεμβρανών με πολυμερή	85
5.5	Αποτελέσματα ανίχνευσης πτητικών ουσιών	87
	Αναφορές	90
Κεφάλαιο 6: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων επιφανειακής τάσης.....		91
6.1	Περιγραφή του αισθητήρα και της πειραματική διάταξης μέτρησης	91
6.2	Πρωτόκολλο ακινητοποίησης των ολιγονουκλεοτιδίων.....	92
6.3	Αποτελέσματα ανίχνευσης με χρήση της συμβατικής τεχνικής εναπόθεσης με πιπέττα.....	93
6.4	Αποτελέσματα ανίχνευσης με χρήση της τεχνικής μικρο-εναπόθεσης με LIFT	95
	Αναφορές	97
Κεφάλαιο 7: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη αμπερομετρικών φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων.....		99
7.1	Αρχή λειτουργίας.....	99
7.2	Πειραματική διάταξη μέτρησης	100
7.3	Απευθείας ακινητοποίηση φωτοσυνθετικών πρωτεϊνών με χρήση Λέιζερ	101
7.4	Επιλογή βέλτιστου τύπου ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας για την ανάπτυξη του αισθητήρα.....	106
7.5	Βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης.....	108
7.6	Ανίχνευση ζιζανιοκτόνων.....	111

Αναφορές	115
Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα - Προτάσεις.....	117
8.1 Συμπεράσματα.....	117
8.2 Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα	119
Παράρτημα	121
Περίληψη.....	127
Summary.....	129
Δημοσιοποίηση αποτελεσμάτων.....	131

Εισαγωγή

Η εφεύρεση των Λέιζερ στις αρχές της δεκαετία του 1960 εξασφάλισε στην επιστημονική κοινότητα ένα εξαιρετικό εργαλείο για ελεγχόμενη απόθεση ενέργειας με μεγάλη χωρική ακρίβεια. Σαν αποτέλεσμα της μοναδικής αυτής ιδιότητας, η χρήση της ακτινοβολίας Λέιζερ έχει βρει πλήθος εφαρμογών στο πεδίο της κατεργασίας των υλικών. Ιδιαίτερα στο πεδίο των βιομηχανικών εφαρμογών τα Λέιζερ υψηλής ισχύος αποτελούν ένα βασικό εργαλείο για κατεργασία μετάλλων (κοπή, συγκόλληση, εγχάραξη κ.α.) και άλλων υλικών.

Η δυνατότητα ελέγχου της ακτινοβολίας Λέιζερ με χρήση οπτικών συστημάτων έχει οδηγήσει σε μια σειρά από εφαρμογές που σχετίζονται με μικρο-διεργασίες και μικρο-κατασκευές. Η πιο διαδεδομένη ίσως εφαρμογή των Λέιζερ στον 'μικρο-κοσμο' είναι γνωστή ως μικρο-μηχανική με χρήση Λέιζερ (laser micromachining), η οποία στοχεύει στον σχηματισμό μικρο-δομών μέσω της επιλεκτικής αποδόμησης ενός τμήματος ενός συμπαγούς υλικού. Η ανάπτυξη συστημάτων Λέιζερ υπερ-βραχέων παλμών σε συνδυασμό με την χρήση συστημάτων κίνησης υψηλής ακρίβειας, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη συστημάτων μικρο-μηχανικής με ακρίβεια μικρομέτρου.

Η εξέλιξη της τεχνολογίας της Μικροηλεκτρονικής τις τελευταίες δεκαετίες έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας πληθώρας μικρο-ηλεκτρομηχανικών συστημάτων αίσθησης τόσο στο πεδίο των βιοαισθητήρων όσο και σε αυτό των χημικών αισθητήρων. Μικρομηχανικά συστήματα όπως μικρο-πρόβολοι, μεμβράνες χωρητικότητας και μεμβράνες συντονισμού θέτουν ιδιαίτερες απαιτήσεις για την επιλεκτική εναπόθεση των ευαίσθητων υλικών που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικρο-αισθητήρων . Το ίδιο ισχύει και για ηλεκτροχημικά συστήματα αίσθησης που βασίζονται σε ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια, μικρο-ηλεκτρόδια ή και νανοδομές όπως νανοσωματίδια, νανοσωλήνες και νανοκαλώδια. Η υψηλή διακριτική ικανότητα στην εναπόθεση (ακρίβεια μικρομέτρων) και η προστασία των ευαίσθητων υποστρωμάτων αίσθησης από την επαφή με τον φορέα του υλικού, αποτελούν τις δύο βασικές προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούν οι τεχνικές εναπόθεσης. Ως εκ τούτου, περιορίζεται σημαντικά το εύρος των τεχνικών εναπόθεσης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη των μικρο-συστημάτων αίσθησης. Διαδεδομένες συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης όπως η εκτύπωση από μικρο-επαφή (microcontact printing), η εκτύπωση με χρήση στάμπας και η εκτύπωση μεταξοτυπίας (screen printing) είναι πρακτικά ανεφάρμοστες στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων, δεδομένου ότι βασίζονται σε επαφή του φορέα του υλικού και του υποστρώματος.

Η τεχνική της ανάπτυξης μικροδομών με χρήση Λέιζερ (Laser Induced Forward Transfer – LIFT) αναπτύχθηκε τα τελευταία είκοσι χρόνια ως εναλλακτική τεχνική μικρο-εναπόθεσης υλικών. Οι σημαντικές δυνατότητες της τεχνικής μικρο-εναπόθεσης LIFT αποτέλεσαν το εφαλτήριο για την ιδέα της εφαρμογής της για την ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων. Η τεχνική LIFT είναι μια τεχνική μικρο-εναπόθεσης στην οποία δεν απαιτείται επαφή (non-contact printing) και μπορεί να λάβει χώρα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η προστασία των ιδιαίτερα ευαίσθητων μικροσυστημάτων αίσθησης. Η τεχνική μικρο-εναπόθεσης LIFT αποτελεί μια τεχνική ταχείας προτυποποίησης η οποία δεν περιλαμβάνει την χρήση μάσκας. Κατά συνέπεια μια διάταξη μικρο-εναπόθεσης LIFT μπορεί να προσαρμοστεί εύκολα και με χαμηλό κόστος ώστε να καλύψει τις ανάγκες εναπόθεσης πλήθους διαφορετικών υλικών σε μικρο-συστήματα αίσθησης διαφορετικής μορφολογίας. Η ελάχιστη διακριτική ικανότητα είναι της τάξης των μερικών μικρομέτρων και καλύπτει τις ανάγκες που θέτουν τα περισσότερα μικρο-συστήματα αίσθησης.

Επιπρόσθετα η τεχνική είναι εφαρμόσιμη τόσο σε υγρά χαμηλού ιξώδους όσο και σε πάστες (ιξώδες $\sim 10^5$ cP) αλλά και στερεά φιλμ.

Στόχο για την παρούσα διδακτορική διατριβή αποτέλεσε η εφαρμογή της τεχνικής LIFT υγρής φάσης για την ανάπτυξη χημικών και βιολογικών μικρο-αισθητήρων. Η διερεύνηση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση σταγόνων πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης διαφορετικού ιξώδους αποτέλεσε την βάση για την βελτιστοποίηση των παραμέτρων της τεχνικής. Η εργασία στα πρότυπα διαλύματα ανέδειξε δύο βασικά πλεονεκτήματα της τεχνολογίας LIFT που αξιοποιήθηκαν για την ανάπτυξη των δύο εφαρμογών.

Βασικό πλεονεκτήματα της τεχνικής ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ αναδείχθηκε η υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα (ακρίβεια μικρομέτρων) εξαιτίας της εντοπισμένης και ταχείας εναπόθεσης ενέργειας στα οργανικά υλικά στόχους. Μικρο-δομές πολυμερών και ολιγονουκλεοτιδίων εναποτέθηκαν επιλεκτικά στις επιφάνειες μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας για την ανάπτυξη των χημικών και βιολογικών μικρο-αισθητήρων αντίστοιχα. Οι δύο διαφορετικοί τύποι των μικρο-αισθητήρων που υλοποιήθηκαν χαρακτηρίστηκαν για την ανίχνευση πτητικών οργανικών ουσιών, υγρασίας και μεταλλάξεων της ασθένειας β-θαλασσαιμίας (επίπεδα ανίχνευσης nM).

Επιπλέον, η διερεύνηση της εναπόθεσης ενός πρότυπου βιολογικού διαλύματος σε ένα υπόστρωμα γραφίτη, ανέδειξε την χρήση της τεχνικής LIFT ως ενός πρωτότυπου μέσου ακινητοποίησης βιολογικού υλικού για εφαρμογές ανάπτυξης βιοαισθητήρων. Η τεχνική της απευθείας ακινητοποίησης προέκυψε αποκλειστικά από την χρήση LIFT δεν εμπεριέχει την χρήση χημικών και δεν μπορεί να αναπαραχθεί με χρήση πιπέττας ή άλλων συμβατικών μέσων εναπόθεσης. Ο μηχανισμός της απευθείας ακινητοποίησης προκύπτει λόγω της μετάβασης φάσης της διαβρεξιμότητας των υποστρωμάτων από υδρόφοβη σε υδρόφιλη συμπεριφορά. Ο μηχανισμός των αλλαγών φάσης διαβρεξιμότητας επιφανειών κατά την εναπόθεση μικρο-δομών με Λέιζερ, παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον για την τεχνολογία των βιοαισθητήρων και διερευνήθηκε πειραματικά με μετρήσεις γωνίας επαφής. Παράλληλα αξιοποιήθηκε για την ανάπτυξη φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων για την ανίχνευση τοξικών ουσιών (επίπεδα ανίχνευσης nM)

Η εργασία αποτελείται από οκτώ Κεφάλαια τα οποία οργανώνονται ως εξής:

Στο Κεφάλαιο 1 γίνεται ανασκόπηση της τεχνικής ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (Laser Induced Forward Transfer – LIFT). Οι κυριότερες εφαρμογές των τεχνικών LIFT στερεάς και υγρής φάσης διακρίνονται σε δύο ξεχωριστές ενότητες. Σε ξεχωριστή ενότητα αναπτύσσονται επίσης οι περιορισμοί και τα μειονεκτήματα της αρχικής προσέγγισης της τεχνικής LIFT στερεάς φάσης. Επιπρόσθετα, εισάγεται η έννοια του ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος (Dynamic Release Layer, DRL), μιας καινοτόμας προσθήκης στην συμβατική τεχνική LIFT. Ο μηχανισμός της τεχνικής LIFT υγρής φάσης, η οποία αποτέλεσε βασικό αντικείμενο της παρούσας διατριβής, παρουσιάζεται τόσο από πειραματικές εργασίες όσο και από την σκοπιά της θεωρητικής προσέγγισης. Στο τέλος του κεφαλαίου παρουσιάζονται οι βασικές αρχές της αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας Λέιζερ και ύλης.

Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται μια ανασκόπηση στους τρεις βασικούς τύπους αισθητήρων που εξετάστηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Αρχικά, παρουσιάζεται το πεδίο των χημικών και βιολογικών αισθητήρων επιφανειακής τάσης. Έμφαση δίνεται στους μικρο-αισθητήρες χωρητικότητας που βασίζονται σε μεμβράνες και προβόλους. Το πεδίο των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων ανασκοπείται με έμφαση στην αρχή

λειτουργίας και τις τεχνικές ακινητοποίησης του φωτοσυνθετικού υλικού. Στο τέλος του κεφαλαίου παρουσιάζονται αναλυτικά τα αναμενόμενα πλεονεκτήματα από την χρήση της τεχνικής LIFT στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων.

Στο Κεφάλαιο 3 γίνεται μια αναλυτική παρουσίαση της αυτοματοποιημένης πειραματικής διάταξης για την απευθείας εναπόθεση υλικών υγρής φάσης με χρήση Λέιζερ, η οποία αναπτύχθηκε στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Επιπρόσθετα, παρουσιάζονται οι τεχνικές προετοιμασίας για τα υποστρώματα δότες, οι τεχνικές μετρολογίας για τα πάχη των υγρών φιλμ και τους όγκους των σταγόνων, καθώς και μια σύντομη περιγραφή των συστημάτων και των τεχνικών χαρακτηρισμού που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης, αναλύεται το πρωτόκολλο απομόνωσης των θυλακοειδών μεμβρανών, οι οποίες αποτελούν το ενεργό φωτοσυνθετικό υλικό για την ανάπτυξη των αισθητήρων του Κεφαλαίου 7.

Στο Κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται η διερεύνηση της τεχνικής LIFT για την μικρο-εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης-νερού διαφορετικού ιξώδους. Εξετάζεται η επίδραση διαφόρων πειραματικών συνθηκών (επιλογή μήκους κύματος, πυκνότητα ενέργειας) στην μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης αποτέλεσε στόχο της παραπάνω μελέτης. Τα αποτελέσματα αξιοποιήθηκαν στο Κεφάλαιο 5 για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων όπου υπήρξε απαίτηση μεγάλης χωρικής διακριτικής ακρίβειας στις εναποτιθέμενες δομές. Επιπρόσθετα, διερευνάται η εξάρτηση της γωνίας επαφής των σταγόνων με το υπόστρωμα δέκτη από τις συνθήκες της τεχνικής LIFT. Η γωνία επαφής είναι μέτρο της διαβρεξιμότητας μια επιφάνειας, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη βιοαισθητήρων. Για τον λόγο αυτό, επιλέχθηκε ως πρότυπο υγρό ένα διάλυμα ενζύμου και ως υπόστρωμα δέκτης ένα ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας γραφίτη. Τα αποτελέσματα επέδειξαν δυνατότητα μετάβασης από συνθήκες μερικής διαβρεξιμότητας σε μία κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας μέσω ελέγχου των συνθηκών LIFT. Η σημαντική αυτή παρατήρηση αξιοποιήθηκε στο Κεφάλαιο 7 για την ανάπτυξη των βιολογικών φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων.

Στο Κεφάλαιο 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ανάπτυξης χημικών αισθητήρων με χρήση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση πολυμερικών διαλυμάτων. Αρχικά, βελτιστοποιήθηκαν οι συνθήκες εναπόθεσης των πολυμερικών διαλυμάτων σε επίπεδα υποστρώματα αποδέκτες. Η υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα της τεχνικής επέτρεψε την επιλεκτική κάλυψη των μεμβρανών των μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας με το πολυμερικό στρώμα, γεγονός που μεγιστοποίησε την απόκρισή τους. Αξιοποιώντας το σημαντικό αυτό αποτέλεσμα, οι αισθητήρες δίμορφων σχηματισμών πυριτίου-πολυμερούς που αναπτύχθηκαν αξιοποιήθηκαν για την ανίχνευση υγρασίας και αιθανόλης.

Στο Κεφάλαιο 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάπτυξης βιολογικών αισθητήρων επιφανειακής τάσης με την χρήση της τεχνικής LIFT. Ο μικρομηχανικός βιοαισθητήρας χωρητικότητας που αναπτύχθηκε αξιοποιήθηκε για την ανίχνευση μιας αντίδρασης αλληλουχιών DNA, που σχετίζονται με την ασθένεια της μεσογειακής αναιμίας. Το πρωτόκολλο ακινητοποίησης και αλληλεπίδρασης των βιολογικών υλικών εφαρμόστηκε αρχικά με χρήση της συμβατικής τεχνικής εναπόθεσης πιπέττας. Στην συνέχεια, η τεχνική LIFT χρησιμοποιήθηκε για την επιλεκτική μεταφορά του βιολογικού υλικού στις μεμβράνες του αισθητήρα.

Στο Κεφάλαιο 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάπτυξης φωτοσυνθετικών αισθητήρων με χρήση της τεχνικής LIFT. Αρχικά, περιγράφεται η αρχή λειτουργίας του αμπερομετρικού φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα που αναπτύχθηκε. Παρουσιάζεται επίσης η βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης του φωτοσυνθετικού υλικού και τα

χαρακτηριστικά λειτουργίας του αισθητήρα. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο φαινόμενο της απευθείας ακινητοποίησης του φωτοσυνθετικού υλικού στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων ως αποτέλεσμα της χρήσης της τεχνικής LIFT. Το φαινόμενο προκύπτει αποκλειστικά από την χρήση της τεχνολογίας LIFT και επαληθεύεται πειραματικά με αμπερομετρικές μετρήσεις και μικροσκοπία SEM.

Τέλος, στο Κεφάλαιο 8 συνοψίζονται τα βασικά συμπεράσματα της διατριβής και παρατίθενται προτάσεις για περαιτέρω έρευνα.

Κεφάλαιο 1: Ανασκόπηση των τεχνικών ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ

Στο Κεφάλαιο 1 γίνεται ανασκόπηση της τεχνικής ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (Laser Induced Forward Transfer – LIFT). Οι κυριότερες εφαρμογές των τεχνικών LIFT στερεάς και υγρής φάσης διακρίνονται σε δύο ξεχωριστές ενότητες. Σε ξεχωριστή ενότητα αναπτύσσονται επίσης οι περιορισμοί και τα μειονεκτήματα της αρχικής προσέγγισης της τεχνικής LIFT στερεάς φάσης. Επιπρόσθετα, εισάγεται η έννοια του ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος (Dynamic Release Layer, DRL), μιας καινοτόμας προσθήκης στην συμβατική τεχνική LIFT. Ο μηχανισμός της τεχνικής LIFT υγρής φάσης, η οποία αποτέλεσε βασικό αντικείμενο της παρούσας διατριβής, παρουσιάζεται τόσο από πειραματικές εργασίες όσο και από την σκοπιά της θεωρητικής προσέγγισης. Στο τέλος του κεφαλαίου παρουσιάζονται οι βασικές αρχές της αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας Λέιζερ και ύλης.

1.1 Μικρο-εναπόθεση

Η δυνατότητα εναπόθεσης δομών λειτουργικών υλικών με υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα (διαστάσεις μm) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα τεχνολογικών εφαρμογών. Ιδιαίτερα τα πεδία της μικροηλεκτρονικής, των ολοκληρωμένων οπτικών και των βιολογικών μικρο-συστοιχιών (DNA, protein microarrays) θέτουν υψηλές προδιαγραφές για τις τεχνικές μικρο-εναπόθεσης όπως υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα, ακριβή έλεγχο στις διαστάσεις των εναποτιθέμενων δομών, διατήρηση των ιδιοτήτων των λειτουργικών υλικών μετά την εναπόθεση, χαμηλό κόστος, ταχύτητα και απλότητα στην χρήση.

Οι κατά περίπτωση οι τεχνικές εναπόθεσης που επικρατούν εξυπηρετούν την πλειονότητα των τεχνικών προδιαγραφών που θέτει η κάθε εφαρμογή. Οι τεχνικές εναπόθεσης μπορούν να διαχωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες:

- Τεχνικές μεταφοράς ενός προτύπου (pattern transfer techniques)
- Τεχνικές απευθείας εγγραφής (direct write techniques)

Η φωτολιθογραφία και η εκτύπωση από μικρο-επαφή [Alom et al. 2007] (microcontact printing - μCP) είναι δύο από τις πιο αντιπροσωπευτικές τεχνικές εναπόθεσης βασισμένες στην μεταφορά ενός προτύπου. Στην περίπτωση της φωτολιθογραφίας, το πρότυπο για την μεταφορά των δομών αποτελείται από μια ειδικά σχεδιασμένη μάσκα ενώ στην περίπτωση της εκτύπωσης από μικρο-επαφή από ένα ειδικά σχεδιασμένο καλούπι. Αυτού του είδους οι τεχνικές είναι κατάλληλες για βιομηχανοποιημένη παραγωγή μιας και προσφέρουν την δυνατότητα μαζικής παραγωγής ομοίων μονάδων. Παράλληλα, η εξέλιξη στην τεχνολογία της φωτολιθογραφίας με την χρήση πηγών φωτός στο βαθύ υπεριώδες έχει οδηγήσει την τεχνολογία αυτή στην επίτευξη της εξαιρετικής διακριτικής ικανότητας των λίγων νανομέτρων [Bratton et al. 2006]. Ωστόσο, στην περίπτωση που απαιτείται μια μεταβολή στο επιθυμητό πρότυπο (μάσκα ή καλούπι), γεγονός που συχνά συμβαίνει στα πρώτα

στάδια ανάπτυξης ενός προϊόντος, οι παραπάνω τεχνολογίες αποδεικνύονται δαπανηρές και χρονοβόρες. Πρόσθετοι περιορισμοί στην χρήση των τεχνικών μεταφοράς προτύπου τίθενται στην περίπτωση που το υπόστρωμα δέκτης είναι εύκαμπτο.

Σε αντίθεση με τις τεχνικές μεταφοράς προτύπου οι τεχνικές απευθείας εγγραφής βρίσκουν εφαρμογή σε εφαρμογές ταχείας προτυποποίησης όπου η ευελιξία στην χρήση είναι απαραίτητη [Hon et al. 2008]. Οι τεχνικές απευθείας εγγραφής βασίζονται στην μεταφορά μιας δομής υλικού σε ένα υπόστρωμα δέκτη χωρίς την χρήση μάσκας ή καλουπιού. Η μεταφορά σύνθετων δομών γίνεται με σειριακό τρόπο, δηλαδή με επαναλαμβανόμενη μεταφορά της θεμελιώδους δομής εωσότου σχηματιστεί η σύνθετη δομή. Η συγκεκριμένη λειτουργία παρέχει στις εν λόγω τεχνικές μεγαλύτερη ευελιξία και οικονομία σε σύγκριση με τις τεχνικές μεταφοράς προτύπου, στις οποίες, η κάθε σύνθετη δομή απαιτεί σχεδιασμό και χρήση ξεχωριστού προτύπου (μάσκα ή καλούπι)

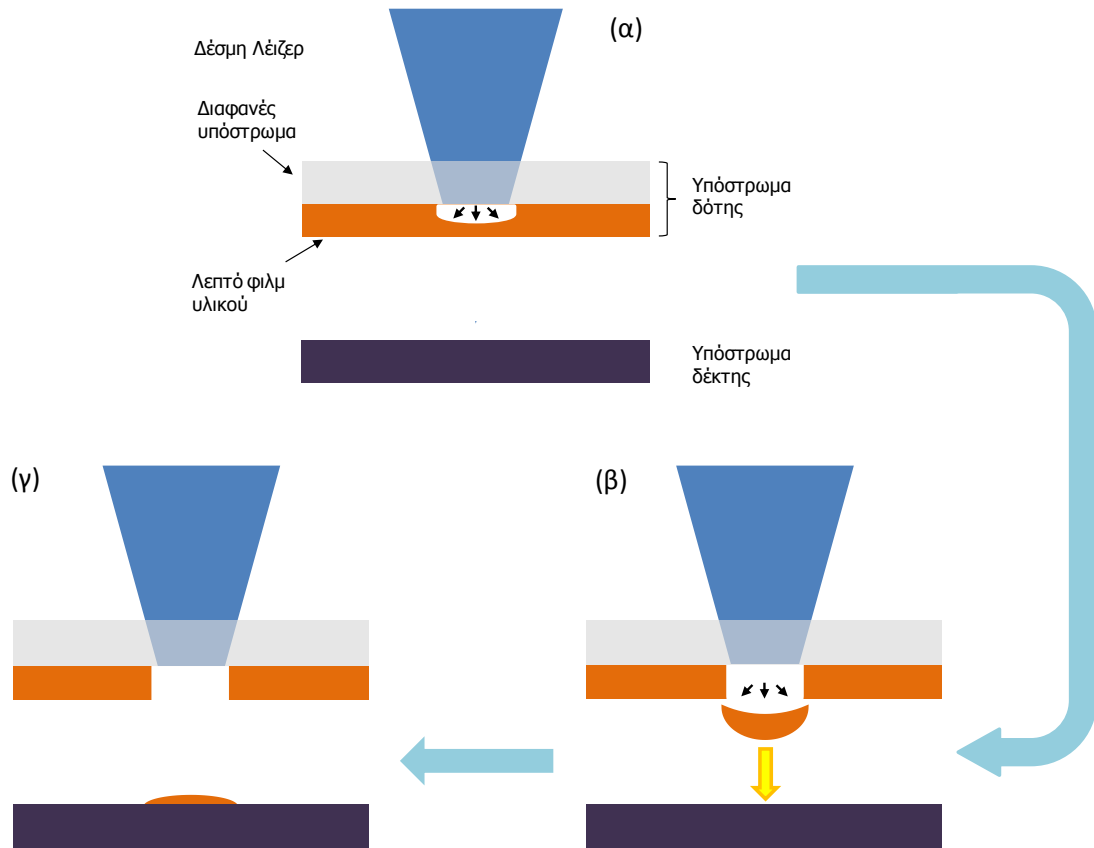
1.2 Ανάπτυξη μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (LIFT)

Η τεχνική της ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (Laser Induced Forward – LIFT) έχει αναπτυχθεί τα τελευταία 20 χρόνια ως μια εναλλακτική τεχνική μικρο-εναπόθεσης για εφαρμογές ταχείας προτυποποίησης. Το LIFT κατατάσσεται στις τεχνικές απευθείας εγγραφής και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μεταφορά υλικών σε υγρή ή στερεή φάση. Βασίζεται στην χρήση μιας δέσμης Λέιζερ για την επιλεκτική μεταφορά ενός υλικού από ένα υπόστρωμα δότη σε ένα υπόστρωμα αποδέκτη. Το υπόστρωμα δότη αποτελείται από ένα διαφανές στην δέσμη Λέιζερ υπόστρωμα στήριξης, στο οποίο, επιστρώνεται το προς εναπόθεση υλικό σε υγρή ή στερεή φάση. Το υπόστρωμα δότη και αποδέκτης τοποθετούνται αντικριστά και σε κοντινή απόσταση. Με ακτινοβολήση του υποστρώματος δότη με την δέσμη Λέιζερ είναι δυνατή η μεταφορά καλά καθορισμένων δομών στο υπόστρωμα αποδέκτη με μικρομετρική ακρίβεια. Βασικά πλεονέκτημα της τεχνολογία LIFT είναι η απλότητα στην χρήση και η μεγάλη ποικιλία υλικών στα οποία μπορεί να εφαρμοστεί (μέταλλα, πολυμερή, βιολογικά διαλύματα, πάστες μεταλλικών νανοσωματιδίων κ.α.). Επιπρόσθετα, σε πρόσφατες εργασίες έχει επιδειχθεί πως η τεχνική μπορεί να επιτύχει χωρική διακριτική ικανότητα έως και 200 nm για την εναπόθεση μεταλλικών δομών. Μια συνήθης πειραματική διάταξη LIFT περιλαμβάνει τα οπτικά διαμόρφωσης και εστίασης της δέσμης Λέιζερ, αυτοματοποιημένες βάσεις στήριξης του υποστρώματος δότη και αποδέκτη και ένα ενσωματωμένο σύστημα μικροσκοπίου. Τέτοιου είδους συστήματα, πέραν της διαδικασίας εναπόθεσης προσφέρουν την δυνατότητα για παράλληλες διεργασίες όπως η επιλεκτική ανόπτηση, θέρμανση, στερεοποίηση και μικρο-μηχανική επιφανειών. Οι δυνατότητες αυτές καθιστούν τους προηγμένους σταθμούς εναπόθεσης LIFT ένα εξαιρετικό εργαλείο για εφαρμογές ταχείας προτυποποίησης.

1.2.1 Εφαρμογή σε υποστρώματα δότες στερεάς φάσης

Αναζητώντας την πρώτη αναφορά στην ιδέα της ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ (Laser Induced Forward Transfer, LIFT) βρίσκουμε μια εργασία του 1970 όπου παρουσιάζεται η δυνατότητα μεταφοράς υλικού από ένα υπόστρωμα δότη σε ένα υπόστρωμα δέκτη μεταξύ των οποίων μεσολαβεί ένα διάστημα αέρα [Levene et al. 1970]. Ένα μελάνι γραφομηχανής αποτέλεσε το πρώτο υλικό που εναποτέθηκε σε ένα υπόστρωμα δέκτη, τοποθετημένο σε απόσταση 100 μm από το υπόστρωμα δότη, αφού πρώτα

ακτινοβολήθηκε με ένα Nd:YAG Λείζερ. Οι συγγραφείς της εργασίας στόχευσαν σε μια εφαρμογή απευθείας σήμανσης αλλά η εργασία τους έμεινε στην αφάνεια έως και το 1990.



Εικόνα 1: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής LIFT α) Η ακτινοβολή του υποστρώματος δότη προκαλεί ένα θύλακα αερίων υψηλής πίεσης στην διεπιφάνεια υπόστρωμα δότη-λεπτού φιλμ. Παράλληλα ένα μέτωπο τήξης διαδίδεται προς το ελεύθερο άκρο του λεπτού φιλμ. β) Η εκτόνωση του θύλακα αερίων υψηλής πίεσης ωθεί προς τα εμπρός το υπερκείμενο κομμάτι του λεπτού φιλμ γ) Ο σχηματισμός της δομής λαμβάνει χώρα με την εναπόθεση του λεπτού φιλμ στο υπόστρωμα δέκτη.

Το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για την τεχνική αναθερμάνθηκε το 1986 ύστερα από μία πρωτότυπη εργασία μεταφοράς δομών χαλκού με χρήση ενός ειδικού θαλάμου κενού [Bohandy et al. 1986]. Στην εργασία αυτή γραμμές χαλκού εναποτέθηκαν σε υπόστρωμα τηγμένης πυριτίας (fused silica) με χρήση ενός excimer Λείζερ. Επιδείχτηκε επίσης πως η διαδικασία της ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λείζερ μπορεί να λάβει χώρα και κάτω από ατμοσφαιρικές συνθήκες [Bohandy et al. 1988]. Η ερευνητική αυτή ομάδα ήταν και η πρώτη που απέδωσε τον όρο LIFT στην τεχνική ενώ πρότεινε και ένα μοντέλο για την μηχανισμό της. Το μοντέλο αυτό είναι έως και σήμερα αποδεκτό για την εναπόθεση υλικών από ένα υπόστρωμα δότη στερεάς φάσης και εμφανίζεται σχηματικά στην **Εικόνα 1**. Αρχικά η δέσμη Λείζερ θερμαίνει την διεπιφάνεια υποστρώματος-λεπτού φιλμ. Σαν αποτέλεσμα της θέρμανσης, ένα μέτωπο τήξης κινείται κατά μήκος του λεπτού φιλμ εωσότου φθάσει στην μπρός του επιφάνεια. Το λιωμένο τμήμα του λεπτού φιλμ ωθείται προς το υπόστρωμα δέκτη, όταν ένα τμήμα του λεπτού φιλμ στην διεπιφάνεια ξεπεράσει το σημείο εξαχνωσης. Η δύναμη της ώθησης είναι αποτέλεσμα της εκτόνωσης του θύλακα αερίων υψηλής πίεσης που προκύπτει κατά την εξαχνωση μέρους του λεπτού φιλμ.

Η εφαρμογή της τεχνικής σε υποστρώματα δότες στερεάς φάσης, έλαβε σε σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλο ενδιαφέρον από την επιστημονική κοινότητα, εξαιτίας των πλεονεκτημάτων της μεγάλης διακριτικής ικανότητας και της δυνατότητας ταχείας προτυποποίησης [Kyrgkis et al. 2006, Arnold et al. 2007]. Σαν αποτέλεσμα, ένας μεγάλος αριθμός εργασιών έχουν αναφερθεί για την εναπόθεση μιας πληθώρας μεταλλικών υλικών όπως βανάδιο [Mogyorósi et al. 1989], χρυσό [Bohandy et al. 1988, Landström et al. 2004], αλουμίνιο [Willis et al. 2004, Landström et al. 2004], βολφράμιο [Kantor et al. 1994], νικέλιο [Willis et al. 2004, Sano et al. 2002] και χρώμιο [Zergioti et al. 1998]. Η τεχνική LIFT έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την εναπόθεση οξειδίων όπως Al_2O_3 [Greer et al. 1988], In_2O_3 [Zergioti et al. 1998], και V_2O_5 [Chakraborty et al. 2007] και του υπεραγωγού $YBa_2Cu_3O_7$ [Fogarassy et al. 1989]. Παρόλα τον μεγάλο αριθμό εργασιών, οι εναποθέσεις οξειδίων ήταν λιγότερο επιτυχημένες από αυτές που επιτεύχθηκαν στην περίπτωση των μετάλλων. Πιο πρόσφατα, έχουν αναφερθεί εργασίες για ανάπτυξη μικρο-δομών με χρήση LIFT, υλικών όπως αγωγή και ημιαγωγή πολυμερή [Thomas et al. 2007, Zergioti et al. 2011], νανοσύνθετα τιτανίας [Sakata et al. 2005], νανοσύνθετα πολυμερούς – νανοσωλήνων άνθρακα [Boutopoulos et al. 2010], νανοσωλήνων άνθρακα [Chang-Jian et al. 2006] και ημιαγωγών [Narazaki et al. 2008]. Με την σχετική κίνηση του υποστρώματος δότη με το υπόστρωμα δέκτη είναι δυνατή η μεταφορά δυσδιάστατων δομών. Επίσης, πολυστρωματικές δομές είναι δυνατόν να εναποτεθούν με την διαδοχική χρήση υποστρωμάτων δότη από διαφορετικό υλικό.

1.2.2 Περιορισμοί στην αρχική πειραματική προσέγγιση της τεχνικής

Παρόλα την επιτυχή της εφαρμογή για την εναπόθεση μετάλλων, η αρχική πειραματική προσέγγιση της τεχνικής LIFT σε υποστρώματα δότες στερεάς φάσης παρουσιάζει αρκετές αδυναμίες.

Το βασικό μειονέκτημα της τεχνικής είναι η τήξη του υλικού του υποστρώματος δότη που πρόκειται να εναποτεθεί. Η τήξη μπορεί να λάβει χώρα στο σύνολο του πάχους του υλικού που ακτινοβολείται ή σε μέρος αυτού ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Κατά την διαδικασία της τήξης και της στερεοποίησης οι φυσικές ιδιότητες των περισσοτέρων υλικών επηρεάζονται και αυτό επιδρά στην λειτουργικότητα των εναποτιθέμενων δομών. Ιδιαίτερα στην περίπτωση των μετάλλων, η τήξη σε περιβάλλον ατμοσφαιρικών συνθηκών, μπορεί να οδηγήσει σε οξείδωση η οποία επιδρά αρνητικά στις ηλεκτρικές ιδιότητες των εναποτιθέμενων δομών. Στην περίπτωση των κεραμικών υλικών και των οξειδίων, η τήξη κατά την μεταφορά του υλικού οδηγεί σε μη αντιστρεπτές αλλαγές στην δομή τους και ως εκ τούτου η πρώιμη τεχνική LIFT δεν ενδείκνυται.

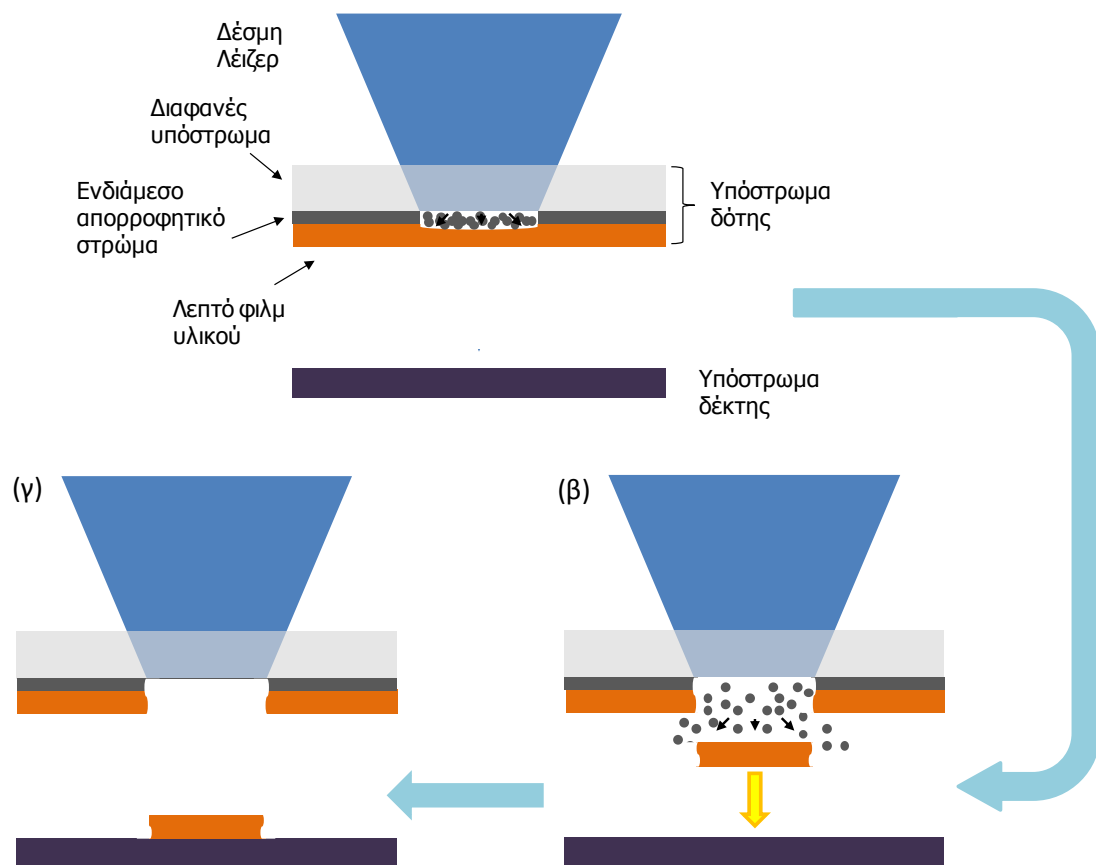
Σημαντικό επίσης μειονέκτημα είναι ο περιορισμός της τεχνικής σε υλικά που απορροφούν ισχυρά την δέσμη Λέιζερ. Μια πληθώρα βιολογικών υλικών σε στερεή ή υγρή βάση αλλά και πολυμερικών υλικών εμφανίζουν χαμηλούς συντελεστές απορρόφησης για ένα μεγάλο εύρος μηκών κύματος που καλύπτουν τα εμπορικά Λέιζερ. Σαν αποτέλεσμα, η πρώιμη τεχνική LIFT παρέμεινε ανεφάρμοστη σε τέτοιου είδους υλικά.

Το κυρίαρχο ζήτημα που αντιμετώπισε η τεχνική για την επιτυχή εναπόθεση ευαίσθητων υλικών ήταν η εξάλειψη ή ελαχιστοποίηση της επιρροής στις φυσικές τους ιδιότητες. Υπήρξε ανάγκη για την προστασία των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των εναποτιθέμενων δομών (χημική σύσταση, ηλεκτρικές ιδιότητες, μορφολογία, βιολογική ενεργότητα) από την απευθείας έκθεση στην ακτινοβολία Λέιζερ. Ο στόχος αυτός επιτεύχθηκε με την εισαγωγή ενός ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος στην

πειραματική διαδικασία. Το στρώμα αυτό συχνά αναφέρεται στην βιβλιογραφία ως Dynamic Release Layer (DRL) και η χρήση του αναλύεται στην επόμενη ενότητα.

1.2.3 Ενδιάμεσο απορροφητικό στρώμα

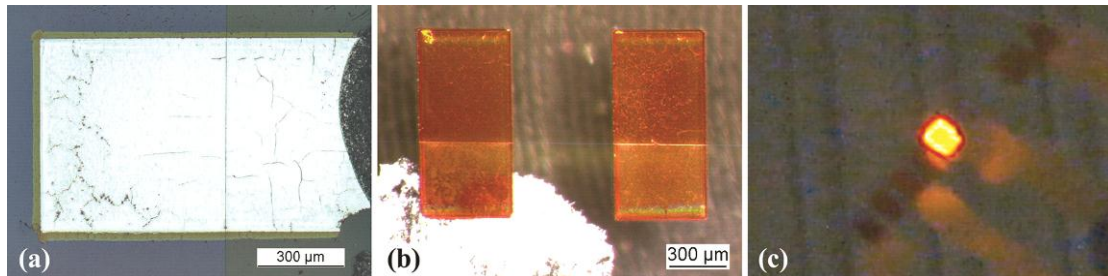
Η χρήση ενός πολυστρωματικού υποστρώματος δότη αποτέλεσε την πρώτη διαφοροποίηση που εμφανίστηκε για την αντιμετώπιση των αδυναμιών της πρώιμης τεχνική LIFT. Η ιδέα αυτή πρωτοεμφανίστηκε το 1993 για την εκτύπωση πολύχρωμων μελανιών [Tolbert et al. 1993]. Το πολυστρωματικό υπόστρωμα δότης σχηματίζεται με την εναπόθεση ενός ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος (Dynamic Release Layer, DRL) στο διαφανές υπόστρωμα στήριξης. Το προς εναπόθεση υλικό επιστρώνεται στην συνέχεια πάνω στο DRL.



Εικόνα 2: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής LIFT με χρήση ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος (DRL) α) Η ακτινοβολία του DRL προκαλεί την θέρμανσή του ή και την αποδόμησή του ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ β) Η εκτόνωση του θύλακα αερίων αποτέλεσμα της θέρμανσης ή της αποδόμησης του DRL ωθεί προς τα εμπρός το υπερκείμενο κομμάτι του λεπτού φιλμ γ) Ο σχηματισμός της δομής λαμβάνει χώρα με την εναπόθεση του λεπτού φιλμ στο υπόστρωμα δέκτη.

Συνήθη υλικά που έχουν χρησιμοποιηθεί ως DRL είναι μέταλλα όπως ο χρυσός, το τιτάνιο και το χρώμιο σε πάχη από 20 nm έως και 100 nm. Πέραν των μετάλλων, αρκετές ομάδες έχουν χρησιμοποιήσει πολυμερή με πάχη από 100 nm και 5 μm που επιστρώνονται στο διαφανές υπόστρωμα με την τεχνική spin coating. Η ακτινοβολία ενός μεταλλικού DRL μπορεί να οδηγήσει στην τήξη του και την εξάχνωσή του η οποία ωθεί το υπερκείμενο υλικό προς το υπόστρωμα αποδέκτη. Στην περίπτωση των πολυμερικών DRL η

ακτινοβολία του πολυμερούς οδηγεί στην βίαιη φωτοαποδόμησή του. Σε αυτή την περίπτωση τα αέρια παράγωγα της φωτοαποδόμησης ωθούν το υπερκείμενο υλικό προς το υπόστρωμα δότη. Κάτω από κατάλληλες πειραματικές συνθήκες η εναπόθεση του υλικού λαμβάνει χώρα δίχως αυτό να εκτεθεί στην δέσμη Λέιζερ ενώ παράλληλα ελαχιστοποιείται η θέρμανσή του.



Εικόνα 3: Δομές αλουμινίου α) και πολυμερούς β) που έχουν εναποτεθεί σε υπόστρωμα indium tin oxide (ITO) με χρήση της τεχνικής LIFT και triazene DRL. γ) Ένα pixel OLED σε λειτουργία κατασκευασμένο με την τεχνική LIFT [2007a].

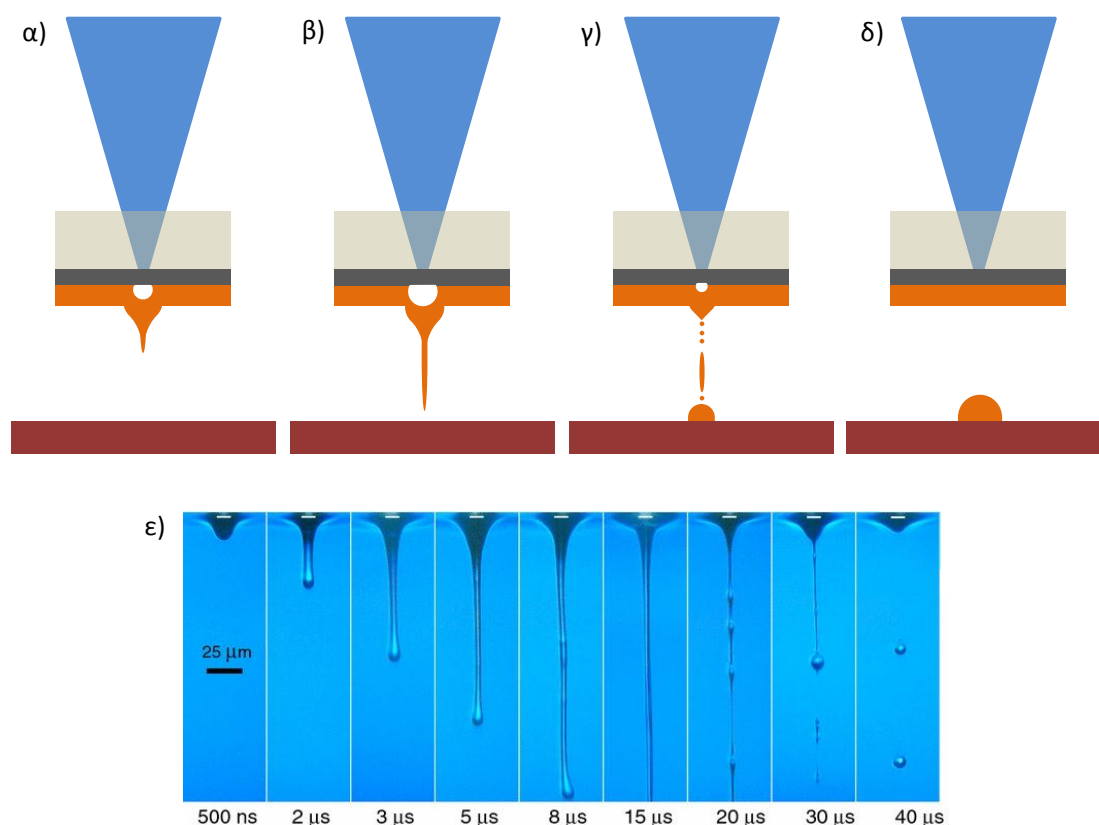
Με την χρήση DRL μπορεί να επιτευχθεί εναπόθεση υλικών που εμφανίζουν χαμηλή απορρόφηση στη δέσμη Λέιζερ. Επιπρόσθετα, υλικά τα οποία είναι ευαίσθητα στην ακτινοβολία Λέιζερ, μπορούν να εναποτεθούν δίχως να επηρεάζονται οι ιδιότητες τους. Μια σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής LIFT με χρήση DRL εμφανίζεται στην **Εικόνα 2**. Αρχικά, η ακτινοβολία του DRL προκαλεί την θέρμανση του ή και την αποδόμησή του ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Η εκτόνωση του θύλακα αερίων αποτέλεσμα της θέρμανσης ή της αποδόμησης του DRL ωθεί προς τα εμπρός το υπερκείμενο κομμάτι του λεπτού φιλμ και το οδηγεί στο υπόστρωμα δέκτη.

Η χρήση ως DRL ενός ειδικά τροποποιημένου πολυμερούς (triazene) [Nagel et al. 2007], το οποίο έχει προταθεί από μια ερευνητική στην Ελβετία (PSI – EMPA), έχει οδηγήσει σε σημαντικά αποτελέσματα εναπόθεσης για ένα μεγάλο εύρος υλικών. Το πολυμερές αυτό υλικό έχει τροποποιηθεί χημικά ώστε να φωτοαποδομείται σε εξαιρετικά χαμηλές πυκνότητες ενέργειας (<25 mJ/cm²). Το triazene DRL επιστρώνεται αρχικά στο διαφανές υπόστρωμα με spin coating και απομακρύνεται από την περιοχή της εναπόθεσης ως αέριο παράγωγο της διαδικασίας LIFT. Χαρακτηριστικό παράδειγμα της χρήσης του triazene DRL είναι η ανάπτυξη OLED [**Εικόνα 3**] με χρήση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση των ευαίσθητων πολυμερών στρωμάτων της διάταξης [Fardel et al. 2007a]. Με την χρήση του triazene DRL έχει επίσης αναφερθεί η ακριβής εναπόθεση τετραγωνικών δομών αλουμινίου (0.5 mm x 0.5 mm) [Fardel et al. 2007b], κυττάρων [Doraiswamy et al. 2006], και κεραμικών [Kaur et al. 2009].

Η χρήση μεταλλικών DRL έχει διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της τεχνικής LIFT υγρής φάσης. Ειδικότερα η χρήση DRL τιτανίου πάχους από 20 έως και 100 nm έχει οδηγήσει σε εναπόθεση πλήθος βιολογικών υλικών σε μορφή διαλύματος. Τα συνήθη βιολογικά υλικά, διαλύονται σε υδατικά διαλύματα, τα οποία εμφανίζουν χαμηλή απορρόφηση σε ένα ευρύ φάσμα μήκους κύματος ακτινοβολία Λέιζερ καθιστώντας αδύνατη την μεταφορά τους δίχως DRL. Η χρήση του DRL στο LIFT υγρής βάσης καθώς και ο μηχανισμός εναπόθεσης θα αναλυθούν στη Ενότητα 1.2.4.

1.2.4 Εφαρμογή σε υποστρώματα δότες υγρής φάσης

Η εφαρμογή της τεχνικής LIFT σε υποστρώματα δότες υγρής φάσης έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την ανάπτυξη βιολογικών DNA και πρωτεϊνικών μικροστοιχείων. Μια σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής εμφανίζεται στην **Εικόνα 4**. Αρχικά, το υπόστρωμα δότης προετοιμάζεται με την επικάλυψη ενός λεπτού υγρού φιλμ (2 μm – 50 μm) σε ένα διαφανές υπόστρωμα στο οποίο έχει επιστρωθεί ένα DRL. Η απορρόφηση της δέσμης Λέιζερ από το DRL οδηγεί στον σχηματισμό ενός θύλακα αυξημένης πίεσης στην διεπιφάνεια DRL – υγρό φιλμ [**Εικόνα 4α**]. Ο θύλακας υψηλής πίεσης εκτονώνεται ωθώντας το υπερκείμενο υγρό προς τα εμπρός με μορφή ενός jet το οποίο κατευθύνεται προς το υπόστρωμα δέκτη σχηματίζοντας την σταγόνα [**Εικόνα 4β και Εικόνα 4γ**]. Τέλος, το jet καταρρέει εξολοκλήρου και η σταγόνα παίρνει την τελική της μορφή στο υπόστρωμα δέκτη [**Εικόνα 4δ**]. Αναλυτική παρουσίαση του μηχανισμού εκτόξευσης του υγρού γίνεται στις Ενότητες 1.2.5 και 1.2.6.

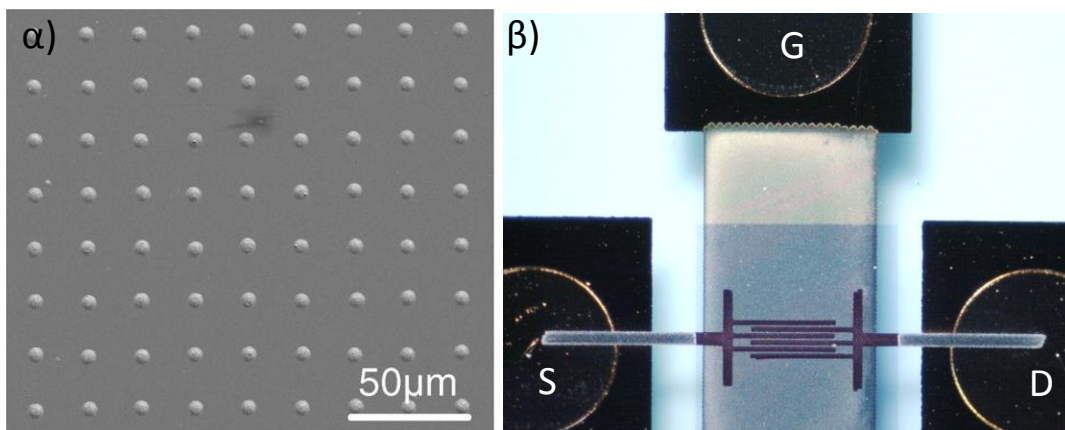


Εικόνα 4: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής LIFT υγρής φάσης α) Η απορρόφηση της δέσμης Λέιζερ από το DRL οδηγεί στον σχηματισμό ενός θύλακα αυξημένης πίεσης στην διεπιφάνεια DRL – υγρό φιλμ. β) Ο θύλακας υψηλής πίεσης εκτονώνεται ωθώντας το υπερκείμενο υγρό προς τα εμπρός με μορφή ενός κατευθυντικού jet. γ) Το jet κατευθύνεται προς το υπόστρωμα δέκτη σχηματίζοντας την σταγόνα δ) Το jet έχει καταρρεύσει εξολοκλήρου και η σταγόνα παίρνει την τελική της μορφή. ε) Απεικόνιση της διαδικασίας LIFT υγρής φάσης με την τεχνική χρονοσεξαρτώμενης απεικόνισης από τους Brown et al. [Brown et al. 2011]

Η χρήση του DRL έχει επιτρέψει την εναπόθεση ενός μεγάλου φάσματος υλικών σε υγρή φάση για την ανάπτυξη πληθώρας εφαρμογών. Βασική εφαρμογή της τεχνικής έχει αποτελέσει η εκτύπωση πρωτεϊνικών [Ringelsen et al. 2002, Boutoroulos et al. 2008, Barron

et al. 2005, Dinca et al. 2008,] αλλά και DNA [Colina et al. 2005, Serra et al. 2006] μικροσυστοιχιών. Στις περισσότερες από τις εργασίες ο έλεγχος της βιολογικής ενεργότητας των εναποτιθέμενων δομών έχει αποδείξει ελάχιστη ή μηδενική βλάβη της λειτουργικότητας των βιολογικών υλικών κατά την εναπόθεση τους. Ο έλεγχος και η ποσοτικοποίηση της ενεργότητάς τους έχει πραγματοποιηθεί με πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις και αντιδράσεις υβριδοποίησης DNA με χρήση κατάλληλων δεικτών φθορισμού. Η προστασία του βιολογικού υλικού από την ακτινοβολία Λέιζερ εξασφαλίζεται από την χρήση ενός βιοσυμβατού DRL (χρυσό, τιτάνιο, πολυμερές). Τα συνήθη DRL εμφανίζουν βάθος οπτικής διείσδυσης ($1/\alpha$) για την ακτινοβολία Λέιζερ της τάξης των 10 nm – 20 nm, το οποίο είναι μία έως και τρεις φορές μικρότερο από το συνολικό τους πάχος, αποτρέποντας την αλληλεπίδραση της δέσμης με το βιολογικό υλικό. Παράλληλα το βάθος θερμικής διάχυσης για ns παλμούς περιορίζεται σε 1.25 μm για τα συνήθη βιολογικά διαλύματα, το οποίο είναι έως και δέκα φορές μικρότερο από το συνολικό πάχος του υγρού φιλμ. Το μέγεθος των εναποτιθέμενων δομών εξαρτάται από τις πειραματικές συνθήκες εναπόθεσης (πυκνότητα ενέργειας, μέγεθος δέσμης) [Colina et al. 2006] και κάτω από βέλτιστες συνθήκες μπορεί να φτάσει έως και τα 5 μm .

Τα κυτταρικά διαλύματα αποτελούν μια δεύτερη μεγάλη κατηγορία βιολογικών υλικών που έχουν εναποτεθεί με χρήση της τεχνικής LIFT υγρής φάσης [Schiele et al. 2010]. Πλήθος διαφορετικών κυττάρων προερχόμενων από ανθρώπινους [Kattamis et al. 2007, Schiele et al. 2009] αλλά και ζωικούς ιστούς [Horp et al. 2005] έχουν εναποτεθεί σε μια μεγάλη ποικιλία υποστρωμάτων. Η παρουσία του DRL και η επιλογή των κατάλληλων πειραματικών συνθηκών αποτρέπουν την καταστροφή των κυττάρων κατά την εναπόθεση. Σαν αποτέλεσμα, η τεχνική LIFT υγρής φάσης μπορεί να εφαρμοστεί σαν εργαλείο απομόνωσης κυττάρων για διαγνωστικούς σκοπούς αλλά και για την μελέτη των κυτταρικών αλληλεπιδράσεων.



Εικόνα 5: Αποτελέσματα εναπόθεσης διαλύματος μεταλλικών νανοσωματιδίων ασημιού με χρήση LIFT α) Δομές μεταλλικών κηλίδων διαμέτρου 5 μm b) Οργανικό τρανζίστορ στο οποίο τα ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια τυπώθηκαν με LIFT. Η μεταξύ τους απόσταση είναι 10 μm [Kim et al. 2010].

Η τεχνική LIFT υγρής φάσης έχει επίσης βρει εφαρμογή στην εναπόθεση διαλυμάτων μεταλλικών νανοσωματιδίων. Η χρήση των μελανιών μεταλλικών νανοσωματιδίων είναι διαδεδομένη για τον σχηματισμό αγώγιμων επαφών σε πλήθος ηλεκτρονικών διατάξεων. Η εναπόθεση διαλυμάτων μεταλλικών νανοσωματιδίων ασημιού έχει μελετηθεί εκτεταμένα από μια ερευνητική ομάδα στην Ουάσιγκτον (NRL) [Auyeung et al. 2007, Kim et al. 2010]. Η υψηλή απορρόφηση του διαλύματος στην ακτινοβολία Λέιζερ επιτρέπει την εναπόθεση

δίχως την χρήση DRL. Σαν αποτέλεσμα, διακριτές μικροδομές ή συνεχόμενες γραμμές από νανοσωματίδια ασημιού μπορούν να εκτυπωθούν με υψηλή διακριτική ικανότητα [Εικόνα 5]. Η θερμική ανόπτηση των εναποτιθέμενων επαφών οδηγεί σε τιμές αγωγιμότητας όμοιες με αυτές που επιτυγχάνονται με την συμβατική τεχνική ink-jet, γεγονός που και καθιστά την τεχνική κατάλληλη για εφαρμογές όπως η εκτύπωση επαφών για οργανικά ηλεκτρονικά [Kim et al. 2010, Rapp et al. 2009]. Πρόσφατα η ίδια ομάδα από το NRL έχει επιδείξει μια παραλλαγή της τεχνικής LIFT υγρής φάσης όπου το υπόστρωμα δότη αποτελείται από διάλυμα νανοσωματιδίων μεγάλου ιξώδους (πάστα) [Piqué et al. 2008]. Η τεχνική δίνει την δυνατότητα εκτύπωσης σύνθετων δομών όπου το σχήμα της εναποτιθέμενης δομής αναπαράγει την χωρική διαμόρφωση της δέσμης [Auyeung et al. 2010]. Επιπρόσθετα, εφαρμόζεται και για την εκτύπωση τρισδιάστατων δομών [Wang et al. 2010].

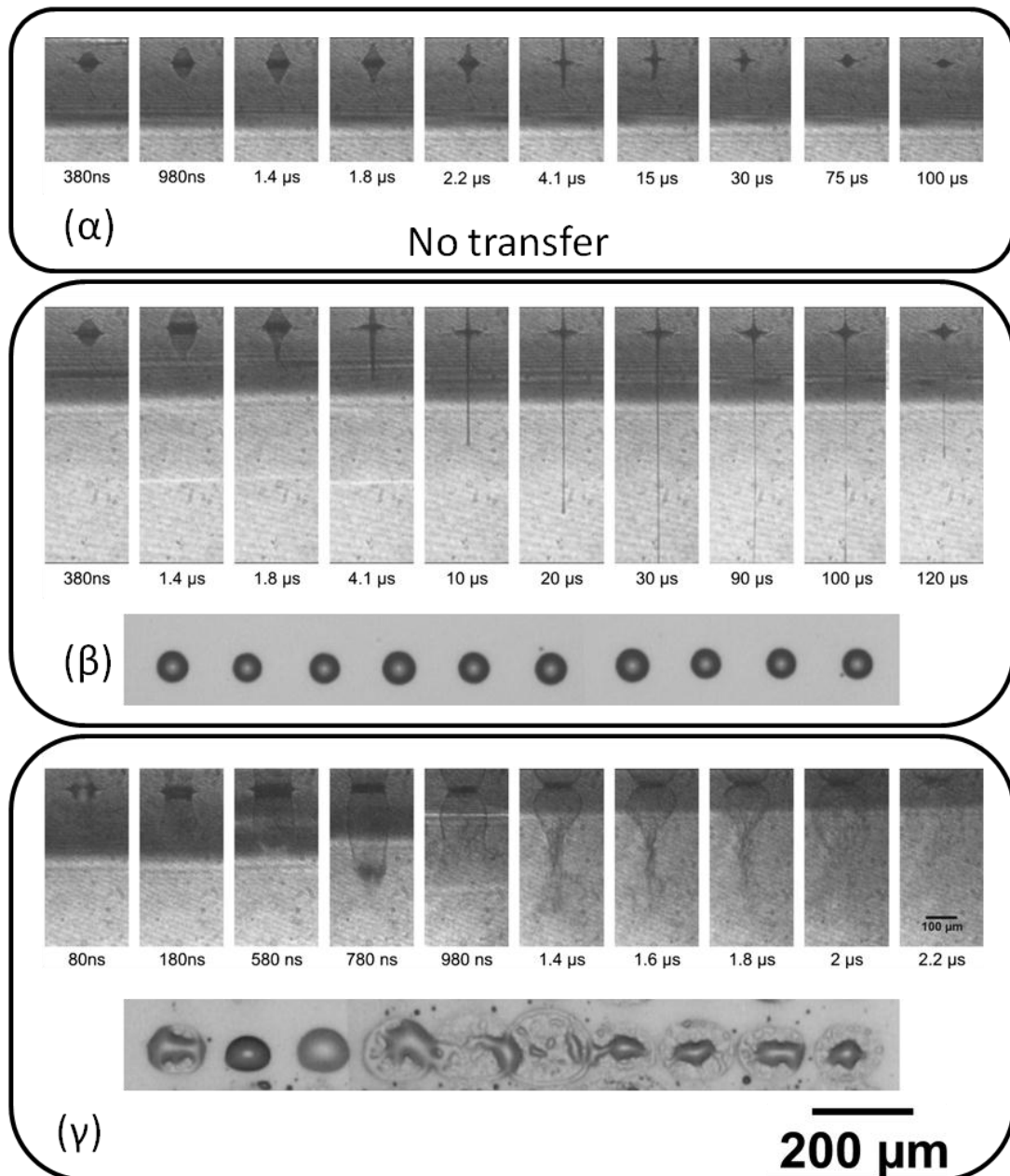
1.2.5 Πειραματική μελέτη του μηχανισμού εναπόθεσης

Η απεικόνιση και η κατανόηση του μηχανισμού του LIFT υγρής φάσης έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα μίας και αποτελεί βασική προϋπόθεση για την βελτιστοποίηση της τεχνικής. Παράμετροι όπως η πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ [Duocastella et al. 2009], το υλικό του DRL [Brown et al. 2011] αλλά και οι ρεολογικές ιδιότητες των υγρών [Gruene et al. 2011] αποδεικνύεται πως επιδρούν σημαντικά στη μορφολογία του jet και των εναποτιθέμενων δομών. Η παρατήρηση του φαινομένου σχηματισμού του jet απαιτεί εξαιρετικά γρήγορες τεχνικές απεικόνισης με διακριτική ικανότητα ns. Δύο τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί για τον σκοπό αυτό: α) Η πρώτη τεχνική βασίζεται σε χρήση συνεχόμενου φωτισμού και κάμερα ταχύτατου κλείστρου (gated-CCD με ταχύτητες ns) [Duocastella et al. 2009] β) Η δεύτερη τεχνική βασίζεται στην χρήση ενός ns φωτεινού παλμού (δεύτερη πηγή Λέιζερ ή nano-flash) το οποίο “φωτίζει” ακαριαία το φαινόμενο το οποίο καταγράφεται από μια συμβατική κάμερα [Brown et al. 2011].

Οι αρχικές εργασίες στην απεικόνιση του LIFT υγρής φάσης πραγματοποιήθηκαν σε υλικά όπως η διαλύματα μικρο- και νανο-σωματιδίων [Lewis et al. 2006, Young et al. 2002] και βιολογικά διαλύματα [Barron et al. 2005]. Κοινή παρατήρηση όλων των εργασιών είναι πως ο μηχανισμός εναπόθεσης μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις διαφορετικές περιοχές ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Οι περιοχές αυτές ονομάστηκαν ως οριακή περιοχή (sub-threshold regime), περιοχή jet (jet regime) και βίαη περιοχή (plume regime) [Young et al. 2002].

Στην εργασία των Duocastella et al. [Duocastella et al. 2009] για την εναπόθεση ενός πρότυπου διαλύματος γλυκερόλης (50 % γλυκερόλη / 50 % H₂O), οι τρεις αυτές περιοχές έχουν μελετηθεί και συσχετιστεί με τα αποτελέσματα των εναποθέσεων [Εικόνα 6]. Η πρώτη περιοχή (sub-threshold regime) εντοπίζεται για χαμηλή πυκνότητα ενέργειας Λέιζερ, όπου η θέρμανση του DRL τιτανίου οδηγεί στην δημιουργία ενός θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια τιτάνιο-υγρό. Η εκτόνωση του θύλακα πίεσης, οδηγεί στον σχηματισμό ενός jet το οποίο όμως δεν υπερνικά τις δυνάμεις συνοχής του υγρού και καταρρέει πίσω στην επιφάνεια του υγρού στα πρώτα 100 μs [Εικόνα 6α]. Η δεύτερη περιοχή εντοπίζεται για ενδιάμεσες πυκνότητες ενέργειας Λέιζερ (jet regime). Στην περιοχή αυτή η πίεση στον θύλακα που σχηματίζεται στην διεπιφάνεια DRL – υγρού ξεπερνά την επιφανειακή τάση και τις δυνάμεις συνοχής και προκαλεί την κατάρρευση του υγρού με την μορφή ενός κατευθυντικού jet. Σαν αποτέλεσμα, ομοιόμορφες σταγόνες σχηματίζονται στο υπόστρωμα δέκτη [Εικόνα 6β]. Η ταχύτητα εκτόξευσης για την περιοχή αυτή κυμαίνεται από 25 m/s

έως και 150 m/s. Οι δύο αυτές περιοχές εναπόθεσης μπορούν να συσχετιστούν με τους μηχανισμούς εκτόνωσης ενός θύλακα πίεσης στα όρια μιας διεπιφάνειας νερού-αέρα [Pearson et al. 2004]. Η τρίτη περιοχή εναπόθεσης (plume regime) λαμβάνει χώρα για υψηλές πυκνότητες ενέργειας και οδηγεί στην εναπόθεση ανομοιόμορφων σταγόνων που συνοδεύονται από περιφερειακά σταγονίδια [Εικόνα 6γ]. Τα αποτελέσματα αυτά της εναπόθεσης οφείλονται στην βίαιη και μη κατευθυντική εκτόνωση του θύλακα πίεσης. Η ταχύτητα εκτόξευσης για την περιοχή αυτή ξεπερνά τα 200 m/s. Παρόμοια συμπεριφορά κατά διαδικασία LIFT υγρής φάσης έχει αναφερθεί και στην περίπτωση χρήσης πολυμερικού (polyimide) DRL [Brown et al. 2011][Εικόνα 4ε].



Εικόνα 6: Απεικόνιση της διαδικασίας LIFT υγρής φάσης για διαφορετικές πυκνότητες ενέργειας Λέιζερ α) 1 J/cm^2 (sub-threshold regime) β) 2.4 J/cm^2 (jet regime) γ) 10 J/cm^2 (plume regime) [Duocastella et al. 2009].

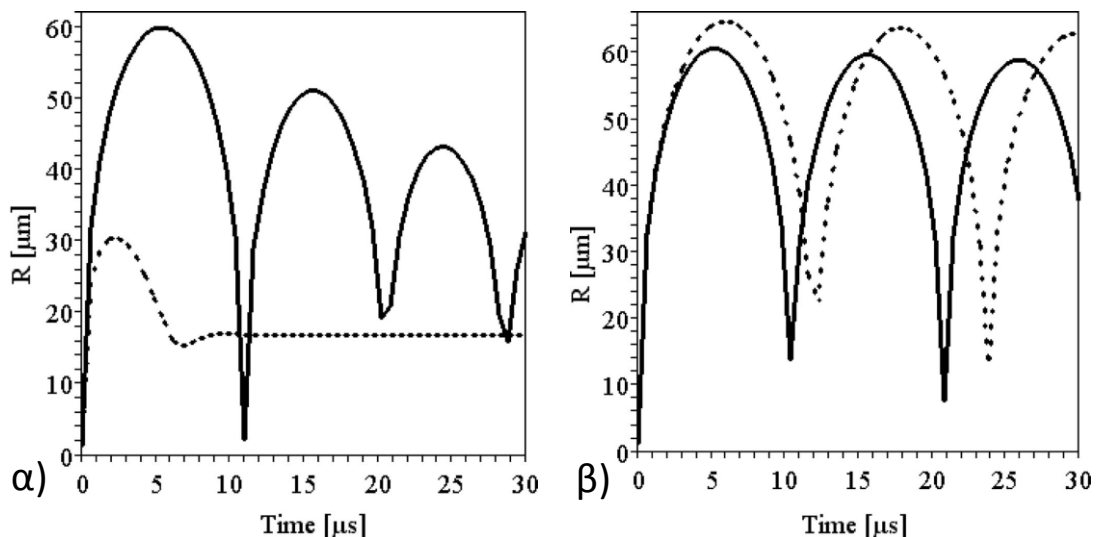
1.2.6 Θεωρητική προσέγγιση του μηχανισμού εναπόθεσης jet

Η τεχνική LIFT υγρής φάσης αποτελεί μια εξαιρετική πολύπλοκη φυσική διαδικασία μιας και ανακύπτει από ένα συνδυασμό σύνθετων θερμομηχανικών φαινομένων στην διεπιφάνεια DRL - υγρού φιλμ. Ερευνητικές ομάδες έχουν προσεγγίσει μεμονωμένα τα φαινόμενα εμφάνισης μηχανικών τάσεων [Shugaev et al. 2010] και αλλαγών φάσης [Willis et al. 2007] στο DRL. Πρόσφατα, έχει επιδειχθεί μια ολοκληρωμένη προσέγγιση για την δημιουργία του jet με χρήση ενός μονοδιάστατου μοντέλου για την ποιοτική ερμηνεία, αλλά και ενός δυσδιάστατου υδροδυναμικού υπολογιστικού πακέτου για την προσομοίωση του jet [Mével et al. 2009].

Ένα βασικό εργαλείο για την περιγραφή του θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια DRL - υγρού αποτελεί η σχέση Rayleigh - Plesset [Prosperetti 1982, Xiu-Mei et al. 2008], η οποία περιγράφει την εξέλιξη του μεγέθους του θύλακα στον χρόνο:

$$\text{Εξίσωση 1: } R\ddot{R} + \frac{3}{2}\dot{R}^2 = \frac{kP_l}{\rho_l} \left(\frac{R_0}{R}\right)^{3\gamma} - \frac{P_l - P_u}{\rho_l} - 4\nu\frac{\dot{R}}{R} - \frac{2\sigma_l}{\rho_l R}$$

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



Εικόνα 7: Η εξάρτηση της χρονικής εξέλιξης της ακτίνας του θύλακα αερίων από τις ρεολογικές ιδιότητες του υγρού για $\rho_l = \rho_w$ και α) $\sigma_l = \sigma_w$, $\nu_l = \nu_w$ (συνεχόμενη γραμμή), $\nu_l = 100 \nu_w$ (διακεκομμένη γραμμή) β) $\nu_l = \nu_w$, $\sigma_l = 6 \sigma_w$ (συνεχόμενη γραμμή), $\sigma_l = 0.2 \sigma_w$ (διακεκομμένη γραμμή). [Mével et al. 2009]

Ποιοτικά αποτελέσματα για την εξάρτηση του θύλακα αέρα από τις ρεολογικές ιδιότητες ενός υγρού μπορούν να εξαχθούν υπολογίζοντας την χρονική εξέλιξη της ακτίνας του θύλακα αερίων. Μία τέτοια προσέγγιση έγινε από τους Mével et al. εισάγοντας τις

τιμές πυκνότητας (ρ_w), κινηματικού ιξώδους (ν_w) και επιφανειακής τάσης (σ_w) του νερού στην **Εξίσωση 1**. Η επίδραση της μεταβολής του ιξώδους εμφανίζεται στην **Εικόνα 7**. Η αύξηση του συντελεστή ιξώδους αυξάνει τις δυνάμεις συνοχής στο υγρό και οδηγεί σε μείωση του μεγέθους της ακτίνας του θύλακα. Παράλληλα, αποσβένει και την χρονική ταλάντωση του μεγέθους του θύλακα [**Εικόνα 7α**]. Η αύξηση της επιφανειακής τάσης οδηγεί επίσης σε θύλακες με μικρότερη ακτίνα. Παρόλα αυτά, ο παράγοντας της επιφανειακής τάσης εμφανίζεται να έχει μειωμένη επίδραση και στο μέγεθος του θύλακα αλλά και στην ταλάντωση του στο χρόνο [**Εικόνα 7β**].

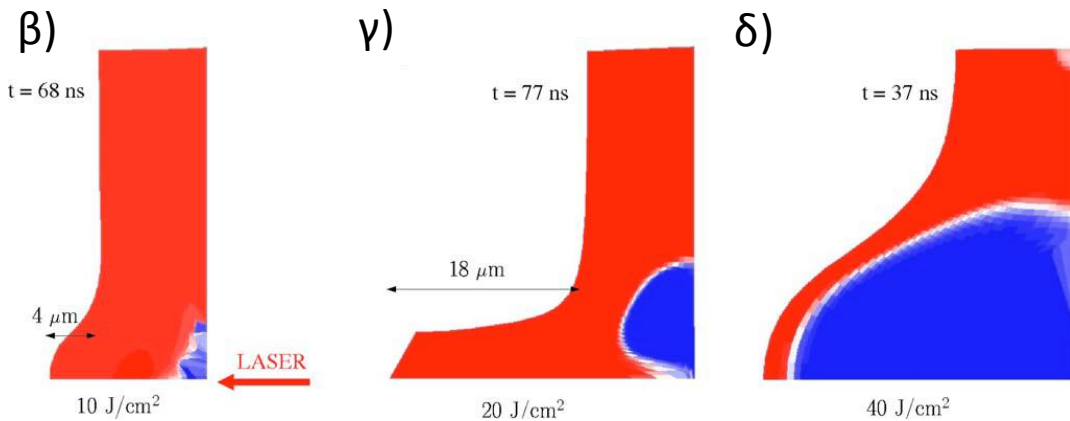
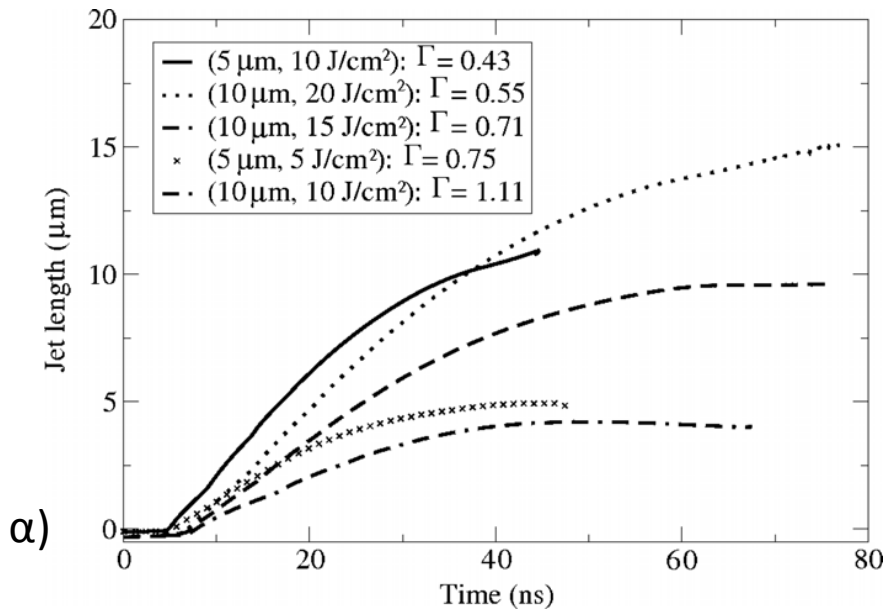
Σύμφωνα με τους Pearson et al. [Pearson et al. 2004] κρίσιμη παράμετρο για την δημιουργία ή όχι ενός jet από θύλακα πίεσης αποτελεί ο κρίσιμος παράγοντας Γ (standoff distance). Ο παράγοντας Γ είναι μέγεθος αδιάστατο και εκφράζει τον λόγο του πάχους του φιλμ προς την μέγιστη ακτίνα του θύλακα πίεσης. Ωε εκ τούτου, γίνεται αντιληπτό πως το πάχος του υγρού φιλμ, η πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ και οι ρεολογικές ιδιότητες του υγρού είναι οι τρεις βασικοί παράγοντες που καθορίζουν την δημιουργία του jet. Για παράδειγμα οι Mézel et al. προσομοίωσαν την συμπεριφορά ενός υδατικού διαλύματος για διάφορες πυκνότητες ενέργειας και πάχη φιλμ. Η εξάρτηση του συντελεστή Γ από το πάχος του φιλμ και την πυκνότητα ενέργειας εμφανίζεται στην **Εικόνα 8α**. Η τιμή $\Gamma = 0.71$ εμφανίζεται να είναι η οριακή τιμή για την δημιουργία του jet. Για μεγαλύτερες τιμές του συντελεστή Γ το jet καταρρέει προς το υγρό φιλμ (sub-threshold regime). Για τιμές μικρότερες από 0.55 ο θύλακας εμφανίζεται να εκτονώνεται βίαια οδηγώντας στην plume regime. Τα αποτελέσματα των δυσδιάστατων προσομοιώσεων για την sub-threshold regime, jet regime και plume regime εμφανίζονται στις **Εικόνα 8β**, **Εικόνα 8γ** και **Εικόνα 8δ**, αντίστοιχα.

Είναι γεγονός πως το μοντέλο των Mézel et al. προσέφερε μια αρκετά καλή ερμηνεία του μηχανισμού δημιουργίας του jet. Ιδιαίτερα στην περίπτωση της μονοδιάστατης προσέγγισης επιδείχθηκε η επίδραση των ρεολογικών ιδιοτήτων του υγρού στην εξέλιξη του θύλακα πίεσης. Στην περίπτωση του μονοδιάστατου μοντέλου, ο συντελεστής k προσαρμόστηκε κατάλληλα ώστε να συνυπολογιστεί η συνολική επίδραση της δέσμης Λέιζερ στην δημιουργία του θύλακα αέρα. Αντιθέτως, το δυσδιάστατο μοντέλο προσφέρει μόνο μια ποιοτική προσέγγιση του μηχανισμού, ως αποτέλεσμα της χρήσης αρκετών παραδοχών για την υλοποίησή του. Βασική παραδοχή και για τις δύο προσεγγίσεις, αποτελεί το γεγονός ότι στηρίζονται εξολοκλήρου στην επαγόμενη από την δέσμη Λέιζερ μηχανική πίεση στο φιλμ το τιτανίου, δίχως να συνυπολογίζονται τα θερμικά φαινόμενα. Η πίεση αυτή υπολογίστηκε περίπου στα 250 GPa ως εξής:

$$\text{Εξίσωση 2: } P_{Ti} = \frac{(1 - R_{355})E_{laser}}{\pi R_{focal}^2 \delta}$$

Όπου R_{355} ο συντελεστής ανακλαστικότητας του τιτανίου για $\lambda = 355$ nm ($R_{355} = 0.44$), E_{laser} η ισχύς του λέιζερ (90 MW/cm^2), R_{focal} η ακτίνα της δέσμης ($4 \mu\text{m}$) και δ το μήκος οπτικής απορρόφησης για το τιτάνιο (28 nm).

Στην περίπτωση του μονοδιάστατου μοντέλου η επίδραση της βασικής αυτής παραδοχής ισοσκελίζεται από την προσαρμογή του συντελεστή k . Αντιθέτως, στην περίπτωση του δυσδιάστατου μοντέλου προσομοίωσης, η παραδοχή αυτή επιδρά σημαντικά οδηγώντας σε αποτελέσματα που αποκλίνουν από αυτά των πειραματικών εργασιών [Duocastella et al. 2009, Gruene et al. 2011].



Εικόνα 8: α) Γράφημα που αναπαριστά την εξέλιξη του jet σαν συνάρτηση του χρόνου και του συντελεστή Γ (standoff distance). Προσομοίωση της δημιουργίας του jet για τρεις διαφορετικούς συνδυασμούς πειρατικών συνθηκών β) $10 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma = 1.11$ (sub-threshold regime) γ) $20 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma = 0.55$ (jet regime) δ) $40 \text{ J/cm}^2 - 10 \mu\text{m}$, $\Gamma < 0.55$ (plume regime) [Mézel et al. 2009].

1.3 Συναφείς τεχνικές μικρο-εναπόθεσης με χρήση Λέιζερ

Είναι γεγονός πως οι συμβατικές τεχνικές LIFT στερεάς αλλά και υγρής φάσης δεν έχουν οδηγήσει έως τώρα στην ανάπτυξη ολοκληρωμένων εμπορικών συστημάτων για την αγορά των συστημάτων μικρο-εναπόθεσης. Υπάρχουν όμως δύο αρκετά επιτυχημένες παραλλαγές της τεχνικής LIFT οι οποίες έχουν βρει εφαρμογή σε εμπορικά συστήματα: Η τεχνική laser catapulting με εφαρμογή στην επιλεκτική μικρο-εναπόθεση βιολογικών δειγμάτων (Carl Zeiss) και η τεχνική laser thermal imaging με εφαρμογή στην εκτύπωση οθονών οργανικών ηλεκτρονικών (Samsung). Οι δύο αυτές τεχνικές αναλύονται στις δύο επόμενες ενότητες.

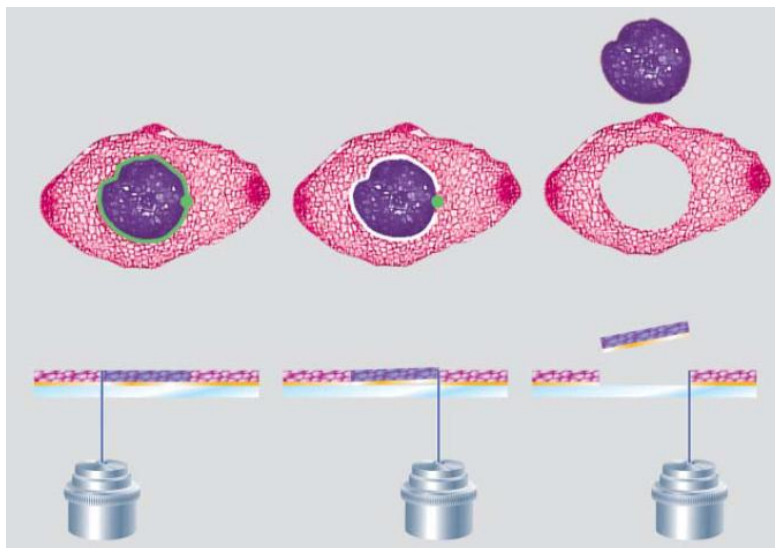
1.3.1 Εκτόξευση βιολογικού υλικού με χρήση Λέιζερ (Laser Catapulting)

Η ιδέα της χρήσης ακτινοβολίας Λέιζερ για τον μικρο-χειρισμό και την επιλεκτική μικρο-εναπόθεση βιολογικών δειγμάτων έχει αξιοποιηθεί εμπορικά την τελευταία δεκαετία από

την εταιρεία Carl Zeiss¹ με το εμπορικό σύστημα PALM Microbeam. Το σύστημα αυτό υλοποιεί την τεχνική εκτόξευσης υλικού με χρήση Λέιζερ (laser catapulting) [Micke et al. 2005, Schütze et al. 2007, Vogel et al. 2007] και βρίσκει εφαρμογή στην απομόνωση και επιλεκτική μεταφορά ενός μεγάλου εύρους βιολογικών υλικών όπως ιστοί, κύτταρα και χρωμοσώματα.

Η τεχνική laser catapulting διαφοροποιείται από τις συμβατικές τεχνικές LIFT υγρής και στερεάς φάσης καθώς αποτελεί μια τεχνική επιλεκτικής μικρο-εναπόθεσης που υλοποιείται σε δύο διαφορετικά στάδια [Εικόνα 9]. Αρχικά, το βιολογικό δείγμα τοποθετείται σε ένα διάφανο φορέα μικροσκοπίου (microscope slide). Η περιοχή ενδιαφέροντος απομονώνεται από το υπόλοιπο δείγμα με χρήση μιας εστιασμένης δέσμης Λέιζερ για την αποδόμηση των ορίων της. Στην συνέχεια ένας παλμός Λέιζερ αυξημένης έντασης χρησιμοποιείται για την μεταφορά του απομονωμένου υλικού σε ένα φορέα συλλογής.

Τα σύστημα PALM Microbeam προσφέρει εξαιρετικά μεγάλη χωρική ακρίβεια στην απομόνωση του βιολογικού υλικού ενδιαφέροντος. Γίνεται χρήση ισχυρών φακών εστίασης της UV ακτινοβολίας Λέιζερ και έτσι επιτυγχάνεται μια κηλίδα κοπής μικρότερη από 1 μm. Κατά συνέπεια με την τεχνική αυτή μπορεί να επιτευχθεί απομόνωση μεμονωμένων κυττάρων και χρωμοσωμάτων προφέροντας ένα μοναδικό εργαλείο για ερευνητική αλλά και διαγνωστική χρήση.



Εικόνα 9: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής laser catapulting. Ο ιστός αρχικά τοποθετείται σε ένα διάφανο φορέα μικροσκοπίου (microscope slide). Η περιοχή ενδιαφέροντος απομονώνεται από τον υπόλοιπο ιστό με χρήση μιας εστιασμένης δέσμης Λέιζερ για την αποδόμηση των ορίων της (πράσινο περίγραμμα). Στην συνέχεια ένας παλμός Λέιζερ αυξημένης έντασης χρησιμοποιείται για την μεταφορά του απομονωμένου ιστού σε ένα φορέα συλλογής¹.

1.3.2 Θερμική εκτύπωση με Λέιζερ (Laser Thermal Imaging)

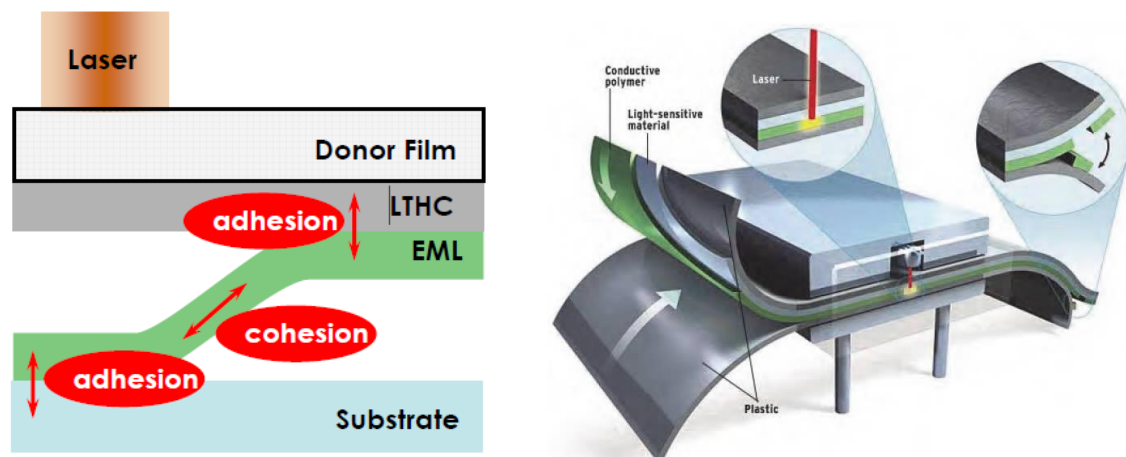
Η τεχνική της θερμικής εκτύπωσης με χρήση Λέιζερ (laser thermal imaging) παρουσιάστηκε αρχικά από την DuPont για την ανάπτυξη οργανικών ηλεκτρονικών [Blanchet 1996, Blanchet et al. 2003]. Η τεχνική στοχεύει στην μεταφορά ενός πολυμερικού στρώματος από ένα υπόστρωμα δότη σε ένα υπόστρωμα αποδέκτη με χρήση Λέιζερ

¹ <http://www.zeiss.de/microdissection>

συνεχούς λειτουργίας. Η χρήση του Λέιζερ συνεχούς λειτουργίας αλλά και η αρχική επαφή του υποστρώματος δότη με το υπόστρωμα αποδέκτη αποτελούν την βασική διαφοροποίηση από την συμβατική τεχνική LIFT στερεάς φάσης.

Στην **Εικόνα 10** εμφανίζεται η σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής. Το προς εκτύπωση πολυμερικό στρώμα επιστρώνεται αρχικά σε ένα διάφανο υπόστρωμα δότη το οποίο έρχεται σε επαφή με το υπόστρωμα αποδέκτη. Μεταξύ του διαφανούς υποστρώματος δότη και του πολυμερικού στρώματος μεσολαβεί ένα ενδιάμεσο στρώμα απορρόφησης της ακτινοβολίας Λέιζερ. Το ενδιάμεσο αυτό στρώμα θερμαίνεται τοπικά από την ακτινοβολία Λέιζερ και προκαλεί την αποκόλληση του υπερκείμενου πολυμερικού στρώματος. Το πολυμερικό στρώμα αποτίθεται στο υπόστρωμα δότη και παραμένει εκεί μετά τον διαχωρισμό του υποστρώματος δότη και αποδέκτη.

Η τεχνική της θερμικής εκτύπωσης με χρήση Λέιζερ έχει εξελιχθεί σημαντικά την τελευταία δεκαετία από την εταιρεία Samsung και αποτελεί μια βασική τεχνολογία ανάπτυξης οθονών βασισμένων σε οργανικά ηλεκτρονικά (LITI – AMOLED τεχνολογία). Βασικό πλεονέκτημα της τεχνολογίας έναντι των ανταγωνιστικών τεχνικών ink-jet και Final Metal Mask αποτελεί το γεγονός της μεταφοράς του πολυμερικού στρώματος σε στερεή φάση. Σαν αποτέλεσμα, η τεχνολογία παρουσιάζει εξαιρετικά υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα $< 2.5 \mu\text{m}$, γεγονός που έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη εύκαμπτων οθονών με ανάλυση μεγαλύτερη από 300 ppi.



Εικόνα 10: Σχηματική αναπαράσταση της τεχνικής θερμικής εκτύπωσης με χρήση Λέιζερ (laser thermal imaging).

1.4 Βασικές αρχές αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας Λέιζερ και ύλης

Ένα από τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα που προσφέρει η χρήση της ακτινοβολίας Λέιζερ στο πεδίο της κατεργασίας υλικών είναι δυνατότητα ακριβούς έλεγχου της απόθεσης ενέργειας σε αυτά. Ο έλεγχος αυτός επιτυγχάνεται μέσω της κατάλληλης επιλογής των παραμέτρων της ακτινοβολίας Λέιζερ (μήκος κύματος, διάρκεια παλμού, πυκνότητα ενέργειας). Στις επόμενες ενότητες περιγράφονται οι βασικές αρχές και εξισώσεις που περιγράφουν την διάδοση και απορρόφηση της ακτινοβολίας Λέιζερ από την ύλη.

1.4.1 Διάδοση της ακτινοβολίας Λέιζερ στην ύλη

Όταν η ακτινοβολία Λέιζερ προσπίπτει στην επιφάνεια ενός υλικού, τότε ένα μέρος της ανακλάται εξαιτίας της ασυνέχειας του δείκτη διάθλασης στην διεπιφάνεια και το υπόλοιπο μέρος διέρχεται στο υλικό. Το ποσοστό της ακτινοβολίας που ανακλάται εξαρτάται από την πόλωσή της, τις ιδιότητες των δύο μέσων και τις γωνίες πρόσπτωσης και διάθλασης της ακτινοβολίας θ_i και θ_t , αντίστοιχα. Οι συντελεστές ανάκλασης για p – πολωμένη και s – πολωμένη ακτινοβολία Λέιζερ δίνονται από τις γνωστές σχέσεις Fresnel:

$$\text{Εξίσωση 3: } R_s = \left[\frac{E_r}{E_i} \right]^2 = \left[\frac{\frac{n_i \cos(\theta_i) - n_t \cos(\theta_t)}{\mu_i}}{\frac{n_i \cos(\theta_i) + n_t \cos(\theta_t)}{\mu_i}} \right]^2$$

$$\text{Εξίσωση 4: } R_s = \left[\frac{E_r}{E_i} \right]^2 = \left[\frac{\frac{n_t \cos(\theta_i) - n_i \cos(\theta_t)}{\mu_t}}{\frac{n_i \cos(\theta_i) + n_t \cos(\theta_t)}{\mu_i}} \right]^2$$

Όπου n_i ο δείκτης διάθλασης του πρώτου μέσου, n_t ο δείκτης διάθλασης του δεύτερου μέσου, μ_i η μαγνητική διαπερατότητα του πρώτου μέσου και μ_t η μαγνητική διαπερατότητα του δεύτερου μέσου. Για διηλεκτρικά υλικά, όπου $\mu_i \approx \mu_t \approx \mu_0$ οι εξισώσεις Fresnel απλοποιούνται στις παρακάτω σχέσεις:

$$\text{Εξίσωση 5: } R_s = \left[\frac{E_r}{E_i} \right]^2 = \left[\frac{n_i \cos(\theta_i) - n_t \cos(\theta_t)}{n_i \cos(\theta_i) + n_t \cos(\theta_t)} \right]^2$$

$$\text{Εξίσωση 6: } R_p = \left[\frac{E_r}{E_i} \right]^2 = \left[\frac{n_t \cos(\theta_i) - n_i \cos(\theta_t)}{n_i \cos(\theta_i) + n_t \cos(\theta_t)} \right]^2$$

Οι συντελεστές διάδοσης συνδέονται με τους αντίστοιχους συντελεστές ανακλαστικότητας μέσω των σχέσεων $T_s = 1 - R_s$ και $T_p = 1 - R_p$. Στην περίπτωση της κάθετης πρόσπτωσης της ακτινοβολίας Λέιζερ στην επιφάνεια, οι παραπάνω εξισώσεις απλοποιούνται στην παρακάτω σχέση:

$$\text{Εξίσωση 7: } R = R_p = R_s = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right)^2$$

Η ανακλαστικότητα ενός δεδομένου υλικού εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας Λέιζερ μέσω της διασποράς του δείκτη διάθλασης. Για παράδειγμα, η ανακλαστικότητα των μετάλλων για την ορατή και UV ακτινοβολία εκτείνεται από 0.2 έως και 0.9, ενώ για την περίπτωση της IR ακτινοβολίας από 0.9 έως και 0.99. Η θερμοκρασία του υλικού αποτελεί ένα πρόσθετο παράγοντα που επιδρά στην ανακλαστικότητα. Για

παράδειγμα, κατά την τήξη του πυριτίου η ανακλαστικότητα αυξάνει κατά ένα παράγοντα ίσο με 2 [Heller et al. 1999]. Άλλοι παράγοντες που μπορούν να ενισχύσουν την ανακλαστικότητα ή την απορρόφηση της δέσμης Λέιζερ είναι η διέγερση φωνονίων και πλασμονίων στην επιφάνεια νανοδομημένων υλικών [Weeber et al. 2001].

Η ένταση της ακτινοβολίας Λέιζερ στο εσωτερικό του υλικού φθίνει εκθετικά με την απόσταση z με ρυθμό που καθορίζεται από τον συντελεστή απορρόφησης α του υλικού. Ο συντελεστής απορρόφησης α εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας Λέιζερ και την θερμοκρασία του υλικού. Η σχέση Beer – Lambert περιγράφει την εξέλιξη της έντασης της ακτινοβολίας Λέιζερ σε απόσταση z από την επιφάνεια του υλικού:

$$\text{Εξίσωση 8: } I(z) = I_0 e^{-a(\lambda,T)z}$$

Όπου I_0 η ένταση στην επιφάνεια του υλικού, δηλαδή το ποσοστό της ακτινοβολίας Λέιζερ που δεν ανακλάται. Ο αντίστοιχος ρυθμός απόθεσης ενέργειας ανά όγκο υλικού δίνεται από την έκφραση $\alpha I_0 e^{-\alpha z}$.

Ένα σύνθητες μέγεθος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της οπτικής απορρόφησης ενός υλικού είναι το βάθος οπτικής απορρόφησης $\delta = 1 / \alpha$. Το μήκος δ εκφράζει το βάθος του υλικού στο οποίο η ένταση της ακτινοβολίας λαμβάνει την τιμή της προσπίπτουσα έντασης I_0 πολλαπλασιασμένη με τον παράγοντα $1 / e$. Για τα περισσότερα μέταλλα η τιμή του βάθους οπτικής απορρόφησης κυμαίνεται σε 10 nm – 30 nm για την UV ακτινοβολία Λέιζερ.

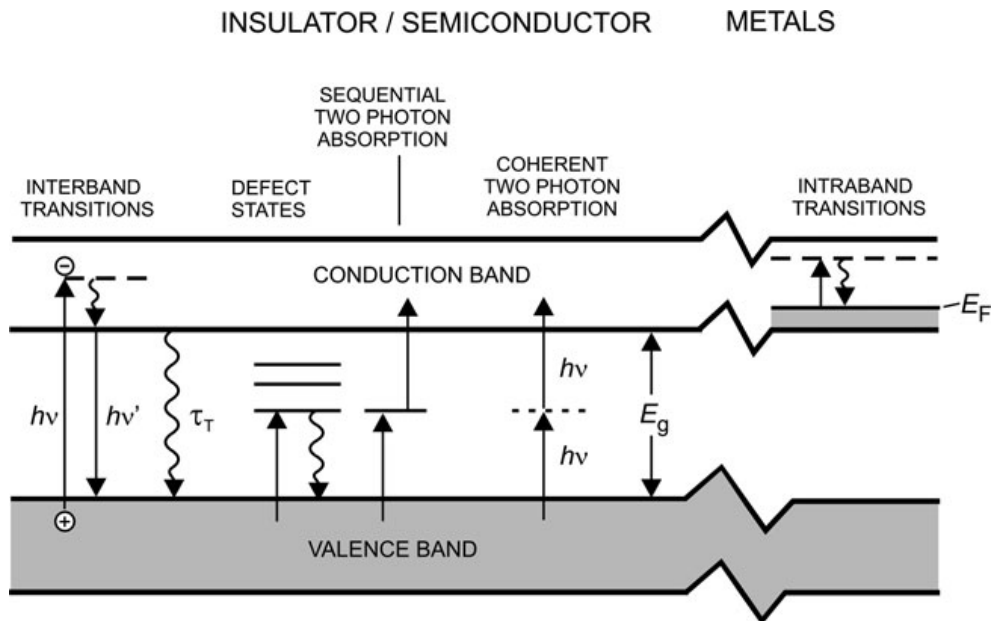
Πρέπει να σημειωθεί πως για όλους τους παραπάνω συλλογισμούς έχουν θεωρηθεί φαινόμενα γραμμικής απορρόφησης από τα υλικά. Είναι γεγονός πως ένα μεγάλο εύρος υλικών εμφανίζουν φαινόμενα μη γραμμικής απορρόφησης κάτω από κατάλληλες συνθήκες ακτινοβολίας Λέιζερ. Για παράδειγμα, η μη γραμμική συμπεριφορά του δείκτη διάθλασης του γυαλιού κάτω από συνθήκες ακτινοβολίας με fs Λέιζερ παλμούς οδηγεί σε ενδιαφέροντα φαινόμενα όπως η αυτοεστίαση της δέσμης [Tzortzakakis et al. 2001]. Στις περιπτώσεις των Λέιζερ συνεχούς λειτουργίας αλλά και των περισσότερων παλμικών Λέιζερ με διάρκεια παλμούς έως και την ns περιοχή η ακτινοβολία απορροφάται με μονοφωτονικές αλληλεπιδράσεις. Παρόλα αυτά, για την περίπτωση των ps και fs παλμών Λέιζερ, η εξαιρετικά γρήγορη διάρκεια του παλμού οδηγεί σε φαινόμενα πολυφωτονικής απορρόφησης τα οποία περιορίζουν σημαντικά το μήκος οπτικής απορρόφησης [Maruo et al. 2008].

1.4.2 Μηχανισμοί απορρόφησης της ακτινοβολίας Λέιζερ

Οι πρωταρχικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ ακτινοβολίας Λέιζερ και ύλης είναι πάντοτε μη θερμικής φύσης. Ο εκάστοτε μηχανισμός αλληλεπίδρασης με τον οποίο προκύπτει η απορρόφηση της ενέργειας Λέιζερ εξαρτάται από το είδος του υλικού αλλά τα χαρακτηριστικά της ακτινοβολίας Λέιζερ όπως η ενέργεια των φωτονίων και η διάρκεια του παλμού.

Στα στερεά, η ακτινοβολία Λέιζερ μπορεί να αλληλεπιδράσει μέσω πρωτογενών διεγέρσεων οι οποίες ενεργοποιούνται από τα φωτόνια. Τέτοιου είδους διεγέρσεις είναι οι ηλεκτρονιακές (ενδο-ζωνικές και δια-ζωνικές μεταβάσεις, πλασμόνια, εξιτόνια κ.α) αλλά και οι διεγέρσεις φωνονίων, πολαριτονίων και μαγνιτονίων. Μια σχηματική αναπαράσταση των βασικών μηχανισμών απορρόφησης της ακτινοβολίας Λέιζερ εμφανίζεται στην **Εικόνα**

11. Η ενέργεια E_g αποτελεί το ενεργειακό χάσμα και εκφράζει την διαφορά ανάμεσα στις ζώνες σθένους και αγωγιμότητας.



Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση των ηλεκτρονικών διεγέρσεων σε ένα στερεό. Εμφανίζονται μόνο η υψηλότερη Ζώνη Σθένους (VB) και η χαμηλότερη Ζώνη Αγωγιμότητας (CB). Οι συνεχόμενες γραμμές εκφράζουν απορρόφηση ή εκπομπή φωτονίων με διαφορετικές ενέργειες. Οι καμπυλωμένες γραμμές εκφράζουν μη ακτινοβολητικές διαδικασίες. Διαζωνικές μεταβάσεις από την VB στη CB λαμβάνουν χώρα εφόσον $h\nu \geq E_g$ και οδηγούν στον σχηματισμό ενός ζεύγους οπής – ηλεκτρονίου. Η παρουσία ατελειών, προσμίξεων ή επιφανειακών καταστάσεων οδηγεί συχνά σε μεταβάσεις με $h\nu \leq E_g$. Σε ακτινοβολήσεις με μεγάλη πυκνότητα ενέργειας Λέιζερ, τα φαινόμενα πολυφωτονικής απορρόφησης μέσω των καταστάσεων των ατελειών ή της σύμφωνης διέγερσης, γίνονται σημαντικά. Τέλος ενδο-ζωνικές μεταβάσεις λαμβάνουν χώρα κατά την ακτινοβολήση μετάλλων ή ημιαγωγών σε μεγάλη θερμοκρασία [Bauerle 2011].

Ο χρόνος για την μετατροπή της ενέργειας σε θερμότητα (thermalization) εξαρτάται από το είδος του υλικού και τα χαρακτηριστικά της ακτινοβολίας Λέιζερ. Στα μέταλλα, τα φωτόνια απορροφούνται σχεδόν αποκλειστικά αλληλεπιδρώντας με τα ελεύθερα ηλεκτρόνια της ζώνης αγωγιμότητας. Η χρονική διάρκεια μεταξύ των ηλεκτρονικών συγκρούσεων, τ_e , είναι της τάξης των 10^{-14} s με 10^{-12} s (10 fs με 1 ps). Οι αντίστοιχοι χαρακτηριστικοί χρόνοι αποκατάστασης (relaxation time) για τις σκεδάσεις ηλεκτρονίου – φωτονίου, τ_{e-ph} , είναι σημαντικά μεγαλύτεροι εξαιτίας της μεγάλης διαφοράς της μάζας των ηλεκτρονίων από αυτή των ιόντων. Ανάλογα με την ισχύ της σύζευξης ηλεκτρονίου – φωτονίου, η τιμή του χρόνου τ_{e-ph} κυμαίνεται από 10^{-12} s έως και 10^{-10} s. Παρόμοιοι χαρακτηριστικοί χρόνοι εμφανίζονται και για τα ημι-δέσμια ηλεκτρόνια της Ζώνης Αγωγιμότητας ημιαγωγών, όπως το πυρίτιο.

Στα μη-μεταλλικά υλικά, οι διαζωνικές μεταβάσεις διαρκούν πολύ περισσότερο για χρονικά διαστήματα που κυμαίνονται από 10^{-12} s έως και 10^{-6} s. Οι διεγέρσεις από τοπικά εντοπισμένες ηλεκτρονικές καταστάσεις που σχετίζονται με ατέλειες, προσμίξεις ή την επιφάνεια έχουν ακόμη μεγαλύτερο χρόνο ζωής. Σε κάθε περίπτωση πρέπει να τονιστεί πως για την ισχυρή πυκνότητα οπτικής ακτινοβολίας που επιτυγχάνεται με τα Λέιζερ, οι μηχανισμοί διέγερσης και αποκατάστασης μπορούν να διαφοροποιηθούν σημαντικά σε

σύγκριση με αυτούς που εμφανίζονται για απορρόφηση οπτικής ακτινοβολίας χαμηλής έντασης.

Η χρήση ακτινοβολίας Λέιζερ υψηλής έντασης οδηγεί στην δημιουργία μεγάλης πυκνότητας διεγερμένων καταστάσεων με θερμικό ή μη θερμικό μηχανισμό. Η συγκέντρωση τέτοιων διεγερμένων καταστάσεων (μορίων, ατόμων, ιόντων, ηλεκτρονίων κ.α) μπορεί να υπερβεί και 10^{22} είδη / cm^3 . Η σύζευξη των πρωταρχικών διεγέρσεων μεταξύ τους αλλά και με την ισχυρή ακτινοβολία Λέιζερ οδηγεί στην εμφάνιση ενός πλήθους νέων φαινομένων. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι μεταβολές στην ενεργό διατομή απορρόφησης, η θερμική διαφυγή στα μέταλλα και τους ημιαγωγούς και φαινόμενα αυτοεστίασης σε διαφανή μέσα. Επιπρόσθετα, υψηλή συγκέντρωση ελεύθερων φορέων δύναται να εμφανιστεί λόγω των διαζωνικών μεταβάσεων και των ιονισμών σε ημιαγωγούς και μονωτές. Σε ακόμη μεγαλύτερες εντάσεις ακτινοβολίας Λέιζερ, τα μη γραμμικά φαινόμενα της αυτοεστίασης και της πολυφωτονικής απορρόφησης διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο.

1.4.3 Η εξίσωση διάδοσης της θερμότητας

Στην περίπτωση που η ακτινοβολία Λέιζερ απορροφάται από την ύλη από φωτοθερμικές (photothermal) διεργασίες, η χωρική και χρονική κατανομή της θερμοκρασίας στο μέσο μπορεί να υπολογιστεί με χρήση της εξίσωσης διάδοσης της θερμότητας. Με καθορισμένες τις παραμέτρους του Λέιζερ, η θερμοκρασιακή κατανομή εξαρτάται από την οπτική απορρόφηση εντός της ζώνης ακτινοβολίας, την μεταφορά θερμότητας από την ζώνη ακτινοβολίας προ τα έξω και τις ενθαλπίες μετασχηματισμού φάσης (πχ. κρυσταλοποίηση, τήξη, εξάτμιση) εάν και εφόσον αυτές πραγματοποιούνται. Η γενικευμένη εξίσωση διάδοσης της θερμότητας κατά τον άξονα διάδοσης της ακτινοβολίας Λέιζερ δίνεται από την σχέση:

$$\text{Εξίσωση 9: } \rho(\mathbf{x}, T) c_p(\mathbf{x}, T) \frac{\partial T(\mathbf{x}, t)}{\partial t} - \nabla [\kappa(\mathbf{x}, t) \nabla T(\mathbf{x}, t)] = Q(\mathbf{x}, t)$$

Όπου ρ η πυκνότητα μάζας, c_p η ειδική θερμοχωρητικότητα, και κ η θερμική αγωγιμότητα. Το αριστερό μέρος της **Εξίσωση 9** περιγράφει την θερμοκρασιακή εξέλιξη στο μέσο εξαιτίας της θερμικής του αγωγιμότητας ενώ ο παράγοντας την $Q(\mathbf{x}, t)$ τον ρυθμό παροχής θερμότητας από το Λέιζερ. Ο παράγοντας $Q(\mathbf{x}, t)$ έχει μονάδες ισχύος ανά όγκο και στην γενική του μορφή μπορεί να περιγραφεί από την **Εξίσωση 10**:

$$\text{Εξίσωση 10: } Q(\mathbf{x}, t) = g(x, y) \cdot a \cdot I(z) \cdot q(t) + U(\mathbf{x}, t)$$

Όπου $g(x, y)$ η χωρική κατανομή της δέσμης Λέιζερ, a ο συντελεστής απορρόφησης, $q(t)$ η χρονική εξέλιξη του παλμού και $I(z)$ ένταση της δέσμης που δίνεται από την **Εξίσωση 8**. Η συνάρτηση $U(\mathbf{x}, t)$ περιγράφει την επιρροή των αλλαγών φάσης και των χημικών αντιδράσεων.

Στις περισσότερες περιπτώσεις η **Εξίσωση 9** είναι μια μη γραμμική μερική διαφορική εξίσωση στην οποία είναι αρκετά δύσκολη ή και αδύνατη η εύρεση μιας αναλυτικής λύσης. Η επίλυση περιπλέκεται περαιτέρω στην περίπτωση που εξετάζονται υλικά με πραγματικές θερμικές και οπτικές ιδιότητες, οι οποίες στις περισσότερες περιπτώσεις παρουσιάζουν εξάρτηση από την θερμοκρασία. Σαν αποτέλεσμα, η εξαγωγή ακριβών υπολογισμών

καθίσταται δυνατή μόνο με την χρήση εξειδικευμένων τεχνικών προσομοίωσης με πεπερασμένα στοιχεία. Σε πολλές όμως περιπτώσεις το εκάστοτε πρόβλημα μπορεί να επιτρέψει την χρήση αρκετών παραδοχών που απλοποιούν την αναλυτική επίλυση της **Εξίσωση 9**. Μια σημαντική συλλογή τέτοιων αναλυτικών λύσεων παρουσιάζονται στο βιβλίο του Bauerle [Bauerle 2011].

Ένα σημαντικό ποιοτικό μέγεθος που μπορεί να ανακύψει από την **Εξίσωση 9** κάνοντας χρήση τέτοιου είδους παραδοχών είναι το βάθος θερμικής διάχυσης $l_T = \zeta \sqrt{D\tau}$, όπου $D = k / \rho c_p$ είναι η θερμική διαχυτότητα του μέσου. Το βάθος θερμικής διάχυσης εκφράζει το βάθος στο οποίο διαδίδεται η θερμότητα σε χαρακτηριστικό χρόνο τ . Ο παράγοντας ζ είναι μια σταθερά που εκφράζει τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του προβλήματος. Θεωρώντας ως χαρακτηριστικό χρόνος τ τη χρονική διάρκεια του παλμού Λέιζερ, προκύπτει το βάθος θερμικής διάχυσης της θερμότητας κατά την διάρκεια του παλμού. Μετά το πέρας της αρχικής αυτής αλληλεπίδρασης, η θερμότητα διαχέεται περαιτέρω οδηγώντας σε αύξηση της θερμοκρασίας σε βάθος σημαντικά μεγαλύτερο από βάθος θερμικής διάχυσης. Το βάθος αυτό είναι γνωστό ως βάθος θερμικής επιρροής και εξαρτάται από τις θερμικές ιδιότητες του μέσου.

Αναφορές

- Alom, S., Chen, C.S. & Chen, C.S. Microcontact printing: A tool to pattern. *Soft Matter* 3, 168-177 (2007).
- Arnold, C.B., Serra, P. & Piqué, A. Laser direct-write techniques for printing of complex materials. *Mrs Bulletin* 32, 23-31 (2007).
- Auyeung, R.C.Y. et al. Laser forward transfer based on a spatial light modulator. *Applied Physics A* 102, 21-26 (2010).
- Auyeung, R.C.Y. Laser Direct-Write of Metallic Nanoparticle Inks. *Journal of Laser Micro/Nanoengineering* 2, 21-25 (2007).
- Barron, J.A. et al. Printing of protein microarrays via a capillary-free fluid jetting mechanism. *Proteomics* 5, 4138-44 (2005).
- Bauerle, D. Laser Processing and Chemistry. (Springer, Heidelberg, 2011).
- Blanchet-Fincher, G. Donor element and process for laser-induced thermal transfer. *US Patent* 5,523,192 (1996)
- Blanchet, G.B., Loo, Y.-L., Rogers, J. a, Gao, F. & Fincher, C.R. Large area, high resolution, dry printing of conducting polymers for organic electronics. *Applied Physics Letters* 82, 463 (2003).
- Bohandy, J., Kim, B.F. & Adrian, F.J. Metal deposition from a supported metal film using an excimer laser. *Journal of Applied Physics* 60, 1538 (1986).
- Bohandy, J., Kim, B.F., Adrian, F.J. & Jette, A.N. Metal deposition at 532 nm using a laser transfer technique. *Journal of Applied Physics* 63, 1158 (1988).
- Boutopoulos, C., Andreakou, P., Kafetzopoulos, D., Chatzandroulis, S. & Zergioti, I. Direct laser printing of biotin microarrays on low temperature oxide on Si substrates. *Physica Status Solidi (a)* 205, 2505-2508 (2008a).
- Boutopoulos, C., Pandis, C., Giannakopoulos, K., Pissis, P. & Zergioti, I. Polymer/carbon nanotube composite patterns via laser induced forward transfer. *Applied Physics Letters* 96, 041104 (2010).
- Bratton, D., Yang, D., Dai, J. & Ober, C.K. Recent progress in high resolution lithography. *Polymers for Advanced Technologies* 17, 94-103 (2006).
- Brown, M.S., Kattamis, N.T. & Arnold, C.B. Time-resolved dynamics of laser-induced microjets from thin liquid films. *Microfluidics and Nanofluidics* 11, 199-207 (2011).
- Chakraborty, S., Sakata, H., Yokoyama, E., Wakaki, M. & Chakravorty, D. Laser-induced forward transfer technique for maskless patterning of amorphous V2O5 thin film. *Applied Surface Science* 254, 638-643 (2007).

- Chang-Jian, S.-K., Ho, J.-R., Cheng, J.-W.J. & Sung, C.-K. Fabrication of carbon nanotube field emission cathodes in patterns by a laser transfer method. *Nanotechnology* 17, 1184-1187 (2006).
- Colina, M., Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Serra, P. & Morenza, J.L. Laser-induced forward transfer of liquids: Study of the droplet ejection process. *Journal of Applied Physics* 99, 084909 (2006).
- Colina, M., Serra, P., Fernández-Pradas, J.M., Sevilla, L. & Morenza, J.L. DNA deposition through laser induced forward transfer. *Biosensors & bioelectronics* 20, 1638-42 (2005).
- Dinca, V. et al. Patterning parameters for biomolecules microarrays constructed with nanosecond and femtosecond UV lasers. *Thin Solid Films* 516, 6504-6511 (2008).
- Doraiswamy, A. et al. Excimer laser forward transfer of mammalian cells using a novel triazene absorbing layer. *Applied Surface Science* 252, 4743-4747 (2006).
- Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Morenza, J.L. & Serra, P. Time-resolved imaging of the laser forward transfer of liquids. *Journal of Applied Physics* 106, 084907 (2009).
- Fardel, R., Nagel, M., Nüesch, F., Lippert, T. & Wokaun, A. Fabrication of organic light-emitting diode pixels by laser-assisted forward transfer. *Applied Physics Letters* 91, 061103 (2007a).
- Fardel, R., Nagel, M., Nüesch, F., Lippert, T. & Wokaun, A. Laser forward transfer using a sacrificial layer: Influence of the material properties. *Applied Surface Science* 254, 1322-1326 (2007b).
- Fogarassy, E., Fuchs, C., Kerherve, F., Hauchecorne, G. & Perriere, J. Laser-induced forward transfer of high-Tc YBaCuO and BiSrCaCuO superconducting thin films. *Journal of Applied Physics* 66, 457 (1989).
- Greer, J.A. & Parker, T.E. Laser-induced forward transfer of metal oxides to trim the frequency of surface acoustic wave resonator devices. *Proc. SPIE* 113-125 (1988).
- Gruene, M., Unger, C., Koch, L., Deiwick, A. & Chichkov, B. Dispensing pico to nanolitre of a natural hydrogel by laser-assisted bioprinting. *Biomedical engineering online* 10, 19 (2011).
- Heller, J., Bartha, J., Poon, C. & Tam, A. Temperature dependence of the reflectivity of silicon with surface oxide at wavelengths of 633 and 1047 nm. *Applied Physics Letters* 75, 43 (1999).
- Hon, K., Li, L. & Hutchings, I. Direct writing technology—Advances and developments. *CIRP Annals - Manufacturing Technology* 57, 601-620 (2008).
- Hopp, B. et al. Survival and Proliferative Ability of Various Living Cell Types after Laser-Induced Forward Transfer. *Tissue Engineering* 11, (2005).
- Kantor, Z., Toth, Z. & Szorenyi, T. Deposition of micrometer-sized tungsten patterns by laser transfer technique. *Applied Physics Letters* 64, 3506-3508 (1994).

Kattamis, N.T., Purnick, P.E., Weiss, R. & Arnold, C.B. Thick film laser induced forward transfer for deposition of thermally and mechanically sensitive materials. *Applied Physics Letters* 91, 171120 (2007).

Kaur, K.S. et al. Shadowgraphic studies of triazene assisted laser-induced forward transfer of ceramic thin films. *Journal of Applied Physics* 105, 113119 (2009).

Kim, H., Auyeung, R.C.Y., Lee, S.H., Huston, a L. & Piqué, a Laser-printed interdigitated Ag electrodes for organic thin film transistors. *Journal of Physics D: Applied Physics* 43, 085101 (2010).

Kyrkis, K.D., Andreadaki, A.A., Papazoglou, D.G. & Zergioti, I. Direct Transfer and Microprinting of Functional Materials by Laser Induced Forward Transfer Process. *Recent Advances In Laser Processing of Materials* 213-241 (2006).

Landström, L., Klimstein, J., Schrems, G., Piglmayer, K. & Bäuerle, D. Single-step patterning and the fabrication of contact masks by laser-induced forward transfer. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* 78, 537-538 (2004).

Levene, M.L., Scott, R.D. & Siryj, B.W. Material Transfer Recording. *Applied Optics* 9, 2260 (1970).

Lewis, B.R., Kinzel, E.C., Laurendeau, N.M., Lucht, R.P. & Xu, X. Planar laser imaging and modeling of matrix-assisted pulsed-laser evaporation direct write in the bubble regime. *Journal of Applied Physics* 100, 033107 (2006).

Maruo, S. & Fourkas, J.T. Recent progress in multiphoton microfabrication. *Laser & Photonics Review* 2, 100-111 (2008).

Mézel, C. et al. Self-consistent modeling of jet formation process in the nanosecond laser pulse regime. *Physics of Plasmas* 16, 123112 (2009).

Mézel, C. et al. Self-consistent modeling of jet formation process in the nanosecond laser pulse regime. *Physics of Plasmas* 16, 123112 (2009).

Micke, P., Ostman, A., Lundeberg, J. & Ponten, F. Laser-assisted cell microdissection using the PALM system. *Methods in Molecular Biology* **293**, 151–166 (2005).

Mogyorósi, P., Szörényi, T., Bali, K., Tóth, Z. & Hevesi, I. Pulsed laser ablative deposition of thin metal films. *Applied Surface Science* 36, 157-163 (1989).

Nagel, M. et al. Aryltriazene Photopolymers for UV-Laser Applications: Improved Synthesis and Photodecomposition Study. *Macromolecular Chemistry and Physics* 208, 277-286 (2007).

Pearson, A., Cox, E., Blake, J.R. & Otto, S.R. Bubble interactions near a free surface. *Engineering Analysis with Boundary Elements* 28, 295-313 (2004).

Piqué, A., Auyeung, R.C.Y., Kim, H., Metkus, K.M. & Mathews, S.A. Digital Microfabrication by Laser Decal Transfer. *Journal of Laser Micro/Nanoengineering* 3, 163-169 (2008).

Prosperetti, A. A generalization of the Rayleigh–Plesset equation of bubble dynamics. *Phys. Fluids* 25, 409 (1982).

Rapp, L. et al. Pulsed-laser printing of organic thin-film transistors. *Applied Physics Letters* 95, 171109 (2009).

Ringeisen, B.R. et al. Picoliter-scale protein microarrays by laser direct write. *Biotechnology progress* 18, 1126-9 (2002).

Sakata, H., Chakraborty, S., Yokoyama, E., Wakaki, M. & Chakravorty, D. Laser-induced forward transfer of TiO₂–Au nanocomposite films for maskless patterning. *Applied Physics Letters* 86, 114104 (2005).

Sano, T., Yamada, H., Nakayama, T. & Miyamoto, I. Experimental investigation of laser induced forward transfer process of metal thin films. *Applied Surface Science* 186, 221-226 (2002).

Schiele, N.R. et al. Laser direct writing of combinatorial libraries of idealized cellular constructs: Biomedical applications. *Applied Surface Science* 255, 5444-5447 (2009).

Schiele, N.R. et al. Laser-based direct-write techniques for cell printing. *Biofabrication* 2, 032001 (2010).

Schütze, K., Niyaz, Y., Stich, M. & Buchstaller, Noncontact laser microdissection and catapulting for pure sample capture. *Methods in cell biology* 82, 649-73 (2007).

Serra, P., Colina, M., Fernández-Pradas, J.M., Sevilla, L. & Morenza, J.L. Preparation of functional DNA microarrays through laser-induced forward transfer. *Applied Physics Letters* 85, 1639 (2004).

Shugaev, M.V. & Bulgakova, N.M. Thermodynamic and stress analysis of laser-induced forward transfer of metals. *Applied Physics A* 101, 103-109 (2010).

Thomas, B. et al. Experimental investigations of laser-induced forward transfer process of organic thin films. *Applied Surface Science* 254, 1206-1210 (2007).

Tolbert, W.A., Lee, I.-Y.S., Doxtader, M.M., Ellis, E.W. & Dlott, D.D. High-speed color imaging by laser ablation transfer with a dynamic release layer: fundamental mechanisms. *J. Imaging Sci. Technol* 37, 411 – 421 (1993).

Tzortzakis, S. et al. Self-Guided Propagation of Ultrashort IR Laser Pulses in Fused Silica. *Physical Review Letters* 87, 19-22 (2001).

Vogel, A. et al. Principles of laser microdissection and catapulting of histologic specimens and live cells. *Methods in cell biology* 82, 153-205 (2007).

Wang, J., Auyeung, R.C.Y., Kim, H., Charipar, N. a & Piqué, A. Three-dimensional printing of interconnects by laser direct-write of silver nanopastes. *Advanced materials* 22, 4462-6 (2010).

- Weeber, J.-C. et al. Near-field observation of surface plasmon polariton propagation on thin metal stripes. *Physical Review B* 64, 1-9 (2001).
- Willis, D. & Grosu, V. The effect of melting-induced volumetric expansion on initiation of laser-induced forward transfer. *Applied Surface Science* 253, 4759-4763 (2007).
- Willis, D.A. & Grosu, V. Microdroplet deposition by laser-induced forward transfer. *Applied Physics Letters* 86, 244103 (2005).
- Xiu-Mei, L., Jie, H., Jian, L. & Xiao-Wu, N. Growth and collapse of laser-induced bubbles in glycerol–water mixtures. *Chinese Physics B* 17, 2574-2579 (2008).
- Young, D., Auyeung, R., Pique, a, Chrisey, D. & Dlott, D. Plume and jetting regimes in a laser based forward transfer process as observed by time-resolved optical microscopy. *Applied Surface Science* 197-198, 181-187 (2002).
- Zergioti, I., Mailis, S. & Vainos, N. Microdeposition of metal and oxide structures using ultrashort laser pulses. *Applied Physics A: Materials Science & Processing* 582, 579-582 (1998).
- Zergioti, I., Makrygianni, M., Dimitrakis, P., Normand, P. & Chatzandroulis, S. Laser printing of polythiophene for organic electronics. *Applied Surface Science* 257, 5148-5151 (2011).

Κεφάλαιο 2: Αισθητήρες χωρητικότητας επιφανειακής τάσης και Φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες

Στο Κεφάλαιο 2 παρουσιάζεται μια ανασκόπηση στους τρεις βασικούς τύπους αισθητήρων που εξετάστηκαν στην παρούσα διδακτορική διατριβή. Αρχικά, παρουσιάζεται το πεδίο των χημικών και βιολογικών αισθητήρων επιφανειακής τάσης. Έμφαση δίνεται στους μικρο-αισθητήρες χωρητικότητας που βασίζονται σε μεμβράνες και προβόλους. Το πεδίο των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων ανασκοπείται με έμφαση στην αρχή λειτουργίας και τις τεχνικές ακινητοποίησης του φωτοσυνθετικού υλικού. Στο τέλος του κεφαλαίου παρουσιάζονται αναλυτικά τα αναμενόμενα πλεονεκτήματα από την χρήση της τεχνικής LIFT στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων.

2.1 Χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών

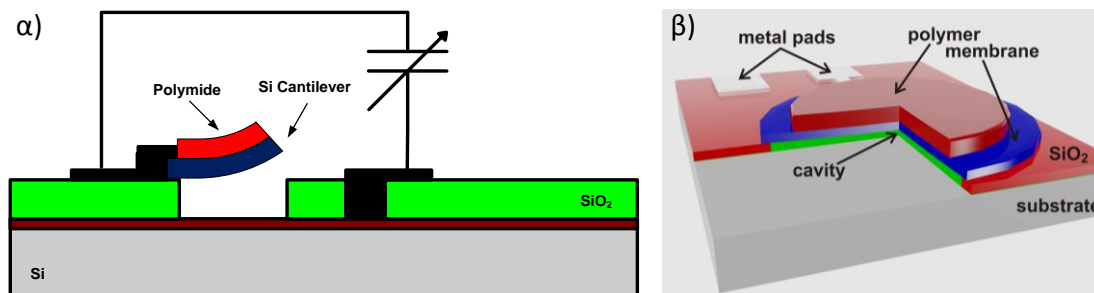
Το πεδίο των χημικών αισθητήρων αναπτύσσεται ταχύτητα τα τελευταία χρόνια μιας και οι εφαρμογές τέτοιου τύπου διατάξεων περιλαμβάνει σημαντικούς τομείς όπως η τεχνολογία τροφίμων, η περιβαλλοντική προστασία και ο βιομηχανικός έλεγχος. Η εντυπωσιακή πρόοδος που πραγματοποιήθηκε τα τελευταία 20 χρόνια στο πεδίο των μικρο-ηλεκτρομηχανικών συστημάτων (MEMS) οδήγησε σε νέα συστήματα ανίχνευσης βασισμένα στην τεχνική της μικρομηχανικής του πυριτίου. Οι χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας αποτελούν ένα μεγάλο τμήμα των αναπτυσσόμενων τεχνολογιών αίσθησης για την έρευνα και την βιομηχανία [Chatzandroulis et al. 2011]. Εμφανίζουν ιδιαίτερα πλεονεκτήματα όπως η απλότητα στην κατασκευή, η αυξημένη ευαισθησία και η χαμηλή κατανάλωση ισχύος. Οι πιο ευρεία διαδεδομένοι τύποι χημικών αισθητήρων χωρητικότητας, διακρίνονται σε αυτούς που βασίζονται μεταβολές της διηλεκτρικής σταθεράς και σε αυτούς που βασίζονται σε δίμορφους σχηματισμούς πυριτίου-πολυμερούς. Οι χημικοί αισθητήρες χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών ανασκοπούνται στις επόμενες ενότητες.

2.1.1 Αρχή λειτουργίας

Η αρχή λειτουργίας των χημικών αισθητήρων χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών βασίζεται στην ανάπτυξη μηχανικών τάσεων σε μια σύνθετη δομή, η οποία αποτελείται συνήθως από ένα πρόβολο ή μια μεμβράνη επικαλυμμένη με ένα ευαίσθητο πολυμερικό στρώμα. Η προσρόφηση ενός αναλυτή από το ευαίσθητο πολυμερικό στρώμα οδηγεί στην μεταβολή της μάζας του και στην ανάπτυξη επιφανειακών τάσεων. Η μεταβολή της μάζα μπορεί να οδηγήσει στη μεταβολή της συχνότητα συντονισμού ενός προβόλου ή μιας μεμβράνης προσφέροντας την δυνατότητα ανίχνευσης του αναλυτή. Στην περίπτωση της πρόκλησης επιφανειακών τάσεων ο πρόβολος ή η μεμβράνη κάμπτονται οδηγώντας στην μεταβολή ενός ηλεκτρικού σήματος που χρησιμοποιείται για την ανίχνευση του αναλυτή. Η προέλευση του ηλεκτρικού σήματος μπορεί να προέρχεται από ένα οπτικό, πιεζοηλεκτρικό ή χωρητικό σύστημα ανίχνευσης.

Στην περίπτωση της ανίχνευσης σήματος χωρητικότητας, ο πυκνωτής σχηματίζεται μεταξύ ενός εύκαμπτου ηλεκτροδίου (μεμβράνη ή πρόβολος) επικαλυμμένου με το

ευαίσθητη πολυμερικό στρώμα και ενός σταθερού ηλεκτροδίου [Εικόνα 12]. Το εύκαμπτο ηλεκτρόδιο αποτελείται από αγώγιμο υλικό και διαχωρίζεται από τον σταθερό ηλεκτρόδιο με ένα μικρό διάκενο. Βασικά πλεονεκτήματα της υλοποίησης ενός χωρητικού συστήματος ανίχνευσης είναι η αυξημένη ευαισθησία, η δυνατότητα σμίκρυνσης των διαστάσεων, χαμηλή κατανάλωση αλλά και η δυνατότητα ολοκλήρωσής του σε ένα ηλεκτρονικό σύστημα ανάγνωσης σήματος [Britton et al. 2000]. Δυσκολίες στη υλοποίηση χωρητικών συστημάτων ανίχνευσης ανακύπτουν κυρίως στην τεχνολογία των μικροπροβόλων. Σημαντικότερη όλων είναι η πιθανότητα προσκόλλησης και καταστροφής του προβόλου όταν έρθει σε επαφή με το σταθερό ηλεκτρόδιο [Chatzandroulis et al. 2002]. Επιπρόσθετα, η παρουσία του αναλύτη μπορεί να επηρεάσει την διηλεκτρική σταθερά του μέσου μεταξύ προβόλου και σταθερού ηλεκτροδίου προσθέτοντας θόρυβο στην ανίχνευση. Παρόλα αυτά η χρήση μικροπροβόλων για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων χωρητικότητας προσφέρει υψηλή ευαισθησία και έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς [Goeders et al. 2008]. Η αυξημένη ευαισθησία ανακύπτει από την μεγάλη δυνατότητα κάμψης εξαιτίας του ελεύθερου άκρου του μικροπροβόλου. Αντιθέτως, η χρήση μεμβρανών οδηγεί σε λιγότερο ευαίσθητες διατάξεις εξαιτίας της περιορισμένης δυνατότητας κάμψης λόγω της πακτωμένης περιφέρειάς της. Μολοταύτα, η χρήση μεμβρανών προσφέρει δυνατότητα ανίχνευσης σε σύνθετα περιβάλλοντα αναλύτη (πχ. αγώγιμο υγρό) εξαιτίας του ερμητικού σφραγίσματος του διαστήματος μεταξύ του εύκαμπτου και του σταθερού ηλεκτροδίου.



Εικόνα 12: Σχηματική αναπαράσταση αισθητήρων χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών πυριτίου-πολυμερούς α) Χημικός αισθητήρας μικροπροβόλου β) Χημικός αισθητήρας μεμβράνης [Chatzandroulis et al. 2011].

2.1.2 Τεχνικές επίστρωσης του πολυμερικού στρώματος

Ένα από τα σημαντικότερα βήματα στην ανάπτυξη των αισθητήρων δίμορφων σχηματισμών είναι η επίστρωση του ευαίσθητου πολυμερικού στρώματος στην επιφάνεια των αισθητήριων στοιχείων. Η επιλογή του πολυμερικού υλικού αλλά και η δυνατότητα ελέγχου του πάχους και των διαστάσεων των επικαλύψεων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην επιλεκτικότητα και την ευαισθησία των αισθητήρων.

Οι συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης πολυμερικών υμενίων όπως η επίστρωση εκ περιστροφής (spin coating), επίστρωση με εμβάπτιση (dip coating), η επίστρωση σταγόνας (drop coating), και ο in situ πολυμερισμός είναι γενικά μη εφαρμόσιμες σε σύνθετα μικρο-ηλεκτρομηχανικά συστήματα αίσθησης. Το ίδιο ισχύει και για πιο σύνθετες τεχνικές εναπόθεσης όπως η ηλεκτροχημική εναπόθεση και η τεχνική Langmuir-Blodgett. Η ασυμβατότητα των τεχνικών αυτών με την μικρο-ηλεκτρομηχανικά συστήματα ανακύπτει από την ανάγκη εναπόθεσης εντοπισμένων πολυμερικών δομών με μικρομετρικές διαστάσεις. Ιδιαίτερα στο πεδίο της ανάπτυξης διατάξεων ηλεκτρονικής μύτης (e-nose) [James et al. 2004] που στοχεύουν στην ανίχνευση πολλαπλών αναλυτών, υπάρχει

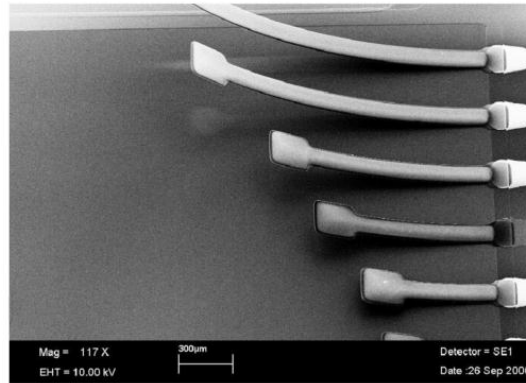
αναγκαιότητα εναπόθεσης διαφορετικών πολυμερικών υλικών σε μια συστοιχία από αισθητήρια στοιχεία.

Η τεχνολογία ψεκασμού μελάνης (ink-jet) αποτελεί την κυρίαρχη τεχνολογία εναπόθεσης πολυμερικών δομών σε υγρή φάση που προσφέρει υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα στις εναποτιθέμενες δομές [De-Gans et al. 2004]. Ως εκ τούτου, έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων δίμορφων σχηματισμών χωρητικότητας [Tang et al. 2011] και αγωγιμότητας [Mabrook et al. 2009, Lee et al. 2005]. Βασικό πλεονέκτημα της τεχνολογίας ink-jet είναι η απλότητα στην χρήση και η επίτευξη υψηλής χωρικής διακριτικής ικανότητας. Το βασικό μειονέκτημα της τεχνικής εντοπίζεται στους περιορισμούς που θέτει το σύστημα ψεκασμού ως προς τις ρεολογικές ιδιότητες των προς εναπόθεση πολυμερικών διαλυμάτων [De-Gans et al. 2004]. Η τεχνική της φωτολιθογραφίας πολυμερικών στρωμάτων, αποτελεί επίσης μια τεχνολογία εναπόθεσης που έχει εφαρμοστεί επιτυχώς για την ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων δίμορφων σχηματισμών χωρητικότητας [Kitsara et al. 2006]. Η τεχνολογία της φωτολιθογραφίας επιτυγχάνει εξαιρετικά υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα στα εναποτιθέμενα πολυμερικά υμένα. Παρόλα αυτά είναι εφαρμόσιμη σε ένα περιορισμένο εύρος πολυμερικών υλικών. Επιπρόσθετα, αποτελεί ένα επιπλέον κατασκευαστικό βήμα στην ανάπτυξη ενός αισθητήρα δίμορφου σχηματισμού, το οποίο είναι συνήθως χρονοβόρο και αυξάνει το κόστος κατασκευής.

Πρόσφατα έχει επιδειχθεί πως η τεχνολογία LIFT μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάπτυξη αισθητήρων δίμορφων σχηματισμών μέσω της εναπόθεσης πολυμερικών στρωμάτων σε υγρή ή και στερεά φάση. Η τεχνολογία έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη χημικών αισθητήρων χωρητικότητας [Boutoroulos et al. 2008, Tsouti et al. 2010a] και αγωγιμότητας [Boutoroulos et al. 2010]. Η τεχνολογία LIFT προσφέρει υψηλή διακριτική ικανότητα στην εναπόθεση. Επιπρόσθετα, είναι εφαρμόσιμη σε ένα μεγάλο εύρος πολυμερικών διαλυμάτων χωρίς να περιορίζεται από τις ρεολογικές ιδιότητές τους.

2.1.3 Αισθητήρες μικροπροβόλων

Η ανάπτυξη ενός χημικού αισθητήρα χωρητικότητας βασισμένου σε μικρο-προβόλους πυριτίου έχει αναφερθεί από τους Chatzandroulis et al. [Chatzandroulis et al. 2002]. Οι μικρο-πρόβολοι σχεδιάστηκαν με συνήθεις διεργασίες μικροηλεκτρονικής σε ορθογώνιο σχήμα με το μήκος τους να κυμαίνεται από 500 μm έως και 2500 μm . Ένα στρώμα πολυιμιδίου πάχους 2.5 μm επιστρώθηκε στην μια πλευρά των μικρο-προβόλων με την χρήση της φωτολιθογραφίας. Αρχικά, οι μικροπρόβολοι παρουσίαζαν ανοδική κάμψη εξαιτίας της συρρίκνωσης του πολυμερικού στρώματος κατά την απομάκρυνση του διαλύτη [Εικόνα 13]. Η έκθεση των μικροπροβόλων σε περιβάλλον υγρασίας είχε σαν αποτέλεσμα την άσκηση θλιπτικών τάσεων που οδήγησαν στην κάμψη τους προς το σταθερό ηλεκτρόδιο-υπόστρωμα. Σαν αποτέλεσμα της μεταβολής της απόστασης μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων η χωρητικότητα αυξήθηκε. Οι διατάξεις επέδειξαν τιμές ευαισθησίας που κυμάνθηκαν από 1 fF / % RH έως και 6 fF / % RH.



Εικόνα 13: Φωτογραφία SEM μικροπροβόλων πυριτίου επικαλυμμένων με πολυμερικό στρώμα πολυιμιδίου [Chatzandroulis et al. 2002].

Η χρήση διαφορετικών πολυμερικών υλικών επικάλυψης των προβόλων μπορεί να οδηγήσει στην ανίχνευση πολλαπλών χημικών ενώσεων. Οι Amirola et al. [Amirola et al. 2005] παρουσίασαν μια τέτοια διάταξη μικροπροβόλων στην οποία έγινε χρήση δύο διαφορετικών πολυμερικών υλικών. Πολυμερικά στρώματα poly dimethylsiloxane (PDMS) και poly epichlorohydrin (PECH) επιστρώθηκαν σε προβόλους πυριτίου πάχους 4 µm. Ο αισθητήρας δοκιμάστηκε για την ανίχνευση πτητικών οργανικών ουσιών όπως το τολουόλιο, το οκτάνιο και η προπανόλη. Η απόκριση εμφάνισε υψηλή ευαισθησία και επαναληψιμότητα για ένα εύρος συγκεντρώσεων αναλύτη από 10 ppm έως και 400ppm.

Πέραν της χρήσης τους ως αισθητήρων χωρητικότητας, οι δίμορφες μορφές προβόλων-πολυμερικών στρωμάτων έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία και ως χημικοί αισθητήρες συντονισμού [Rodríguez et al. 2004].

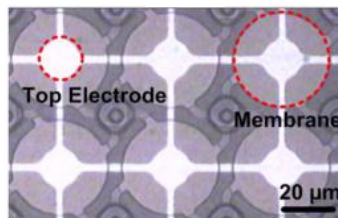
2.1.4 Αισθητήρες μεμβράνης

Οι αισθητήρες δίμορφων μορφών που στηρίζονται σε μεμβράνες επικαλυμμένες με πολυμερικά στρώματα, παρουσιάζουν παρόμοια αρχή ανίχνευσης με του μικροπορόλους. Η μεταβολή στην χωρητικότητα καταγράφεται ως αποτέλεσμα της μεταβολής της απόστασης μεταξύ του ευκάμπτου ηλεκτροδίου μεμβράνης και του σταθερού ηλεκτροδίου υποστρώματος.

Ένας τέτοιος τύπος αισθητήρα έχει επιδειχθεί με την κάλυψη μιας λεπτής μεμβράνης πυριτίου με ευαίσθητα πολυμερικά στρώματα [Chatzandroulis et al. 2004]. Στην συγκεκριμένη εργασία χρησιμοποιήθηκαν πέντε διαφορετικά πολυμερικά υλικά [poly-hydroxy-ethyl-methacrylate (PHEMA), poly-methyl-methacrylate (PMMA), poly-vinyl-acetate (PVAc), epoxydized novolac (EPN) and poly-dimethylsiloxane (PDMS)] για την επικάλυψη των μεμβρανών. Οι αισθητήρες εκτέθηκαν στην συνέχεια σε ατμούς υγρασίας, αιθανόλης και μεθανόλης. Η διαφορετική φύση των πολυμερικών επικαλύψεων οδήγησε σε διαφορετική ευαισθησία απόκρισης για τον κάθε αναλύτη.



(α)



(β)

Εικόνα 14: α) Σχηματική αναπαράσταση μιας μεμβράνης cMUT. β) Φωτογραφία οπτικού μικροσκοπίου μια συστοιχίας αισθητήρων cMUT [Park et al. 2007].

Οι μικρομηχανικοί μετατροπείς υπερήχων τύπου χωρητικότητας (capacitive micromachined ultrasonic transducers, cMUT) αποτελούν μία επίσης διαδεδομένη τεχνολογία αίσθησης βασισμένη σε δίμορφους σχηματισμούς μεμβράνης πολυμερούς [Εικόνα 14]. Οι cMUT είναι συστοιχίες μεμβρανών συντονισμού συνδεδεμένες παράλληλα και με κενό στις κοιλότητες κάτω από τις μεμβράνες [Huang et al. 2003]. Για την εφαρμογή τους ως χημικοί αισθητήρες επικαλύπτεται η επιφάνειά τους με πολυμερή ή αυτοοργανωμένες μοριακές επιφάνειες που κατά την προσρόφηση των αναλυτών αυξάνουν τη μάζα των στοιχείων και συνεπώς μετατοπίζουν τις συχνότητες συντονισμού τους.

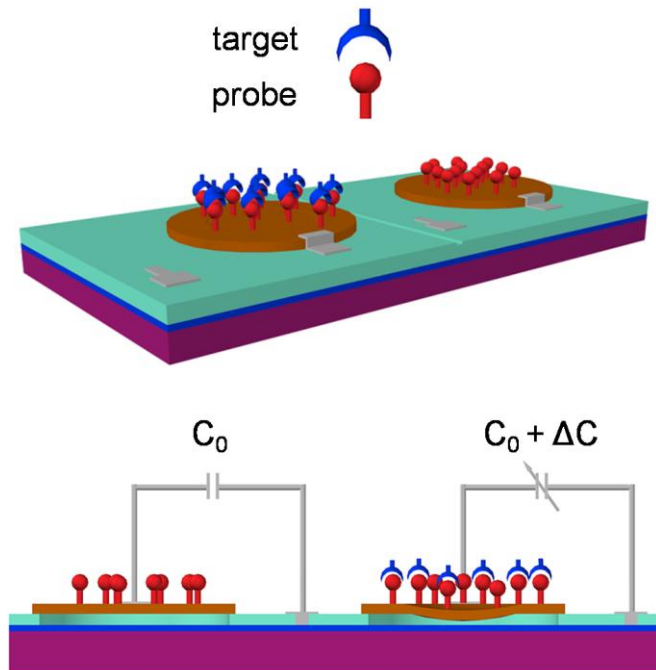
Στην εργασία των Quate et al. [Park et al. 2007] κάθε στοιχείο της συστοιχίας αποτελείται από 750 κυκλικές μεμβράνες νιτριδίου του πυριτίου με ακτίνα 18 μm και πάχος 0.85 μm. Για την υλοποίηση των χημικών αισθητήρων, οι cMUT επικαλύφθηκαν με τρία διαφορετικά πολυμερή [polyallylamine hydrochloride PAAM, polyethylene glycol PEG, polyvinyl alcohol, PVA], ενώ χρησιμοποιήθηκαν και αισθητήρες αναφοράς χωρίς επικάλυψη πολυμερούς. Οι αισθητήρες εκτέθηκαν σε αναλύτες όπως ισοπροπανόλη, ακετόνη, αιθανόλη και νερό και έδειξαν γρήγορους χρόνους απόκρισης και καλές ευαισθησίες φτάνοντας σε επίπεδα ανίχνευσης συγκεντρώσεων της τάξεως των ppb.

2.2 Βιολογικοί αισθητήρες χωρητικότητας επιφανειακής τάσης

Το πεδίο της διαγνωστικής ιατρικής προβάλλει συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον για επιτόπου διαγνωστικές μεθόδους με δυνατότητα γρήγορων και αξιόπιστων μετρήσεων χαμηλού κόστους. Στην κατεύθυνση αυτή έχουν υλοποιηθεί αρκετές 'μη συμβατικές' διαγνωστικές διατάξεις που περιλαμβάνουν φορητά συστήματα βιοαισθητήρων εξαιρετικά μικρών διαστάσεων. Στα περισσότερα από αυτά τα συστήματα, η ανίχνευση βιολογικών αντιδράσεων πραγματοποιείται δίχως την χρήση δεικτών (label free), γεγονός που μεγιστοποιεί την ταχύτητα ανίχνευσης.

Οι βιοαισθητήρες τύπου χωρητικότητας ικανοποιούν στο μέγιστο τις παραπάνω προϋποθέσεις. Ως εκ τούτου, έχουν αποδειχθεί ένα εξαιρετικό εργαλείο για την ανίχνευση πρότυπων βιολογικών αντιδράσεων σε απομονωμένα δείγματα αλλά και για την

υλοποίηση βιοαισθητήρων πραγματικών βιολογικών δειγμάτων (αίμα, ούρα, ορό κλπ) [Tsouti et al. 2011]. Οι βιοαισθητήρες χωρητικότητας διαχωρίζονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες, σε αυτούς που βασίζονται σε αλλαγές επιφανειακής τάσης, σε αυτούς που βασίζονται στις αλλαγές χωρητικότητας σε μια διεπιφάνεια ηλεκτροδίου – διαλύματος και σε αυτούς που βασίζονται σε ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια. Η αρχή λειτουργίας καθώς και οι βασικές εφαρμογές των τριών αυτών τύπων αισθητήρων χωρητικότητας μπορούν να βρεθούν στο άρθρο επισκόπηση των Tsouti et al. 2011. Στις παρακάτω παραγράφους παρουσιάζεται αναλυτικότερα η αρχή λειτουργίας και η βιβλιογραφία των αισθητήρων χωρητικότητας επιφανειακής τάσης οι οποίοι και υλοποιήθηκαν με την τεχνική LIFT.



Εικόνα 15: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας ενός αισθητήρα χωρητικότητας επιφανειακής τάσης.

Η αρχή λειτουργία των εν λόγω αισθητήρων είναι παρόμοια με αυτή των χημικών αισθητήρων δίμορφων σχηματισμών και βασίζεται στην κάμψη ενός εύκαμπτου ηλεκτροδίου (μεμβράνη ή μικρο-πρόβολος). Αρχικά, στο εύκαμπτο ηλεκτρόδιο προσδένονται τα βιομόρια αποδέκτες (probe molecules). Η επιφανειακή τάση που προκαλείται κατά την αλληλεπίδρασή τους με τα βιομόρια στόχους (target molecules), προκαλεί την κάμψη του εύκαμπτου ηλεκτροδίου και κατά συνέπεια μια μετρίσιμη αλλαγή στην χωρητικότητα του συστήματος. Στην **Εικόνα 15** εμφανίζεται μια σχηματική αναπαράσταση ενός βιοαισθητήρα χωρητικότητας επιφανειακής τάσης.

Στην εργασία των Cha et al. 2008 έχει επιδειχθεί η χρήση πολυμερικών μεμβρανών πάχους 2 μm – 4 μm για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων χωρητικότητας. Με την επικάλυψη των μεμβρανών με ένα λεπτό στρώμα χρυσού σχηματίζεται ο εύκαμπτος οπλισμός του πυκνωτή, ενώ παράλληλα εξασφαλίζεται μια επιφάνεια κατάλληλη για την ακινητοποίηση βιομορίων. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν των αισθητήρα για την ανίχνευση της υβριδοποίησης ολιγονουκλεοτιδίων σε συγκεντρώσεις έως και 50 nM. Για την συγκέντρωση του 1 μM , η μεταβολή στην χωρητικότητα κυμάνθηκε στα 6 fF η οποία αντιστοιχεί σε κάμψη της μεμβράνης της τάξης των 20 nm.

Πρόσφατα, ένας βιοαισθητήρας βασισμένος σε μια συστοιχία από αισθητήρες χωρητικότητας επιφανειακής τάσης έχει επιδειχθεί για την ανίχνευση πρωτεϊνικών αντιδράσεων και DNA υβριδοποίησης [Tsouti et al. 2009, Tsouti et al. 2010b]. Τα αισθητήρια στοιχεία αποτελούνται από λεπτές μεμβράνες πυριτίου πάχους 700 nm. Με χρήση του συγκεκριμένου τύπου αισθητήρα, οι ερευνητές έχουν επιδείξει την ανίχνευση στρεπταβιδίνης σε συγκέντρωση έως και 21 nM αλλά και την ανίχνευση υβριδοποίησης DNA σε συγκεντρώσεις έως και 9 nM.

2.3 Φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες

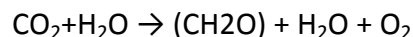
Οι φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες αποτελούν μια μεγάλη κατηγορία αισθητήρων που στηρίζονται στην χρήση απομονωμένου φωτοσυνθετικού υλικού ή ολόκληρων φωτοσυνθετικών οργανισμών για την ανίχνευση τοξικών ουσιών. Η χρήση των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων καλύπτει την αυξανόμενη ανάγκη για επιτόπιο και χαμηλού κόστους έλεγχο της τοξικότητας των υδάτινων πόρων και του εδάφους. Οι φωτοσυνθετικοί μικροοργανισμοί αλλά και τα φυτά από τα οποία απομονώνεται φωτοσυνθετικό υλικό, βρίσκονται στην βάση του οικοσυστήματος και αποτελούν τον πρωταρχικό στόχο των τοξικών ουσιών. Επομένως, η χρήση ενός φωτοσυνθετικού μικροοργανισμού ή απομονωμένου φωτοσυνθετικού υλικού, ως το στρώμα αναγνώρισης σε βιοαισθητήρες, παρέχει την δυνατότητα ανάπτυξης εξαιρετικών εργαλείων για τον περιβαλλοντολογικό έλεγχο.

2.3.1 Φωτοσύνθεση

Η φωτοσύνθεση είναι μια σημαντική βιοχημική αντίδραση η οποία άμεσα ή έμμεσα είναι απαραίτητη για το σύνολο των ζωντανών οργανισμών. Η φωτοσύνθεση περιλαμβάνει ένα σύνολο από οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις που έχουν σαν τελικό αποτέλεσμα την απελευθέρωση οξυγόνου μέσω της οξείδωσης του νερού. Παράλληλα, παράγονται υδατάνθρακες ως αποτέλεσμα της αναγωγής του διοξειδίου του άνθρακα. Οργανισμοί όπως τα φυτά, τα φύκη και ορισμένα βακτήρια έχουν την ικανότητα να φωτοσυνθέτουν. Η ολική αντίδραση της φωτοσύνθεσης μπορεί να γραφεί ως εξής:

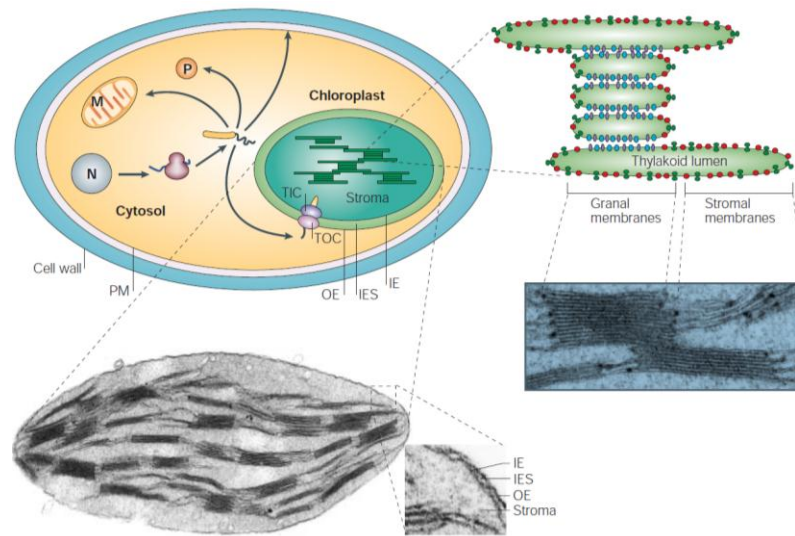


Το H_2A είναι ένα αναγωγικό που ποικίλει ανάλογα με το είδος του φωτοσυνθετικού οργανισμού και το (CH_2O) συμβολίζει τον υδατάνθρακα που προκύπτει. Για την περίπτωση που η φωτοσύνθεση λαμβάνει χώρα σε φυτά, άλγη και κυανοβακτήρια το αναγωγικό μέσο είναι το νερό και έτσι η ολική αντίδραση παίρνει την παρακάτω μορφή:

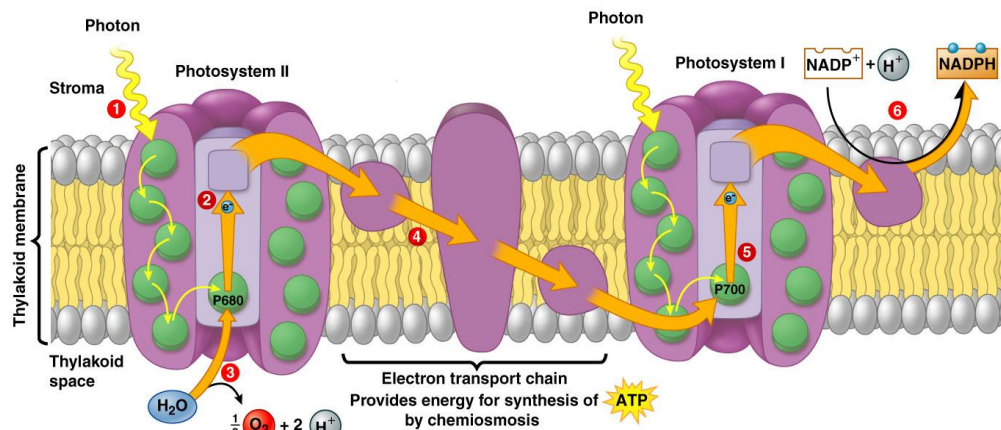


Ο φωτοσυνθετικός μηχανισμός των φυτών εντοπίζεται σε ειδικά οργανίδια, τους χλωροπλάστες. Το σχήμα και το μέγεθος των χλωροπλάστων ποικίλει ανάλογα με το είδος των φυτών στο οποίο ανήκουν. Οι χλωροπλάστες αποτελούνται από μία διπλή εξωτερική μεμβράνη η οποία περιβάλλει μια εσωτερική υδατική περιοχή η οποία ονομάζεται στρώμα. Στη περιοχή του στρώματος υπάρχει ένα σύστημα εσωτερικών μεμβρανών που διατάσσονται σε αναδιπλώσεις και λέγονται lamellae. Σε περιοδικά διαστήματα, τα

lamellae διαπλατώνονται και δημιουργούν μεμβρανώδεις σάκους, τα θυλακοειδή, που περιέχουν ένα εσωτερικό χώρο, γνωστό ως lumen. Τέλος, τα θυλακοειδή στοιβάζονται κατά κάποιο τρόπο σε μορφώματα, δημιουργώντας τα grana [Εικόνα 16].



Εικόνα 16: Σχηματική αναπαράσταση χλωροπλάστη και φωτογραφίες ηλεκτρονικής μικροσκοπίας του εσωτερικού του [Soll et al. 2004].

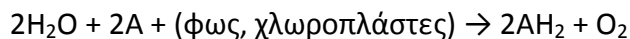


Εικόνα 17: Σχηματική αναπαράσταση της οργάνωσης της θυλακοειδούς μεμβράνης στην οποία φαίνονται τα τρία βασικά μεμβρανικά σύμπλοκα, το Φωτοσύστημα II, το κυτόχρωμα και το Φωτοσύστημα I.

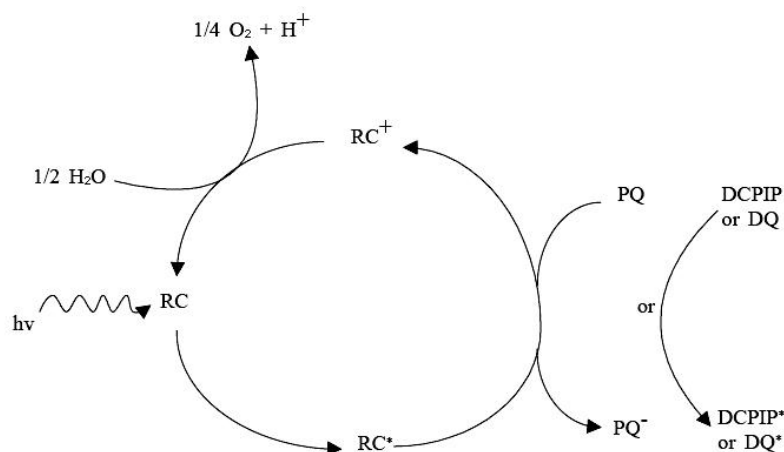
Οι θυλακοειδής μεμβράνες αποτελούν το κέντρο του φωτοσυνθετικού μηχανισμού στα φυτά και αποτελούνται από ένα σύνολο φωτοσυνθετικών πρωτεϊνών. Στα θυλακοειδή των φυτών υπάρχουν δύο είδη φωτοσυστημάτων: το Φωτοσύστημα I (PSI) και το Φωτοσύστημα II (PSII), τα οποία είναι πολυπρωτεϊνικά μεμβρανικά σύμπλοκα. Τα Φωτοσύστημα I και II συνδέονται με ένα τρίτο πρωτεϊνικό σύμπλοκο που ονομάζεται κυτόχρωμα. Μια απλουστευμένη αναπαράσταση της ηλεκτρονικής ροής μεταξύ των τριών πρωτεϊνικών συμπλόκων παρουσιάζεται στην **Εικόνα 17**.

2.3.2 Αντίδραση Hill

Την δεκαετία του 1930 ο Robert Hill παρατήρησε πως απομονωμένοι χλωροπλάστες ή μέρη αυτών ήταν σε θέση να απελευθερώσουν οξυγόνο κάτω από συνθήκες φωτισμού [Hill 1937]. Η απελευθέρωση του οξυγόνου προέρχεται από την διάσπασης του νερού (φωτόλυση) παρουσία ενός αναγωγικού παράγοντα A:



In vivo ηλεκτρονιοδέκτης είναι το NADP^+ , ωστόσο κάποιες χρωστικές όπως η 2,6-dichlorophenolindophenol (DCPIP) και η 2,3,5,6-Tetramethyl-1,4-benzoquinone (Duroquinone, DQ) μπορούν να χρησιμοποιηθούν *in vitro* ως τεχνητοί ηλεκτρονιοδέκτης. Η DCPIP μπορεί να λάβει τα ηλεκτρόνια από την πρωτεΐνη D1 του Φωτοσυστήματος II με μεγαλύτερη συγγένεια από την πλαστοκινόνη PQ [Εικόνα 18]. Δεδομένου ότι η ροή ηλεκτρονίων στο Φωτοσύστημα II επηρεάζεται από την παρουσία ζιζανιοκτόνων, η σχετική αναγωγή της DCPIP (ή της DQ) μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευσή τους.



Εικόνα 18: Σχηματική αναπαράσταση της αντίδρασης του ενεργού κέντρου του Φωτοσυστήματος II παρουσία ενός τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη (DCPIP ή DQ). RC είναι το ενεργό κέντρο του Φωτοσυστήματος II. PQ και PQ^- είναι η πλαστοκινόνη και η ανηγμένη της μορφή αντίστοιχα. DCPIP – DQ και DCPIP^* – DQ^* είναι οι τεχνητοί ηλεκτρονιοδέκτες πριν και μετά την πρόσληψη του ηλεκτρονίου.

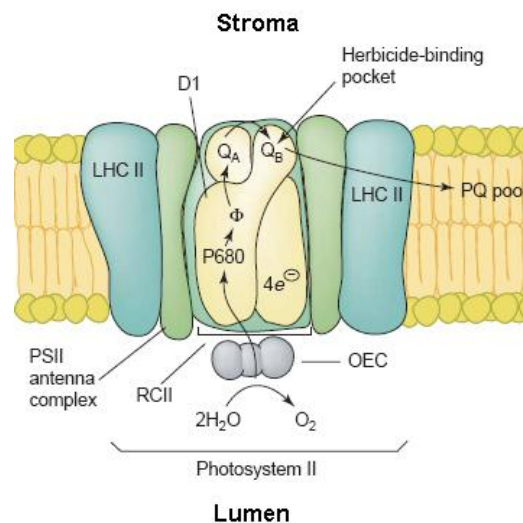
2.3.3 Ζιζανιοκτόνα αναστολείς της φωτοσυνθετικής δράσης

Η εφαρμογή των ζιζανιοκτόνων στη γεωργία υπήρξε αλόγιστη κατά τη διάρκεια των προηγούμενων δεκαετιών, με συνέπεια την ογκώδη ρύπανση του ύδατος και του εδάφους. Ακόμη και σήμερα, χιλιάδες τόνοι από ζιζανιοκτόνα καταλήγουν στον υδροφόρο ορίζοντα παγκοσμίως. Τα ζιζανιοκτόνα καταλήγουν στα φύλλα άμεσα είτε έμμεσα μέσω της απορρόφησής τους από τις ρίζες των φυτών.

Τα ζιζανιοκτόνα είναι ισχυρές χημικές ενώσεις οι οποίες παραμένουν ενεργές στο έδαφος με αποτέλεσμα να απορροφώνται από την οργανική ύλη. Παρόλο που τα περισσότερα ζιζανιοκτόνα παραμένουν στην επιφάνεια του εδάφους, τα υδατοδιαλυτά ζιζανιοκτόνα μπορεί να διαφύγουν στον υδροφόρο ορίζοντα. Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση που το υπέδαφος είναι αμμώδες ή στην περίπτωση που απουσιάζει οργανική ύλη για να τα απορροφήσει. Η διαφυγή τους στον υδροφόρο ορίζοντα προκύπτει σαν

αποτέλεσμα της βροχής μέσω της υπόγειας ή της επιφανειακής ροής του νερού [Tomlin 2009].

Με δεδομένη την τοξικότητα των ζιζανιοκτόνων για των άνθρωπο και τα ζώα, η αλόγιστη χρήση τους έχει σημαντικές περιβαλλοντολογικές επιπτώσεις. Οι κυριότερες επιπτώσεις που προκαλούνται στον ανθρώπινο οργανισμό είναι: προβλήματα στο νευρικό και αναπνευστικό σύστημα, βλάβες στο συκώτι και τα νεφρά, προβλήματα στην αναπαραγωγή, διάφορες αλλεργίες, επιδράσεις στο αίμα, πρόκληση καρκίνου διαφόρων μορφών κ.ά. Κατά συνέπεια, είναι σημαντικό να υπάρξουν συστήματα διαθέσιμα για μια γρήγορη ανάλυση του εδάφους, των στερεών υποστρωμάτων και των υδάτινων συστημάτων προκειμένου να ελεγχθεί η παρουσία των αυξανόμενων ποσών ζιζανιοκτόνων.



Εικόνα 19: Σχηματική αναπαράσταση της δομής του Φωτοσυστήματος II. Διακρίνεται η περιοχή δέσμευσης των ζιζανιοκτόνων που προκαλεί την αναστολή της ηλεκτρονιακής ροής.

Η δράση των ζιζανιοκτόνων στους φωτοσυνθετική δραστηριότητα των φυτών βασίζεται στην αναστολή της αντίδραση Hill. Ως εκ τούτου, παρεμποδίζουν την φωτοσύνθεση των ζιζανίων και επομένως την ανάπτυξή τους. Περίπου 30% των ζιζανιοκτόνων που χρησιμοποιούνται αναστέλλουν τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, εμποδίζοντας την ηλεκτρονιακή ροή στο φωτοσυστήμα II και επομένως εμποδίζουν την παραγωγή του ATP και NADPH [Oettmeier 1999].

Το Diuron ((3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea)) και το Linuron ((3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea)) είναι οι δύο τύποι ζιζανιοκτόνων ανιχνεύθηκαν στην παρούσα εργασία με χρήση του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα. Τα δύο αυτά ζιζανιοκτόνα ανήκουν στην κατηγορία των φαινυλοουρέων. Η δράση τους εντοπίζεται στην παρεμπόδιση της ροής των ηλεκτρονίων από την ημικινόνη QA⁻ στην κινόνη QB, επειδή συναγωνίζονται με την πλαστοκινόνη για τη θέση δέσμευσης της κινόνης QB [Vermaas et al. 1983]. Αυτή η παρεμπόδιση οφείλεται συγκεκριμένα στη σύνδεση των ζιζανιοκτόνων στην περιοχή δέσμευσης QB της πρωτεΐνης D1 [Oettmeier 1999] [Εικόνα 19]. Η υψηλή δεσμευτική συγγένεια αυτών των ζιζανιοκτόνων στη πρωτεΐνη D1 προσφέρει μια μοναδική δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί το Φωτοσυστήμα II ως βιολογικό στοιχείο αναγνώρισης στον τομέα των βιοαισθητήρων για την ανίχνευση ζιζανιοκτόνων.

2.3.4 Τεχνικές ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού

In vivo, το κυτταρικό περιβάλλον είναι αυτό που συμβάλει στην διατήρηση της δομής και της δράσης των φωτοσυνθετικών συμπλόκων. Στην περίπτωση όμως των απομονωμένων φωτοσυνθετικών υλικών παρατηρείται μια ταχεία μείωση στην ενεργότητά τους. Ως εκ τούτου, μια μεγάλη ποικιλία τεχνικών ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού έχουν διερευνηθεί με στόχο την διατήρηση της φωτοσυνθετικής δράσης [Campàs et al. 2008, Barthelmebs et al. 2011]. Οι τεχνικές ακινητοποίησης διαχωρίζονται χημικές και φυσικές μεθόδους ανάλογα με την παρουσία ή όχι ομοιοπολικών δεσμών.

Οι φυσικές μέθοδοι συνίστανται στην προσρόφηση σε ειδικά υποστρώματα ή τον εγκλεισμό σε φυσική ή τεχνητή γέλη. Η προσρόφηση αποτελεί μια ήπια μορφή ακινητοποίησης, η οποία ελαχιστοποιεί την επίδραση στον φωτοσυνθετικό υλικό, ενώ παράλληλα αποτελεί μια απλή και οικονομική μέθοδο. Το κυριότερο μειονέκτημα της τεχνικής προέρχεται από την ασθενή φύση των δυνάμεων προσρόφησης οι οποίες μπορεί να οδηγήσουν σε απομάκρυνση του υλικού από το υπόστρωμα ακινητοποίησης. Τυπικά παραδείγματα υποστρωμάτων προσρόφησης φωτοσυνθετικού υλικού αποτελούν τα διηθητικά δισκία αλουμίνιας [Pandard et al. 1993] και χαρτιού [Frense et al. 1998]. Η ακινητοποίηση με χρήση εγκλεισμού, ενώ αρχικά αναπτύχθηκε για την ακινητοποίηση ενζύμων, έχει βρει εφαρμογή και στη ακινητοποίηση φωτοσυνθετικού υλικού. Στην τεχνική εγκλεισμού, το φωτοσυνθετικό υλικό παγιδεύεται σε ένα τρισδιάστατο πολυμερικό δίκτυο το οποίο αποτελεί μια φυσική ή τεχνητή γέλη. Το άλας αλγινικού οξέως αποτελεί την πιο διαδεδομένη φυσική γέλη ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού [Koblížek et al. 2002]. Η συνθετική γέλη PVA-SbQ (poly(vinylalcohol) τροποποιημένη με styrylpyridinium) έχει επίσης χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την ακινητοποίηση απομονωμένων χλωροπλαστών σπανακιού [Rouillon et al. 1994] αλλά και ολόκληρων φωτοσυνθετικών κυττάρων κυανοβακτηρίων [Avramescu et al. 1999].

Οι χημικές μέθοδοι έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την ακινητοποίηση ενζύμων. Στην περίπτωση όμως των φωτοσυνθετικών υλικών η χρήση χημικών ουσιών αναστέλλει την φωτοσυνθετική τους δράση. Μολοταύτα, έχει επιδειχθεί πως η χρήση της γλουταραλδεΐδης μπορεί να διατηρήσει την αντίδραση Hill στους χλωροπλάστες [Park et al. 1966]. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε στην χρήση του γλουταραλδεΐδης για ακινητοποίηση χλωροπλαστών με βάση την διαμοριακή σύνδεση [Loranger et al. 1998]. Επιπρόσθετα, η όποια ανασταλτική δράση της γλουταραλδεΐδης στο φωτοσυνθετικό υλικό μπορεί να μειωθεί με την παρουσία κάποιων πρωτεϊνών κατά τον πολυμερισμό. Σε αυτή την κατεύθυνση, πολλές ομάδες έχουν κάνει χρήση του μείγματος γλουταραλδεΐδης και της πρωτεΐνης BSA (BSA-Glu) για την ακινητοποίηση μιας μεγάλης ποικιλία φωτοσυνθετικών υλικών [Loranger et al. 1994, Laberge et al. 2000].

2.3.5 Τύποι φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων

Η καταμέτρηση της απελευθέρωσης οξυγόνου (oxygenevolution), χρησιμοποιώντας ηλεκτρόδια τύπου Clark, αποτελεί μια τυπική διαδικασία στην έρευνα της φωτοσύνθεσης, παρέχοντας τη δυνατότητα προσδιορισμού της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας. Σαν αποτέλεσμα, αρκετές ερευνητικές ομάδες έχουν επιδείξει την ανάπτυξη αμπερομετρικών φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων που βασίζονται στην χρήση ηλεκτροδίων Clark [Loranger et al. 1995, Rouillon et al. 1995]

Η μέτρηση της φωτοσυνθετικής δράσης του PSII, μπορεί να επίσης να βασιστεί στην αμπερομετρική ανίχνευση της ανηγμένης μορφής ενός τεχνητού αποδέκτη ηλεκτρονίων σε μια ηλεκτροχημική κυψέλη. Για να χρησιμοποιηθεί αυτή η ηλεκτροχημική μικρο-κυψέλη για τη μέτρηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε ολόκληρα κύτταρα κυανοβακτηριδίων [Rouillon et al. 1999, Avramescu et al. 1999] ή μέρη φωτοσυνθετικών μεμβρανών [Carpentier et al. 1987, Rouillon et al. 2000] ένας τεχνητός μεταφορέας ηλεκτρονίων πρέπει να είναι παρών στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα για τη μεταφορά φορτίου μεταξύ του φωτοσυνθετικού υλικού και του ηλεκτροδίου εργασίας. Ο μεταφορέας ηλεκτρονίων πρέπει να βρίσκεται στην οξειδωμένη του μορφή στο διάλυμα μέτρησης. Υπό φωτισμό, ο τεχνητός αυτός μεταφορέας ηλεκτρονίων ανάγεται και επανοξειδώνεται έπειτα στην επιφάνεια ενός ηλεκτροδίου εργασίας.

Η επαγωγή φθορισμού της χλωροφύλλης είναι μια άλλη μέθοδος για την αξιολόγηση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας [Lazar 1999]. Η τεχνική αυτή είναι απλή, μη-επεμβατική, εξαιρετικά ευαίσθητη και γρήγορη. Το φως που απορροφάται από τα μόρια χλωροφύλλης του φωτοσυστήματος II αφομοιώνεται από τις αντιδράσεις φωτοσύνθεσης και μπορεί να αποδεσμευθεί ως φθορισμός ή ως θερμική ενέργεια. Ο φθορισμός αυξάνεται *in-vivo* όταν η φωτοσύνθεση εξασθενεί ή αναστέλλεται. Ένας μεγάλος αριθμός περιβαλλοντικών παραγόντων εμποδίζουν τη μεταφορά ηλεκτρονίων μεταξύ των φωτοσυστημάτων I και II, αυξάνοντας τον εκπεμπόμενο φθορισμό [Thomson 1997]. Αυτή η μέθοδος συχνά χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας σε ακινητοποιημένα υλικά [Naessens et al. 2000, Sanders et al. 2001, Giardi et al. 2005].

2.4 Τα πλεονεκτήματα από την εφαρμογή της τεχνικής LIFT στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων

Η εξέλιξη της τεχνολογίας της Μικροηλεκτρονικής τις τελευταίες δεκαετίες έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη μιας πληθώρας μικρο-ηλεκτρομηχανικών συστημάτων αίσθησης τόσο στο πεδίο των βιοαισθητήρων όσο και σε αυτό των χημικών αισθητήρων. Μικρομηχανικά συστήματα αίσθησης όπως μικρο-πρόβολοι, μεμβράνες χωρητικότητας και μεμβράνες συντονισμού θέτουν ιδιαίτερες απαιτήσεις στην επιλεκτική εναπόθεση των ευαίσθητων υλικών αίσθησης. Το ίδιο ισχύει και για ηλεκτροχημικά συστήματα αίσθησης που βασίζονται σε ενδοπλεκόμενα ηλεκτρόδια, μικρο-ηλεκτρόδια ή και νανοδομές όπως νανοσωματίδια, νανοσωλήνες και νανοκαλώδια. Η υψηλή διακριτική ικανότητα στην εναπόθεση (ακρίβεια μικρομέτρων) και η προστασία των ευαίσθητων υποστρωμάτων αίσθησης από την επαφή με τον φορέα του υλικού, αποτελούν τις δύο βασικές προϋποθέσεις που πρέπει να πληρούν οι τεχνικές εναπόθεσης.

Η επαφή του φορέα του υλικού και του μικρο-συστήματος αίσθησης θα ήταν καταστροφική για τις λεπτεπίλεπτες δομές, μικρής μηχανικής αντοχής, που συχνά χρησιμοποιούνται. Ως εκ τούτου, περιορίζεται σημαντικά το εύρος των τεχνικών εναπόθεσης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη των μικρο-συστημάτων αίσθησης. Σαν αποτέλεσμα, διαδεδομένες συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης όπως η εκτύπωση από μικρο-επαφή (microcontact printing) και η εκτύπωση μεταξοτυπίας (screen printing) είναι πρακτικά ανεφάρμοστες στην ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων, δεδομένου ότι βασίζονται σε επαφή του φορέα του υλικού και του υποστρώματος. Το ίδιο ισχύει και για την τεχνική roll to roll αλλά και τις παραλλαγές των τεχνικών εναπόθεσης που βασίζονται στην επαφή και την χρήση στάμπας.

Οι σημαντικές δυνατότητες και ιδιαιτερότητες της τεχνικής μικρο-εναπόθεσης LIFT όπως παρουσιάστηκαν αναλυτικά στο Κεφάλαιο 1 αποτέλεσαν το εφαλτήριο πίσω από την ιδέα της εφαρμογής της τεχνικής για την ανάπτυξη μικρο-αισθητήρων. Η τεχνική LIFT είναι μια τεχνική εναπόθεσης στην οποία δεν απαιτείται επαφή (non-contact printing) και μπορεί να λάβει χώρα σε ατμοσφαιρικές συνθήκες πίεσης. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η προστασία των ιδιαίτερα ευαίσθητων μικροσυστημάτων αίσθησης. Η τεχνική μικρο-εναπόθεσης LIFT αποτελεί μια τεχνική ταχείας προτυποποίησης η οποία δεν περιλαμβάνει την χρήση μάσκας. Κατά συνέπεια μια διάταξη μικρο-εναπόθεσης LIFT μπορεί να προσαρμοστεί εύκολα και με χαμηλό κόστος ώστε να καλύψει τις ανάγκες εναπόθεσης πλήθους διαφορετικών υλικών σε μικρο-συστήματα αίσθησης διαφορετικής μορφολογίας. Η ελάχιστη διακριτική ικανότητα είναι της τάξης των μερικών μικρομέτρων και καλύπτει τις ανάγκες που θέτουν τα περισσότερα μικρο-συστήματα αίσθησης. Μια τυπική διάταξη μικρο-εναπόθεσης LIFT ενσωματώνει και την λειτουργία ενός οπτικού μικροσκοπίου. Το γεγονός αυτό καθιστά το σύστημα εκτύπωσης LIFT κατάλληλο για την επιτόπου ευθυγράμμιση και επιλεκτική μεταφορά υλικού σε μεγάλη ποικιλία διαφορετικών υποστρωμάτων μικρο-αισθητήρων, ενώ εξυπηρετεί και τον επιτόπου έλεγχο του αποτελέσματος εναπόθεσης.

Η τεχνολογία ψεκασμού μελάνης (ink-jet) αποτελεί την ανταγωνιστική τεχνολογία εναπόθεσης δίχως επαφή (non-contact printing) που προσφέρει υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα στις εναποτιθέμενες δομές [De-Gans et al. 2004]. Βασικός περιορισμός στην τεχνική ink-jet είναι η δυνατότητα εφαρμογής της μόνο σε υγρά με καθορισμένο εύρος ρεολογικών ιδιοτήτων (ιξώδες 3 – 20 cP). Διαλύματα με μεγαλύτερες τιμές ιξώδους, συσσωματώματα ή ογκώδη πρόσθετα (πχ. κύτταρα) οδηγούν σε φραγή του στομίου (nozzle) εναπόθεσης και δεν μπορούν να εκτυπωθούν με χρήση του ink-jet. Αντιθέτως, η τεχνική LIFT δεν περιορίζεται από τις ρεολογικές ιδιότητες των προς εναπόθεση υγρών. Είναι εφαρμόσιμη τόσο σε υγρά χαμηλού ιξώδους όσο και σε πάστες (ιξώδες $\sim 10^5$ cP) αλλά και στερεά φιλμ. Η δυνατότητα αυτή προσδίδει στην τεχνική μεγάλη ευελιξία στην εκτύπωση μιας μεγάλης γκάμας ευαίσθητων βιολογικών (κύτταρα, πρωτεΐνες, ένζυμα, ολιγονουκλεοτίδια κα.) και πολυμερικών υλικών (πολυμερή, σύνθετα πολυμερών-εγκλεισμάτων) που βρίσκουν εφαρμογή σε εφαρμογές μικρο-αισθητήρων. Επιπρόσθετα, η δυνατότητα επιλογής του ιξώδους του διαλύματος εκτύπωσης, δύναται να εξαλείψει το ανεπιθύμητο φαινόμενο της συσσώρευση υλικού στα άκρα των σταγόνων που εκτυπώνονται. Το φαινόμενο αυτό είναι σύνηθες για την τεχνική ink-jet, είναι αποτέλεσμα της ροής Marangoni [Hu et al. 2006], και οδηγεί στην εναπόθεση σταγόνων με σχήμα “donut”.

Αναφορές

- Amirola, J. et al. Micromachined silicon microcantilevers for gas sensing applications with capacitive read-out. *Sensors and Actuators B: Chemical* 111-112, 247-253 (2005).
- Avramescu, A., Rouillon, R. & Carpentier, R. Potential for use of a cyanobacterium *Synechocystis* sp. immobilized in poly (vinylalcohol): Application to the detection of pollutants. *Biotechnology techniques* 13, 559–562 (1999).
- Barthelmebs, L., Carpentier, R. & Rouillon, R. Physical and Chemical Immobilization Methods of Photosynthetic Materials. *Methods in Molecular Biology* 684, 247-256 (2011).
- Boutopoulos, C., Pandis, C., Giannakopoulos, K., Pissis, P. & Zergioti, I. Polymer/carbon nanotube composite patterns via laser induced forward transfer. *Applied Physics Letters* 96, 041104 (2010).
- Boutopoulos, C., Tsouti, V., Goustouridis, D., Chatzandroulis, S. & Zergioti, I. Liquid phase direct laser printing of polymers for chemical sensing applications. *Applied Physics Letters* 93, 191109 (2008).
- Britton, C. et al. Multiple-input microcantilever sensors. *Ultramicroscopy* 82, 17-21 (2000).
- Campàs, M., Carpentier, R. & Rouillon, R. Plant tissue-and photosynthesis-based biosensors. *Biotechnology advances* 26, 370-8 (2008).
- Carpenter, R. & Lemieux, S. Immobilization of a photosystem ii submembrane fraction in a glutaraldehyde cross-linked matrix. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 15, 107-117 (1987).
- Cha, M. et al. Biomolecular detection with a thin membrane transducer. *Lab on a Chip* 8, 932-7 (2008).
- Chatzandroulis, S., Tegou, E., Goustouridis, D., Polymenakos, S. & Tsoukalas, D. Capacitive-type chemical sensors using thin silicon / polymer bimorph membranes. *Sensors And Actuators* 103, 392-396 (2004).
- Chatzandroulis, S., Tserepi, A., Goustouridis, D., Normand, P. & Tsoukalas, D. Fabrication of single crystal Si cantilevers using a dry release process and application in a capacitive-type humidity sensor. *Microelectronic Engineering* 61-62, 955-961 (2002).
- Chatzandroulis, S., Tsouti, V., Raptis, I. & Goustouridis, D. Capacitance Type Chemical Sensors. *Chemical Sensors Comprehensive Sensor Technologies: Volume 4 Solid State Sensors* (2011).
- De-Gans, B.-J., Duineveld, P.C. & Schubert, U.S. Inkjet Printing of Polymers: State of the Art and Future Developments. *Advanced Materials* 16, 203-213 (2004).

Frense, D., Müller, A. & Beckmann, D. Detection of environmental pollutants using optical biosensor with immobilized algae cells. *Sensors and Actuators B: Chemical* 51, 256-260 (1998).

Giardi, M.T., Guzzella, L., Euzet, P., Rouillon, R. & Esposito, D. Detection of herbicide subclasses by an optical multibiosensor based on an array of photosystem II mutants. *Environmental science & technology* 39, 5378-84 (2005).

Goeders, K.M., Colton, J.S. & Bottomley, L. a Microcantilevers: sensing chemical interactions via mechanical motion. *Chemical reviews* 108, 522-42 (2008).

Hill, R. Oxygen evolution by isolated chloroplasts. *Nature* 139, 881-882 (1937).

Hu, H. & Larson, R.G. Marangoni effect reverses coffee-ring depositions. *The journal of physical chemistry. B* 110, 7090-4 (2006).

Huang, Y., Ergun, A.S., Haggstrom, E., Badi, M.H. & Khuri-Yakub, B.T. Fabricating capacitive micromachined ultrasonic transducers with wafer-bonding technology. *Journal of Microelectromechanical Systems* 12, 128-137 (2003).

James, D., Scott, S.M., Ali, Z. & O'Hare, W.T. Chemical Sensors for Electronic Nose Systems. *Microchimica Acta* 149, 1-17 (2004).

Kitsara, M., Goustouridis, D., Chatzandroulis, S., Beltsios, K. & Raptis, I. A lithographic polymer process sequence for chemical sensing arrays. *Microelectronic Engineering* 83, 1192-1196 (2006).

Kobližek, M. et al. A biosensor for the detection of triazine and phenylurea herbicides designed using Photosystem II coupled to a screen-printed electrode. *Biotechnology and bioengineering* 78, 110-116 (2002).

Laberge, D., Rouillon, R. & Carpentier, R. Comparative study of thylakoid membranes sensitivity for herbicide detection after physical or chemical immobilization. *Enzyme and microbial technology* 26, 332-336 (2000).

Lazár, D. Chlorophyll a fluorescence induction. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1412, 1-28 (1999).

Lee, C.-W., Nam, D.-H., Han, Y.-S., Chung, K.-C. & Gong, M.-S. Humidity sensors fabricated with polyelectrolyte membrane using an ink-jet printing technique and their electrical properties. *Sensors and Actuators B: Chemical* 109, 334-340 (2005).

Loranger, C. & Carpentier, R. A fast bioassay for phytotoxicity measurements using immobilized photosynthetic membranes. *Biotechnology and Bioengineering* 44, 178-183 (1994).

Loranger, C. & Carpentier, R. A fast bioassay for phytotoxicity measurements using immobilized photosynthetic membranes. *Biotechnology and bioengineering* 44, 178-83 (1994).

Mabrook, M.F., Pearson, C., Jombert, a S., Zeze, D. a & Petty, M.C. The morphology, electrical conductivity and vapour sensing ability of inkjet-printed thin films of single-wall carbon nanotubes. *Carbon* 47, 752-757 (2009).

Naessens, M., Leclerc, J.C. & Tran-Minh, C. Fiber optic biosensor using *Chlorella vulgaris* for determination of toxic compounds. *Ecotoxicology and environmental safety* 46, 181-5 (2000).

Oettmeier, W. Herbicide resistance and supersensitivity in photosystem II. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 55, 1255 (1999).

Pandard, P., Vasseur, P. & Rawson, D.M. Comparison of two types of sensors using eukaryotic algae to monitor pollution of aquatic systems. *Water Research* 27, 427-431 (1993).

Park, K.K. et al. Capacitive micromachined ultrasonic transducers for chemical detection in nitrogen. *Applied Physics* 91, 094102 (2007).

Park, R.B., Kelly, J., Drury, S. & Sauer, K. The Hill reaction of chloroplasts isolated from glutaraldehyde-fixed spinach leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 55, 1056 (1966).

Rodriguez, A. et al. Electromechanically coupled feedback loops for microsystems. application to volatile organic compounds (VOC) sensors. *Proceedings of IEEE Sensors, 2004.* 154-157 (2004).doi:10.1109/ICSENS.2004.1426123

Rouillon, R., Boucher, N., Gingras, Y. & Carpentier, R. Potential for the use of photosystem II submembrane fractions immobilised in poly(vinylalcohol) to detect heavy metals in solution or in sewage sludge. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 75, 1003-1007 (2000).

Rouillon, R., Sole, M., Carpentier, R. & Marty, J.-L. Immobilization of thylakoids in polyvinylalcohol for the detection of herbicides. *Sensors and Actuators B: Chemical* 27, 477-479 (1995).

Rouillon, R., Tocabens, M. & Carpentier, R. A photoelectrochemical cell for detecting pollutant-induced effects on the activity of immobilized cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7942. *Enzyme and Microbial Technology* 25, 230-235 (1999).

Rouillon, R., Tocabens, M. & Marty, J.-L. Stabilization of Chloroplasts by Entrapment in Polyvinylalcohol Bearing Styrylpyridinium Groupse. *Analytical Letters* 27, 2239-2248 (1994).

Sanders, C., Rodriguez, M. & Greenbaum, E. Stand-off tissue-based biosensors for the detection of chemical warfare agents using photosynthetic fluorescence induction. *Biosensors & bioelectronics* 16, 439-46 (2001).

Soll, J. & Schleiff, E. Protein import into chloroplasts. *Nature reviews. Molecular cell biology* 5, 198-208 (2004).

Tang, J. et al. PHEMA functionalization of gold nanoparticles for vapor sensing: Chemi-resistance, chemi-capacitance and chemi-impedance. *Sensors and Actuators B: Chemical* (2011).doi:10.1016/j.snb.2011.03.001

Thompson, J.A. Cellular fluorescence capacity as an endpoint in algal toxicity testing. *Chemosphere* 35, 2027–2037 (1997).

Tomlin, C.D.S. *The Pesticide Manual: A World Compendium* (British Crop Production Council: 2009)

Tsouti, V. et al. A chemical sensor microarray realized by laser printing of polymers. *Sensors and Actuators B: Chemical* 150, 148-153 (2010a).

Tsouti, V. et al. Detection of DNA mutations using a capacitive micro-membrane array. *Biosensors & Bioelectronics* 26, 1588-92 (2010b).

Tsouti, V. et al. Detection of the biotin–streptavidin interaction by exploiting surface stress changes on ultrathin Si membranes. *Microelectronic Engineering* 86, 1495-1498 (2009).

Tsouti, V., Boutopoulos, C., Zergioti, I. & Chatzandroulis, S. Capacitive Microsystems for Biological Sensing. *Biosensors & Bioelectronics* 27, 1-11 (2011).

Vermaas, W.F.J. & Arntzen, C.J. Synthetic quinones influencing herbicide binding and Photosystem II electron transport. The effects of triazine-resistance on quinone binding properties in thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 725, 483–491 (1983).

Κεφάλαιο 3: Πειραματικές διατάξεις, υλικά και μέθοδοι χαρακτηρισμού

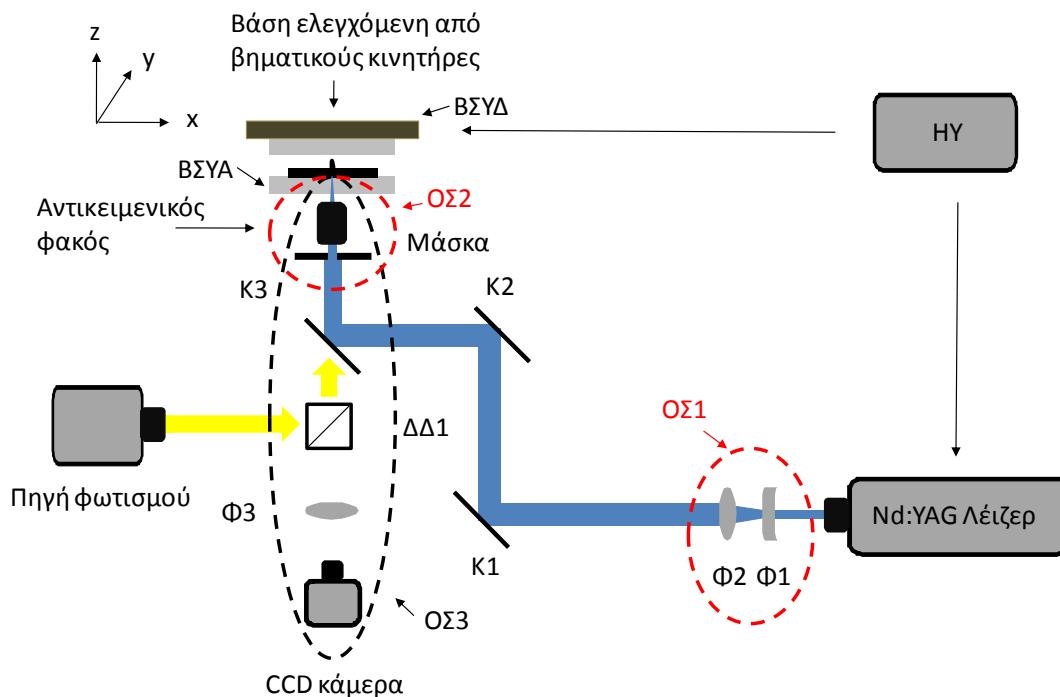
Στο Κεφάλαιο 3 γίνεται μια αναλυτική παρουσίαση της αυτοματοποιημένης πειραματικής διάταξης για την απευθείας εναπόθεση υλικών υγρής φάσης με χρήση Λέιζερ, η οποία αναπτύχθηκε στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Επιπρόσθετα, παρουσιάζονται οι τεχνικές προετοιμασίας για τα υποστρώματα δότες, οι τεχνικές μετρολογίας για τα πάχη των υγρών φιλμ και τους όγκους των σταγόνων, καθώς και μια σύντομη περιγραφή των συστημάτων και των τεχνικών χαρακτηρισμού που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης, αναλύεται το πρωτόκολλο απομόνωσης των θυλακοειδών μεμβρανών, οι οποίες αποτελούν το ενεργό φωτοσυνθετικό υλικό για την ανάπτυξη των αισθητήρων του Κεφαλαίου 7.

3.1 Πειραματική διάταξη απευθείας εναπόθεσης υλικών υγρής φάσης με χρήση Λέιζερ

Στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής αναπτύχθηκε ένας αυτοματοποιημένος σταθμός μικρομηχανικής κατάλληλος για μικρο-εναπόθεση υλικών υγρής φάσης με χρήση Λέιζερ. Η σχηματική αναπαράσταση του σταθμού εναπόθεσης παρουσιάζεται στην **Εικόνα 20**. Στην **Εικόνα 21** παρουσιάζονται φωτογραφίες του σταθμού εναπόθεσης. Ο σταθμός εναπόθεσης αποτελείται από μία πηγή Λέιζερ, μια βάση στήριξης του υποστρώματος δότη (ΒΣΥΔ), μια βάση στήριξης του υποστρώματος αποδέκτη (ΒΣΥΑ) ελεγχόμενη από βηματικούς κινητήρες, έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή και τρία βασικά οπτικά συστήματα (ΟΣ1, ΟΣ2, ΟΣ3). Στόχος της πειραματικής αυτής διάταξης είναι η ελεγχόμενη απεικόνιση της μάσκας, σε μικρομετρικές διαστάσεις, στο υπόστρωμα δέκτη μέσω ενός αντικειμενικού φακού. Παράλληλα, υπήρχε ανάγκη για ανάπτυξη ενός ανεστραμμένου μικροσκοπίου για απεικόνιση των διεργασιών σε πραγματικό χρόνο. Τα στοιχεία του σταθμού εναπόθεσης και οι λειτουργίες τους παρουσιάζονται αναλυτικά στις παρακάτω παραγράφους:

Πηγή Λέιζερ:

Η πηγή ακτινοβολίας που χρησιμοποιήθηκε είναι ένα Nd:YAG (neodymium-doped yttrium aluminium garnet; $\text{Nd:Y}_3\text{Al}_5\text{O}_{12}$) Λέιζερ. Το μοντέλο που χρησιμοποιήθηκε είναι το NANO-L-200-10 της *Litron Lasers* με μέγιστη ονομαστική ισχύ εξόδου 300 mJ για το μήκος κύματος 1064 nm της βασικής αρμονικής. Το σύστημα Λέιζερ παρείχε την δυνατότητα εκπομπής και των τριών βασικών αρμονικών ($2\omega - 532$ nm, $3\omega - 355$ nm, $4\omega - 266$ nm) με χρήση κατάλληλων κρυστάλλων διπλασιασμού συχνότητας και κατόπτρων. Οι πλεονότητες των πειραμάτων εναπόθεσης πραγματοποιήθηκε με την τρίτη αρμονική για την οποία το εύρος του παλμού μετρήθηκε σε $\tau_{\text{FWHM}} = 9.1$ ns όπως φαίνεται στην **Εικόνα 22**.



Εικόνα 20: Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης εναπόθεσης υλικών υγρής φάσης με χρήση Λείζερ.

Οπτικό Σύστημα 1 (ΟΣ1):

Το οπτικό σύστημα 1 αποτελείται από έναν αποκλίνων φακό (Φ_1 , $f_1 = -150$ mm) και έναν συγκλίνων φακό (Φ_2 , $f_2 = 300$ mm) τοποθετημένων σε απόσταση 150 mm ώστε να αποτελούν ένα τηλεσκόπιο. Το τηλεσκόπιο μεγεθύνει κατά ένα παράγοντα 2 την διάμετρο της δέσμης ($M = f_2/f_1 = 2$) έτσι ώστε να γίνει αποτελεσματικότερη η επιλογή ενός ομογενούς κομματιού της από την μάσκα.

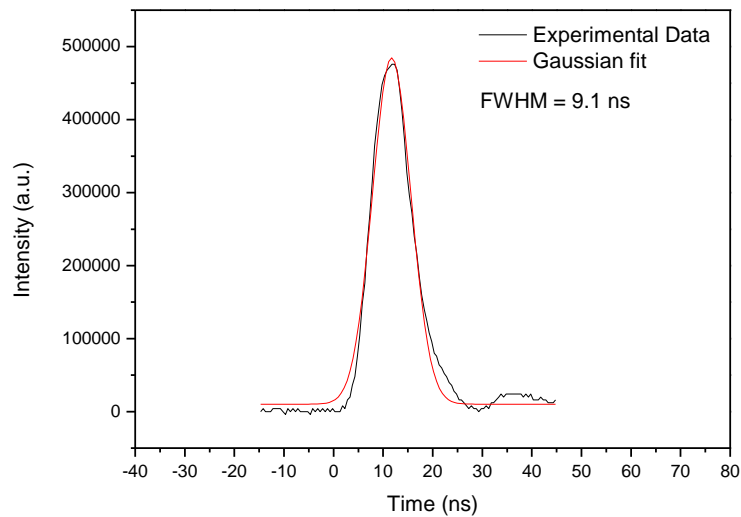
Οπτικό Σύστημα 2 (ΟΣ2):

Η μεγεθυμένη δέσμη Λείζερ οδηγείται από ένα σύστημα κατόπτρων (K1, K2, K3) στο δεύτερο οπτικό σύστημα το οποίο αποτελείται από μια μεταβλητή μάσκα και έναν αντικειμενικό φακό 15X. Ο αντικειμενικός φακός *LMU-15X-266* της *OFR* είναι ειδικά σχεδιασμένος για το μήκος κύματος $\lambda = 266$ nm και διαθέτει τα χαρακτηριστικά που εμφανίζονται στον **Πίνακας I**.

Η προβολή της μεταβλητής μάσκας στο υπόστρωμα δότη γίνεται με την χρήση του αντικειμενικού φακού. Ο υπολογισμός της θέσης βέλτιστης απεικόνισης της μάσκας γινόταν πειραματικά ελέγχοντας το αποτύπωμα της αποδόμησης ενός φωτοευαίσθητου δείγματος. Στην **Εικόνα 23** φαίνεται μια σχηματική αναπαράσταση της απεικόνισης της μάσκας στο υπόστρωμα δότη. Τυπικές συνθήκες απεικόνισης για την πλειονότητα των πειραμάτων ήταν $1/M \sim 10$. Επομένως, ο αντικειμενικός φακός, προέβαλε τη δέσμη Λείζερ μέσω της μάσκας στο σημείο απεικόνισης σε μια κηλίδα 20 μm – 100 μm , ανάλογα με τις διαστάσεις της μάσκας από 0.2 mm έως και 1 mm.



Εικόνα 21: Φωτογραφία της πειραματικής διάταξης εναπόθεσης υλικών υγρής φάσης με χρήση Λείζερ

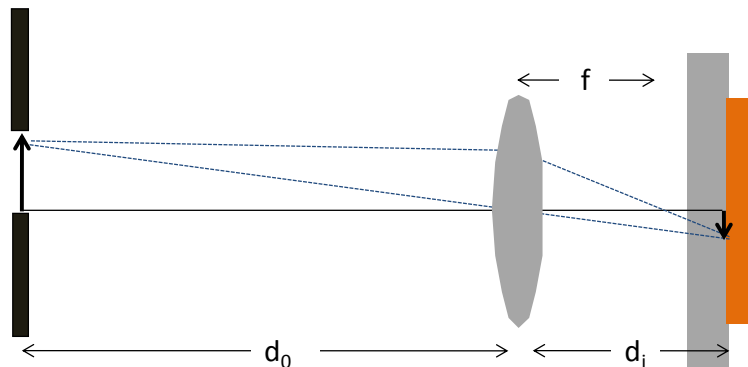


Εικόνα 22: Διάγραμμα της χρονικής εξέλιξης του παλμού Λείζερ για $\lambda = 266$ nm. Η χρονική του διάρκεια υπολογίστηκε σε $\tau_{FWHM} = 9.1$ ns.

Πίνακας I: Τεχνικά χαρακτηριστικά του αντικειμενικού φακού LMU-15X-266

Φάσμα λειτουργίας	Απόσταση εργασίας	Ενεργή απόσταση εστίασης	Αριθμητικό άνοιγμα	Κατώφλι καταστροφής (20 Hz, 20 ns)	Θεωρητικό ελάχιστο μέγεθος εστίασης
255 nm - 280 nm	8.5 mm	13 mm	0.32	500 MW/cm ²	1 μ m

$$d_i = \frac{f \cdot d_0}{d_0 - f}, \quad M = \frac{d_i}{d_0}$$



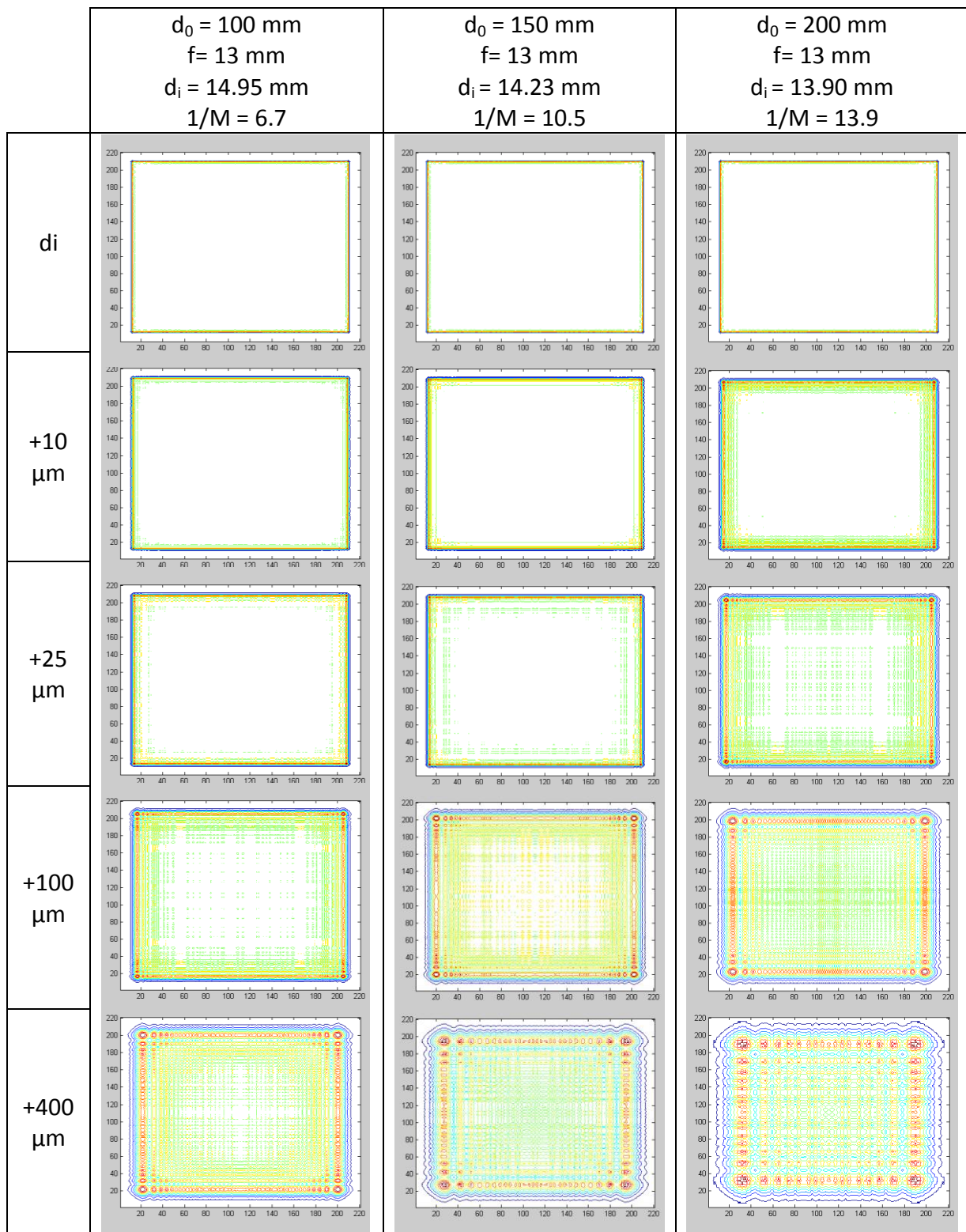
Εικόνα 23: Σχηματική αναπαράσταση του οπτικού συστήματος απεικόνισης της μάσκας (ΟΣ2).

Η εύρεση της θέσης απεικόνισης d_i μπορεί να προσεγγιστεί με καλή ακρίβεια με χρήση της εξίσωσης λεπτών φακών που φαίνεται στην **Εικόνα 23**. Παρόλα αυτά, η ακριβής εύρεση γινόταν ελέγχοντας το αποτύπωμα της αποδόμησης ενός φωτοευαίσθητου δείγματος. Μικρές αποκλίσεις από την θέση απεικόνισης d_i , είχαν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μεγάλης διακύμανσης της έντασης του Λέιζερ μέσα στα όρια της κηλίδας. Το φαινόμενο αυτό είναι το αποτέλεσμα της προβολής της περίθλασης κοντινού πεδίου Fresnel που προκύπτει από την μάσκα και έχει αξιοποιηθεί για LIFT χρωμίου με επιλεκτικά διαμορφωμένη δέσμη Λέιζερ [Banks et al. 2008].

Για λόγους βελτιστοποίησης του σχεδιασμού της οπτικής διάταξης το ΟΣ2 προσομοιώθηκε με την χρήση του προγράμματος *Matlab*. Το ζητούμενο από τις προσομοιώσεις ήταν η εύρεση της βέλτιστης απόστασης απεικόνισης d_i . Παράλληλα υπήρξε δυνατότητα προσομοίωσης της διακύμανσης της έντασης του Λέιζερ στα όρια της κηλίδας για ένα εύρος αποκλίσεων από την βέλτιστη απόσταση d_i . Το μοντέλο αναπτύχθηκε για ορθογώνια μάσκα με βάση την εργασία των Abedin et al. [Abedin et al. 2007], στην οποία γίνεται χρήση των ολοκληρωμάτων Fresnel για την επίλυση του προβλήματος. Τα αποτελέσματα της προσομοίωσης βοήθησαν στην κατανόηση των αποτυπωμάτων περίθλασης σε φωτοευαίσθητα δείγματα και υποστρώματα δότες, καθώς και στην γενικότερη βελτιστοποίηση της πειραματικής διάταξης.

Τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων για τρεις διαφορετικές θέσεις d_0 μιας τετραγωνικής 1 mm x 1 mm μάσκας εμφανίζονται στον **Πίνακα II**. Για αποστάσεις 100 mm, 150 mm και 300 mm η θέση της βέλτιστης απεικόνισης d_i προσδιορίστηκε σε 14.95 mm, 14.23 mm και 13.9 mm αντίστοιχα. Η προβολή της μάσκας για τις τρεις αυτές θέσεις γίνεται με ένα παράγοντα σμίκρυνσης ($1/M$) 6.7, 10.5 και 13.9, αντίστοιχα. Μια γενική παρατήρηση που μπορεί να εξαχθεί από τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων είναι πως όσο μικραίνει η απόσταση d_0 η θέση απεικόνισης απομακρύνεται από την εστία του αντικειμενικού φακού.

Πίνακας II: Δυσδιάστατη απεικόνιση της έντασης της δέσμης Λέιζερ στο υπόστρωμα δότη για διάφορες αποστάσεις από την θέση βέλτιστης απεικόνισης d_i . Τα αποτελέσματα αντιστοιχούν σε τετραγωνική μάσκα διαστάσεων 1 mm x 1 mm.



Παράλληλα, οι εικόνες περίθλασης εμφανίζονται να είναι ενισχυμένες μόνο για σχετικά μεγάλη απόσταση από την θέση βέλτιστης απεικόνισης ($d_i > 100 \mu\text{m}$ για $d_o = 100 \text{ mm}$). Επομένως, η τοποθέτηση της μάσκας σε σχετικά μικρές αποστάσεις από τον αντικειμενικό φακό οδηγεί σε δύο σημαντικά πειραματικά πλεονεκτήματα: α) εξασφαλίζεται ότι η θέση εστίασης της δέσμης Λέιζερ δεν είναι στο πάχος του δισκίου χαλαζία (αποτρέπεται η καταστροφή του) β) για ένα σχετικά μεγάλο εύρος μετακινήσεων από την θέση βέλτιστης απεικόνισης η χωρική κατανομή της δέσμης παραμένει ομογενής. Τα δύο αυτά πλεονεκτήματα συνοδεύονται αναπόφευκτα από δύο μειονεκτήματα α) μικρότερο συντελεστή σμίκρυνσης της μάσκας και β) την κακή ποιότητα απεικόνισης του επιπέδου εργασίας μέσω του συστήματος ΟΣ3. Επομένως, οι συνθήκες του πειράματος (μέγεθος μάσκας, πυκνότητα ενέργειας, ανάγκη για σμίκρυνση, ανάγκη για ομοιομορφία κ.α.) καθορίζουν κάθε φορά την βέλτιστη επιλογή απόσταση d_o . Μια τυπική επιλογή για τα περισσότερα πειράματα LIFT υγρής φάσης ήταν $d_o = 160 \text{ mm}$.

Οπτικό Σύστημα 3 (ΟΣ3):

Το τρίτο οπτικό σύστημα αποτελείται από τον αντικειμενικό φακό, τον αχρωματικό φακό Φ3 ($f=100 \text{ mm}$) και τον διαχωριστή δέσμης ΔΔ1. Το ΟΣ3 είναι ομοαξονικό με το ΟΣ2 και αποτελεί ένα ανεστραμμένο οπτικό μικροσκόπιο που παρέχει την δυνατότητα ακριβούς ευθυγράμμισης υποστρώματος δότη και δέκτη, ελέγχου του προφίλ της δέσμης και επιτόπου ελέγχου των αποτελεσμάτων της εναπόθεσης.

Βάσεις στήριξης υποστρώματος δότη και δέκτη

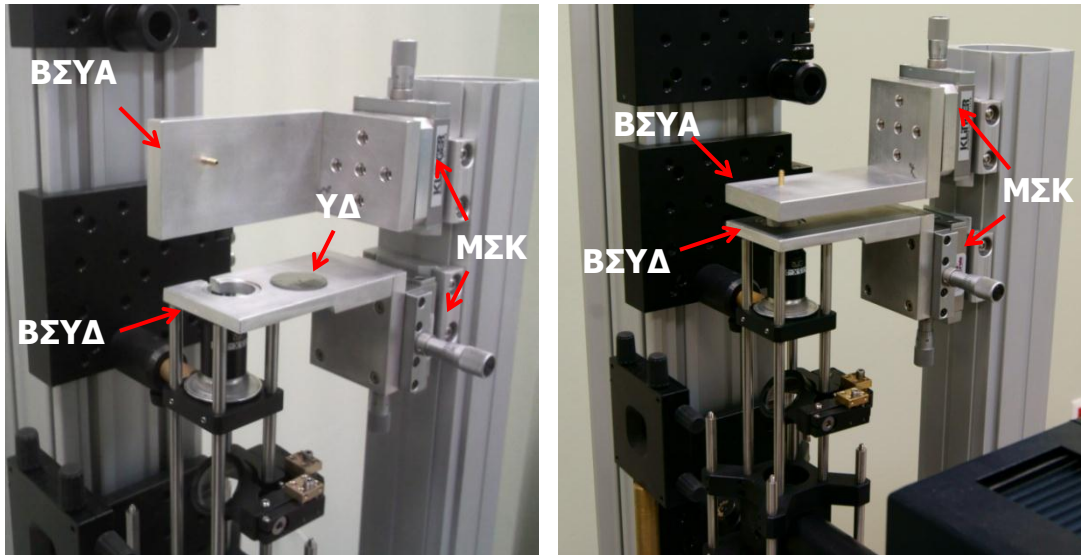
Οι βάσεις στήριξης του υποστρώματος δότη και δέκτη αποτελούνται από δύο παράλληλες πλάκες αλουμινίου κατάλληλα προσαρμοσμένες σε δύο μικρομετρικά συστήματα κίνησης [Εικόνα 24]. Τα μικρομετρικά συστήματα κίνησης παρείχαν δυνατότητα ελέγχου της απόστασης μεταξύ των πλακών με ακρίβεια $20 \mu\text{m}$. Η στήριξη του υποστρώματος δότη γίνεται με την τοποθέτησή του στην ειδικά διαμορφωμένη “πατούρα” της αντίστοιχης βάσης στήριξης. Για το υπόστρωμα δέκτη η στήριξη γινόταν με χρήση ρητίνης στην αντίστοιχη βάση ενώ το σύστημα παρέχει και την δυνατότητα στήριξης μέσω κενού.

Βηματικοί κινητήρες κίνησης και πρόγραμμα αυτοματοποίησης

Για την αυτοματοποίηση της πειραματικής διάταξης χρησιμοποιήθηκαν τρεις βηματικοί κινητήρες από την *Standa*. Οι δύο πρώτοι βηματικοί κινητήρες [Εικόνα 21] παρείχαν σχετική κίνηση του υποστρώματος δότη και του υποστρώματος δέκτη στους άξονες x και y δίνοντας την δυνατότητα εκτύπωσης δυσδιάστατων δομών με ελάχιστο βήμα κίνησης ίσο με 125 nm . Ο τρίτος βηματικός κινητήρας παρείχε ελεγχόμενη περιστροφική κίνηση του εξασθενητή της δέσμης Λέιζερ με ελάχιστο βήμα κίνησης ίσο με 0.1125 μοίρες. Η υλοποίηση του αυτοματισμού έγινε με χρήση του LabVIEW και την ανάπτυξη ενός σχετικού προγράμματος που παρέχει τις παρακάτω δυνατότητες:

- Δυνατότητα εξωτερικού ελέγχου της πυροδότησης του Λέιζερ (επιλογή συχνότητας, πλήθους παλμών) μέσω της παράλληλης θύρας του ΗΥ.

- Δυνατότητα συγχρονισμού των βηματικών κινητήρων και του Λέιζερ για την εναπόθεση απλών δυσδιάστατων δομών (ορθογώνιες συστοιχίες από δομές).
- Δυνατότητα συγχρονισμού των βηματικών κινητήρων και του Λέιζερ για την εναπόθεση σύνθετων δυσδιάστατων δομών (μοτίβα από bitmap εικόνες)
- Δυνατότητα αυτοματοποιημένης επιλογής της πυκνότητας ενέργειας της δέσμης Λέιζερ μέσω ελέγχου του βηματικού κινητήρα που ελέγχει την περιστροφή του εξασθενητή.



ΒΣΥΑ: Βάση στήριξης υποστρώματος αποδέκτη
ΒΣΥΔ: Βάση στήριξης υποστρώματος δότη
ΜΣΚ: Μικρομετρικό σύστημα κίνησης
ΥΔ: Υπόστρωμα δότης

Εικόνα 24: Φωτογραφίες των βάσεων στήριξης των υποστρωμάτων δότη και αποδέκτη.

3.2 Μέθοδοι προετοιμασίας του υποστρώματος δότη

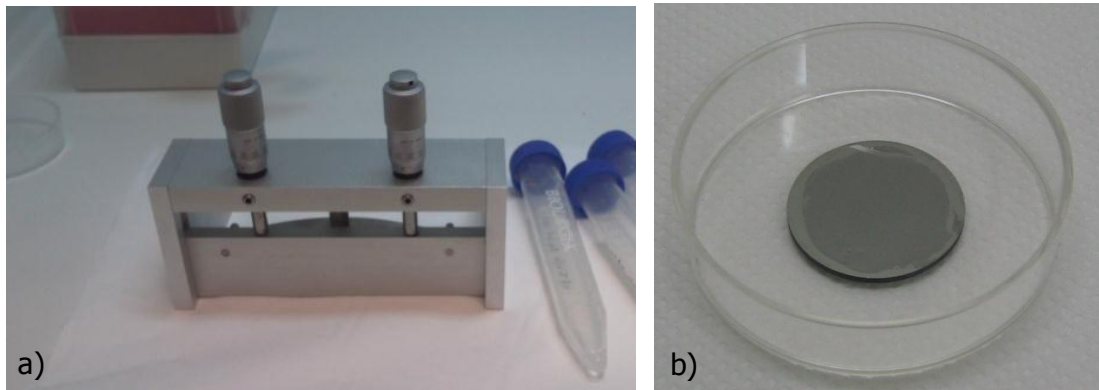
Το υπόστρωμα δότης έχει την μορφή δισκίου και αποτελείται από το υψηλής οπτικής ποιότητας υλικό Spectrosil B της εταιρίας *UQG (Optics) Ltd*. Η διάμετρος των δισκίων ήταν 25 mm και το πάχος 1mm. Στην πλειονότητα των πειραμάτων έγινε χρήση υποστρωμάτων στα οποία είχε προηγηθεί επικάλυψη της μιας πλευράς τους με ένα λεπτό φιλμ τιτανίου πάχους 40 nm. Το φιλμ τιτανίου αποτελεί το ενδιάμεσο στρώμα απορρόφησης της ακτινοβολίας Λέιζερ και ο ρόλος το έχει αναλυθεί στη Ενότητα 1.2.3. Οι επικαλύψεις τιτανίου έγιναν στο Ινστιτούτο Ηλεκτρονικής Δομής και Λέιζερ στην Κρήτη με την τεχνολογία παρασκευής λεπτών υμενίων *Electron Beam Evaporation*.

Δύο είναι οι βασικές τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για την επικάλυψη των λεπτών φιλμ στο υπόστρωμα δότη. Η πρώτη και πιο απλή περιλαμβάνει την χρήση πιπέτας για την εναπόθεση προκαθορισμένης ποσότητας του υγρού στο υπόστρωμα δότη (drop casting). Η δεύτερη τεχνική περιλαμβάνει την χρήση μια ειδικής διάταξης επίστρωσης λεπτών φιλμ που βασίζεται στην χρήση μιας λεπίδας με δυνατότητα μικρομετρικής κίνησης στον κατακόρυφο άξονα [Εικόνα 25].

Ο υπολογισμός του πάχους του λεπτού φιλμ πραγματοποιήθηκε υποθέτοντας πως αυτό σχηματίζει έναν κύλινδρο πάνω στο δισκίο υπόστρωμα δότη. Επομένως, ο υπολογισμός του πάχους μπορεί να γίνει από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Εξίσωση 11:} \quad h = \frac{m}{\rho \cdot S}$$

Όπου m είναι η μάζα του λεπτού φιλμ, ρ η πυκνότητα του υγρού και S η επιφάνεια του υποστρώματος δότη που καλύπτεται από το υγρό φιλμ.



Εικόνα 25: α) Φωτογραφία της διάταξης επίστρωσης λεπτών υμενίων με χρήση λεπίδας (Blade coater) β) Φωτογραφία ενός υποστρώματος δότη. Στην επικαλυμμένη με τιτάνιο πλευρά του έχει εναποτεθεί ένα λεπτό φιλμ υγρού.

3.3 Μέθοδοι χαρακτηρισμού

3.3.1 Οπτική μικροσκοπία

Η οπτική μικροσκοπία αποτέλεσε την βασική μέθοδο για τον χαρακτηρισμό των δομών εναπόθεσης που προέκυπταν από την χρήση της τεχνικής LIFT. Έγινε χρήση ενός οπτικού μικροσκοπίου της εταιρείας Leica εξοπλισμένου με τέσσερις αντικειμενικούς φακούς (4X, 10X, 40X, 100X) και φωτογραφική μηχανή. Το ελεύθερο λογισμικό *ImageJ* χρησιμοποιήθηκε για την επεξεργασία των εικόνων. Για τον προσδιορισμό της γωνίας επαφής έγινε χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό *Drop Analysis*² το οποίο έχει αναπτυχθεί στο EPFL ως πρόσθετη εφαρμογή για το λογισμικό *ImageJ*.

Υπολογισμός όγκου σταγόνας

Σε μεγάλο αριθμό πειραμάτων υπήρχε η ανάγκη υπολογισμού του όγκου της σταγόνας, αποτέλεσμα της εναπόθεσης με την τεχνική LIFT. Για τον σκοπό αυτό ήταν απαραίτητος ο υπολογισμός της διαμέτρου της σταγόνας μέσω της οπτικής μικροσκοπίας, αλλά ο προσδιορισμός της γωνίας επαφής με το υπόστρωμα με χρήση της κατάλληλης πειραματικής διάταξης. Η μεθοδολογία υπολογισμού βασίζεται στην θεώρηση της σταγόνας ως σφαιρικού καπακιού. Ο τύπος υπολογισμού δίνεται από την **Εξίσωση 12**.

²<http://bigwww.epfl.ch/demo/dropanalysis/>

Εξίσωση 12:
$$V_{cap} = \frac{1}{3} \cdot \pi \cdot \left(\frac{a}{\sin(\vartheta)} \right)^3 \cdot (2 - 3 \cdot \cos(\vartheta) + \cos^3(\vartheta))$$

Όπου a είναι η διάμετρος της σταγόνας και ϑ η γωνία επαφής.

3.3.2 Ηλεκτρονική μικροσκοπία σάρωσης

Για τις μετρήσεις ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης χρησιμοποιήθηκε το όργανο εκπομπής πεδίου (field emission) FEI NovaSEM 230A με τον ανιχνευτή Everhard-Thornley detector (ETD).

3.3.3 Ηλεκτρονική μικροσκοπία διέλευσης

Οι μετρήσεις ηλεκτρονικής μικροσκοπίας διέλευσης πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Επιστήμης Υλικών του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου διέλευσης Philips CM20 με αναλυτή ακτίνων Χ (EDX) και ενεργειακό φίλτρο απεικόνισης Gatan GIF 200 για φασματοσκοπία απώλειας ενέργειας ηλεκτρονίων (EELS).

3.3.4 Μικροσκοπία ατομικής δύναμης

Για τις μετρήσεις μικροσκοπίας ατομικής δύναμης χρησιμοποιήθηκε το όργανο Innova Scanning probe Microscope (Veeco, USA) σε λειτουργία tapping mode. Χρησιμοποιήθηκαν ακίδες πυριτίου με σταθερά 40N/m και ονομαστική συχνότητα συντονισμού 300KHz (Bruker Nano, Veeco)

3.4 Υλικά και μέθοδοι ανάπτυξης φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων

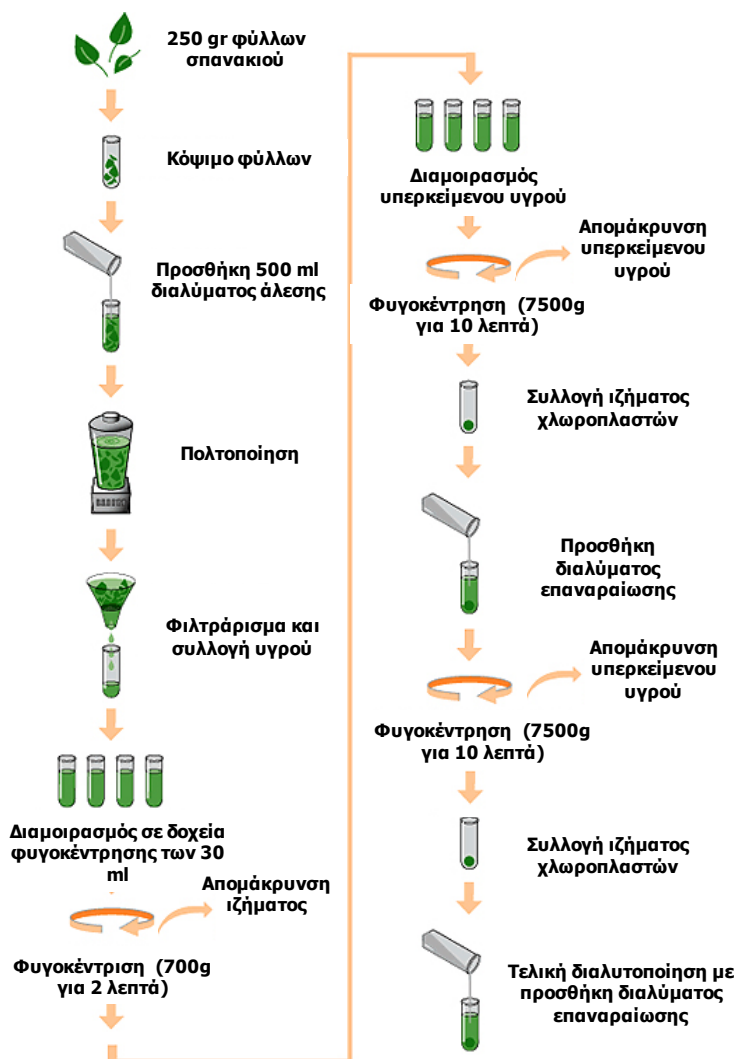
Η απομόνωση των θυλακοειδών μεμβρανών και οι διεργασίες χαρακτηρισμού που εμφανίζονται σε αυτή την ενότητα πραγματοποιήθηκαν στην Ρώμη (Institute of Crystallography - National Research Council) σε συνεργασία με τον υποψήφιο διδάκτορα Giuseppe Rodio.

3.4.1 Απομόνωση θυλακοειδών μεμβρανών

Για την απομόνωση των θυλακοειδών μεμβρανών χρησιμοποιήθηκε το παρακάτω πρωτόκολλο, το οποίο είναι βασισμένο στην μέθοδο των Berthold et al. [Berthold et al. 2011] με μικρές τροποποιήσεις όπως δημοσιεύτηκε από τους E. Touloupakis et al. [E. Touloupakis et al. 1981]

Αρχικά, 250 gr φρέσκων φύλλων σπανακιού ξεπλύθηκαν με απιονισμένο νερό και αλέστηκαν σε μίξερ με 500 ml ρυθμιστικού διαλύματος άλεσης (*grinding buffer*): 20 mM τρισίνη pH 7.8, 300 mM σακχαρόζη, 5 mM MgCl₂, 1 mM PMSF, 0,2% BSA και 1mM PMSF. Το μείγμα διηθήθηκε από οκταπλό φύλλο γάζας και το διήθημα φυγοκεντρήθηκε στα 700g για 2 λεπτά. Το ίζημα απομακρύνθηκε και το υπερκείμενο υγρό φυγοκεντρήθηκε στα 7500g για 10 λεπτά. Το νέο ίζημα (χλωροπλάστες) διαλυτοποιήθηκε στο διάλυμα επαναιώρησης (*resuspending buffer*): 20 mM τρισίνη pH 7.8, 70 mM σακχαρόζη και 5 mM MgCl₂. Στη

συνέχεια φυγοκεντρήθηκε στα 7500g για 10min. Το ίζημα που καταβυθίστηκε (θυλακοειδή), διαλυτοποιήθηκε ξανά στο διάλυμα επαναίωσης με χρήση ενός ειδικού πινέλου. Όλα τα βήματα πραγματοποιήθηκαν στο σκοτάδι και σε θερμοκρασία 4°C. Το τελικό διάλυμα θυλακοειδών διαμοιράστηκε σε δοχεία των 1.5 ml. Η φύλαξη τους έως την χρήση τους έγινε στους -16 °C (ιδανικές συνθήκες συντήρησης είναι -80 °C) . Τα διάφορα βήματα του πρωτόκολλου αναπαριστώνται σχηματικά στην **Εικόνα 26**.



Εικόνα 26: Σχηματική αναπαράσταση των βημάτων απομόνωσης θυλακοειδών μεμβρανών από φύλλα σπανακιού.

3.4.2 Προσδιορισμός συγκέντρωσης της χλωροφύλλης

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης των θυλακοειδών μεμβρανών έγινε φασματοσκοπικά λαμβάνοντας υπόψη τις μεθόδους του Porra [Porra et al. 1989] και του Arnon [Arnon et al. 1949]. Για τον προσδιορισμό της ολικής χλωροφύλλης κάθε δείγματος, προστέθηκαν 25 μl δείγματος σε 5ml υδατικού διαλύματος 80% v/v ακετόνης, για να εκχυλίσουν οι χλωροφύλλες από τις πρωτεΐνες. Το αιώρημα φυγοκεντρήθηκε στα 10000g για 2 λεπτά για να ιζηματοποιηθούν οι πρωτεΐνες. Η απορρόφηση του διαλύματος χλωροφύλλης προσδιορίστηκε σε δύο μήκη κύματος, στα 645nm και 663nm. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης, χρησιμοποιήθηκε η παρακάτω σχέση:

Εξίσωση 13:
$$C_{hl} = [(0.00802 \cdot Abs_{663} + 0.0202 \cdot Abs_{645})] \cdot D_{ratio}$$

Όπου C_{hl} η συγκέντρωση της χλωροφύλλης σε mg/ml, Abs_{663} η απορρόφηση για το μήκος κύματος $\lambda = 663$ nm, Abs_{645} η απορρόφηση για το μήκος κύματος $\lambda = 645$ nm και D_{ratio} ο παράγοντας αραίωσης που στην περίπτωση μας ήταν ίσος με 200. Οι δύο συντελεστές απορρόφησης υπολογίστηκαν από τις μέσες τιμές τριών διαφορετικών μετρήσεων.

Αναφορές

Abedin, K., Islam, M. & Haider, A. Computer simulation of Fresnel diffraction from rectangular apertures and obstacles using the Fresnel integrals approach. *Optics & Laser Technology* 39, 237-246 (2007).

Arnon, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology* 24, 1 (1949).

Banks, D.P., Grivas, C., Zergioti, I. & Eason, R.W. Ballistic laser-assisted solid transfer (BLAST) from a thin film precursor. *Optics Express* 16, 3249 (2008).

Berthold, D.A., Babcock, G.T. & Yocum, C.F. A highly resolved, oxygen-evolving photosystem II preparation from spinach thylakoid membranes: EPR and electron-transport properties. *FEBS Letters* 134, 231-234 (1981).

Porra, R.J., Thompson, W.A. & Kriedemann, P.E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 975, 384-394 (1989).

Touloupakis, E. et al. A multi-biosensor based on immobilized Photosystem II on screen-printed electrodes for the detection of herbicides in river water. *Biosensors & bioelectronics* 20, 1984-92 (2005).

Κεφάλαιο 4: Διερεύνηση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων

Στο Κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται η διερεύνηση της τεχνικής LIFT για την μικρο-εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης-νερού διαφορετικού ιξώδους. Εξετάζεται η επίδραση διαφόρων πειραματικών συνθηκών (επιλογή μήκους κύματος, πυκνότητα ενέργειας) στην μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης αποτέλεσε στόχο της παραπάνω μελέτης. Τα αποτελέσματα αξιοποιήθηκαν στο Κεφάλαιο 5 για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων όπου υπήρξε απαίτηση μεγάλης χωρικής διακριτικής ακρίβειας στις εναποτιθέμενες δομές. Επιπρόσθετα, διερευνάται η εξάρτηση της γωνίας επαφής των σταγόνων με το υπόστρωμα δέκτη από τις συνθήκες της τεχνικής LIFT. Η γωνία επαφής είναι μέτρο της διαβρεξιμότητας μια επιφάνειας, η οποία διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη βιοαισθητήρων. Για τον λόγο αυτό, επιλέχθηκε ως πρότυπο υγρό ένα διάλυμα ενζύμου και ως υπόστρωμα δέκτης ένα ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας γραφίτη. Τα αποτελέσματα επέδειξαν δυνατότητα μετάβασης από συνθήκες μερικής διαβρεξιμότητας σε μία κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας μέσω ελέγχου των συνθηκών LIFT. Η σημαντική αυτή παρατήρηση αξιοποιήθηκε στο Κεφάλαιο 7 για την ανάπτυξη βιολογικών φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων.

4.1 Προσομοίωση της θερμοκρασιακής εξέλιξης στο υπόστρωμα δότη

Η παρουσία του ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος τιτανίου (DRL) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην διαδικασία LIFT υγρής φάσης. Η υψηλή απορρόφηση που εμφανίζει ένα τέτοιο στρώμα στην ακτινοβολία Λέιζερ εξασφαλίζει την προστασία του διαλύματος από την απευθείας έκθεσή του σε αυτή. Παράλληλα, το θερμικό αποτέλεσμα της ακτινοβολίας στο στρώμα αυτό οδηγεί στον σχηματισμό του θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια DRL – υγρού, ο οποίος εκτονώνεται με τον σχηματισμό του jet με το οποίο επιτυγχάνεται η εναπόθεση [Ενότητα 1.2.2 και 1.2.3].

Στην παρούσα ενότητα, προσομοιώθηκε η θερμοκρασιακή εξέλιξη αποτέλεσμα της ακτινοβολίας με τη δέσμη Λέιζερ ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $\tau = 9 \text{ ns}$), σε ένα υπόστρωμα δότη. Το υπόστρωμα δότη αποτελείται από ένα στρώμα χαλαζία πάχους 1 mm στο οποίο έχει επικαλυφθεί DRL τιτανίου πάχους 40 nm . Ο τύπος αυτός του υποστρώματος δότη χρησιμοποιήθηκε για το σύνολο των πειραμάτων LIFT υγρής φάσης. Οι προσομοιώσεις πραγματοποιήθηκαν με το υπολογιστικό πακέτο Sentaurus³ (Synopsys) το οποίο επιλύει αναλυτικά την μονοδιάστατη εξίσωση διάδοσης της θερμότητας:

$$\text{Εξίσωση 14: } \rho C_p \frac{\partial T(x,t)}{\partial t} - \frac{\partial}{\partial x} \left(\kappa \frac{\partial T(x,t)}{\partial x} \right) = Q(x,t)$$

³ <http://www.synopsys.com/home.aspx>

Όπου ρ η πυκνότητα μάζας, C_p η ειδική θερμοχωρητικότητα, κ η θερμική αγωγιμότητα και $Q(x,t)$ η πηγή ισχύος σε W/cm^3 . Η πηγή ισχύος εκφράζεται από την παρακάτω σχέση ως συνάρτηση των οπτικών ιδιοτήτων των υλικών και της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ:

$$\text{Εξίσωση 15: } Q(x,t) = I_0(t) \cdot (1 - R) \cdot f(x)$$

Όπου $I_0(t)$ η χρονοεξαρτώμενη πυκνότητα ισχύος του Λέιζερ, R ο συντελεστής ανακλαστικότητας και $f(x)$ η συνάρτηση που εκφράζει την απώλεια της ισχύος του Λέιζερ κατά την διάδοση στον άξονα x μέσω του συντελεστή απορρόφησης α :

$$\text{Εξίσωση 16: } f(x) = a \exp(-ax)$$

Το μοντέλο προσομοίωσης περιλαμβάνει τρία διαφορετικά στρώματα τα οποία απεικονίζονται στην **Εικόνα 27**. Η χρονική διάρκεια του παλμού Λέιζερ προσδιορίστηκε πειραματικά σε $\tau_{FWHM} = 9$ ns. Το χωρικό προφίλ θεωρήθηκε ομοιόμορφο (top hat), γεγονός το οποίο εξασφαλίζεται από τις τεχνικές ομογενοποίησης της δέσμης και βέλτιστης προβολής της μάσκας [Ενότητα 3.1]. Το σύνολο των φυσικών παραμέτρων που εισήχθησαν στο πρόγραμμα για τα τρία στρώματα εμφανίζονται στον **Πίνακα III**. Για το στρώμα του τιτανίου που εμφανίζει την ισχυρή απορρόφηση στην δέσμη Λέιζερ έγινε χρήση των εξαρτώμενων από την θερμοκρασία θερμικών σταθερών. Το πάχος του στρώματος αέρα επιλέχθηκε ύστερα από μια αρχική διερεύνηση για την βελτιστοποίηση των προσομοιώσεων. Επιπρόσθετα, για την διεπιφάνεια τιτανίου-αέρα ορίστηκε μηδενικός συντελεστής ανακλαστικότητας. Η δέσμη απορροφάται εξολοκλήρου στο πάχος του τιτανίου ($1/\alpha \sim 17$ nm). Ως εκ τούτου, η επιλογή αυτή δεν εισάγει σφάλμα. Η ειδική θερμοχωρητικότητα και θερμική αγωγιμότητα για το τιτάνιο δίνονται από την **Εξίσωση 17** και την **Εξίσωση 18**, αντίστοιχα, οι οποίες προέκυψαν από προσαρμογή σε πειραματικά δεδομένα [Maglic et al. 2001, 4]:

Εξίσωση 17

$$\begin{aligned} 300 \text{ K} < T < 1106 \text{ K: } C_p &= 405.6 + 5.0757 \times 10^{-1} T - 2.781 \times 10^{-4} T^2 + 8.750 \times 10^{-8} T^3 \\ 1202 \text{ K} < T < 1910 \text{ K: } C_p &= -1689.3 + 5.230 T - 3.920 \times 10^{-3} T^2 + 9.826 \times 10^{-7} T^3 \\ 1106 \text{ K} < T < 1150 \text{ K: } C_p &= -5601.47727 + 5.72955 T \\ 1150 \text{ K} < T < 1202 \text{ K: } C_p &= 8677.01923 - 6.68654 T \end{aligned}$$

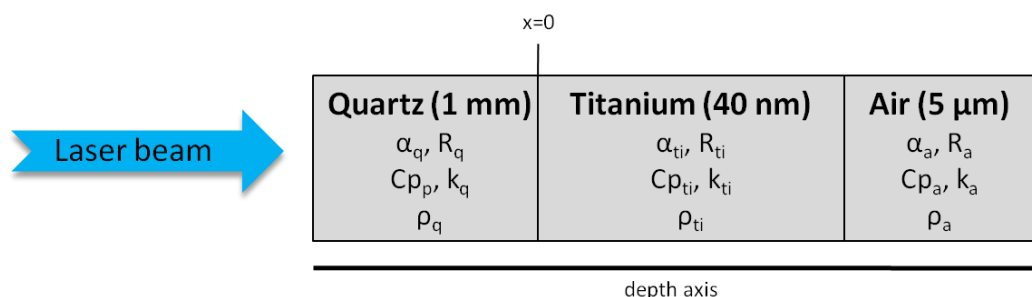
Εξίσωση 18

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

Στην **Εικόνα 28** εμφανίζεται η χρονική εξέλιξη στην θερμοκρασία για την εμπορόσθια επιφάνεια του τιτανίου ($x = +40$ nm) για πυκνότητες ενέργειας 50 mJ/cm^2 , 100 mJ/cm^2 και 150 mJ/cm^2 . Η μέγιστη θερμοκρασία επιτυγχάνεται για την χρονική στιγμή $t = 18.8$ ns. Η ακτινοβολήση με πυκνότητα ενέργειας 100 mJ/cm^2 οδηγεί το φιλμ του τιτανίου σε θερμοκρασία $T_{\max} = 1616$ °C οριακά πριν το σημείο τήξης του $T_m = 1668$ °C. Περαιτέρω

⁴ http://www.efunda.com/materials/elements/TC_Table.cfm?Element_ID=Ti

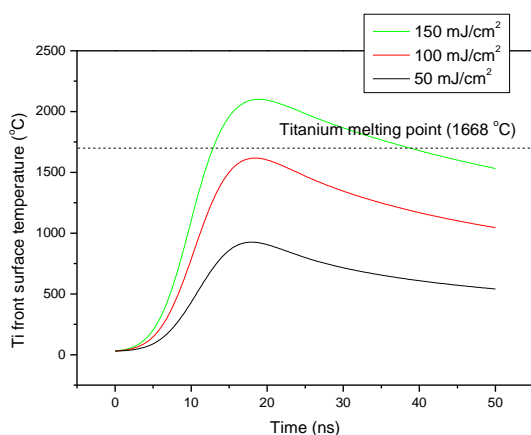
αύξηση της πυκνότητας ενέργειας οδηγεί στην πλήρη τήξη του στρώματος τιτανίου, όπου το μοντέλο προσομοίωσης δεν μπορεί να ανταποκριθεί μιας και δεν μπορεί να συμπεριλάβει την ενθαλπία μετασηματισμού φάσης. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις πειραματικές παρατηρήσεις, όπου με χρήση οπτικής μικροσκοπίας προσδιορίστηκε το ενεργειακό κατώφλι για την τήξη του τιτανίου σε $100 \text{ mJ/cm}^2 - 150 \text{ mJ/cm}^2$.



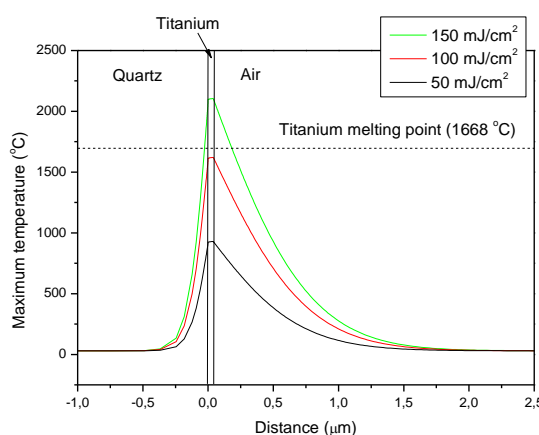
Εικόνα 27: Σχηματική αναπαράσταση του μοντέλου προσομοίωσης της θερμοκρασιακής εξέλιξης στο υποστρώματος δότη. Δεν τηρείται η κλίμακα στο πάχος των φιλμ.

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

Υλικό	ρ (Kg/cm ³)	α (cm ⁻¹)	R	C _p (J/Kg K)	k (W/m K)
Χαλαζίας	2203	1×10^{-5}	0.040	703	1.38
Τιτάνιο	4520	5.96×10^5	0.256	Εξίσωση 17	Εξίσωση 18
Αέρας	1.205	-	-	1005	0.0257



Εικόνα 28: Η εξέλιξη της θερμοκρασίας στην μπρος επιφάνεια του τιτανίου ($x = +40 \text{ nm}$) για διάφορες πυκνότητες ενέργειας της ακτινοβολίας Λέιζερ ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $\tau = 9 \text{ ns}$).



Εικόνα 29: Η εξέλιξη της θερμοκρασίας κατά μήκος των τριών στρωμάτων για την χρονική στιγμή $t = 18.8 \text{ ns}$ στην οποία επιτυγχάνεται η μέγιστη θερμοκρασία στο στρώμα τιτανίου ($\lambda = 266 \text{ nm}$, $\tau = 9 \text{ ns}$).

Στην **Εικόνα 28** εμφανίζεται η χρονική εξέλιξη της θερμοκρασίας κατά μήκος των τριών στρωμάτων για πυκνότητες ενέργειας 50 mJ/cm^2 , 100 mJ/cm^2 και 150 mJ/cm^2 και $t = 18.8 \text{ ns}$. Μπορεί εύκολα να διακριθεί πως στο στρώμα τιτανίου πάχους 40 nm , παρουσιάζεται πρακτικά μια σταθερή κατανομή της θερμοκρασίας, γεγονός το οποίο οφείλεται στο μικρό

του πάχους και την σχετικά μεγάλη θερμική του αγωγιμότητα. Επιπρόσθετα, το υπόστρωμα quartz επηρεάζεται θερμικά σε ένα βάθος μικρότερο από 0.5 μm , ενώ αντίστοιχα το στρώμα του αέρα επηρεάζεται έως και το πρώτα 2 μm .

4.2 Εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης

Η επιλογή της γλυκερόλης για την μελέτη της πειραματικής τεχνικής LIFT βασίστηκε στην δυνατότητα ελέγχου των ρεολογικών ιδιοτήτων των πρότυπων διαλυμάτων που σχηματίζονται κατά την ανάμειξής της με το νερό. Επιπρόσθετα, η γλυκερόλη λειτουργεί σταθεροποιητικά σε βιολογικά διαλύματα. Ως αποτέλεσμα, υπάρχει εκτενής βιβλιογραφία στην εναπόθεση βιολογικών διαλυμάτων γλυκερόλης με χρήση LIFT [Colina et al. 2005, Dinca et al. 2008, Boutoroulos et al. 2008], αλλά και στην εν γένει χρήση της ως πρότυπο διάλυμα εναπόθεσης [Colina et al. 2006]. Σε όλα τα πρότυπα διαλύματα γλυκερόλης προστέθηκε ποσότητα του τασιενεργού sodium dodecyl sulfate (SDS) σε περιεκτικότητα 2 mg/mL. Η προσθήκη του τασιενεργού στο διάλυμα διευκολύνει την επίστρωση ομοιόμορφων υμενίων του πρότυπου υγρού στο υπόστρωμα δότη.

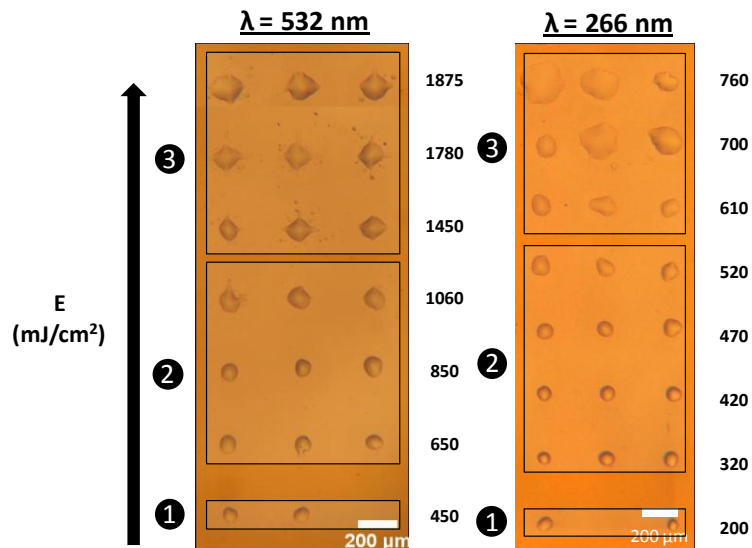
4.2.1 Επιλογή του μήκους κύματος

Για την διερεύνηση της επίδρασης του μήκους κύματος στην διαδικασία LIFT υγρής φάσης επιλέχθηκε ένα πρότυπο διάλυμα 40 % γλυκερόλης – 60 % νερού και τα μήκη κύματος $\lambda = 266 \text{ nm}$ και $\lambda = 532 \text{ nm}$. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την τεχνική blade coating [Ενότητα 3.2], η οποία οδήγησε στον σχηματισμό ενός ομοιόμορφου φιλμ πάχους 15 μm στην επιφάνεια ενός δισκίου χαλαζία, επικαλυμμένου με 40 nm τιτανίου. Η χρήση του ενδιάμεσου στρώματος τιτανίου είναι απαραίτητη για την απορρόφηση της οπτικής ακτινοβολίας και την εκτίναξη του υλικού με την μορφή jet [Duocastella et al. 2008, Duocastella et al. 2009, Gruene et al. 2011, Brown et al. 2011]. Για τις εναποθέσεις έγινε χρήση της πειραματικής διάταξης LIFT υγρής φάσης που αναλύθηκε στην Ενότητα 3.1. Το υπόστρωμα αποδέκτης ήταν γυαλί. Η απόσταση υποστρώματος δότη-αποδέκτη επιλέχθηκε στα 200 μm ενώ η διάμετρος της δέσμης στο υπόστρωμα δότη ήταν 30 μm .

Στην **Εικόνα 30** εμφανίζονται φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου με τα αποτελέσματα της εναπόθεσης σταγόνων για τα δύο διαφορετικά μήκη κύματος. Οι σταγόνες του πρότυπου διαλύματος εναποτέθηκαν σε συστοιχίες με αυξανόμενη πυκνότητα ενέργειας. Είναι εμφανές πως και στις δύο περιπτώσεις τα αποτελέσματα των εναποθέσεων μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις διαφορετικές περιοχές. Η πρώτη περιοχή αποτελεί την οριακή πυκνότητα ενέργειας για την οποία το υλικό εκτινάσσεται από το υπόστρωμα δότη με την μορφή jet και εναποτίθεται στο υπόστρωμα αποδέκτη με την μορφή σταγόνας. Για την περίπτωση του $\lambda=532 \text{ nm}$, η τιμή αυτή είναι τα 450 mJ/cm^2 , ενώ για $\lambda = 266 \text{ nm}$ αντίστοιχη τιμή είναι τα 450 mJ/cm^2 . Η δεύτερη περιοχή περιλαμβάνει ένα εύρος πυκνοτήτων ενέργειας ($\lambda = 532 \text{ nm} : 650 \text{ mJ}/\text{cm}^2 - 1060 \text{ mJ}/\text{cm}^2$, $\lambda = 266 \text{ nm} : 320 - 520 \text{ mJ}/\text{cm}^2$) για το οποίο οι σταγόνες εμφανίζουν κυκλικό σχήμα και επαναληψιμότητα στο μέγεθος. Για περαιτέρω αύξηση της πυκνότητας ενέργειας, οι εναποτιθέμενες σταγόνες εμφανίζουν ακανόνιστο σχήμα ενώ συχνά περιβάλλονται από περιφερειακά σταγονίδια.

Οι τρεις αυτές διαφορετικές περιοχές μπορούν να συσχετιστούν με αποτελέσματα εργασιών για την χρονοεξαρτώμενη απεικόνιση της εκτόξευσης του υλικού κατά την διαδικασία LIFT [Duocastella et al. 2008, Duocastella et al. 2009]. Όπως έχει αναλυθεί στις Ενότητες 1.2.5 και 1.2.6, η εκτόξευση του υλικού πραγματοποιείται με την δημιουργία ενός

σταθερού και κατευθυντικού jet το οποίο προσκρούει στο υπόστρωμα δέκτη και οδηγεί στην εναπόθεση ομοιόμορφων σταγόνων (περιοχές 1 και 2). Για υψηλή πυκνότητα ενέργειας, προκαλείται δημιουργία πλάσματος στην διεπιφάνεια τιτανίου - υγρού φιλμ. Ως αποτέλεσμα, η εκτόξευση του υπερκείμενου υγρού είναι εξαιρετικά βίαιη και οδηγεί στην εναπόθεση μη ομοιόμορφων σταγόνων αλλά και περιφερειακών σταγονιδίων (περιοχή 3).



Εικόνα 30: Φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου εναποθέσεων LIFT του πρότυπου διαλύματος 40 % γλυκερόλης - 60 % νερού για τα μήκη κύματος $\lambda = 532 \text{ nm}$ και $\lambda = 266 \text{ nm}$.

Τα αποτελέσματα εμφανίζονται ποιοτικά όμοια και για τα δύο μήκη κύματος. Η μόνη διαφοροποίηση που παρατηρείται είναι την τιμή της πυκνότητας ενέργειας για την οποία προσδιορίζεται η κάθε περιοχή εναπόθεσης. Η διαφοροποίηση αυτή είναι αναμενόμενη αν αναλογιστούμε τις οπτικές ιδιότητες του λεπτού φιλμ τιτανίου για τα μήκη κύματος $\lambda = 266 \text{ nm}$ και $\lambda = 532 \text{ nm}$. [Πίνακας IV]. Η εκτόξευση του υγρού στην τεχνική LIFT υγρής φάσης είναι αποτέλεσμα του θερμικού αποτελέσματος στο λεπτό φιλμ τιτανίου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα IV, ο συντελεστής απορρόφησης του τιτανίου είναι ίδιος και για τα δύο μήκη κύματος. Επομένως, το βάθος οπτικής απορρόφησης υπολογίζεται στα 16.8 nm και για τις δύο περιπτώσεις. Η τιμή αυτή είναι 2.5 φορές μικρότερη από το συνολικό πάχος του φιλμ (40 nm) το οποίο πρακτικά προστατεύει το υγρό από την απευθείας έκθεση στη ακτινοβολία και στις δύο περιπτώσεις. Η μετατόπιση των τριών διαφορετικών περιοχών εναπόθεσης σε υψηλότερες πυκνότητες ενέργειας για $\lambda = 532 \text{ nm}$, είναι αποτέλεσμα της μεγαλύτερης ανακλαστικότητας που εμφανίζει το φιλμ τιτανίου σύγκριση με το $\lambda = 266 \text{ nm}$. Με δεδομένο τον ίδιο συντελεστή απορρόφησης, η σχέση μεταξύ των πυκνοτήτων ενέργειας που προκαλούν το ίδιο θερμικό αποτέλεσμα στο φιλμ του τιτανίου προκύπτει από την παρακάτω Εξίσωση 19

$$\text{Εξίσωση 19: } I_{0,\lambda=532\text{nm}} = I_{0,\lambda=266\text{nm}} \frac{(1 - R_{266})}{(1 - R_{532})} = I_{0,\lambda=266\text{nm}} \times 1.46$$

Πίνακας IV: Οπτικές ιδιότητες τιτανίου για τα διαθέσιμα μήκη κύματος του Nd:YAG Λέιζερ⁵.

Μήκος κύματος (nm)	k	Συντελεστής απορρόφησης α (cm^{-1})	Ανακλαστικότητα R (%), $\theta = 0^\circ$	Βάθος οπτικής απορρόφησης $1/\alpha$ (nm)
266	1.26	5.96×10^5	25.6	16.8 nm
355	2.01	7.13×10^5	44.3	14.0 nm
532	2.53	5.97×10^5	49.1	16.8 nm
1064	3.33	3.93×10^5	55.4	25.4 nm

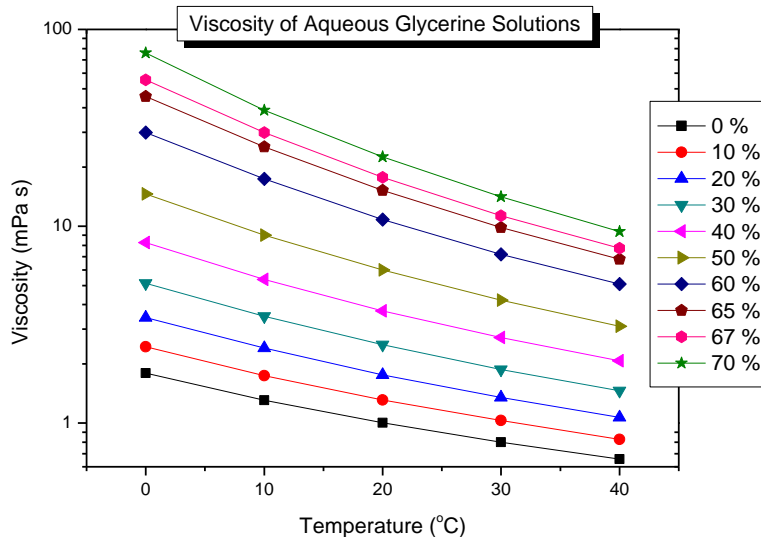
Με δεδομένη την χρήση του ενδιάμεσου απορροφητικού στρώματος τιτανίου, τα παραπάνω αποτελέσματα ήταν αναμενόμενα. Καθώς φαίνεται και από τις οπτικές ιδιότητες του τιτανίου και για τα άλλα δύο διαθέσιμα μήκη κύματος του Nd:YAG Λέιζερ ($\lambda=355$ nm και $\lambda = 1064$ nm), δεν θα προέκυπτε επίδραση στον μηχανισμό του LIFT σε περίπτωση που αυτά επιλεγόντουσαν. Ως εκ τούτου, επιλέχθηκε το μήκος κύματος $\lambda = 266$ nm για το σύνολο των πειραμάτων LIFT υγρής φάσης. Η επιλογή αυτή βασίστηκε στην διευκόλυνση της πειραματικής διαδικασίας, δηλαδή στην ελαχιστοποίηση των ανακλάσεων και την ευκολία στην ευθυγράμμιση της πειραματικής διάταξης.

4.2.2 Επίδραση του ιξώδους στην διαδικασία LIFT υγρής φάσης

Για την διερεύνηση της επίδρασης του ιξώδους του προς εναπόθεση υγρού στην διαδικασία LIFT υγρής φάσης επιλέχθηκαν τρία διαφορετικά διαλύματα γλυκερόλης. Η ανάμειξη της γλυκερόλης με νερό σε διαφορετικές περιεκτικότητες μπορεί να οδηγήσει στον σχηματισμό διαλυμάτων που καλύπτουν ένα μεγάλο φάσμα τιμών για το ιξώδες όπως φαίνεται στην **Εικόνα 31**. Για την παρούσα μελέτη επιλέχθηκαν τα διαλύματα 60 % γλυκερόλη - 40 % νερό (8.7 mPa s, 25 °C), 40 % γλυκερόλη – 60 % νερό (3.2 mPa s, 25 °C) και 20 % γλυκερόλη – 80 % νερό (1.2 mPa s, 25 °C). Τα πρότυπα αυτά διαλύματα καλύπτουν ένα ρεαλιστικό φάσμα τιμών ιξώδους που απαντώνται στα συνήθη βιολογικά διαλύματα.

Το μήκος κύματος επιλέχθηκε $\lambda=266$ nm και οι συνθήκες εναπόθεσης κρατήθηκαν ίδιες και για τα τρία πρότυπα διαλύματα (Ενότητα 4.2.1). Στην **Εικόνα 32** εμφανίζονται φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου με τα αποτελέσματα της εναπόθεσης των σταγόνων. Οι σταγόνες των πρότυπων διαλυμάτων εναποτέθηκαν σε συστοιχίες με αυξανόμενη πυκνότητα ενέργειας. Η βασική παρατήρηση που προκύπτει είναι η αποτυχία στην εναπόθεση καλά καθορισμένων σταγόνων από το διάλυμα χαμηλού ιξώδους (1.2 mPa). Επιπρόσθετα, μπορεί να διακριθεί πως η αύξηση στο ιξώδες του διαλύματος προκαλεί αύξηση στην οριακή πυκνότητα ενέργειας που οδηγεί στην εναπόθεση σταγόνας (περιοχή 1). Έτσι για 1.2 mPa s, 3.2 mPa s και 8.5 mPa s οι αντίστοιχες οριακές πυκνότητες ενέργειας είναι 100 mJ/cm^2 , 200 mJ/cm^2 και 260 mJ/cm^2 . Είναι επίσης εμφανές πως το εύρος των πυκνοτήτων ενέργειας για το οποίο η εναπόθεση οδηγεί σε ομοιόμορφες κυκλικές σταγόνες (περιοχή 2) αυξάνει με αύξηση του ιξώδους του διαλύματος. Για τα 3.2 mPa s καθορίζεται στα 320 mJ/cm^2 - 520 mJ/cm^2 , ενώ για τα 8.5 mPa s στα 410 mJ/cm^2 - 975 mJ/cm^2 .

⁵ <http://refractiveindex.info/?group=METALS&material=Titanium>



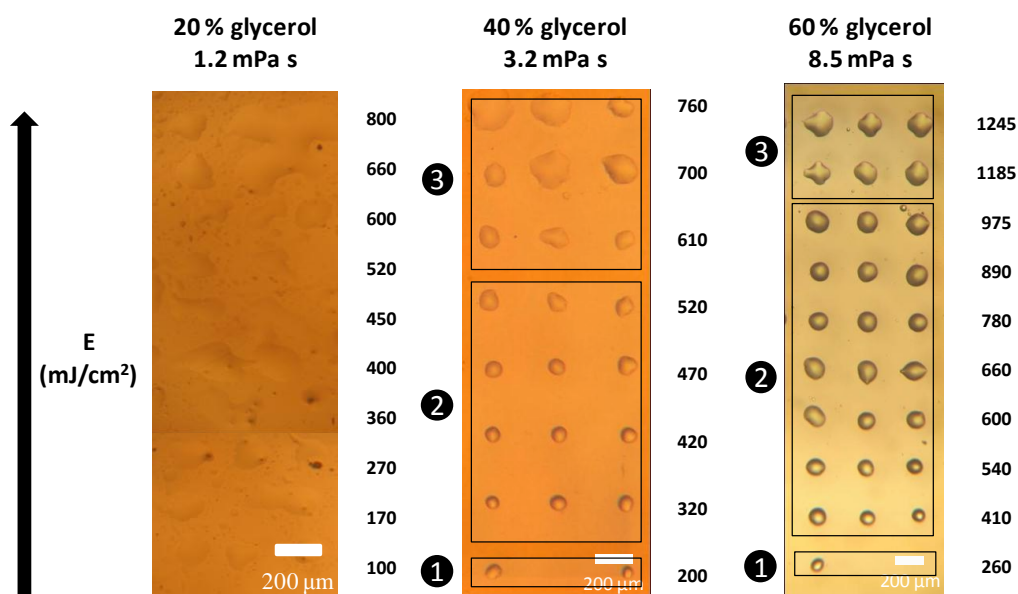
Εικόνα 31: Η εξάρτηση του ιξώδους πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης-νερού από την θερμοκρασία και την συγκέντρωση της γλυκερόλης. Το γράφημα προέκυψε από προσαρμογή στα δεδομένα του [Dorsey 1940].

Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εναπόθεσης για διαλύματα διαφορετικού ιξώδους μπορεί να δοθεί αν αναλογιστούμε τον μηχανισμό εκτόξευσης του υλικού στην τεχνική LIFT υγρής φάσης. Όπως έχει αναλυθεί στην Ενότητα 1.2.6, η απορρόφηση της ενέργειας Λέιζερ από το λεπτό στρώμα τιτανίου οδηγεί στην εμφάνιση ενός θύλακα πίεσης στην διεπιφάνεια τιτανίου – υγρού φιλμ. Το μέγεθος του θύλακα καθορίζεται από την πυκνότητας ενέργειας της δέσμης Λέιζερ αλλά και από τις ρεολογικές ιδιότητες του υλικού. Ο θύλακας πίεσης μπορεί να περιγραφεί από την σχέση Rayleigh – Plesset [Prosperetti 1982, Xiu-Mei et al. 2008], η οποία αναλύεται στην Ενότητα 1.2.6 [Εξίσωση 1]. Από την εφαρμογή της σχέσης Rayleigh – Plesset έχει δειχθεί πως για δεδομένη πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ η αύξηση του ιξώδους οδηγεί σε μείωση της ακτίνας του θύλακα [Mézal et al. 2009]. Ποιοτικά αυτό μπορεί να γίνει αντιληπτό αν αναλογιστούμε πως υγρό με αυξημένο ιξώδες εμφανίζει αυξημένες δυνάμεις συνοχής και αυξημένη αντίσταση κατά την κίνησή του. Η ακτίνα όμως του θύλακα αποτελεί και το κριτήριο για την δημιουργία ή όχι του jet μέσω ενός κρίσιμου παράγοντα Γ , ο οποίος εκφράζει τον λόγο της ακτίνας του θύλακα πίεσης προς το πάχος του υγρού φιλμ [Pearson et al. 2004]. Κατά συνέπεια, αυξανόμενου του ιξώδους του υγρού, απαιτείται μεγαλύτερη πυκνότητα ενέργειας ώστε να επιτευχθεί ο κρίσιμος παράγοντας Γ που ικανοποιεί την συνθήκη δημιουργίας του jet.

Η αποτυχία στην εναπόθεση καλά σχηματισμένων σταγόνων από το διάλυμα χαμηλού ιξώδους (20 % γλυκερόλη – 80 % νερό, 1.2 mPa) οφείλεται στην εν γένει μικρότερη γωνία επαφής ($< 20^\circ$) που εμφανίζει το συγκεκριμένο διάλυμα με επιφάνειες οξειδίου του πυριτίου. Επιπρόσθετα, πρέπει να σημειωθεί πως η μορφολογία μια σταγόνας που προσκρούει σε μία επίπεδη επιφάνεια εξαρτάται σημαντικά από την τιμή του αριθμού Reynolds. Ο αριθμός Reynolds εκφράζει την ισορροπία μεταξύ των δύο σημαντικών παραγόντων που επιδρούν στην διασπορά μιας σταγόνας, την κινητική ενέργεια της πρόσκρουσης και τις δυνάμεις συνοχής που εκφράζονται από τον συντελεστή ιξώδους. Η σχέση που δίνει το αριθμό Reynolds δίδεται από την **Εξίσωση 20**:

Εξίσωση 20:
$$R_{number} = \frac{\rho u d_o}{\nu}$$

Όπου ρ η πυκνότητα του υγρού, u η ταχύτητα πρόσκρουσης, d_o η διάμετρος της σταγόνας κατά την πρόσκρουση και ν ο συντελεστής ιξώδους. Είναι εμφανές από την **Εξίσωση 20** πως διαλύματα με μικρότερο ιξώδες εμφανίζουν μεγαλύτερη διασπορά υποθέτοντας σταθερές τις υπόλοιπες παραμέτρους. Επομένως, η επιλογή ενός διαλύματος μεγάλου ιξώδους οδηγεί σε ένα ευρύ φάσμα συνθηκών πυκνότητας ενέργειας που οδηγούν σε καλά σχηματισμένες σταγόνες (60 % γλυκερόλη - 40 % νερό, 8.7 mPa s). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν εξαχθεί και για την περίπτωση της εναπόθεσης σταγόνων μέσω της τεχνικής ink-jet [Toivakka 2003].



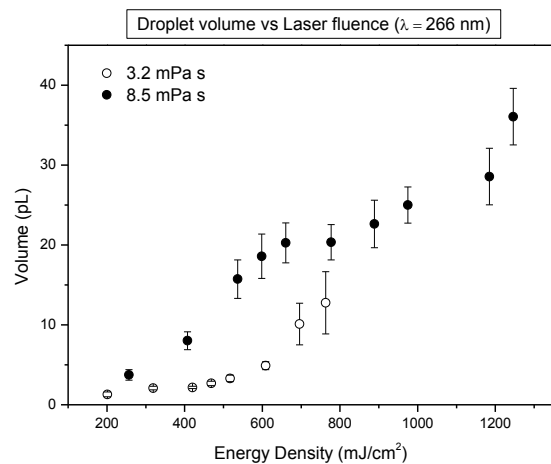
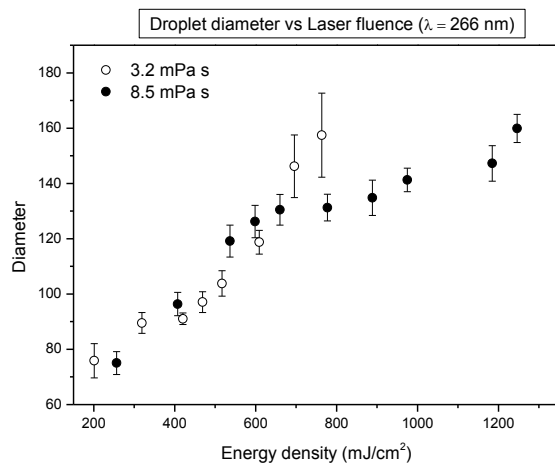
Εικόνα 32: Φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου εναποθέσεων LIFT των τριών πρότυπων διαλυμάτων διαφορετικού ιξώδους.

4.2.3 Η εξάρτηση του μεγέθους των εναποτιθέμενων δομών από την πυκνότητα ενέργειας

Τα αποτελέσματα των δύο προηγούμενων ενοτήτων για την εναπόθεση των πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης για $\lambda = 266$ nm εμφανίζονται ποσοτικοποιημένα στις **Εικόνα 33** και **Εικόνα 34**. Στην **Εικόνα 33** παρουσιάζονται τα μεγέθη των εναποτιθέμενων σταγόνων για τα δύο πρότυπα διαλύματα. Η διάμετρος τους κυμαίνεται από 75 μm έως και 160 μm ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Το διάλυμα με το μικρότερο ιξώδες εμφανίζει μικρότερη οριακή πυκνότητα ενέργειας για την εναπόθεση σταγόνων. Αντιθέτως, το διάλυμα με το μεγαλύτερο ιξώδες εμφανίζει μεγαλύτερο εύρος πυκνοτήτων ενέργειας στο οποίο επιτυγχάνονται εναποθέσεις σταγόνων. Στην **Εικόνα 34** παρουσιάζεται η σχετική πληροφορία για τον όγκο των εναποτιθέμενων σταγόνων, ο οποίος προσδιορίστηκε με χρήση της **Εξίσωση 12** της Ενότητας 3.3.1. Η διακύμανση για τον όγκο των σταγόνων είναι από 1.3 μL έως και 36 μL ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Η **Εικόνα 35** και

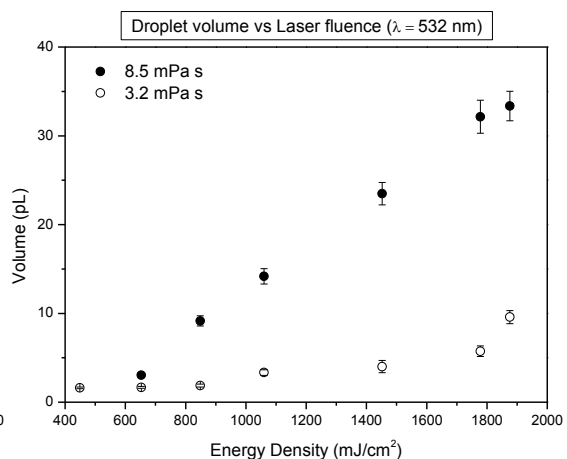
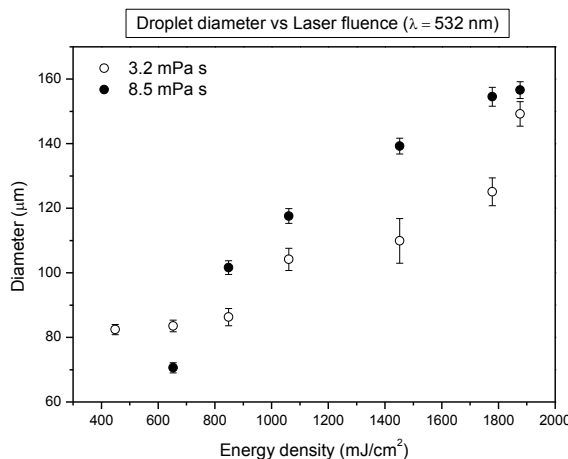
η **Εικόνα 36** παρουσιάζουν τα αντίστοιχα αποτελέσματα για το μήκος κύματος $\lambda = 532$ nm. Η διάμετρος των σταγόνων κυμαίνεται από 70 μm έως και 155 μm ανάλογα με την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Η αντίστοιχη διακύμανση για τον όγκο των σταγόνων είναι από 1.6 μL έως και 33 μL . Τα αποτελέσματα είναι ποιοτικά ίδια και για τα δύο μήκη κύματος και συνοψίζονται στον **Πίνακα V**.

Όπως προκύπτει από τα διαγράμματα, με την διαδικασία LIFT υγρής φάσης μπορεί να καλυφθεί ένα μεγάλο εύρος διαστάσεων στην διάμετρο και τον όγκο των εναποτιθέμενων σταγόνων. Έτσι, με κατάλληλη επιλογή της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ μπορούν να επιτευχθούν οι επιθυμητές διαστάσεις που καθορίζονται από μια εφαρμογή.



Εικόνα 33: Η εξάρτηση της διαμέτρου των εναποτιθέμενων σταγόνων από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ ($\lambda = 266$ nm).

Εικόνα 34: Η εξάρτηση του όγκου των εναποτιθέμενων σταγόνων από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ ($\lambda = 266$ nm).



Εικόνα 35: Η εξάρτηση της διαμέτρου των εναποτιθέμενων σταγόνων από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ ($\lambda = 532$ nm).

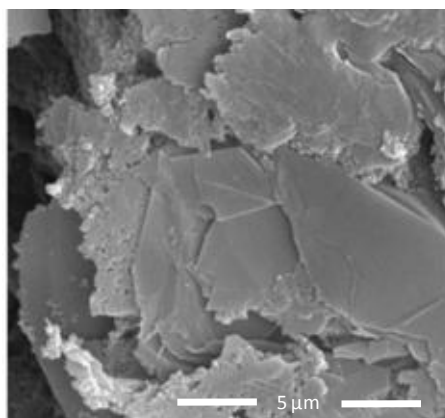
Εικόνα 36: Η εξάρτηση του όγκου των εναποτιθέμενων σταγόνων από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ ($\lambda = 532$ nm).

Πίνακας V: Σύνοψη των αποτελεσμάτων εναπόθεσης των πρότυπων διαλυμάτων γλυκερόλης.

Ιξώδες πρότυπου διαλύματος (mPa s)	Οριακή πυκνότητα ενέργειας (mJ/cm ²)	Εύρος πυκνότητας ενέργειας για ομοιόμορφες σταγόνες (mJ/cm ²)	Διακύμανση της διαμέτρου της σταγόνας (μm)	Όγκος σταγόνας (pL)
$\lambda = 266 \text{ nm}$				
3.2	200	200 – 760	75 – 155	1.3 – 12.8
8.5	260	260 – 1250	75 – 160	3.7 – 36
$\lambda = 532 \text{ nm}$				
3.2	450	450 – 1880	80 – 150	1.6 – 9.5
8.5	650	650 - 1880	70 – 155	3 – 33

4.3 Η εξάρτηση της γωνίας επαφής από την πυκνότητα ενέργειας

Η διαβρεξιμότητα είναι μια από τις σημαντικότερες ιδιότητες μια στερεάς επιφάνειας και υποδηλώνει την δυνατότητά της να παραμένει σε επαφή με ένα υγρό. Χαρακτηριστικό μέτρο της διαβρεξιμότητας μιας επιφάνειας από ένα υγρό αποτελεί η γωνία επαφής μιας σταγόνας (contact angle) [Bico et al. 2002, Good 1992]. Η διαβρεξιμότητα και η τραχύτητα των επιφανειών που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ακινητοποίηση των βιολογικών υλικών σε αυτές. Έχει παρατηρηθεί πως οι επιφάνειες που εμφανίζουν υψηλή επιφανειακή τραχύτητα και διαβρεξιμότητα μπορούν να υποστηρίξουν την ακινητοποίηση βιολογικών υλικών μέσω μιας διαδικασίας ενίσχυσης της φυσικής προσρόφησης [Vlachopoulou et al. 2009, Tsougení et al. 2010].



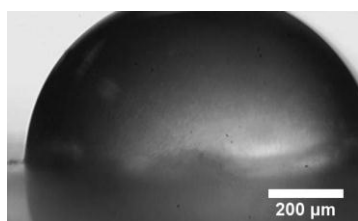
Εικόνα 37: Φωτογραφία SEM της επιφάνειας του ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας γραφίτη⁶

Στην παρούσα ενότητα εξετάστηκε η επίδραση των συνθηκών εναπόθεσης LIFT στην διαβρεξιμότητα μιας πρότυπης επιφάνειας. Ως πρότυπο υγρό επιλέχθηκε ένα διάλυμα ενζύμου : Laccase (40 Units / 100 μL) in 0.1 M PBS (Phosphate Buffered Saline, pH 4.5) και ως πρότυπο υπόστρωμα ένα ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας γραφίτη. Η τραχύτητα της επιφάνειας του ηλεκτροδίου ήταν αυξημένη και μετρήθηκε στα 0.5 μm rms με χρήση AFM. Μια φωτογραφία SEM της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εμφανίζεται στην **Εικόνα 37**. Η

⁶ http://www.dropsens.com/en/pdfs_productos/110cnt.pdf

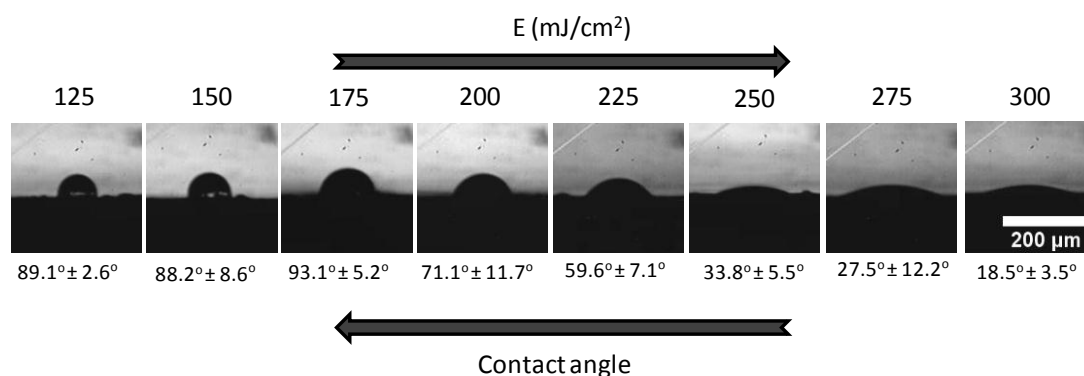
επιλογή του πρότυπου διαλύματος και της πρότυπης επιφάνειας έγιναν με στόχο την διερεύνηση της δυνατότητας ανάπτυξης ενός βιοαισθητήρα ενζύμων με την τεχνική LIFT.

Για την διερεύνηση της επίδρασης της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ στην γωνία επαφής των εναποτιθέμενων σταγόνων έγιναν εναποθέσεις στο μήκος κύματος $\lambda = 266$. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την τεχνική drop casting [Ενότητα 3.2], η οποία οδήγησε στον σχηματισμό ενός ομοιόμορφου φιλμ πάχους 15 μm στην επιφάνεια ενός δισκίου χαλαζία, επικαλυμμένου με 40 nm τιτανίου. Για τις εναποθέσεις χρησιμοποιήθηκε η πειραματική διάταξη LIFT υγρής φάσης που αναλύθηκε στην Ενότητα 3.1. στην οποία προσαρμόστηκε ένα επιπλέον οπτικό σύστημα παρατήρησης. Το σύστημα αυτό ήταν παράλληλο στο επίπεδο του υποστρώματος και παρείχε την δυνατότητα απεικόνισης των σταγόνων που εναποτίθενταν με το LIFT. Η απόσταση υποστρώματος δότη-αποδέκτη επιλέχθηκε στα 200 μm ενώ η διάμετρος της δέσμης στο υπόστρωμα δότη ήταν 80 μm .



Reference pipette spotting of Laccase on Graphite SPE ($\theta = 89.4^\circ$)

(α)

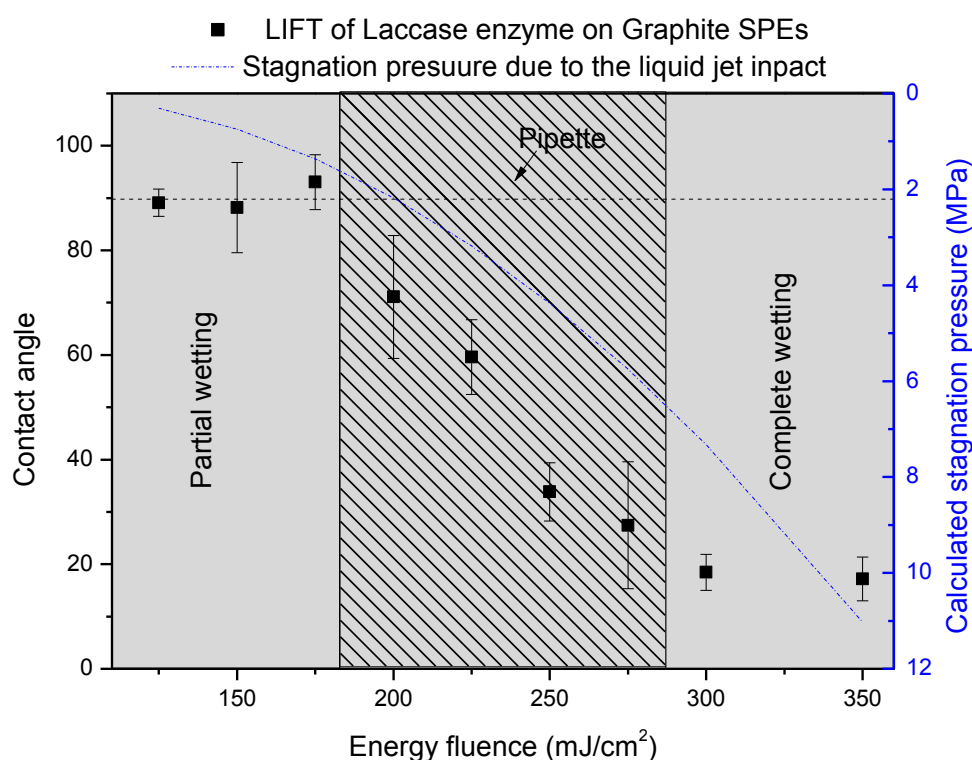


(β)

Εικόνα 38: Η γωνία επαφής του πρότυπου διαλύματος στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας γραφίτη α) Εναπόθεση σταγόνας με πιπέττα β) Εναπόθεση σταγόνων με LIFT με αυξανόμενη πυκνότητα ενέργειας.

Αρχικά, μετρήθηκε η γωνία επαφής του πρότυπου διαλύματος κατά την εναπόθεσή του με πιπέττα στο υπόστρωμα (σταγόνα 1 μL). Στην **Εικόνα 38α** παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μιας τέτοιας εναπόθεσης όπου η γωνία επαφής μετρήθηκε 89.4° υποδεικνύοντας μερική διαβρεξιμότητα (partial wetting) της επιφάνειας. Τα αποτελέσματα της εναπόθεσης του πρότυπου διαλύματος με χρήση της τεχνικής LIFT εμφανίζονται στην **Εικόνα 38β**. Μπορεί να παρατηρηθεί πως η εναπόθεση με αυξανόμενη πυκνότητα ενέργειας μπορεί να οδηγήσει σταδιακά στην μετάβαση από μια κατάσταση μερικής διαβρεξιμότητας (125 mJ/cm^2 , $89.4^\circ \pm 2.6^\circ$) σε μία κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας (complete wetting) (300 mJ/cm^2 , $18.5^\circ \pm 3.5^\circ$).

Τα αποτελέσματα της επίδρασης της πυκνότητας ενέργειας στην γωνία επαφής παρουσιάζονται αναλυτικά στην **Εικόνα 39** όπου μπορούν να διακριθούν τρεις διαφορετικές περιοχές. Για χαμηλές πυκνότητες ενέργειας, από 125 mJ/cm^2 έως και 175 mJ/cm^2 , η διαδικασία LIFT δεν επιδρά στην γωνία επαφής των εναποτιθέμενων σταγόνων. Η τιμή της γωνίας επαφής για αυτές τις συνθήκες κυμαίνεται από $88.2^\circ \pm 2.6^\circ$ έως και $93.1^\circ \pm 5.2^\circ$, η οποία είναι συγκρίσιμη με την γωνία επαφής αναφοράς (89.4°), υποδεικνύοντας μερική διαβρεξιμότητα της επιφάνειας. Για επιπλέον αύξηση της πυκνότητας ενέργειας, από 200 mJ/cm^2 έως και 275 mJ/cm^2 , παρατηρείται μια μείωση στην γωνία επαφής σε $27.5^\circ \pm 12.2^\circ$ υποδεικνύοντας μια σταδιακή μετάβαση σε κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας. Τέλος, για περεταίρω αύξηση της πυκνότητας ενέργειας η γωνία επαφής σταθεροποιείται στην τιμή $18.5^\circ \pm 3.5^\circ$.



Εικόνα 39: Η εξάρτηση της γωνίας επαφής των εναποτιθέμενων σταγόνων του πρότυπου διαλύματος από την πυκνότητα ενέργειας του Λείζερ (αριστερός κατακόρυφος άξονας). Η εξάρτηση της πίεσης διαβροχής από την πυκνότητα ενέργειας του Λείζερ (δεξιός κατακόρυφος άξονας).

Η χρήση της τεχνικής LIFT υγρής φάσης κάτω από κατάλληλες συνθήκες, είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της γωνίας επαφής σταγόνων ενός πρότυπου διαλύματος ενζύμου σε ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας. Ως αποτέλεσμα, μια μετάβαση από μια κατάσταση μερικής διαβρεξιμότητας (89.4°), σε μία κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας (18.5°) έλαβε χώρα για πυκνότητες ενέργειας μεγαλύτερες από 300 mJ/cm^2 . Τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούν να ερμηνευτούν αν αναλογιστούμε τον μηχανισμό εκτόξευσης του υλικού στην τεχνική LIFT αλλά και τους μηχανισμούς διαβρεξιμότητας μια επιφάνειας υψηλής τραχύτητας.

Όταν μία σταγόνα προσκρούει σε μια τραχιά επιφάνεια, ο βαθμός στον οποίο την διαβρέχει εξαρτάται από την ισορροπία δύο πιέσεων, οι οποίες βιβλιογραφικά έχουν

αναφερθεί ως πίεση διαβροχής (wetting pressure) και πίεση αντι-διαβροχής (anti-wetting pressure) [Deng et al. 2009]. Η πίεση αντι-διαβροχής εκφράζει την τριχοειδή πίεση (capillary pressure) που εμφανίζεται στο εσωτερικό των εσοχών της επιφάνειας εξαιτίας του εγκλωβισμένου αέρα. Ο τύπος που δίνει την πίεση αντι-διαβροχής δίνεται από την σχέση Young-Laplace που στην γενική της μορφή δίδεται από την **Εξίσωση 21**:

$$\text{Εξίσωση 21: } P_{\text{anti-wetting}} = \gamma \frac{2 \cos(\theta)}{r}$$

Όπου γ η επιφανειακή τάση, θ η γωνία επαφής και r η ενεργή καμπυλότητα της επιφάνειας. Επομένως η πίεση αντι-διαβροχής εξαρτάται άμεσα από την φύση της διεπιφάνειας υγρού – στερεού (επιφανειακή τάση, γωνία επαφής) αλλά και από την μορφολογία της επιφάνειας. Η ενεργή καμπυλότητα μιας επιφάνειας μπορεί να προσδιοριστεί αναλυτικά για πρότυπες επιφάνειες, που εμφανίζουν κανονικές προεξοχές ή εσοχές (σφαιρικές, τετραγωνικές, ημισφαιρικές) σταθερών διαστάσεων και περιοδικότητας. Αναλυτικοί υπολογισμοί για τέτοιες πρότυπες επιφάνειες έχουν δείξει πως η πίεση αντι-διαβροχής μπορεί να λάβει ένα μεγάλο εύρος τιμών. Στην περίπτωση των Liu et al. [Liu et al. 2006] η πίεση αντι-διαβροχής υπολογίστηκε από 0.0098 MPa έως και 9.84 MPa ανάλογα με τις διαστάσεις και την περιοδικότητα σφαιρικών εξοχών. Σε μία άλλη εργασία αναλυτικοί υπολογισμοί επέδειξαν τιμές για την πίεση αντι-διαβροχής από 0.8 kPa για τετραγωνικές προεξοχές έως και 3.8 MPa για ημισφαιρικές εσοχές [Deng et al. 2009]. Για την επιφάνεια του ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας γραφίτη δεν είναι δυνατή η εξαγωγή μιας αναλυτικής έκφρασης για την ενεργή καμπυλότητα εξαιτίας της απουσίας κανονικότητας στην τραχύτητα του. Παρόλα αυτά, η πίεση αντι-διαβροχής εξαιτίας της αυξημένης του τραχύτητας (0.5 $\mu\text{m rms}$) υπολογίστηκε έμμεσα όπως θα φανεί στην συνέχεια.

Η πίεση διαβροχής που προκύπτει κατά την εναπόθεση ενός υγρού σε μια επιφάνεια εξαρτάται άμεσα από την ταχύτητα πρόσκρουσής του σε αυτή. Η πίεση αυτή μπορεί να υπολογιστεί με χρήση δύο διαφορετικών σχέσεων. Η πρώτη σχέση, γνωστή και ως εξίσωση water hammer, περιγράφει την ακαριαία αύξηση της πίεσης κατά την πρόσκρουση του υγρού [Hancox et al. 1966]. Η δεύτερη σχέση περιγράφει την πίεση ηρεμίας (stagnation pressure) που ανακύπτει μετά τον σχηματισμό της σταγόνας στην επιφάνεια [Hancox et al. 1966]. Οι σχέσεις που περιγράφουν τις δύο μορφές πίεσης δίνονται από την **Εξίσωση 22** και την **Εξίσωση 23**.

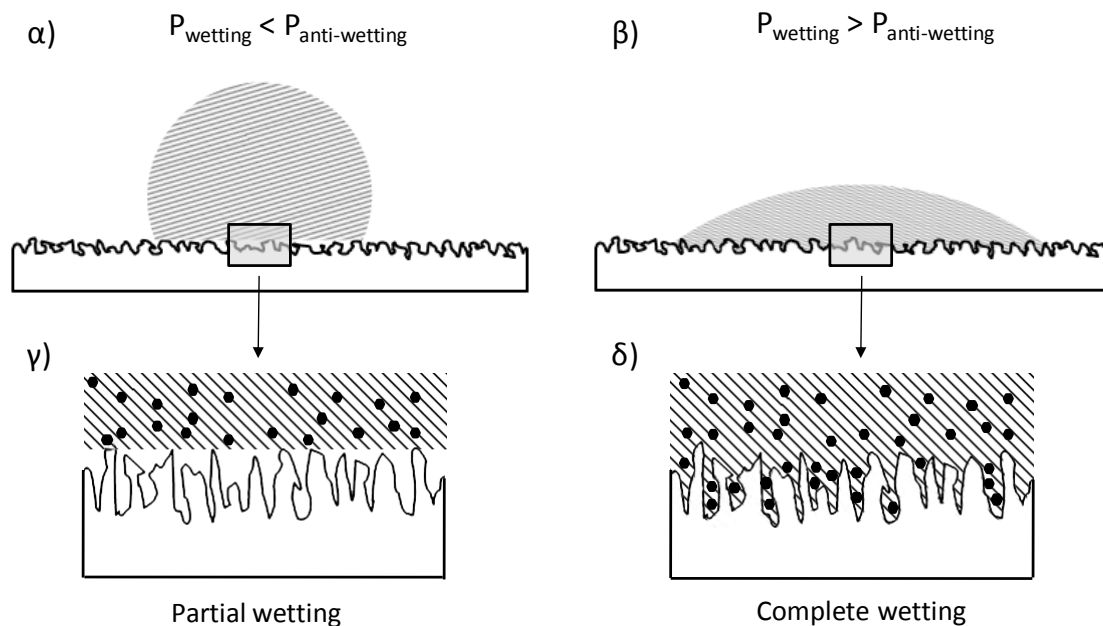
$$\text{Εξίσωση 22: } P_{\text{wetting}} = \rho CV \quad (\text{water hammer pressure})$$

$$\text{Εξίσωση 23: } P_{\text{wetting}} = \frac{1}{2} \rho V^2 \quad (\text{stagnation pressure})$$

Όπου, ρ η πυκνότητα του υγρού, C η ταχύτητα του ήχου στο υγρό μέσο και V η ταχύτητα πρόσκρουσης του υγρού στην επιφάνεια.

Μια μετάβαση φάσης, από μια κατάσταση μερικής διαβρεξιμότητας σε μια κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας, μπορεί να λάβει χώρα όταν η πίεση διαβροχής (stagnation pressure) γίνει μεγαλύτερη από την πίεση αντι-διαβροχής [**Εικόνα 40**]. Η συνθήκη αυτή ικανοποιείται κατά την εναπόθεση LIFT υγρής φάσης, λόγω της εξαιρετικά γρήγορης εκτόξευσης και πρόσκρουσης του υλικού στην επιφάνεια. Είναι γνωστό πως κατά την διαδικασία του LIFT υγρής φάσης η εκτόξευση του υγρού πραγματοποιείται μέσω της

μορφής ενός jet με ταχύτητες από 10 m/s έως και 200 m/s ανάλογα με τις συνθήκες εναπόθεσης [Duocastella et al. 2009]. Στην περίπτωση των δικών μας πειραματικών συνθηκών, συλλέχτηκαν τα δεδομένα ταχύτητας για την εκτόξευση του υγρού από την σχετική βιβλιογραφία εργασιών σε υγρά με παρόμοια ρεολογικά χαρακτηριστικά [Duocastella et al. 2009]. Στην **Εικόνα 39** εμφανίζεται η πίεση διαβροχής (stagnation pressure) ως συνάρτηση της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ, όπως αυτή υπολογίστηκε από την **Εξίσωση 23**. Η τιμή της πίεσης διαβροχής ξεκινά από 0.3 MPa για τα 125 mJ/cm² (25 m/s) και λαμβάνει την μέγιστη τιμή 11 MPa για τα 350 mJ/cm² (150 m/s). Η τιμή της πίεσης των 2 MPa εμφανίζεται να είναι το όριο για το οποίο υπερνικείται η πίεση αντι-διαβροχής και το υγρό εισχωρεί στους πόρους της τραχιάς επιφάνειας. Η πλήρης διαβροχή επιτυγχάνεται για πίεση μεγαλύτερη από 5.8 MPa (275 mJ/cm²).



Εικόνα 40: Σχηματική αναπαράσταση των καταστάσεων διαβροχής μιας τραχιάς επιφάνειας α) Για $P_{\text{wetting}} < P_{\text{anti-wetting}}$ προκύπτει μια κατάσταση μερικής διάβροξης εξαιτίας του εγκλωβισμένου αέρα στο εσωτερικό των εσοχών της επιφάνειας β) Για $P_{\text{wetting}} > P_{\text{anti-wetting}}$ προκύπτει μια κατάσταση πλήρους διάβροξης εξαιτίας απομάκρυνσης του εγκλωβισμένου αέρα γ) Στην κατάσταση μερικής διαβροχής τα βιομόρια δεν αλληλεπιδράσουν με το σύνολο της ενεργής επιφάνειας δ) Στην κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας τα βιομόρια εισχωρούν στις εσοχές και μπορούν να ακινητοποιηθούν με μηχανισμούς φυσικής προσρόφησης και εγκλεισμό.

Επομένως, οι εναποθέσεις με πυκνότητες ενέργειας μεγαλύτερες από 275 mJ/cm² έχουν ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση του εγκλωβισμένου αέρα από τις εσοχές της τραχιάς επιφάνειας. Η πλήρης αυτή διαβροχή της επιφάνειας είναι ικανή να μεγιστοποιήσει την ακινητοποίηση των βιομορίων του διαλύματος στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών [**Εικόνα 40δ**]. Αρχικά, η απομάκρυνση του εγκλωβισμένου αέρα προσφέρει στα βιομόρια μια εξαιρετικά μεγαλύτερη ενεργή επιφάνεια για να αλληλεπιδράσουν και να προσροφηθούν με φυσικούς μηχανισμούς. Επιπλέον, στην περίπτωση που το μέγεθος των βιομορίων είναι συγκρίσιμο με τους πόρους της επιφάνειας, η βίαιη ώθηση τους μέσα σε αυτούς μεγιστοποιεί την ακινητοποίηση μέσω παγίδευσης.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η πλήρης διαβρεξιμότητα της επιφάνειας του ηλεκτροδίου, είναι αποτέλεσμα της εξαιρετικά γρήγορης εκτόξευσης του υγρού κατά το LIFT και δεν μπορεί να αναπαραχθεί με συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης. Στον **Πίνακα VI** εμφανίζονται ενδεικτικές τιμές για την πίεση διαβροχής από δύο συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης, την χρήση πιπέτας και την χρήση ink-jet. Είναι ενδεικτικό πως η πίεση διαβροχής που προκύπτει στην τεχνική ink-jet, είναι μια τάξη μεγέθους μικρότερη από αυτή που απαιτείται για την μεταβολή της κατάστασης διαβρεξιμότητας.

Οι σημαντικές αυτές παρατηρήσεις αξιοποιήθηκαν στο Κεφάλαιο 7, όπου η πρωτότυπη ακινητοποίηση με χρήση LIFT εφαρμόστηκε για την ανάπτυξη φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων

Πίνακας VI: Η πίεση διαβροχής μιας επιφάνειας ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας γραφίτη για τρεις διαφορετικές τεχνικές εναπόθεσης.

Τεχνική εναπόθεσης	Ταχύτητα εκτόξευσης υγρού (m/s)	Πίεση διαβροχής (MPa)	Πίεση αντι-διαβροχής (MPa) ⁷
LIFT	150 (350 mJ/cm ²)	11 ⁽⁸⁾	> 2
Ink-jet	20	0.2 ⁽⁸⁾	> 2
Pipette	0	0.8 x 10 ⁻⁶ ⁽⁹⁾	> 2

⁷ Από την **Εικόνα 39**.

⁸ Υπολογίζεται από την **Εξίσωση 22**.

⁹ Υποθέτοντας πως η πίεση διάβροχης προκύπτει από το βάρος μια σταγόνας 1 mm διαμέτρου.

Αναφορές

- Bico, J., Thiele, U. & Quéré, D. Wetting of textured surfaces. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 206, 41-46 (2002).
- Boutopoulos, C., Andreakou, P., Kafetzopoulos, D., Chatzandroulis, S. & Zergioti, I. Direct laser printing of biotin microarrays on low temperature oxide on Si substrates. *Physica Status Solidi (a)* 205, 2505-2508 (2008).
- Brown, M.S., Kattamis, N.T. & Arnold, C.B. Time-resolved dynamics of laser-induced microjets from thin liquid films. *Microfluidics and Nanofluidics* 11, 199-207 (2011).
- Colina, M., Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Serra, P. & Morenza, J.L. Laser-induced forward transfer of liquids: Study of the droplet ejection process. *Journal of Applied Physics* 99, 084909 (2006).
- Colina, M., Serra, P., Fernández-Pradas, J.M., Sevilla, L. & Morenza, J.L. DNA deposition through laser induced forward transfer. *Biosensors & bioelectronics* 20, 1638-42 (2005).
- Deng, T. et al. Nonwetting of impinging droplets on textured surfaces. *Applied Physics Letters* 94, 133109 (2009).
- Dinca, V. et al. Quantification of the activity of biomolecules in microarrays obtained by direct laser transfer. *Biomedical microdevices* 10, 719-25 (2008).
- Dorsey, N.E. Properties of ordinary water-substance. *Chemical & Engineering News* 18, 215 (1940).
- Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Morenza, J.L. & Serra, P. Time-resolved imaging of the laser forward transfer of liquids. *Journal of Applied Physics* 106, 084907 (2009).
- Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Serra, P. & Morenza, J.L. Jet formation in the laser forward transfer of liquids. *Applied Physics A* 93, 453-456 (2008).
- Good, R.J. Contact angle, wetting, and adhesion: a critical review. *Journal of Adhesion Science and Technology* 6, 1269-1302 (1992).
- Gruene, M., Unger, C., Koch, L., Deiwick, A. & Chichkov, B. Dispensing pico to nanolitre of a natural hydrogel by laser-assisted bioprinting. *Biomedical engineering online* 10, 19 (2011).
- Hancox, N. & Brunton, J. The erosion of solids by the repeated impact of liquid drops. *Philosophical Transactions for the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences* 260, 121-139 (1966).
- Liu, B. & Lange, F.F. Pressure induced transition between superhydrophobic states: configuration diagrams and effect of surface feature size. *Journal of colloid and interface science* 298, 899-909 (2006).
- Maglic, K.D. & Pavicic, D.Z. Thermal and Electrical Properties of Titanium between 300 and 1900 K. *International journal of thermophysics* 22, 1833-1841 (2001).

- Mézel, C. et al. Self-consistent modeling of jet formation process in the nanosecond laser pulse regime. *Physics of Plasmas* 16, 123112 (2009).
- Pearson, A., Cox, E., Blake, J.R. & Otto, S.R. Bubble interactions near a free surface. *Engineering Analysis with Boundary Elements* 28, 295-313 (2004).
- Prosperetti, A. A generalization of the Rayleigh–Plesset equation of bubble dynamics. *Phys. Fluids* 25, 409 (1982).
- Toivakka, M. Numerical investigation of droplet impact spreading in spray coating of paper. *Proc. TAPPI 8th ACFS* (2003).
- Tsougeni, K. et al. Plasma nanotextured PMMA surfaces for protein arrays: increased protein binding and enhanced detection sensitivity. *Langmuir* 26, 13883-91 (2010).
- Vlachopoulou, M.-E. et al. Effect of surface nanostructuring of PDMS on wetting properties, hydrophobic recovery and protein adsorption. *Microelectronic Engineering* 86, 1321-1324 (2009).
- Xiu-Mei, L., Jie, H., Jian, L. & Xiao-Wu, N. Growth and collapse of laser-induced bubbles in glycerol–water mixtures. *Chinese Physics B* 17, 2574-2579 (2008).

Κεφάλαιο 5: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων

Στο Κεφάλαιο 5 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ανάπτυξης χημικών αισθητήρων με χρήση της τεχνικής LIFT για την εναπόθεση πολυμερικών διαλυμάτων. Αρχικά, βελτιστοποιήθηκαν οι συνθήκες εναπόθεσης των πολυμερικών διαλυμάτων σε επίπεδα υποστρώματα αποδέκτες. Η υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα της τεχνικής επέτρεψε την επιλεκτική κάλυψη των μεμβρανών των μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας με το πολυμερικό στρώμα, γεγονός που μεγιστοποίησε την απόκρισή τους. Αξιοποιώντας το σημαντικό αυτό αποτέλεσμα, οι αισθητήρες δίμορφων σχηματισμών πυριτίου-πολυμερούς που αναπτύχθηκαν αξιοποιήθηκαν για την ανίχνευση υγρασίας και αιθανόλης.

5.1 Περιγραφή του μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητας

Για την υλοποίηση των χημικών αισθητήρων μέσω της τεχνικής LIFT, χρησιμοποιήθηκε μία συστοιχία αισθητήρων χωρητικότητας (capacitive sensor array), οι οποίοι αναπτύχθηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» [Τσούτη 2009, Tsouti et al. 2008]. Η συστοιχία αυτή αποτελείται από 256 αισθητήρια στοιχεία (υπέρλεπτες μεμβράνες πυριτίου), τα οποία επιτρέπουν την εναπόθεση πολλαπλών ευαίσθητων πολυμερικών υλικών με χρήση της τεχνικής LIFT [Εικόνα 41].

Το κάθε στοιχείο της συστοιχίας είναι ένας πυκνωτής, ο οποίος αποτελείται από μία πολύ λεπτή εύκαμπτη μεμβράνη πυριτίου (πρώτος οπλισμός πυκνωτή) και ένα σταθερό ηλεκτρόδιο υποστρώματος (δεύτερος οπλισμός πυκνωτή). Η αγωγιμότητα στο εύκαμπτο ηλεκτρόδιο επιτυγχάνεται με εμφύτευση βορίου ενώ το σταθερό ηλεκτρόδιο έχει δημιουργηθεί από διάχυση φωσφόρου στο υπόστρωμα. Η απόσταση των πλακών του πυκνωτή καθορίζεται από το πάχος του οξειδίου του πυριτίου το οποίο υποστηρίζει την μεμβράνη περιφερειακά [Εικόνα 43]. Κάθε πυκνωτής μπορεί να προσπελαστεί ανεξάρτητα συνδυάζοντας τις αντίστοιχες οριζόντιες και κάθετες επαφές.

Αυτός ο τύπος αισθητήρα έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν ως αισθητήρας πίεσης [Chatzandroulis et al. 1997, Chatzandroulis et al. 2000]. Η εφαρμογή εξωτερικής πίεσης στην επιφάνεια της εύκαμπτης μεμβράνης οδηγεί στην μεταβολή της απόστασης μεταξύ των δύο οπλισμών. Ως εκ τούτου, η χωρητικότητα του πυκνωτή μεταβάλλεται προσφέροντας ένα ηλεκτρικό σήμα για την ανίχνευση της εφαρμοζόμενης πίεσης. Η αναλυτική σχέση για τον υπολογισμό της κάμψης μια πακτωμένης μεμβράνης ως αποτέλεσμα της εξωτερικής πίεσης δίδεται από την **Εξίσωση 24** [Timoshenko et al. 1964]:

$$\text{Εξίσωση 24: } w(r) = \frac{P}{64D} (\alpha^2 - r^2)^2, \quad \text{όπου } D = \frac{Et^3}{12(1-\nu^2)}$$

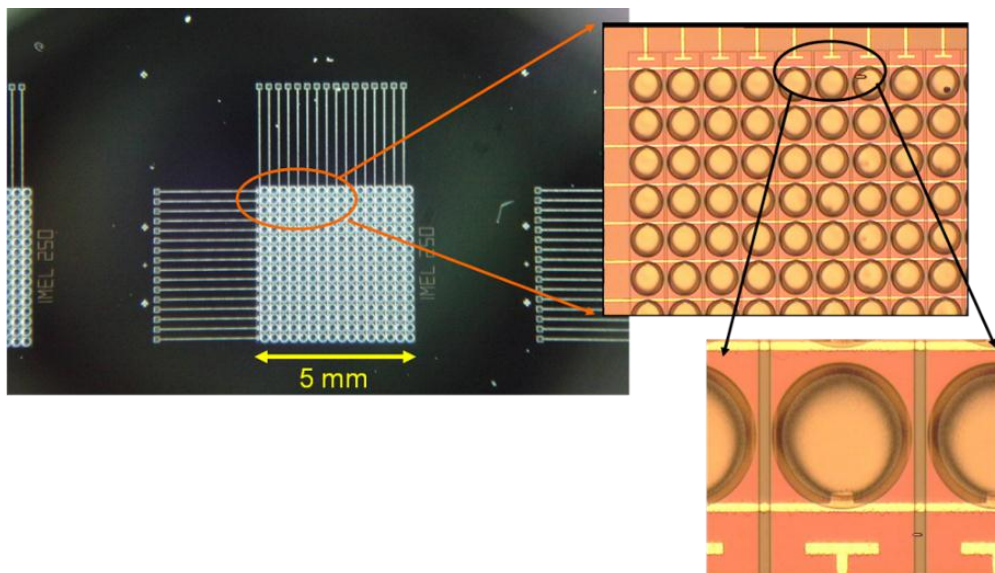
Όπου P η εφαρμοζόμενη πίεση, α η ακτίνα της μεμβράνης, r η ακτινική απόσταση από το κέντρο της μεμβράνης, D το μέτρο συμπίεσης, E το μέτρο ελαστικότητας, ν ο λόγος Poisson και t το πάχος της μεμβράνης. Μια σημαντική παρατήρηση που προκύπτει από την **Εξίσωση 24** είναι ότι η κάμψη της μεμβράνης είναι αντίστροφος ανάλογη με την τρίτη

δύναμη του πάχους της. Η αντίστοιχη εξάρτηση της χωρητικότητας μπορεί υπολογιστεί με χρήση της **Εξίσωση 25**:

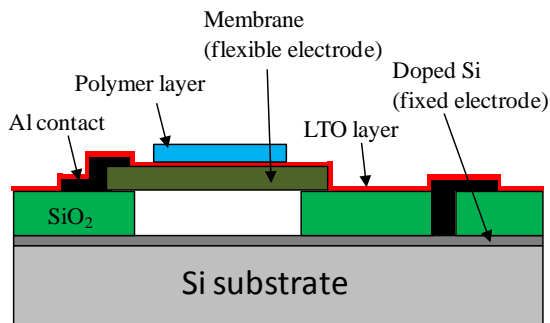
$$\text{Εξίσωση 25: } C = \varepsilon_0 \int_0^{\alpha} \int_0^{2\pi} \frac{r}{d_0 - w(r)} dr d\theta$$

Όπου ε_0 η ηλεκτρική διαπερατότητα του κενού και d_0 η αρχική απόσταση των οπλισμών.

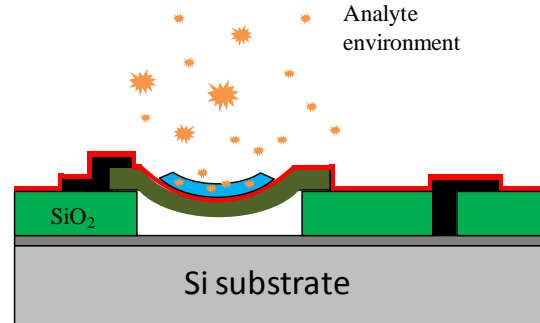
Η υλοποίηση του χημικού αισθητήρα γίνεται με την επικάλυψη της υπέρλεπτης μεμβράνης με ένα ευαίσθητο πολυμερικό στρώμα [Chatzandroulis et al. 2004, Tsouti et al. 2010]. Το ευαίσθητο πολυμερικό στρώμα επιλέγεται ώστε να προσροφά τα μόρια του αναλυτή. Η προσρόφηση των μορίων του αναλύτη από το πολυμερικό στρώμα οδηγεί στη διόγκωσή του και την επακόλουθη εφαρμογή επιφανειακών τάσεων στην εύκαμπτη μεμβράνη-οπλισμό. Ως αποτέλεσμα, η μεμβράνη κάμπτεται και η χωρητικότητα του πυκνωτή αλλάζει προσφέροντας ένα ηλεκτρικό σήμα για την ανίχνευση του αναλύτη [Εικόνα 43]. Σε αντίθεση με την κατακόρυφη στο επίπεδο της μεμβράνης τάση (αισθητήρες πίεσης), η τάση από την διόγκωση του πολυμερούς είναι παράλληλη στο επίπεδο της μεμβράνης και μπορεί να έχει εφελκυστικό ή θλιπτικό χαρακτήρα. Ως εκ τούτου, η **Εξίσωση 25** δεν μπορεί χρησιμοποιηθεί για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς του αισθητήρα. Η προσομοίωση της συμπεριφοράς του αισθητήρα καθίσταται δυνατή με την χρήση εξειδικευμένων υπολογιστικών πακέτων πεπερασμένων στοιχείων [Tsouti et. al. 2011, Τσούτη 2009].



Εικόνα 41: Φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου από την συστοιχία μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας που κατασκευάστηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ».



Εικόνα 42: Σχηματική αναπαράσταση της κάθετης διατομής ενός μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητας.



Εικόνα 43: Σχηματική αναπαράσταση της κάθετης διατομής ενός μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητας κατά την προσρόφηση των μορίων του αναλύτη από το ευαίσθητο πολυμερικό στρώμα.

5.2 Πειραματική διάταξη μέτρησης

Οι μετρήσεις χαρακτηρισμού των μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας που αναπτύχθηκαν με την τεχνική LIFT πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» από την Δρ. Β. Τσούτη.

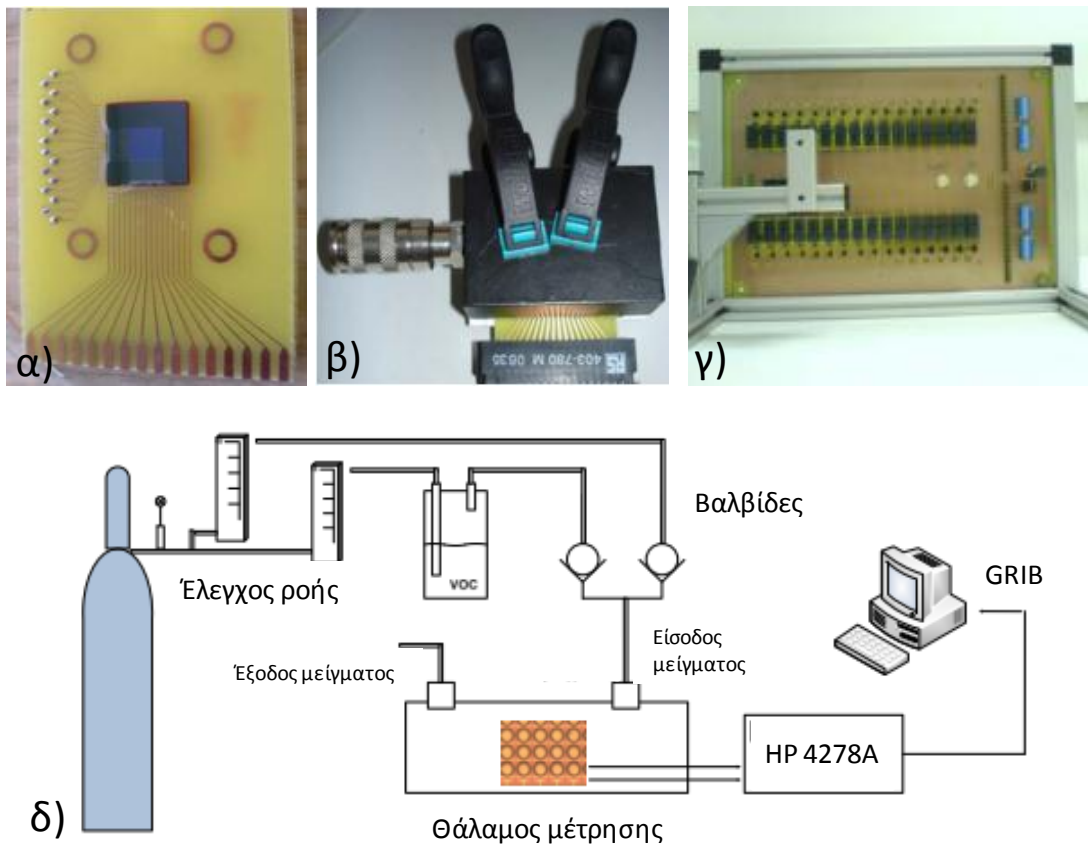
Πριν την μέτρηση κάθε αισθητήρας που προετοιμαζόταν με την τεχνική LIFT προσαρμοζόταν σε μια κατάλληλη πλακέτα τυπωμένου κυκλώματος (Printed Circuit Board, PCB) με χρήση ρητίνης [Εικόνα 44α]. Οι ηλεκτρικές συνδέσεις μεταξύ των επαφών αλουμινίου του αισθητήρα και των επαφών χαλκού του PCB πραγματοποιήθηκαν μέσω λεπτών συρμάτων αλουμινίου (wire bonding). Στη συνέχεια το κομμάτι του PCB με τον προσκολλημένο αισθητήρα προσαρμοζόταν ερμητικά σε ένα θάλαμο μέτρησης με όγκο περίπου 7cm^3 [Εικόνα 44β]. Η πλακέτα συνδεόταν με ένα όργανο μέτρησης χωρητικότητας (HP 4278A) και παρείχε δυνατότητα ταυτόχρονης καταγραφής σήματος πολλαπλών αισθητήρων μέσω ενός αυτοματοποιημένου συστήματος ηλεκτρονόμενων (relay) [Εικόνα 44γ].

Η μονάδα διανομής των αερίων [Εικόνα 44δ] αποτελείται από φιάλες, μέσα στις οποίες περιέχονται οι αναλύτες (bubbler), δύο ροόμετρα, με τα οποία ρυθμίζεται η συγκέντρωση των ατμών των αναλυτών και του ξηρού αζώτου, και ένα μεταλλικό θάλαμο στον οποίο αναμιγνύεται το μίγμα του αζώτου και της πτητικής ένωσης. Αρχικά, το ξηρό άζωτο χωρίζεται σε δύο μέρη με τη βοήθεια των ροόμετρων. Το ένα μέρος από αυτά περνά από τις φιάλες όπου με βάση τις επιλογές από το πρόγραμμα του υπολογιστή δημιουργεί φυσαλίδες στον επιλεγμένο αναλύτη. Οι δύο ροές στη συνέχεια ενώνονται ξανά δίνοντας την επιθυμητή συγκέντρωση του αναλύτη, η οποία τελικά περνά από το θάλαμο όπου βρίσκεται ο αισθητήρας.

5.3 Βελτιστοποίηση συνθηκών εναπόθεσης πολυμερών

Στη παρούσα ενότητα παρουσιάζεται η βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης τριών διαφορετικών πολυμερικών διαλυμάτων μέσω της τεχνικής LIFT. Η βελτιστοποίηση των συνθηκών ήταν απαραίτητη ώστε να επιτευχθεί υψηλή χωρική διακριτική ικανότητα στις εναποτιθέμενες δομές. Παράλληλα, καθορίστηκε η εξάρτηση της διαμέτρου των εναποτιθέμενων δομών από την πυκνότητα ενέργειας. Τα τρία διαφορετικά πολυμερικά διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν είχαν την παρακάτω σύσταση : α) 2% w/w poly (2-

hydroxyethyl methacrylate) PHEMA σε διαλύτη ethyl-lactate β) 10% w/w polyacrylic acid (PAA) σε διαλύτη 3:1 H₂O: γλυκερόλη γ) 10% w/w poly (4-vinylpyridine) σε διαλύτη 3:1 H₂O: γλυκερόλη (P4VP).

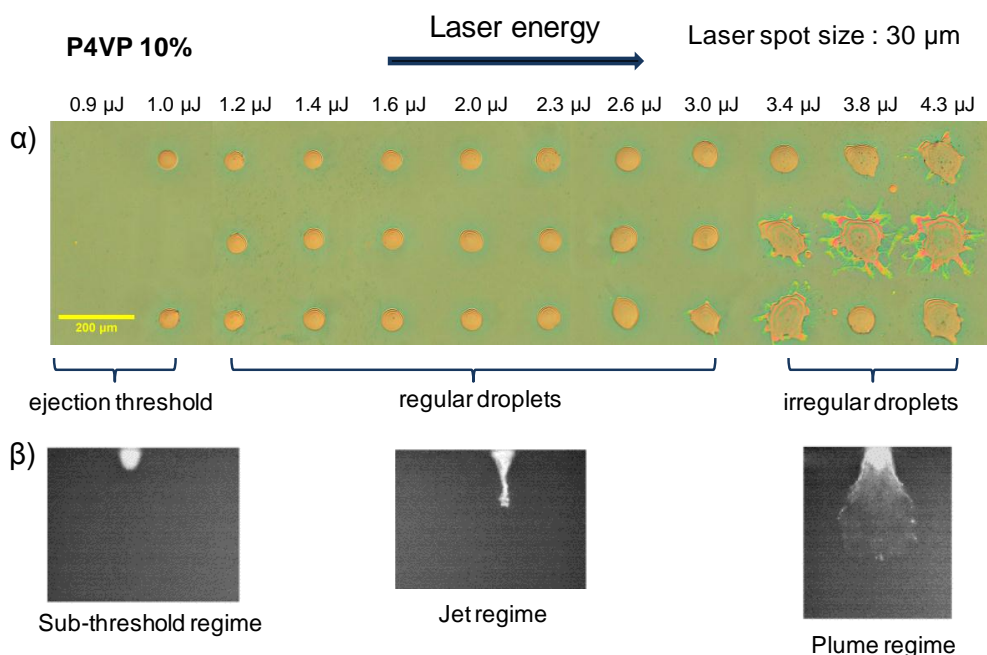


Εικόνα 44: Φωτογραφίες και σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης μέτρησης των αισθητήρων [Τσούτη 2009] α) Η συστοιχία μικρομηχανικών αισθητήρων προσαρμοσμένη σε PCB β) Ο θάλαμος μέτρησης προσαρμοσμένος ερμητικά στο PCB γ) Η ειδική πλακέτα ταυτόχρονης καταγραφής σήματος πολλαπλών αισθητήρων μέσω ενός αυτοματοποιημένου συστήματος ηλεκτρονόμων (relay) δ) Σχηματική αναπαράσταση της διάταξης μέτρησης .

Για την διερεύνηση της επίδρασης της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ στην μορφολογία των εναποτιθέμενων σταγόνων έγιναν εναποθέσεις στο μήκος κύματος $\lambda = 266$. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την τεχνική drop casting [Ενότητα 3.2], η οποία οδήγησε στον σχηματισμό ενός ομοιόμορφου φιλμ πολυμερικού υλικού πάχους 10 μm στην επιφάνεια ενός δισκίου χαλαζία, επικαλυμμένου με 40 nm τιτανίου. Για τις εναποθέσεις έγινε χρήση της πειραματικής διάταξης LIFT υγρής φάσης που αναλύθηκε στην Ενότητα 3.1. Ως υπόστρωμα δέκτες χρησιμοποιήθηκαν επιφάνειες διοξειδίου του πυριτίου.

Από τα τρία διαφορετικά διαλύματα επιλέχθηκε το P4VP 10 % για την μελέτη της επίδρασης της πυκνότητας ενέργειας στην μορφολογία των εναποτιθέμενων δομών. Η μελέτη έγινε για διάμετρο δέσμης ίση με 30 μm . Στην **Εικόνα 45α** εμφανίζονται τα αποτελέσματα της εναπόθεσης μιας συστοιχίας από σταγόνες P4VP 10 % οι οποίες εναποτέθηκαν με αυξανόμενη πυκνότητα ενέργειας από 1.0 μJ έως και 4.3 μJ . Είναι εμφανές πως μπορούν να διακριθούν τρεις διαφορετικές περιοχές εναπόθεσης, όπως και στην περίπτωση του πρότυπου διαλύματος γλυκερόλης [Ενότητα 4.2]. Η ενέργεια του 1.0

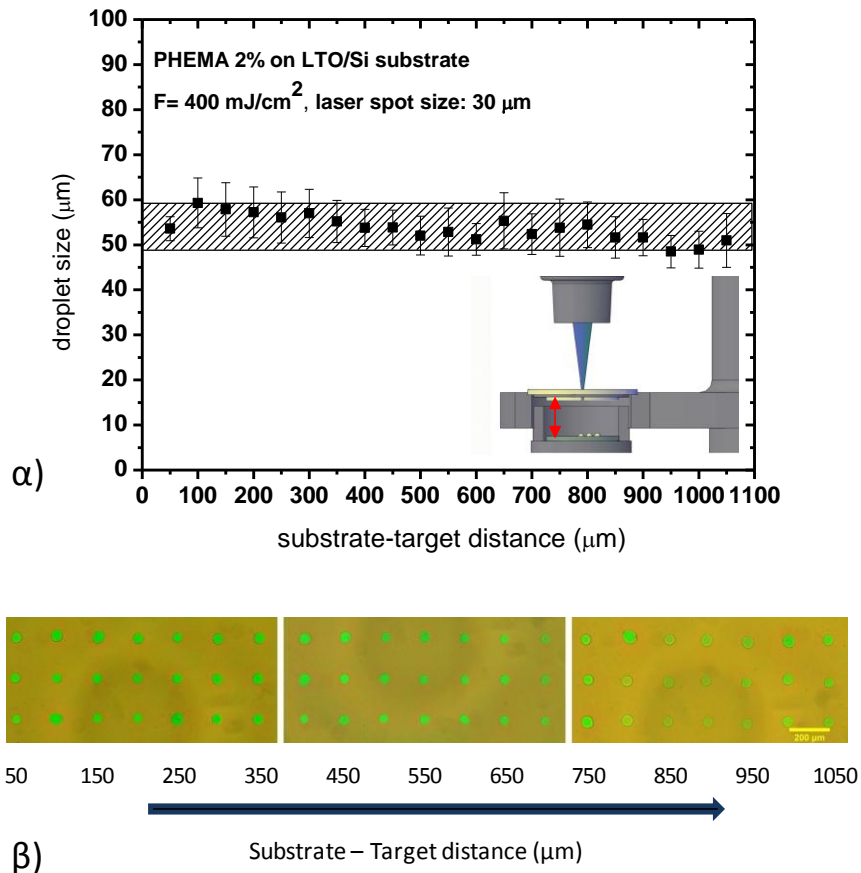
μJ είναι το όριο για την εκτόξευση του υλικού και την εναπόθεση του με μορφή jet στο υπόστρωμα αποδέκτη. Για ενδιάμεσες πυκνότητες ενέργειας, από 1.2 μJ έως και 3 μJ, οι εναποτιθέμενες σταγόνες εμφανίζουν ομοιόμορφο κυκλικό σχήμα και μεγάλη επαναληψιμότητα. Τέλος, για ενέργειες πάνω από 3.4 μJ, οι σταγόνες εμφανίζουν ανομοιομορφία στο σχήμα και χαρακτηριστικά περιφερειακά σταγονίδια. Οι τρεις αυτές περιοχές μπορούν να συσχετιστούν με τον μηχανισμό εναπόθεσης του LIFT υγρής φάσης (Ενότητα 1.2.5), αλλά και τα πειράματα χρονοεξαρτώμενης απεικόνισης της διαδικασίας εναπόθεσης [Duocastella et al. 2009, Young et al. 2002]. Στην **Εικόνα 45β** εμφανίζονται οι σχετικές φωτογραφίες που απεικονίζουν τους τρεις διαφορετικούς μηχανισμούς εκτόξευσης του υγρού [Young et al. 2002].



Εικόνα 45: α) Φωτογραφία οπτικής μικροσκοπίας μια συστοιχίας σταγόνων P4VP που εναποτέθηκαν με αυξανόμενη ενέργεια Λέιζερ. β) Συσχέτιση των περιοχών εναπόθεσης με αποτελέσματα χρονοεξαρτώμενης απεικόνισης της εκτόξευσης του υγρού [Young et al. 2002].

Μία δεύτερη παράμετρος που ελέγχθηκε είναι η επίδραση της απόστασης του υποστρώματος δότη – αποδέκτη στην μορφολογία και τις διαστάσεις των εναποτιθέμενων δομών. Για την μελέτη αυτή επιλέχθηκε το πολυμερικό διάλυμα PHEMA 2% και η πυκνότητα ενέργειας των 400 mJ/cm², η οποία οδηγεί στην εκτόξευση του υλικού μέσω του μηχανισμού jet. Η απόσταση υποστρώματος – δότη αποδέκτη (κόκκινο βέλος στην **Εικόνα 46α**) μεταβλήθηκε από 50 μm έως και 1050 μm με βήμα 50 μm. Τα αποτελέσματα της μελέτης εμφανίζονται στην **Εικόνα 46α** και την **Εικόνα 46β**. Είναι εμφανές πως δεν υπάρχει επίδραση ούτε στην μορφολογία ούτε στο μέγεθος των εναποτιθέμενων δομών. Το αποτέλεσμα αυτό είναι αναμενόμενο, για εναπόθεση κάτω από βέλτιστες συνθήκες (jet). Έχει δειχθεί πως στην περιοχή αυτή, το jet είναι ισχυρά κατευθυντικό και σταθερό για απόσταση ως και μερικά mm από το υπόστρωμα δότη [Duocastella et al. 2009]. Η μικρή διακύμανση που εμφανίζεται στο μέγεθος των σταγόνων είναι μέσα στα όρια του σφάλματος. Επιπρόσθετα, η διακύμανση εμφανίζεται να είναι περιοδική και είναι πιθανό

να αναπαράγει την ανομοιομορφία στο πάχος του υγρού φιλμ στα 2 mm x 2 mm που ορίζει η συστοιχία εναπόθεσης.

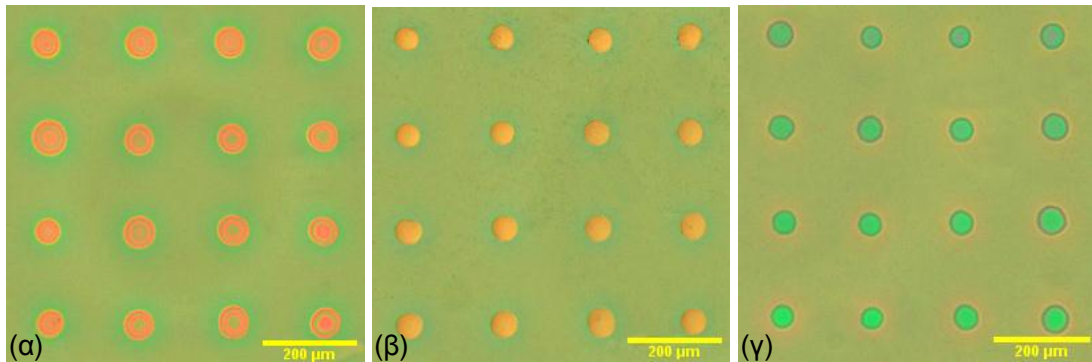


Εικόνα 46: Η εξάρτηση του μεγέθους και της μορφολογίας των εναποτιθέμενων σταγόνων του πολυμερούς PHEMA 2 % από την απόσταση του υποστρώματος δότη αποδέκτη (κόκκινο βέλος) α) Διάγραμμα της διαμέτρου της σταγόνας για μεταβολή της απόστασης από 50 μm έως και 1050 μm β) Οι αντίστοιχες φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου.

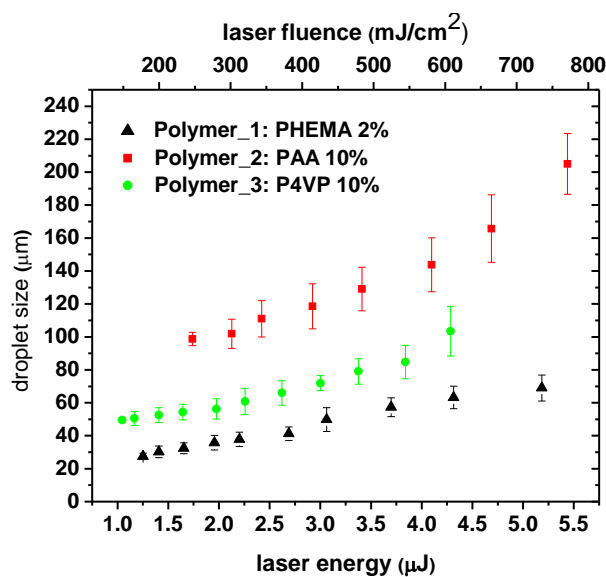
Οι διαστάσεις των μεμβρανών των αισθητήρων χωρητικότητας κυμαίνονταν από 150 μm έως και 250 μm . Η εξασφάλιση της ομοιομορφής κάλυψής τους με πολυμερικό στρώμα αποτέλεσε βασική παράμετρο για την μεγιστοποίηση της απόκρισης τους. Ως εκ τούτου, ο καθορισμός των βέλτιστων συνθηκών εναπόθεσης πραγματοποιήθηκε και για τα τρία πολυμερικά διαλύματα. Στην **Εικόνα 47** εμφανίζονται εικόνες οπτικού μικροσκοπίου από συστοιχίες σταγόνων των τριών διαφορετικών πολυμερικών διαλυμάτων (PAA 10 %, P4VP 10 % και PHEMA 2 %) που έχουν εναποτεθεί με βελτιστοποιημένες συνθήκες πυκνότητας ενέργειας Λέιζερ. Οι σταγόνες εμφανίζουν κυκλικό ομοιόμορφο σχήμα και επαναληψιμότητα στο μέγεθος. Παράλληλα, εμφανίζουν ακριβή στοίχιση στις θέσεις που ορίζει το μοτίβο της συστοιχίας, το οποίο αποτελείται από δεκαέξι θέσεις με μεταξύ τους απόσταση ίση με 200 μm .

Στην **Εικόνα 48** εμφανίζονται συγκεντρωτικά τα αποτελέσματα εναπόθεσης και για τα τρία πολυμερικά διαλύματα. Με την χρήση πυκνοτήτων ενέργειας του Λέιζερ από 150 mJ/cm^2 έως και 775 mJ/cm^2 επιτυγχάνεται ένα μεγάλο εύρος διαστάσεων των εναποτιθέμενων σταγόνων. Για την περίπτωση του PHEMA 2% η διάμετρος κυμαίνεται από 27 μm έως και 70 μm , για το PAA 10% από 98 μm έως και 205 μm και για την περίπτωση

του P4VP 10% από 50 μm έως και 103 μm . Είναι κοινή παρατήρηση και για τα τρία διαλύματα, πως το μέγεθος της σταγόνας εμφανίζει μια σταθερή αύξηση με την αύξηση της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ. Επιπρόσθετα, η εξάρτηση αυτή από την πυκνότητα ενέργειας τείνει να είναι γραμμική, γεγονός που διευκόλυνε τις ελεγχόμενες επικαλύψεις των αισθητήρων με πολυμερικά στρώματα.



Εικόνα 47: Φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου από συστοιχίες σταγόνων πολυμερικού διαλύματος α) PAA 10 % - 240 mJ/cm^2 β) P4VP 10% - 230 mJ/cm^2 γ) PHEMA 2 % - 340 mJ/cm^2 .



Εικόνα 48: Η εξάρτηση της διαμέτρου των εναποτιθέμενων με LIFT σταγόνων πολυμερικών διαλυμάτων (PHEMA 2 %, PAA 10 %, P4VP 10 %) από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ.

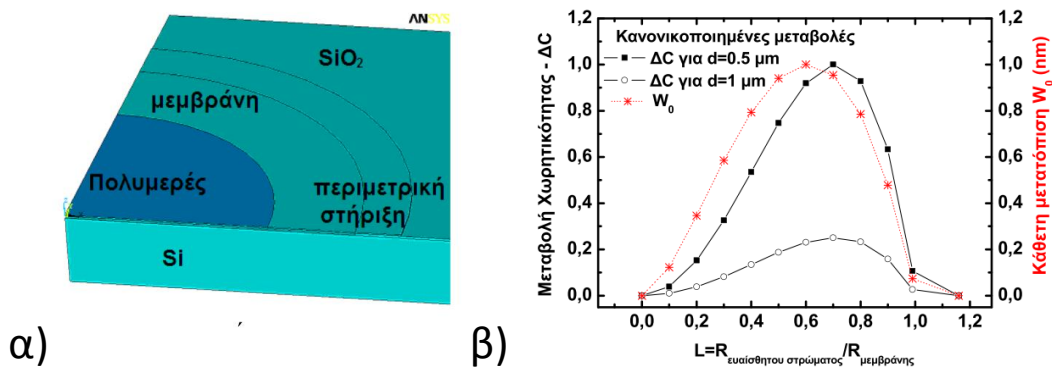
5.4 Βελτιστοποίηση της απόκρισης του αισθητήρα μέσω επιλεκτικής κάλυψης των μεμβρανών με πολυμερή

Στην ενότητα αυτή παρουσιάζονται τα αποτελέσματα υλοποίησης του αισθητήρα χωρητικότητας δίμορφου σχηματισμού μεμβράνης – πολυμερούς με την τεχνική LIFT. Οι αισθητήρες χωρητικότητας κατασκευάστηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής (IMEL) του ΕΚΕΦΕ Δημόκριτος. Η εναπόθεση του πολυμερικού στρώματος έγινε με την διάταξη LIFT υγρής φάσης [Ενότητα 3.1] στο ΕΜΠ, ενώ ο χαρακτηρισμός πραγματοποιήθηκε από την Δρ. Β. Τσούτη στο IMEL.

Στην εργασία των Tsouti et al. [Tsouti et al. 2007], είχε δειχθεί μέσω προσομοίωσης, πως η απόκριση των εν λόγω αισθητήρων μεγιστοποιείται όταν γίνεται μερική κάλυψη της μεμβράνης του αισθητήρα με το πολυμερικό στρώμα. Έτσι χρησιμοποιήθηκε το μέγεθος L ως ο παράγοντας που υποδηλώνει το ποσοστό κάλυψης της μεμβράνης από το πολυμερικό στρώμα :

$$\text{Εξίσωση 26: } L(\%) = \frac{R_{polymer}}{R_{membrane}} \times 100\%$$

Όπου $R_{polymer}$ η ακτίνα του πολυμερικού στρώματος και όπου $R_{membrane}$ η ακτίνα της μεμβράνης. Στην **Εικόνα 49α** απεικονίζεται σχηματικά το μοντέλο προσομοίωσης, ενώ η εξάρτηση της απόκρισης από τον συντελεστή L παρουσιάζεται στην **Εικόνα 49β**. Προσδιορίστηκε πως ένα ποσοστό κάλυψης ίσο με 70 % μεγιστοποιεί την απόκριση του αισθητήρα.

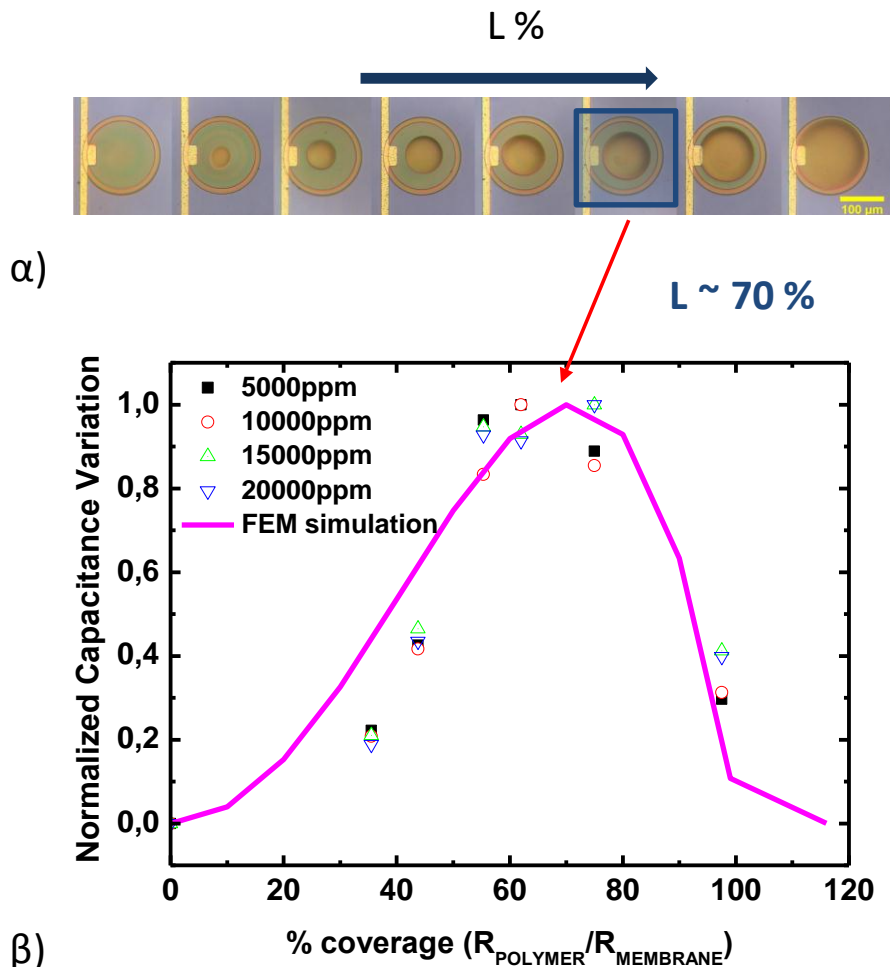


Εικόνα 49: α) Σχηματική αναπαράσταση του μοντέλου προσομοίωσης στο ANSYS. β) Η κανονικοποιημένη απόκριση του αισθητήρα σαν συνάρτηση του συντελεστή κάλυψης L [Τσούτη 2009].

Η εξαιρετικά μεγάλη ευελιξία και διακριτική ικανότητα της τεχνικής LIFT επέτρεψε την υλοποίηση αισθητήρων με διαφορετικά ποσοστά κάλυψης και την πειραματική επαλήθευση των παραπάνω θεωρητικών αποτελεσμάτων. Για την μελέτη αυτή επιλέχθηκε το πολυμερικό διάλυμα P4VP 10% και αισθητήρες με διάμετρο μεμβράνης 200 μm και πάχος μεμβράνης 1.5 μm . Οι αισθητήρες με αυτά τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά παρουσίαζαν ομοιόμορφες και καλά σχηματισμένες μεμβράνες και κατά συνέπεια επαναληψιμότητα στις μετρήσεις. Στην **Εικόνα 50α** φαίνονται εικόνες οπτικής μικροσκοπίας από αισθητήρες, οι οποίοι έχουν επικαλυφθεί με πολυμερικά στρώματα με αυξανόμενο ποσοστό κάλυψης. Η τεχνική LIFT οδηγεί σε ακριβή, έλεγχο των διαστάσεων των πολυμερικών στρωμάτων αλλά και σε ακριβή ευθυγράμμιση τους με το κέντρο των μεμβρανών.

Ο χαρακτηρισμός των αισθητήρων χωρητικότητας δίμορφου σχηματισμού πραγματοποιήθηκε για την ανίχνευση υγρασίας σε συγκεντρώσεις 5000 ppm, 10000 ppm, 15000 ppm και 20000 ppm. Η κανονικοποιημένη απόκριση του αισθητήρα για τα διάφορα ποσοστά κάλυψης L , καθώς και τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων εμφανίζεται στην **Εικόνα 50β**. Παρατηρείται μια πολύ καλή σύγκλιση μεταξύ των πειραματικών και των θεωρητικών αποτελεσμάτων, η οποία υποδεικνύει πως ένα ποσοστό κάλυψης της τάξης

του 70% μεγιστοποιεί την απόδοση του αισθητήρα. Το σημαντικό αυτό αποτέλεσμα αξιοποιήθηκε για την περαιτέρω ανάπτυξη χημικών αισθητήρων με την εναπόθεση διαφορετικών πολυμερικών στρωμάτων σε μεμβράνες διαφόρων γεωμετρικών χαρακτηριστικών.

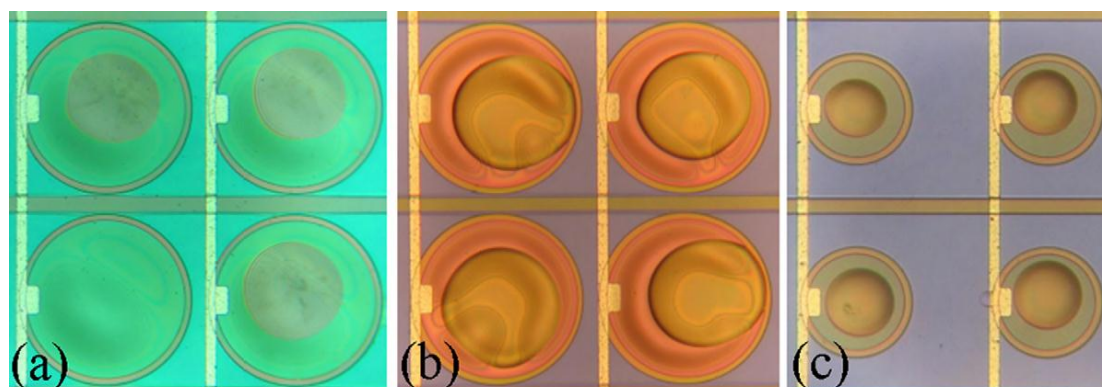


Εικόνα 50: α) Εικόνες οπτικού μικροσκοπίου από μεμβράνες των αισθητήρων χωρητικότητας επικαλυμμένων με το πολυμερές P4VP αυξάνοντας τον συντελεστή επικάλυψης L. β) Η κανονικοποιημένη απόκριση του αισθητήρα σαν συνάρτηση του ποσοστού κάλυψης (πειραματικά δεδομένα και αποτελέσματα προσομοίωσης)

5.5 Αποτελέσματα ανίχνευσης πτητικών ουσιών

Στην παρούσα ενότητα παρουσιάζονται τα αποτελέσματα ανίχνευσης υγρασίας και ατμών αιθανόλης με χρήση των αισθητήρων χωρητικότητας δίμορφων σχηματισμών μεμβράνης – πολυμερούς. Η εναπόθεση του πολυμερικού στρώματος πραγματοποιήθηκε αξιοποιώντας τα αποτελέσματα της προηγούμενης ενότητας για την μεγιστοποίηση της απόκρισης. Χρησιμοποιήθηκαν έξι διαφορετικά πολυμερικά διαλύματα: α) PMMA σε διαλύτη THF β) PAA σε διαλύτη H₂O, γ) P4VP σε διαλύτη H₂O δ) PVP σε διαλύτη H₂O ε) PVC-co-PVA σε διαλύτη ethyl lactate και στ) PHS σε διαλύτη THF. Η εναπόθεση έγινε σε δύο διαφορετικούς τύπους μεμβρανών. Αρχικά, αναπτύχθηκαν αισθητήρες με χρήση μεμβρανών που αποτελούνταν από πυριτίο (πάχους 0.5 μm) επικαλυμμένου με ένα στρώμα οξειδίου του πυριτίου πάχους 0.5 μm. Οι μεμβράνες αυτές είχαν διάμετρο 150

μm, 200 μm και 250 μm. Ο δεύτερος τύπος αισθητήρων περιλαμβάνει μεμβράνες πυριτίου (πάχους 0.5 μm) επικαλυμμένου με ένα στρώμα οξειδίου του πυριτίου πάχους 0.2 μm. Οι μεμβράνες αυτές είχαν διάμετρο 200 μm.

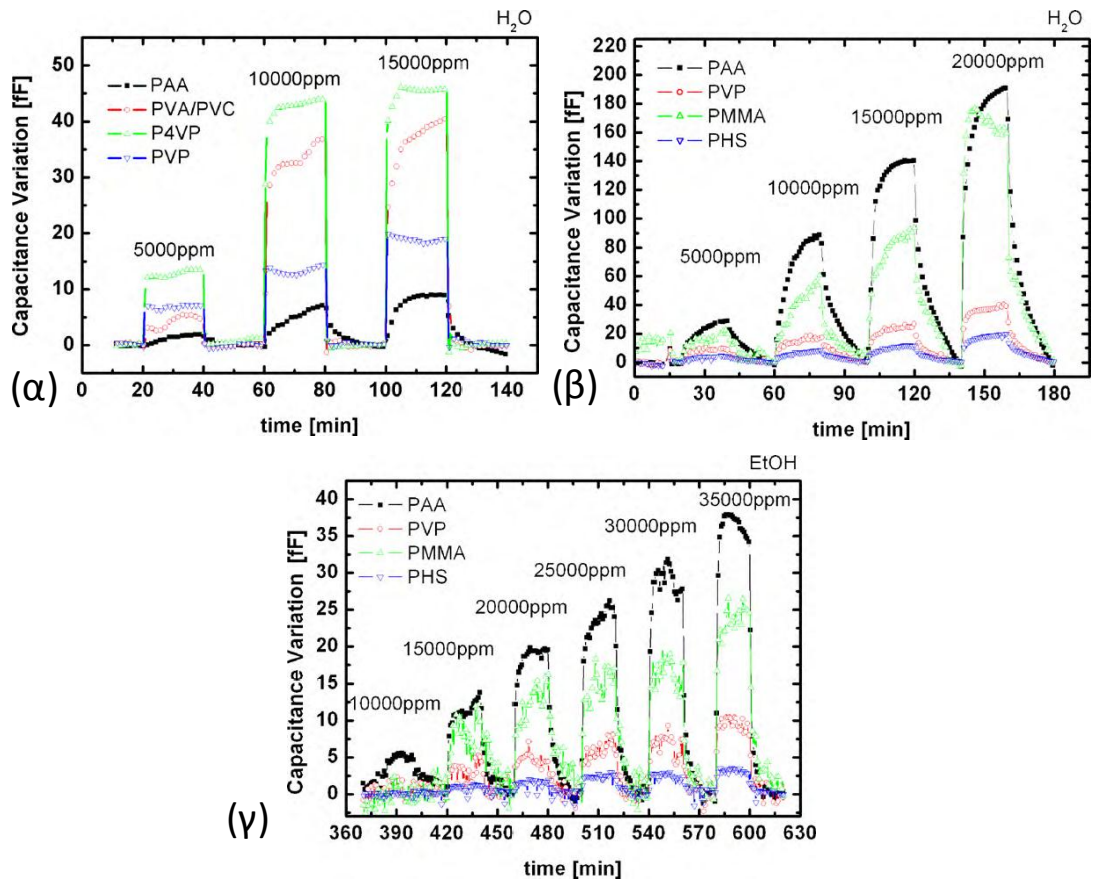


Εικόνα 51: α) Συστοιχία μεμβρανών (πάχους 1.5 μm, διαμέτρου 250 μm) μερικώς επικαλυμμένων με το πολυμερές PHEMA β) Συστοιχία μεμβρανών (πάχους 0.5 μm, διαμέτρου 250 μm) μερικώς επικαλυμμένων με το πολυμερές PVA γ) Συστοιχία μεμβρανών (πάχους 1.5 μm, διαμέτρου 150 μm) μερικώς επικαλυμμένων με το πολυμερές PVP.

Ένα τυπικό παράδειγμα εναποθέσεων πολυμερικών στρωμάτων με μερική επικάλυψη της μεμβράνης του αισθητήρα φαίνεται στην [Εικόνα 51]. Συστοιχίες από μεμβράνες έχουν επικαλυφθεί μερικώς με τα πολυμερή PHEMA, PVA και PVP. Είναι εμφανές από τις Εικόνα 51α και γ πως οι μεμβράνες πάχους 1.5 μm έχουν ομοιόμορφο και επαναλήψιμο σχήμα. Στην περίπτωση των λεπτότερων μεμβρανών που το πάχος τους είναι 0.5 μm [Εικόνα 51β], οι μεμβράνες εμφανίζουν μια ανομοιόμορφη κάμψη.

Στην Εικόνα 52α εμφανίζεται η απόκριση σε υγρασία μια συστοιχίας αισθητήρων χωρητικότητας (πάχος μεμβράνης 0.5 μm, διάμετρος 250, πάχος SiO₂ 0.5 μm) επικαλυμμένων με τέσσερα διαφορετικά πολυμερικά στρώματα. Η μέγιστη απόκριση είναι της τάξης των 45 fF και επιτυγχάνεται για το πολυμερικό στρώμα P4VP για 15000 ppm. Στην Εικόνα 52β εμφανίζεται η απόκριση σε υγρασία μιας συστοιχίας αισθητήρων χωρητικότητας (πάχος μεμβράνης 0.5 μm, διάμετρος 250, πάχος SiO₂ 0.2 μm) επικαλυμμένων με τέσσερα διαφορετικά πολυμερικά στρώματα. Η απόκριση του συγκεκριμένου αισθητήρα εμφανίζεται εμφανώς βελτιωμένη σε σχέση με τον προηγούμενο εξαιτίας του μικρότερου πάχους της μεμβράνης. Μέγιστη απόκριση επιτυγχάνεται για το πολυμερές PAA και είναι της τάξης των 200 fF για 20000 ppm. Συγκρίνοντας τις δύο συστοιχίες αισθητήρων για την απόκριση σε PAA αντιλαμβανόμαστε την σημασία του πάχους των μεμβρανών στην ευαισθησία. Στην πρώτη περίπτωση (συνολικό πάχος μεμβράνης 1 μm), η απόκριση είναι 0.7 aF/ppm ενώ στην δεύτερη περίπτωση (συνολικό πάχος μεμβράνης 0.7 μm) είναι 10 aF/ppm. Η διαφορά αυτή μπορεί να εξηγηθεί αν αναλογιστούμε πως η κάμψη της μεμβράνης είναι αντιστρόφως ανάλογη της τρίτης δύναμης του πάχους της [Εξίσωση 24].

Για την περίπτωση της ανίχνευσης αιθανόλης τα αποτελέσματα εμφανίζονται στην Εικόνα 52γ. Έγινε χρήση μια συστοιχίας αισθητήρων χωρητικότητας (πάχος μεμβράνης 0.5 μm, διάμετρος 250, πάχος SiO₂ 0.2 μm) επικαλυμμένων με τέσσερα διαφορετικά πολυμερικά στρώματα. Μεμβράνες επικαλυμμένες με PAA εμφανίζεται να έχουν την μεγαλύτερη απόκριση, η οποία είναι της τάξης των 40 fF για 35000 ppm.



Εικόνα 52: α) Απόκριση του αισθητήρα χωρητικότητας σε υγρασία. Πάχος μεμβράνης 0.5 μm , διάμετρος 250 μm , πάχος SiO_2 0.5 μm . β) Απόκριση του αισθητήρα χωρητικότητας σε υγρασία. Πάχος μεμβράνης 0.5 μm , διάμετρος 200 μm , πάχος SiO_2 0.2 μm . γ) Απόκριση του αισθητήρα χωρητικότητας σε αιθανόλη. Πάχος μεμβράνης 0.5 μm , διάμετρος 200 μm , πάχος SiO_2 0.2 μm .

Αναφορές

Chatzandroulis, S., Goustouridis, D., Normand, P. & Tsoukalas, D. A solid-state pressure-sensing microsystem for biomedical applications. *Sensors and Actuators A: Physical* 62, 551–555 (1997).

Chatzandroulis, S., Tegou, E., Goustouridis, D., Polymenakos, S. & Tsoukalas, D. Fabrication of chemical sensors based on Si/polymer bimorphs. *Microelectronic Engineering* 73-74, 847-851 (2004).

Chatzandroulis, S., Tsoukalas, D. & Neukomm, P.A. A miniature pressure system with a capacitive sensor and a passive telemetry link for use in implantable applications. *Journal of Microelectromechanical Systems* 9, 18-23 (2000).

Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Morenza, J.L. & Serra, P. Time-resolved imaging of the laser forward transfer of liquids. *Journal of Applied Physics* 106, 084907 (2009).

Timoshenko, S., Woinowsky-Kreiger, S. *Theory of Plates and Shells*. (McGraw-Hill Higher Education: New York, 1964).

Tsouti, V. & Chatzandroulis, S. Sensitivity study of surface stress biosensors based on ultrathin Si membranes. *Microelectronic Engineering* (2011). doi:10.1016/j.mee.2011.04.061

Tsouti, V. et al. A chemical sensor microarray realized by laser printing of polymers. *Sensors and Actuators B: Chemical* 150, 148-153 (2010).

Tsouti, V., Chatzandroulis, S., Goustouridis, D., Normand, P. & Tsoukalas, D. Design and fabrication of a Si micromechanical capacitive array for DNA sensing. *Microelectronic Engineering* 85, 1359-1361 (2008).

Tsouti, V., Chatzandroulis, S., Goustouridis, D., Normand, P. & Tsoukalas, 33rd International Conference on Micro- and Nano- Engineering, Copenhagen, (2007).

Τσούτη, Β. Κατασκευή σειράς νανοδοκών πυριτίου για αποτελεσματική ανίχνευση χημικών ενώσεων. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (2009).

Young, D., Auyeung, R., Pique, a, Chrisey, D. & Dlott, D. Plume and jetting regimes in a laser based forward transfer process as observed by time-resolved optical microscopy. *Applied Surface Science* 197-198, 181-187 (2002).

Κεφάλαιο 6: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων επιφανειακής τάσης

Στο Κεφάλαιο 6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάπτυξης βιολογικών αισθητήρων επιφανειακής τάσης με την χρήση της τεχνικής LIFT. Ο μικρομηχανικός βιοαισθητήρας χωρητικότητας που αναπτύχθηκε αξιοποιήθηκε για την ανίχνευση μιας αντίδρασης αλληλουχιών DNA, που σχετίζονται με την ασθένεια της μεσογειακής αναιμίας. Το πρωτόκολλο ακινητοποίησης και αλληλεπίδρασης των βιολογικών υλικών εφαρμόστηκε αρχικά με χρήση της συμβατικής τεχνικής εναπόθεσης πιπέττας. Στην συνέχεια, η τεχνική LIFT χρησιμοποιήθηκε για την επιλεκτική μεταφορά του βιολογικού υλικού στις μεμβράνες του αισθητήρα.

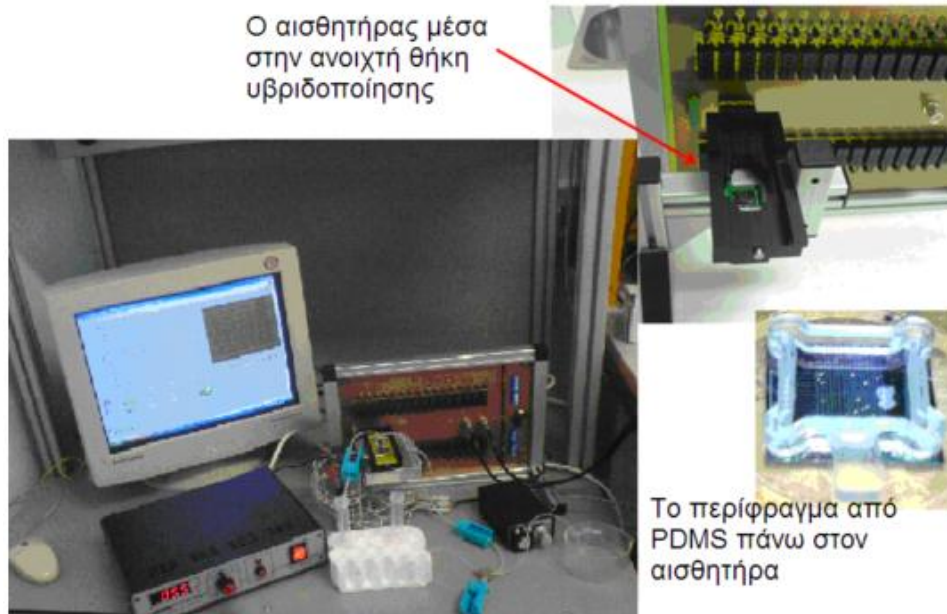
6.1 Περιγραφή του αισθητήρα και της πειραματική διάταξης μέτρησης

Για την υλοποίηση των βιολογικών αισθητήρων χρησιμοποιήθηκε μία συστοιχία αισθητήρων χωρητικότητας (capacitive sensor array), οι οποίοι αναπτύχθηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» [Τσούτη 2009]. Η συστοιχία αυτή αποτελείται από 256 αισθητήρια στοιχεία (υπέρλεπτες μεμβράνες πυριτίου) τα οποία επιτρέπουν την επιλεκτική εναπόθεση πολλαπλών βιολογικών υλικών με χρήση της τεχνικής LIFT. Ο αισθητήρας αυτός είναι ο ίδιος με αυτόν που χρησιμοποιήθηκε στο Κεφάλαιο 5 για την ανίχνευση χημικών ουσιών και η αναλυτική παρουσίασή του στην Ενότητα 5.1.

Οι μετρήσεις χαρακτηρισμού των βιολογικών αισθητήρων που αναπτύχθηκαν με την τεχνική εναπόθεσης με πιπέττα αλλά και LIFT πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» σε συνεργασία με την Δρ. Β. Τσούτη. Η διάταξη της μέτρησης είναι παρόμοια με αυτή που περιγράφεται στην Ενότητα 5.2 για τον χαρακτηρισμό των χημικών αισθητήρων. Διαφοροποιείται μόνο το κελί μέτρησης. Για τον χαρακτηρισμό των βιολογικών αισθητήρων χρησιμοποιήθηκε ένας ειδικά σχεδιασμένος θάλαμος υβριδοποίησης, ο οποίος επιτρέπει την ελεγχόμενη ροή υγρών κατά την μέτρηση [Εικόνα 53]. Η ειδικά σχεδιασμένη θήκη κλείνει με καπάκι στο οποίο υπάρχει περίφραγμα από πολυμερές (PDMS) που περιορίζει τα υγρά βιολογικά διαλύματα πάνω από την επιφάνεια των μεμβρανών του αισθητήρα. Στο καπάκι αυτό υπάρχουν δύο οπές στις οποίες συνδέονται τα σωληνάκια σιλικόνης για την είσοδο και την έξοδο των διαλυμάτων στο θάλαμο υβριδοποίησης. Η θερμοκρασία, που είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την πραγματοποίηση μιας βιολογικής αλληλεπίδρασης, ελέγχεται από θερμαινόμενη πλάκα πάνω στην οποία στηρίζεται η θήκη υβριδοποίησης με τον αισθητήρα. Για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων υβριδοποίησης DNA η θερμοκρασία ρυθμίστηκε στους 55 °C.

Τα ολιγονουκλεοτίδια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανίχνευσης υβριδοποίησης αλληλουχιών DNA, σχετίζονται με γνωστές μεταλλάξεις χαρακτηριστικές της ασθένειας της μεσογειακής αναιμίας (β-thalassaemia). Συγκεκριμένα, μελετήθηκε η μετάλλαξη του κωδικονίου 19 (CD19), το οποίο σε φυσιολογικά άτομα αποτελείται από τις βάσεις AAC, ενώ στα πάσχοντα άτομα μεταλλάσσεται σε AGC. Σε κάθε συστοιχία αισθητήρων ακινητοποιούνταν τόσο τα ολιγονουκλεοτίδια που αντιστοιχούν σε

φυσιολογικά (CD19N) όσο και ολιγονουκλεοτίδια που αντιστοιχούν σε πάσχοντα άτομα (CD19M) με σκοπό να παρατηρηθεί η διαφοροποίηση του σήματος μεταξύ συμπληρωματικών και μη συμπληρωματικών αλληλουχιών κατά την αλληλεπίδραση με τα ολιγονουκλεοτίδια στόχους.



Εικόνα 53: Φωτογραφίες της πειραματικής διάταξης μέτρησης, του θαλάμου υβριδοποίησης και των εξαρτημάτων που χρησιμοποιούνται για την προσαρμογή του αισθητήρα [Τσούτη 2009].

6.2 Πρωτόκολλο ακινητοποίησης των ολιγονουκλεοτιδίων

Τα ολιγονουκλεοτίδια που χρησιμοποιήθηκαν και το πρωτόκολλο ακινητοποίησής τους πάνω στις επιφάνειες των αισθητήρων παραχωρήθηκαν από το εργαστήριο του Δρ. Καφετζόπουλου στο Ινστιτούτο Μοριακής Βιολογίας και Βιοτεχνολογίας του ΙΤΕ. Το πρωτόκολλο ακινητοποίησης έχει επιλεγεί βάσει της σχετικής εργασίας της Π. Ανδρεάκου [Ανδρεάκου 2007].

Επίστρωση αμινοσιλανίου

Ανάδευση του δείγματος σε διάλυμα 1% (3-Aminopropyl)tris(trimethylsiloxy)silane (APTMS) και 95% αιθανόλη για 19 ώρες. Στη συνέχεια το δείγμα ξεπλένεται δύο φορές με 95% αιθανόλη και δύο φορές με διπλά απεσταγμένο νερό. Ακολουθεί στέγνωμα με αέρα και ψήσιμο στους 80 °C για δύο ώρες. Σε όλη τη διάρκεια της διαδικασίας χρησιμοποιούνται πλαστικά σκεύη. Η διαδικασία ενεργοποίησης του αμινοσιλανίου με PDITC πραγματοποιείται ως εξής: τα δείγματα αναδεύονται όλη νύχτα σε διάλυμα 0,2% w/v PDITC, 10% πυριδίνη και 90% DMF, ξεπλένονται δύο φορές με DMF και μία φορά με αιθανόλη και τέλος στεγνώνονται με αέρα.

Ακινητοποίηση ολιγονουκλεοτιδίων

Τα ολιγονουκλεοτίδια είναι διαμορφωμένα έτσι ώστε στο ένα άκρο τους να διαθέτουν μία ενεργή αμινομάδα, η οποία αλληλεπιδρά με την N=C=S ομάδα του υποστρώματος. Για την εκτύπωση των ολιγονουκλεοτιδίων χρησιμοποιείται ως ρυθμιστικό διάλυμα εκτύπωσης το 3xSSC, 5% DMSO, 0,01% Maltoside. Μετά την εκτύπωση των ολιγονουκλεοτιδίων στην επιθυμητή επιφάνεια, οι αισθητήρες τοποθετούνται μέσα σε θάλαμο υγρασίας για 16 περίπου ώρες και στη συνέχεια ψήνονται στους 80°C για 20 λεπτά. Στη συνέχεια εκτίθενται σε υπεριώδη ακτινοβολία ενέργειας 0.6 J για την ενίσχυση της πρόσδεσης.

Αδρανοποίηση ενεργών ομάδων υποστρώματος

Για την ελαχιστοποίηση του μη επιλεκτικού δεσίματος του αντιδραστηρίου (PCR product) με τις ενεργές ομάδες του υποστρώματος (N=C=S) στις περιοχές όπου δεν έχουν ακινητοποιηθεί ολιγονουκλεοτίδια, τοποθετείται στην επιφάνεια του δείγματος διάλυμα 1% BSA (albumin bovine serum) 5x SSC, 0,1% SDS για 1.5 ώρα σε θερμοκρασία 42°C. Τέλος, το δείγμα, ξεπλένεται πέντε φορές με νερό. Συνολικά οι πλύσεις διαρκούν περίπου μία ώρα.

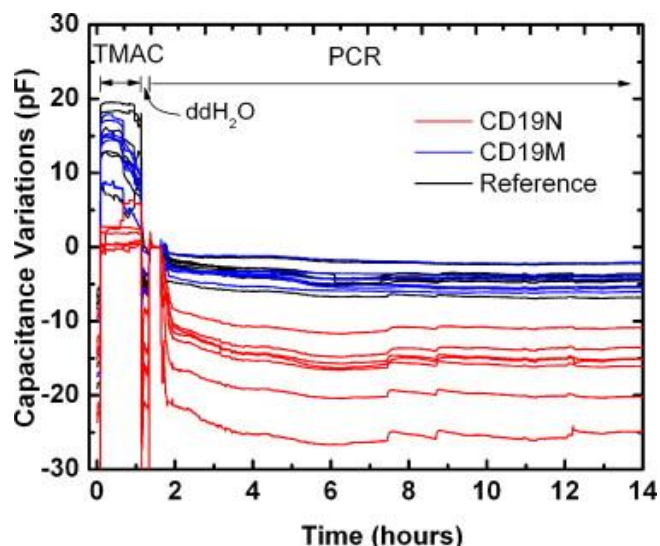
6.3 Αποτελέσματα ανίχνευσης με χρήση της συμβατικής τεχνικής εναπόθεσης με πιπέττα

Σε κάθε συστοιχία αισθητήρων στην οποία πραγματοποιούνται μετρήσεις, κάποιες μεμβράνες έχουν ακινητοποιημένα ολιγονουκλεοτίδια τύπου CD19 Normal (CD19N), άλλες έχουν ολιγονουκλεοτίδια τύπου CD19 Mutated (CD19M), ενώ υπάρχουν και μεμβράνες αναφοράς στις οποίες δεν ακινητοποιήθηκαν βιομόρια. Η ποσότητα των δύο διαφορετικών τύπων ολιγονουκλεοτιδίων που τοποθετούνταν στην επιφάνεια των αισθητήρων με χρήση της πιπέττας ήταν 2 μL με συγκέντρωση 100 μM. Τα στάδια που ακολουθούνται κατά την μέτρηση είναι τα ακόλουθα:

- Αρχικά περνά μέσα στο θάλαμο υβριδοποίησης 1xTMAC (3M TMAC: 0,1% Sarcosil 50mM Tris HCl) για μερικά λεπτά.
- Το δείγμα ξεπλένεται με ddH₂O για το επόμενο 1 λεπτό και πριν περάσει το προϊόν PCR.
- Μέχρι να ολοκληρωθούν οι προηγούμενες διαδικασίες το προϊόν PCR έχει τοποθετηθεί στους 95°C για 5 λεπτά και αμέσως μετά σε πάγο για 1 λεπτό. Το βήμα αυτό εξυπηρετεί το “ξεδίπλωμα” της διπλής έλικας του DNA.
- Στη συνέχεια το προϊόν PCR περνά μέσα στο θάλαμο υβριδοποίησης και παραμένει πάνω από την επιφάνεια της συστοιχίας για μερικές ώρες. Συνήθως η αντίδραση έχει ολοκληρωθεί σε λιγότερο από 2-4 ώρες ωστόσο κάποια πειράματα διήρκεσαν και 16 ώρες.
- Διατηρώντας τη θερμοκρασία στους 55°C, το δείγμα ξεπλένεται με 1xTMAC για 5 λεπτά.
- Τέλος η συστοιχία των αισθητήρων ξεπλένεται σε 0.1xSSC για 30 δευτερόλεπτα σε θερμοκρασία δωματίου.

Σε ένα τυπικό πείραμα ανίχνευσης, η αρχική χωρητικότητα των μετρούμενων αισθητήρων λαμβάνει μια αρχική σταθερή τιμή. Στην συνέχεια, κατά το βήμα του ξεπλύματος με νερό, η τιμή της χωρητικότητας μειώνεται για να λάβει ξανά μια νέα σταθερή τιμή, έως ότου το

PCR προστεθεί στον θάλαμο υβριδοποίησης. Η τιμή της χωρητικότητας αυξάνεται ξανά με την προσθήκη του PCR φθάνοντας σε μία νέα σταθερή τιμή, η οποία θεωρείται και η τιμή υποβάθρου “baseline” για τον υπολογισμό των μεταβολών χωρητικότητας κατά την ολοκλήρωση της υβριδοποίησης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί πως έως και αυτό το σημείο της μέτρησης, κάθε μεταβολή στην χωρητικότητα αναπαριστά τις διαφορετικές παρασιτικές χωρητικότητες που εισάγουν τα διαλύματα στο σύστημα μέτρησης και δεν είναι αποτέλεσμα κάποιας βιολογικής αλληλεπίδρασης.

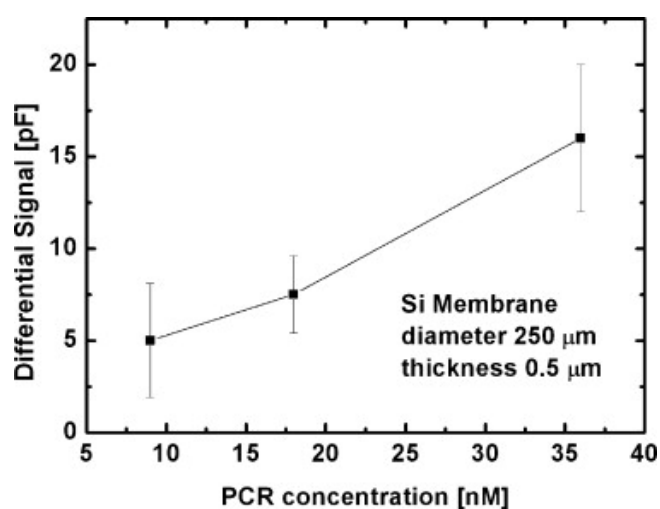


Εικόνα 54: Μια τυπική μέτρηση υβριδοποίησης DNA με τον βιοαισθητήρα χωρητικότητας. Οι αισθητήρες με ακινητοποιημένο CD19N ολιγονουκλεοτίδιο (πλήρως συμπληρωτικό του PCR) εμφανίζουν σημαντική μείωση στην χωρητικότητα σε σχέση με τους αισθητήρες αναφοράς και τους αισθητήρες στους οποίους έχει ακινητοποιηθεί το CD19M (μερικώς συμπληρωτικό του PCR) ολιγονουκλεοτίδιο.

Στην **Εικόνα 54** εμφανίζεται μια τυπική μέτρηση στην οποία διακρίνονται και οι διαφορετικές φάσεις εισαγωγής των διαλυμάτων. Ο αισθητήρας που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση αποτελούνταν από μεμβράνες πάχους 0.75 μm και διαμέτρου 250 μm . Η συγκέντρωση των ολιγονουκλεοτιδίων CD19N (πλήρως συμπληρωματικό στο PCR) και CD19M (μερικώς συμπληρωματικό στο PCR) ήταν 100 μM , ενώ αυτή του PCR 72 nM. Είναι εμφανές πως η εισαγωγή του PCR σταθεροποιεί αρχικά την τιμή όλων των αισθητήρων. Στην συνέχεια, οι μεμβράνες αναφοράς αλλά και οι μεμβράνες στις οποίες έχουν εναποτεθεί και οι δύο τύποι ολιγονουκλεοτιδίων εμφανίζουν μια σταθερή πτώση στην χωρητικότητα. Παρόλα αυτά, οι μεμβράνες στις οποίες έχει ακινητοποιηθεί το πλήρως συμπληρωματικό στο PCR, ολιγονουκλεοτίδιο CD19N, εμφανίζουν συστηματικά μεγαλύτερη πτώση. Η διακύμανση που εμφανίζεται στις τιμές της χωρητικότητας διαφορετικών μεμβρανών του ίδιου αισθητήρα οφείλεται στην συσσώρευση διαφορετικών αρχικών επιφανειακών τάσεων στην κάθε μεμβράνη εξαιτίας των κατασκευαστικών βημάτων. Η στατιστική και διαφορική ανάλυση στην απόκριση διαφορετικών μεμβρανών ίδιας κατηγορίας (αναφοράς, CD19N, CD19M) οδήγησε σε χρήσιμα αποτελέσματα για την λειτουργία του αισθητήρα. Η σχετική μεταβολή της χωρητικότητας για τις CD19N μεμβράνες είναι της τάξης των -13 pF, γεγονός που τις διακρίνει πλήρως από τις CD19M μεμβράνες.

Η μείωση της χωρητικότητας υποδεικνύει κάμψη της μεμβράνης προς τα επάνω, δηλαδή απομάκρυνση του εύκαμπτου ηλεκτροδίου-μεμβράνης από το σταθερό ηλεκτροδίου-υποστρώματος. Το γεγονός αυτό είναι ενδεικτικό της άσκησης συμπιεστικών επιφανειακών τάσεων κατά την υβριδοποίηση των ολιγονουκλεοτιδίων. Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με εργασίες ανίχνευσης υβριδοποίησης DNA με χρήση αισθητήρων επιφανειακής τάσης τύπου μικρο-προβόλου [Fritz et al. 2000, Zhang et al. 2006], καθώς και πολυμερικής μεμβράνης [Cha et al. 2008].

Για την βαθμονόμηση της απόκρισης του αισθητήρα πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές μετρήσεις με διαφορετικές συγκεντρώσεις PCR (9 nM, 18 nM και 36 nM). Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν σε αισθητήρες που σχηματίστηκαν με υπέρλεπτες μεμβράνες πάχους 0.5 μm . Τα αποτελέσματα εμφανίζονται στην **Εικόνα 55** όπου το σφάλμα στην μέτρηση έχει υπολογιστεί με βάση την τυπική απόκλιση των τιμών χωρητικότητας σε μια συστοιχία αισθητήρων.



Εικόνα 55: Καμπύλη βαθμονόμησης του βιοαισθητήρα. Η μέση μεταβολή της χωρητικότητας από αισθητήρες με ακινητοποιημένα ολιγονουκλεοτίδια CD19N εμφανίζεται σαν συνάρτηση της συγκέντρωσης του PCR.

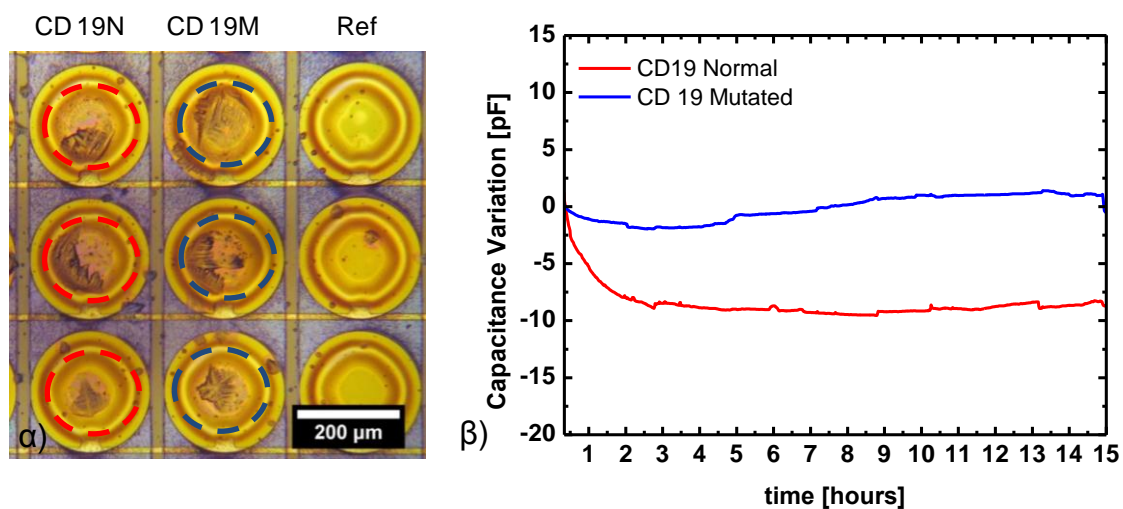
6.4 Αποτελέσματα ανίχνευσης με χρήση της τεχνικής μικρο-εναπόθεσης με LIFT

Η συστοιχία των αισθητήρων χωρητικότητας αποτελεί ένα εξαιρετικό εργαλείο για την ανίχνευση πολλαπλών βιολογικών δειγμάτων. Ο αισθητήρας προσφέρει 256 διαφορετικές θέσεις στις οποίες μπορούν να εναποτεθούν διαφορετικά βιολογικά δείγματα με στόχο την ταυτοποίηση ενός άγνωστου δείγματος στόχου. Σε αυτή την κατεύθυνση, η τεχνολογία LIFT υγρής φάσης προσφέρει ένα εξαιρετικό πλεονέκτημα, την δυνατότητα της ακριβούς τοποθέτησης των βιολογικών υλικών στις μεμβράνες του αισθητήρα.

Για την ανάπτυξη του βιοαισθητήρα με χρήση της τεχνικής LIFT, τα ολιγονουκλεοτίδια CD19N και CD19M εναποτέθηκαν στις μεμβράνες του αισθητήρα με χρήση της πειραματικής διάταξης LIFT υγρής φάσης που αναλύθηκε στην Ενότητα 3.1. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την τεχνική drop casting [Ενότητα 3.2], η οποία οδήγησε στον σχηματισμό ενός ομοιόμορφου φιλμ του διαλύματος των ολιγονουκλεοτιδίων στην επιφάνεια ενός δισκίου χαλαζία, επικαλυμμένου με 40 nm τιτανίου. Για την ακινητοποίηση

των ολιγονουκλεοτιδίων στην επιφάνεια του αισθητήρα χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο που περιγράφεται αναλυτικά στην προηγούμενη ενότητα. Όμοια, και για την πειραματική διαδικασία μέτρησης χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο που έχει ήδη περιγραφεί.

Στην **Εικόνα 56α** εμφανίζονται μεμβράνες στις οποίες έχουν εκτυπωθεί τα δύο διαφορετικά ολιγονουκλεοτίδια σε συγκέντρωση 100 μL με χρήση της τεχνικής LIFT. Οι φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου εμφανίζουν το “αποτύπωμα” των ολιγονουκλεοτιδίων και των αλάτων του διαλύματος εκτύπωσης στην επιφάνεια των μεμβρανών σε στερεά μορφή. Σημειώνεται πως οι σταγόνες του διαλύματος ολιγονουκλεοτιδίων που εκτυπώνονταν με την τεχνική LIFT “στέγνωσαν” σε μικρό χρονικό (μερικά sec) λόγω της εξάτμισης του υδατικού διαλύτη. Από τις φωτογραφίες είναι εμφανές πως κάθε σταγόνα περιορίζεται στα όρια της μεμβράνης που έχει αρχικά στοχευθεί για την εκτύπωση.



Εικόνα 56: α) Μεμβράνες του μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητα στις οποίες έχουν εναποτεθεί τα ολιγονουκλεοτίδια CD19N και CD19M με χρήση της τεχνικής LIFT. β) Μια τυπική μέτρηση υβριδοποίησης DNA. Οι αισθητήρες με ακινητοποιημένο CD19N ολιγονουκλεοτίδιο (πλήρως συμπληρωτικό του PCR) εμφανίζουν σημαντική μείωση στην χωρητικότητα σε σχέση με τους αισθητήρες στους οποίους έχει ακινητοποιηθεί το CD19M (μερικώς συμπληρωτικό του PCR) ολιγονουκλεοτίδιο.

Στην **Εικόνα 56b** εμφανίζεται μια τυπική μέτρηση υβριδοποίησης DNA σε αισθητήρες, που έχουν αναπτυχθεί με την τεχνική LIFT. Η συμπεριφορά του βιοαισθητήρα είναι όμοια με αυτή των αισθητήρων που προετοιμάστηκαν με την χρήση της πιπέτας. Οι αισθητήρες με τα ολιγονουκλεοτίδια CD19N εμφανίζουν μια πτώση στην χωρητικότητα της τάξης των 10 fF κατά την αλληλεπίδραση τους με το πλήρως συμπληρωματικό PCR συγκέντρωσης 36 nM. Το γεγονός αυτό τους διαχωρίζει από αισθητήρες, οι οποίοι είναι επικαλυμμένοι με το ολιγονουκλεοτίδιο CD19M, το οποίο είναι μερικώς συμπληρωματικό στο PCR.

Αναφορές

Ανδρεάκου, Π. Ανάπτυξη και ενεργοποίηση επιφάνειας βιοαισθητήρων πυριτίου. Μεταπτυχιακή Εργασία, , Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (2007).

Cha, M. et al. Biomolecular detection with a thin membrane transducer. *Lab on a Chip* 8, 932-7 (2008).

Fritz, J. et al. Translating biomolecular recognition into nanomechanics. *Science* 288, 316-8 (2000).

Τσούτη, Β. Κατασκευή σειράς νανοδοκών πυριτίου για αποτελεσματική ανίχνευση χημικών ενώσεων. Διδακτορική Διατριβή, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (2009).

Zhang, J. et al. Rapid and label-free nanomechanical detection of biomarker transcripts in human RNA. *Nature Nanotechnology* 1, 214-20 (2006).

Κεφάλαιο 7: Εφαρμογή της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη αμπερομετρικών φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων

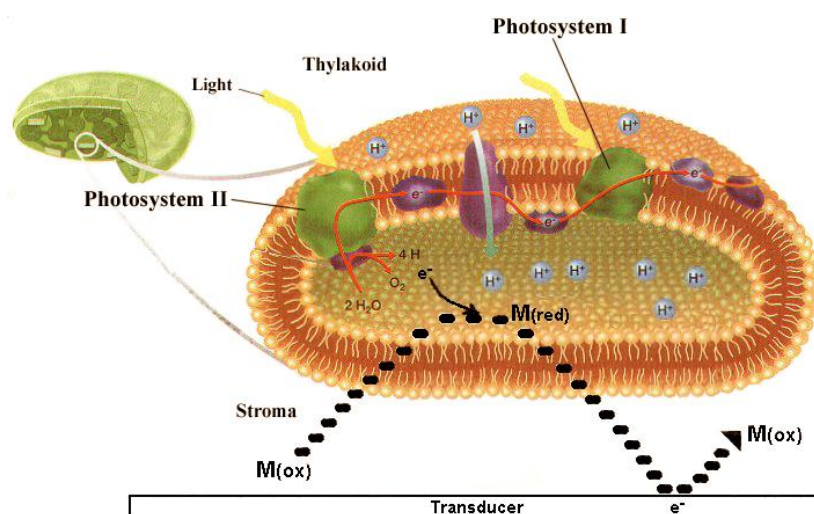
Στο Κεφάλαιο 7 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της ανάπτυξης φωτοσυνθετικών αισθητήρων με χρήση της τεχνικής LIFT. Αρχικά, περιγράφεται η αρχή λειτουργίας του αμπερομετρικού φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα που αναπτύχθηκε. Παρουσιάζεται επίσης η βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης του φωτοσυνθετικού υλικού και τα χαρακτηριστικά λειτουργίας του αισθητήρα. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο φαινόμενο της απευθείας ακινητοποίησης του φωτοσυνθετικού υλικού στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων ως αποτέλεσμα της χρήσης της τεχνικής LIFT. Το φαινόμενο προκύπτει αποκλειστικά από την χρήση της τεχνολογίας LIFT και επαληθεύεται πειραματικά με αμπερομετρικές μετρήσεις και μικροσκοπία SEM.

7.1 Αρχή λειτουργίας

Η αρχή λειτουργίας του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα που αναπτύχθηκε βασίζεται στην παραγωγή ηλεκτρονιακής ροής από φωτοσυνθετικό υλικό (θυλακοειδείς μεμβράνες), το οποίο εκτίθεται σε φώς. Παρουσία ενός τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη - μεταφορέα ηλεκτρονίων και ενός ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας σε κατάλληλο δυναμικό λειτουργίας, γίνεται καταγραφή ηλεκτρικού σήματος ανάλογου της φωτοσυνθετικής δράσης. Ο μεταφορέας είναι παρών στο διάλυμα μέτρησης στην οξειδωμένη του μορφή, στην δική μας περίπτωση είναι η DCPIP. Υπό συνθήκες φωτισμού οι ακινητοποιημένες θυλακοειδείς μεμβράνες ανάγουν τον τεχνητό αποδέκτη ηλεκτρονίων. Ο ανηγμένος μεταφορέας ηλεκτρονίων οξειδώνεται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας [Εικόνα 57]. Το παραγόμενο ρεύμα είναι ένα άμεσο μέτρο του ποσοστού της αντίδρασης μεταφοράς ηλεκτρονίων, απεικονίζοντας το ποσοστό της φωτοσυνθετικής δράσης. Παρουσία ζιζανιοκτόνου υπάρχει αναστολή της φωτοσύνθεσης και κατά συνέπεια της ηλεκτρονιακής ροής με αποτέλεσμα την μείωση του παραγόμενου ρεύματος. Η μείωση του ρεύματος καταγράφεται και μπορεί να συσχετιστεί με την συγκέντρωση του ζιζανιοκτόνου.

Μια τυπική μέτρηση ανίχνευσης ζιζανιοκτόνου ενός αμπερομετρικού φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα απεικονίζεται στην Εικόνα 58. Αρχικά, κάτω από συνθήκες ροής διαλύματος του τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη, ο φωτισμός με χρήση LED οδηγεί στην εμφάνιση μιας ισχυρής κορυφής στο ρεύμα καταγραφής ως αποτέλεσμα της φωτοσυνθετικής δράσης των θυλακοειδών μεμβρανών. Η προσθήκη ζιζανιοκτόνου στην ροή του διαλύματος του τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη αναστέλλει την φωτοσυνθετική δράση, η οποία καταγράφεται από μια δεύτερη μικρότερη σε ένταση αύξηση του ρεύματος κατά τον φωτισμό με LED. Το κύκλωμα που χρησιμοποιείται στην αμπερομετρία περιλαμβάνει τρία ηλεκτρόδια: ένα ηλεκτρόδιο εργασίας (working), όπου η επιθυμητή αντίδραση πραγματοποιείται, ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς (reference) και ένα βοηθητικό ηλεκτρόδιο καταγραφής (counter) [Εικόνα 59]. Μεταξύ του ηλεκτροδίου εργασίας και του ηλεκτροδίου αναφοράς εφαρμόζεται σταθερό δυναμικό με τη βοήθεια ποτενσιοστάτη. Το ρεύμα που παράγεται από την οξείδωση του τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη DCPIP διαρρέει το κύκλωμα μέσω του

βοηθητικού ηλεκτροδίου. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικοί τύποι ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας – χρυσού (Gold SPE), γραφίτη (G SPE) και νανοσωλήνων άνθρακα (CNT SPE) - της εταιρείας *DropSens*¹⁰ για την ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων.



Εικόνα 57: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα. Η μεταφορά ηλεκτρονίων προκύπτει από την διαδοχική αναγωγή και οξείδωση του τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη - μεταφορέα ηλεκτρονίων (M).

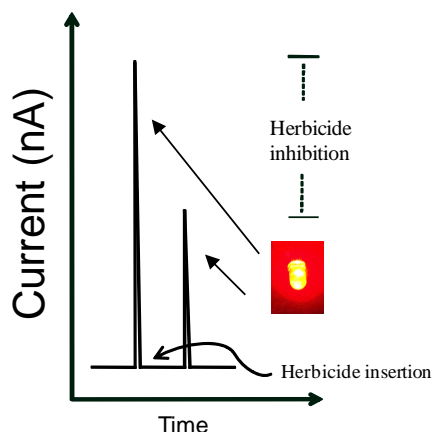
7.2 Πειραματική διάταξη μέτρησης

Η πειραματική διάταξη μέτρησης που χρησιμοποιήθηκε είναι το πρωτότυπο αμπερομετρικό σύστημα AMPBIO-SPE της εταιρείας *Biosensor srl*¹¹. Το σύστημα AMPBIO-SPE [Εικόνα 60α] είναι ένα φορητό σύστημα αμπερομετρίας το οποίο ολοκληρώνει τις τρεις βασικές λειτουργίες της μέτρησης: α) την δυνατότητα ελεγχόμενης ροής υγρών στο κελί μέτρησης [Εικόνα 60β] με χρήση περισταλτικής αντλίας, β) την δυνατότητα ελεγχόμενου φωτισμού του κελιού μέτρησης με χρήση δύο ισχυρών πηγών LED (φασματική κορυφή 652nm, ένταση 130 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) και γ) την δυνατότητα εφαρμογής δυναμικού σε τυποποιημένα ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας και καταγραφής ασθενών ρευμάτων.

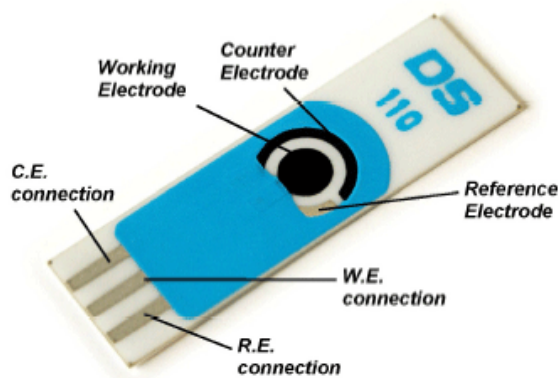
Η επιλογή των συνθηκών μέτρησης έγινε με βάση προηγούμενες εργασίες για την βελτιστοποίηση του συγκεκριμένου τύπου φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα [Τουλουπάκης 2005, Τουλουράκης et al. 2005]. Η σύσταση του υγρού μέτρησης (buffer) ήταν 30 μM DCPIP σε διάλυμα : 20mM τρισίνη pH=7.8, 70mM σακχαρόζη, 15mM NaCl, 5mM MgCl₂. Η ροή του υγρού μέτρησης επιλέχθηκε στα 350 $\mu\text{L}/\text{min}$ και η προσθήκη των ζιζανιοκτόνων στο διάλυμα μέτρησης γινόταν σε επιλεγμένες συγκεντρώσεις χωρίς να διακόπτεται η ροή. Οι φωτεινοί κύκλοι πραγματοποιούνταν σε τακτά χρονικά διαστήματα (2.5 min – 5 min) και διαρκούσαν λίγα δευτερόλεπτα (4 sec - 10 sec). Ως ποτενσιοστάτης προτιμήθηκε το εξειδικευμένο όργανο PG580 της εταιρείας *Uniscan Instruments*, το οποίο συνδεόταν με κάθε ηλεκτρόδιο, που τοποθετούνταν στο κελί της μέτρησης. Ο εσωτερικός ποτενσιοστάτης του οργάνου AMPBIO-SPE παρακάμφθηκε με σκοπό την επίτευξη χαμηλότερων επιπέδων θορύβου και καλλίτερης ακρίβειας.

¹⁰ <http://www.dropsens.com/en/home.html>

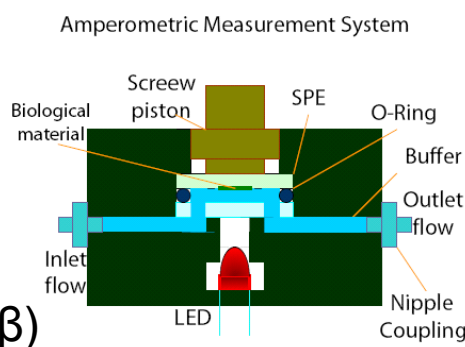
¹¹ <http://www.biosensor.it/>



Εικόνα 58: Τυπική μέτρηση ανίχνευσης ζιζανιοκτόνου με χρήση αμπερομετρικού φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα.



Εικόνα 59: Ένα ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας της εταιρείας *DropSens*¹⁰. Τα ηλεκτρόδια εργασίας και καταγραφής αποτελούνται από γραφίτη, ενώ το ηλεκτρόδιο αναφοράς από ασήμι. Το υπόστρωμα είναι κεραμικό και το τμήμα των ηλεκτροδίων που εξέχει από το κελί μέτρησης καλύπτεται με μονωτικό πλαστικό υλικό.



Εικόνα 60: α) Φωτογραφία του συστήματος AMPBIO-SPE β) Σχηματική αναπαράσταση του κελιού μέτρησης.

7.3 Απευθείας ακινητοποίηση φωτοσυνθετικών πρωτεϊνών με χρήση Λέιζερ

Ένα από τα βασικά προβλήματα στην ανάπτυξη των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων είναι η διατήρηση των φωτοσυνθετικών ιδιοτήτων των απομονωμένων υλικών κατά την ακινητοποίησή τους στα ηλεκτρόδια εργασίας. Η εξασφάλιση της ηλεκτρονιακής ροής, η πρόσβαση του αναλύτη στο φωτοσυνθετικό υλικό αλλά και η σταθερή σύνδεσή του με το ηλεκτρόδιο – υπόστρωμα αποτελούν προϋπόθεση για την ανάπτυξη σταθερών και ευαίσθητων βιοαισθητήρων. Ως εκ τούτου, μια μεγάλη ποικιλία από τεχνικές ακινητοποίησης έχουν διερευνηθεί για την βελτιστοποίηση των επιδόσεων των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων [Barthelmebs et al. 2011, Buonasera et al. 2010]. Οι τεχνικές ακινητοποίησης που έχουν αναπτυχθεί διαχωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τις φυσικές μεθόδους και τις χημικές μεθόδους.

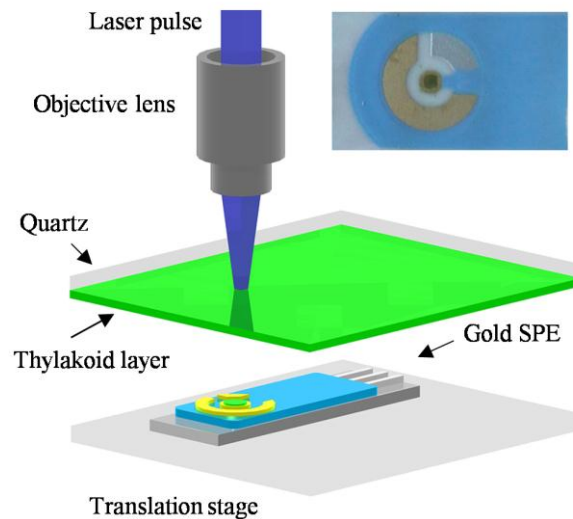
Οι φυσικές μέθοδοι περιλαμβάνουν την φυσική προσρόφηση σε ειδικά σχεδιασμένες επιφάνειες αλλά και τον εγκλεισμό του φωτοσυνθετικού υλικού σε μια φυσική ή τεχνητή γέλη [Rouillon et al. 2006]. Η ακινητοποίηση με χρήση polyvinyl alcohol τροποποιημένου με methyl pyridinium methyl sulfate (PVA/SbQ) είναι μια από τις πιο διαδεδομένες φυσικές μεθόδους ακινητοποίησης θυλακοειδών μεμβρανών [Rouillon et al. 1995, Laberge et al. 2005]. Η παγίδευση του φωτοσυνθετικού υλικού προκύπτει από τον φωτοπολυμερισμό της PVA/SbQ. Η διαμοριακή σύνδεση (cross-linking) της πρωτεΐνης BSA με την γλουταραλδεΐδη αποτελεί την κυρίαρχη χημική μέθοδο ακινητοποίησης θυλακοειδών μεμβρανών [Rouillon et al. 2006]. Η γλουταραλδεΐδη συνδέεται με ομοιοπολικούς δεσμούς με τις ελεύθερες αμινομάδες της πρωτεΐνης και του φωτοσυνθετικού υλικού σχηματίζοντας έτσι ένα ισχυρό δίκτυο παγίδευσης. Το βασικό μειονέκτημα που προκύπτει από τις παραπάνω τεχνολογίες ακινητοποίησης είναι η ανασταλτική δράση των χημικών ενώσεων που εμπλέκονται στην φωτοσυνθετική δραστηριότητα των θυλακοειδών μεμβρανών. Επιπρόσθετα, ο εγκλεισμός του φωτοσυνθετικού υλικού σε γέλη με φυσικό ή χημικό τρόπο μπορεί να παρεμποδίσει ή να επιβραδύνει την πρόσβαση του αναλύτη στο ενεργό κέντρο των θυλακοειδών μεμβρανών.

Στην δική μας προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε η τεχνική LIFT για την μεταφορά και ταυτόχρονη ακινητοποίηση του φωτοσυνθετικού υλικού στην επιφάνεια ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας χρυσού (Gold SPEs) [Εικόνα 62α]. Η πειραματική διάταξη που χρησιμοποιήθηκε για την εναπόθεση των θυλακοειδών μεμβρανών σε υγρή φάση σε ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας έχει αναλυθεί στην Ενότητα 3.1 και απεικονίζεται σχηματικά στην **Εικόνα 61**. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την επικάλυψη 10 μL του διαλύματος των θυλακοειδών μεμβρανών σε ένα δισκίο χαλαζία επικαλυμμένου με ένα λεπτό φιλμ (40 nm) τιτανίου. Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στο διάλυμα προσδιορίστηκε με βάση την φασματοσκοπική μέθοδο της Ενότητας 3.4.2 σε 2.5 mg/mL. Η εναπόθεση πραγματοποιήθηκε με τέτοιο τρόπο ώστε ένα ομοιόμορφο φιλμ από το θυλακοειδές διάλυμα, διαστάσεων 1 mm x 1mm, να καλύψει το ηλεκτρόδιο εργασίας όπως φαίνεται στην **Εικόνα 62γ**. Το φιλμ σχηματίστηκε με την μεταφορά μιας συστοιχίας από 132 (11 x 12) σταγόνες. Η πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ επιλέχτηκε στα 350 mJ/cm², το μέγεθος της κηλίδας στα 60 μm και η απόσταση υποστρώματος δότη – δέκτη (Gold SPE) στα 300 μm . Προκαταρκτικές εναποθέσεις σε επίπεδα υποστρώματα διοξειδίου του άνθρακα υπέδειξαν πως με αυτές τις συνθήκες εναπόθεσης προκύπτουν σταγόνες με διάμετρο της τάξης των 200 μm [Εικόνα 62δ].

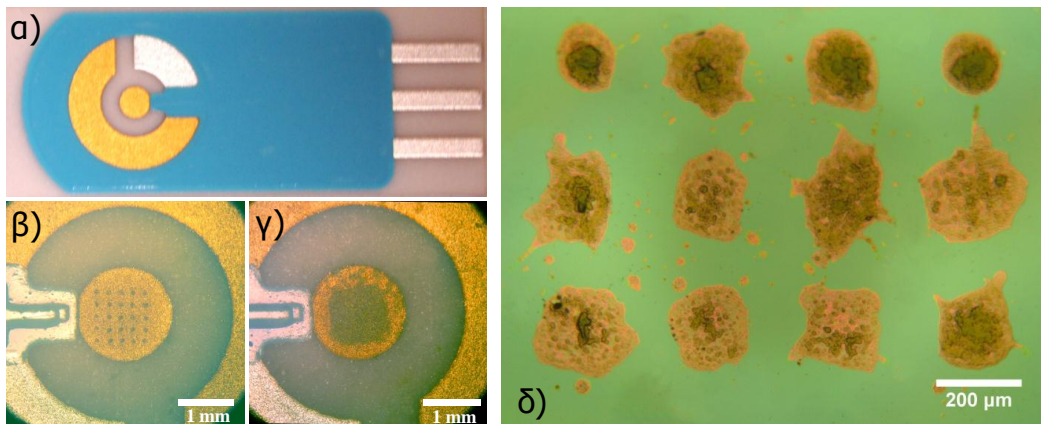
Η πρώτη μέθοδος έλεγχου της ακινητοποίησης του φωτοσυνθετικού υλικού στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου του Gold SPE ήταν έμμεση. Πραγματοποιήθηκε ελέγχοντας την φωτοσυνθετική δραστηριότητα των θυλακοειδών μεμβρανών με μία τυπική αμπερομετρική μέτρηση χρησιμοποιώντας το πρωτότυπο σύστημα AMPBIO-SPE. Η ολική ποσότητα της χλωροφύλλης που ακινητοποιήθηκε στο ηλεκτρόδιο με την τεχνική LIFT ήταν 19.3 ng. Για λόγους σύγκρισης προετοιμάστηκαν ηλεκτρόδια με την ίδια ποσότητα χλωροφύλλης χρησιμοποιώντας πιπέττα για την εναπόθεση.

Τα αποτελέσματα της φωτοσυνθετικής δράσης για τους δύο τύπους ηλεκτροδίων που προετοιμάστηκαν απεικονίζονται στην **Εικόνα 63**. Στην περίπτωση της ακινητοποίησης με χρήση της τεχνικής LIFT, οι θυλακοειδείς μεμβράνες προκαλούν μια ισχυρή κορυφή (~ 320 nA) ρεύματος κατά τον φωτισμό τους με LED. Το γεγονός αυτό αποδεικνύει πως οι θυλακοειδείς μεμβράνες παρέμειναν στο ηλεκτρόδιο έχοντας ισχυρή φωτοσυνθετική δράση. Αντιθέτως, στην περίπτωση της εναπόθεσης με πιπέττα, η προκαλούμενη αύξηση στο ρεύμα κατά των φωτισμό υπήρξε μηδαμινή υποδεικνύοντας αποτυχία στην

ακινητοποίηση. Μια πρώτη οπτική εξέταση των δύο τύπων ηλεκτροδίων μετά την μέτρηση υπέδειξε την αιτία της διαφορετικής συμπεριφοράς. Στη περίπτωση της χρήσης πιπέττας, οι συνθήκες ροής της μέτρησης είχαν ως αποτέλεσμα την απομάκρυνση του φωτοσυνθετικού υλικού από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Αντιθέτως, στην περίπτωση χρήσης της τεχνικής LIFT, το φωτοσυνθετικό υλικό εξακολουθούσε να είναι ευδιάκριτο στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου ως ένα 'πράσινο φιλμ' μετά το τέλος της μέτρησης.



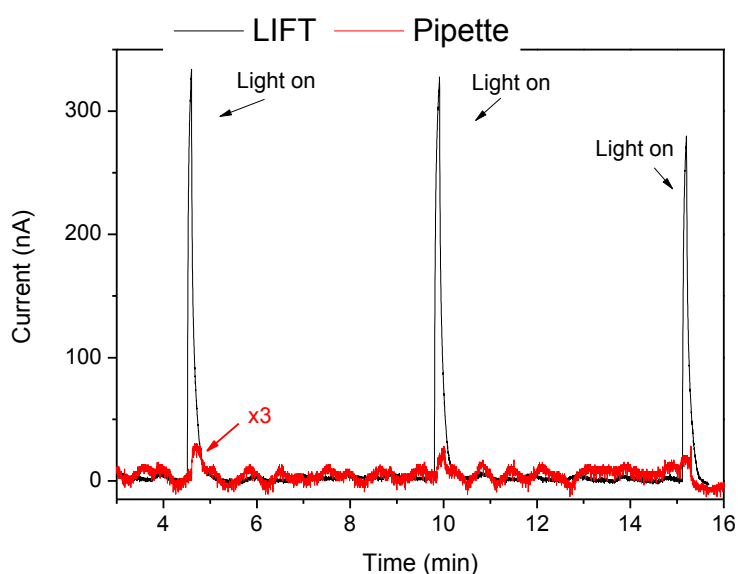
Εικόνα 61: Σχηματική αναπαράσταση της εναπόθεσης θυλακοειδών μεμβρανών σε ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας.



Εικόνα 62: α) Φωτογραφία του ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας. β) και γ) Φωτογραφίες οπτικού μικροσκοπίου του ηλεκτροδίου εργασίας επικαλυμμένου με διακριτές σταγόνες θυλακοειδών και συνεχές φιλμ θυλακοειδών αντίστοιχα [Boutoroulios et al. 2011]. δ) Φωτογραφία οπτικού μικροσκοπίου από διακριτές σταγόνες θυλακοειδών σε υπόστρωμα διοξειδίου του πυριτίου.

Περαιτέρω διερεύνηση της επιφάνειας των ηλεκτροδίων πριν και μετά την μέτρηση πραγματοποιήθηκε με χρήση της τεχνικής SEM. Τα ηλεκτρόδια παρατηρήθηκαν σε τομή για τρεις διαφορετικές περιπτώσεις: α) Ηλεκτρόδιο αναφοράς (δίχως φωτοσυνθετικό υλικό) β) Ηλεκτρόδιο με φωτοσυνθετικό υλικό ακινητοποιημένο με LIFT (πριν και μετά την μέτρηση) γ) Ηλεκτρόδιο με φωτοσυνθετικό υλικό τοποθετημένο με πιπέττα (πριν και μετά την μέτρηση). Σε όλες τις περιπτώσεις η προετοιμασία των ηλεκτροδίων περιλάμβανε την επίστρωση ενός λεπτού αγώγιμου φιλμ χρυσού (~ 5 nm). Στην **Εικόνα 64α** παρουσιάζεται η

εικόνα SEM της τομής του Gold SPE πριν την μέτρηση, στο οποίο οι θυλακοειδείς μεμβράνες τοποθετήθηκαν με χρήση πιπέτας. Είναι ευδιάκριτη η μεγάλη συγκέντρωση φωτοσυνθετικού υλικού στα όρια της σταγόνας καθώς και η δημιουργία ρωγμών στην διεπιφάνεια φωτοσυνθετικού υλικού – ηλεκτροδίου. Στην περίπτωση που το φωτοσυνθετικό υλικό ακινητοποιήθηκε με χρήση LIFT, είναι εμφανής η ομοιομορφία στο φιλμ του φωτοσυνθετικού υλικού, καθώς και η εισχώρησή του στις εσοχές τις τραχιές επιφάνειας του ηλεκτροδίου [Εικόνα 64b]. Η ομοιομορφία στην επικάλυψη οφείλεται στη σταδιακή δημιουργία του φιλμ μέσω της συστοιχίας των 132 (11 x 12) σταγόνων. Αντιθέτως, στην περίπτωση της πιπέτας η ροή Marangoni κατά την εξάτμιση της σταγόνας [Hu et al. 2006, Deegan et al. 1997] οδηγεί σε συσσώρευση φωτοσυνθετικό υλικό στα άκρα του φιλμ.

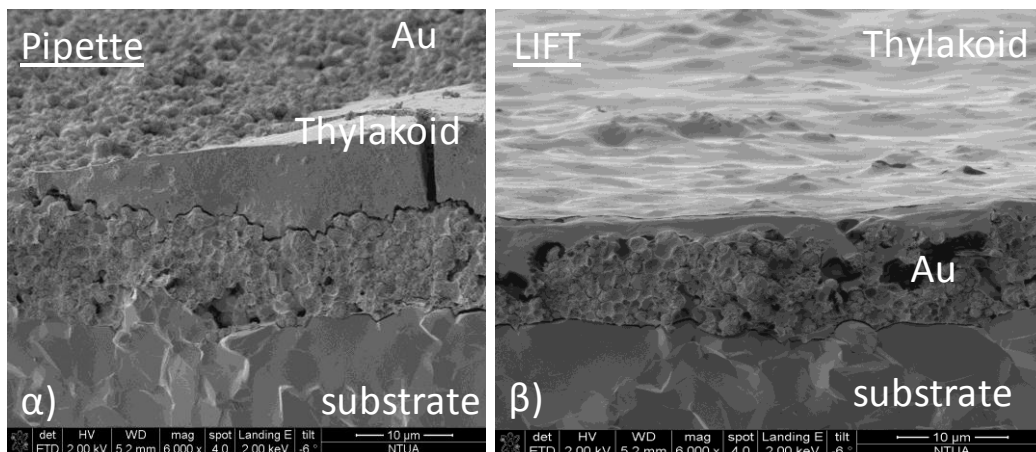


Εικόνα 63: Γράφημα αμπερομετρικής απόκριση θυλακοειδών μεμβρανών. Η μαύρη γραμμή αντιστοιχεί σε απόκριση Gold SPE στο οποίο η ακινητοποίηση επιτεύχθηκε με LIFT. Η κόκκινη γραμμή αντιστοιχεί σε απόκριση Gold SPE στο οποίο οι θυλακοειδείς μεμβράνες εναποτέθηκαν με χρήση πιπέτας.

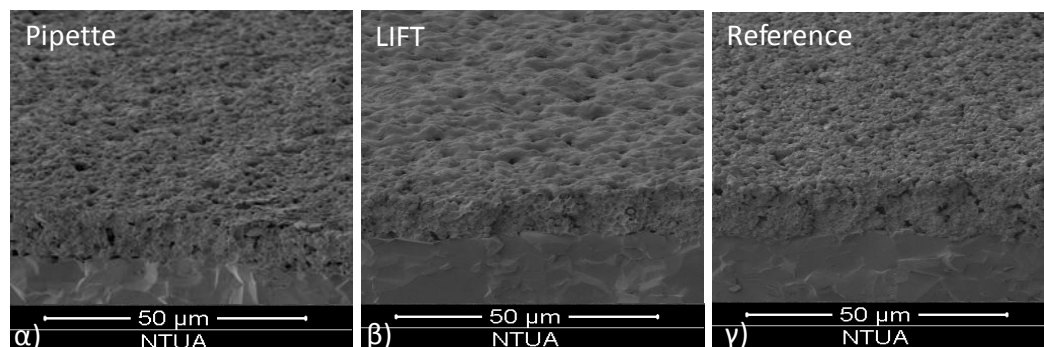
Οι αντίστοιχες εικόνες SEM μετά το τέλος της μέτρηση φαίνονται στην **Εικόνα 65**. Είναι εμφανές πως στην περίπτωση της ακινητοποίησης με LIFT ένα λεπτό στρώμα από το φωτοσυνθετικό υλικό έχει παραμείνει στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου μετά το τέλος της μέτρησης [Εικόνα 65β]. Αντιθέτως, στην περίπτωση της εναπόθεσης με πιπέτα το φωτοσυνθετικό υλικό έχει απομακρυνθεί από την επιφάνεια του ηλεκτροδίου μετά το τέλος της μέτρησης [Εικόνα 65α]. Έτσι η μορφολογία της επιφάνειας του ηλεκτροδίου εμφανίζεται πανομοιότυπη με αυτή του ηλεκτροδίου αναφοράς (δίχως φωτοσυνθετικό υλικό), η οποία παρατίθεται για σύγκριση στην **Εικόνα 65γ**.

Οι αμπερομετρικές μετρήσεις και η διερεύνηση με SEM, υπέδειξαν πως η χρήση της τεχνολογίας LIFT αποτελεί ένα εξαιρετικό εργαλείο για την εναπόθεση και την ταυτόχρονη ακινητοποίηση του φωτοσυνθετικού υλικού στην επιφάνεια των Gold SPEs. Η εξήγηση του φαινομένου της απευθείας ακινητοποίησης με χρήση LIFT στηρίζεται στην εξαιρετικά μεγάλη ταχύτητα μεταφοράς του φωτοσυνθετικού υλικού στο Gold SPE αλλά και στην αυξημένη επιφανειακή τραχύτητα του τελευταίου. SEM και AFM διερεύνηση της

επιφάνειας του Gold SPE απέδειξαν μια αυξημένη τραχύτητα της τάξης των 1.5 $\mu\text{m rms}$ [Εικόνα 66]. Είναι γνωστό πως οι επιφάνειες με αυξημένη τραχύτητα εμφανίζουν δύο καταστάσεις διαβρεξιμότητας: α) μερική διαβρεξιμότητα (partial wetting) και β) πλήρη διαβρεξιμότητα (complete wetting). Στην κατάσταση της πλήρους διαβρεξιμότητας το υγρό εισχωρεί στους πόρους της επιφάνειας, ενώ στην κατάσταση της μερικής διαβρεξιμότητας θύλακες αέρα εγκλωβίζονται στους πόρους αποτρέποντας την εισχώρηση του υγρού. Έχει επιδειχθεί πως στην περίπτωση που σε ένα υγρό εφαρμοστεί πίεση κατά την επαφή του με μια τραχιά επιφάνεια, μπορεί να προκληθεί η εισχώρησή του στους πόρους της επιφάνειας. Έτσι με την ταυτόχρονη απομάκρυνση του εγκλωβισμένου αέρα μια μετάβαση στην κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας μπορεί να πραγματοποιηθεί [Liu et al. 2006].



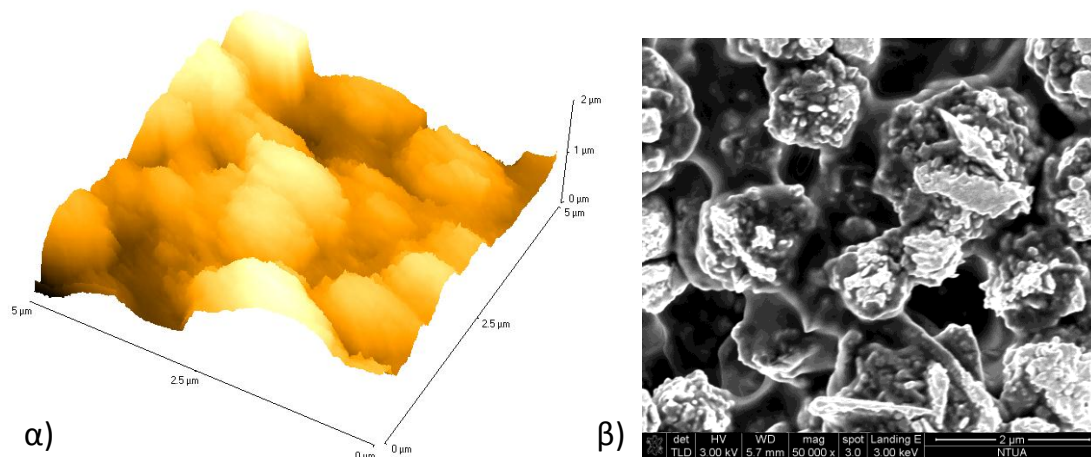
Εικόνα 64: α) Εικόνα SEM της τομής ενός Gold SPE στο οποίο οι θυλακοειδείς μεμβράνες έχουν τοποθετηθεί με χρήση πιπέτας. β) Εικόνα SEM της τομής ενός Gold SPE στο οποίο οι θυλακοειδείς μεμβράνες έχουν ακινητοποιηθεί με χρήση LIFT. Οι εικόνες λήφθηκαν πριν την μέτρηση.



Εικόνα 65: Εικόνες SEM της τομής ενός Gold SPE μετά την μέτρηση για α) εναπόθεση φωτοσυνθετικού υλικού με χρήση πιπέτας β) ακινητοποίηση φωτοσυνθετικού υλικού με χρήση LIFT γ) ηλεκτρόδιο αναφοράς δίχως φωτοσυνθετικό υλικό

Στην περίπτωση της εναπόθεσης με χρήση LIFT υγρής φάσης έχει επιδειχθεί πως η μεταφορά του υλικού πραγματοποιείται με την μορφή ενός πίδακα μεγάλης ταχύτητας που ξεκινά από το υπόστρωμα δότη και κατευθύνεται προς το υπόστρωμα αποδέκτη [Duocastella et al. 2008, Duocastella et al. 2009]. Ειδικά για τη μεταφορά υγρών παρόμοιων ρεολογικών ιδιοτήτων με το διάλυμα των θυλακοειδών μεμβρανών η ταχύτητα του πίδακα είναι της τάξης των 100 m/s [Duocastella et al. 2008, Duocastella et al. 2009]. Επομένως, η πρόσκρουση του διαλύματος των θυλακοειδών μεμβρανών με αυτή την μεγάλη ταχύτητα

στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου αυξάνει δραματικά την πίεση σε μερικά MPa και οδηγεί σε κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας. Η απομάκρυνση του αέρα από τους πόρους και η εισχώρηση των θυλακοειδών μεμβρανών σε αυτούς, ενισχύει την παγίδευση και την φυσική προσρόφησή τους στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Πρόσθετη διερεύνηση της προκαλούμενης πίεσης κατά την εναπόθεση LIFT, αλλά και της επίδρασής της στην γωνία επαφής της εναποτιθέμενης μικρο-σταγόνας γίνεται στη Ενότητα 4.3



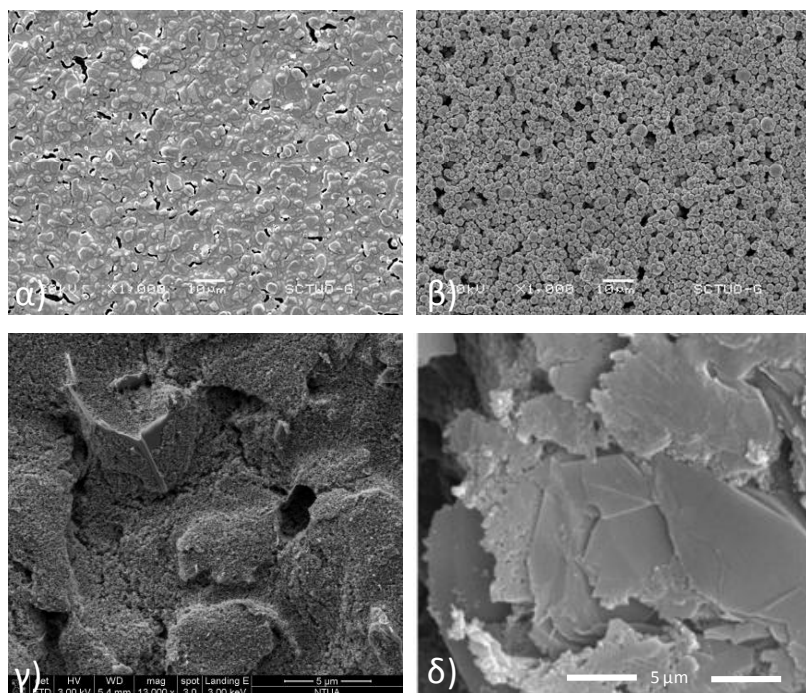
Εικόνα 66: α) Η μορφολογία της επιφάνειας του ηλεκτροδίου με τρισδιάστατη AFM απεικόνιση (1.5 μm rms) β) SEM απεικόνιση της επιφάνειας του ηλεκτροδίου αποδεικνύει μια περίπλοκη τραχιά δομή αποτελούμενη από προεξοχές και πόρους.

Η τεχνική της απευθείας ακινητοποίησης προέκυψε αποκλειστικά από την χρήση LIFT δεν εμπεριέχει την χρήση χημικών και δεν μπορεί να αναπαραχθεί με χρήση πιπέτας. Όπως προαναφέρθηκε στην εισαγωγή της ενότητας μια πληθώρα φυσικών και χημικών μεθόδων έχει χρησιμοποιηθεί για ακινητοποίηση φωτοσυνθετικού υλικού. Η τεχνική LIFT συγκρινόμενη με προηγούμενες εργασίες [Touloupakis et al. 2005, Bettazzi et al. 2007, Barthelmebs et al. 2011] προσέφερε ένα ισχυρό φωτοσυνθετικό σήμα (~ 320 nA) το οποίο συνοδεύεται από ένα εξαιρετικά μεγάλο λόγο σήματος προς θόρυβο. Το βασικό πλεονέκτημα της τεχνολογίας LIFT που οδηγεί στην ανάπτυξη ενός αισθητήρα βελτιωμένων χαρακτηριστικών, συνίσταται στην εξάλειψη της χρήσης χημικών ή γέλης για την ακινητοποίηση. Ως αποτέλεσμα, το φωτοσυνθετικό υλικό διατηρεί αναλλοίωτη την φωτοσυνθετική του δράση, ενώ παράλληλα δεν παρεμποδίζεται η πρόσβαση του ηλεκτρονιοδέκτη και του αναλυτή σε αυτό.

7.4 Επιλογή βέλτιστου τύπου ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας για την ανάπτυξη του αισθητήρα

Με στόχο την βελτιστοποίηση της απόκρισης του φωτοσυνθετικού αισθητήρα έγινε χρήση τεσσάρων διαφορετικών τύπων ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας της εταιρείας *DropSens*:

- Graphite SPEs (DRP-110)
- CNT SPEs (DRP-110CNT)
- Gold SPEs (DRP 223 BT)
- Gold SPEs (DRP 223 AT)



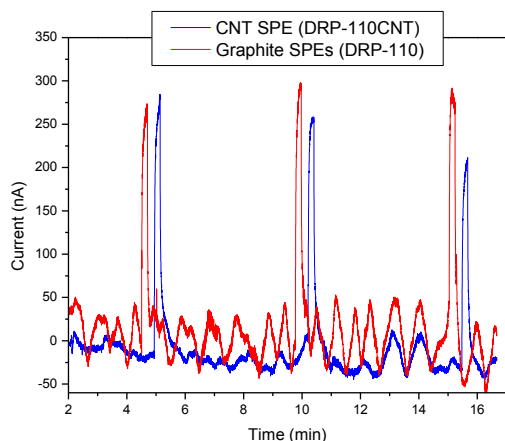
Εικόνα 67: Φωτογραφίες SEM, για του τέσσερις διαφορετικού τύπους ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας (SPEs) α) Gold SPEs (DRP 223 AT)¹² β) Gold SPEs (DRP 223 BT)¹² γ) CNT SPEs (DRP-110CNT) δ) Graphite SPEs (DRP-110)¹³.

Οι τρεις πρώτοι τύποι διαφέρουν ως προς το υλικό του ηλεκτροδίου. Στην περίπτωση των DRP 223 BT και DRP 223 AT υπάρχει διαφορά στην μορφολογία της επιφάνειας εξαιτίας της διαφορετικής θερμοκρασίας στερεοποίησης της πάστας κατά την παρασκευή τους. Χαρακτηριστικές φωτογραφίες SEM για τον κάθε τύπο ηλεκτροδίου φαίνονται στην **Εικόνα 67**. Ο μορφολογικός χαρακτηρισμός με χρήση της τεχνικής AFM υπέδειξε επιφανειακή τραχύτητα της τάξης των 0.5 $\mu\text{m rms}$ για την περίπτωση των Graphite SPEs (DRP-110), CNT SPEs (DRP-110CNT) και Gold SPEs (DRP 223 AT). Στην περίπτωση των Gold SPEs (DRP 223 AT) η επιφανειακή τραχύτητα ήταν σημαντικά μεγαλύτερη και ίση με 1.5 $\mu\text{m rms}$.

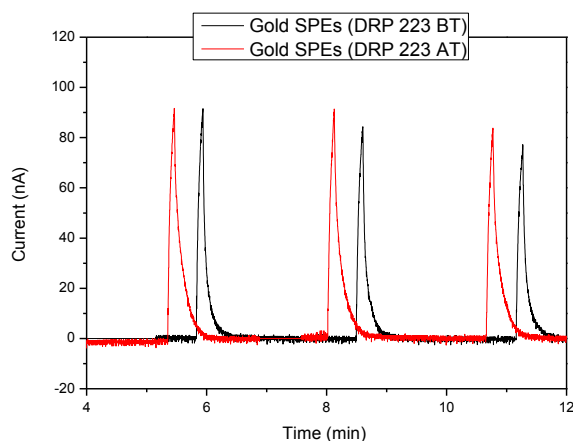
Με τη χρήση της τεχνικής LIFT φωτοσυνθετικό υλικό ακινητοποιήθηκε και στους τέσσερις διαφορετικούς τύπους ηλεκτροδίων με χρήση όμοιων συνθηκών εναπόθεσης. Στην **Εικόνα 68** παρουσιάζεται η αμπερομετρική απόκριση των δύο πρώτων τύπων ηλεκτροδίων. Είναι εμφανές πως οι ισχυρές κορυφές στην ένταση του ρεύματος συνοδεύονται από υψηλό θόρυβο υποβάθρου. Στην περίπτωση των ηλεκτροδίων χρυσού υπήρξε παρόμοια συμπεριφορά στην αμπερομετρική απόκριση των θυλακοειδών μεμβρανών [**Εικόνα 69**]. Οι ισχυρές κορυφές ρεύματος κατά τον φωτισμό συνοδεύονταν από υψηλό λόγο σήματος προς θόρυβο αλλά και σταθερό σήμα υποβάθρου. Λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω μετρήσεις, τα ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας χρυσού επιλέχθηκαν για την περαιτέρω διερεύνηση του αισθητήρα και την ανίχνευση των ζιζανιοκτόνων.

¹² http://www.dropsens.com/en/pdfs_productos/gold_spes.pdf

¹³ http://www.dropsens.com/en/pdfs_productos/110cnt.pdf



Εικόνα 68: Γράφημα αμπερομετρικής απόκρισης θυλακοειδών μεμβρανών ακινητοποιημένων σε δύο διαφορετικούς τύπους ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας (Graphite SPEs (DRP-110) και CNT SPEs (DRP-110CNT))



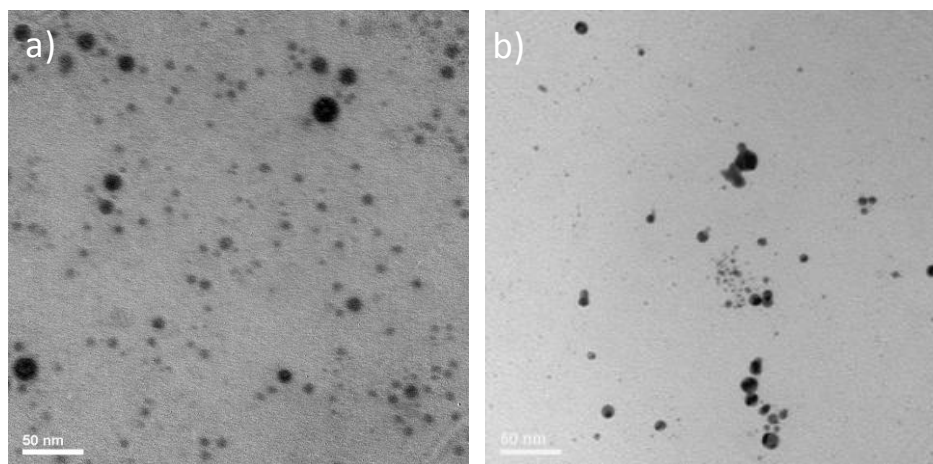
Εικόνα 69: Γράφημα αμπερομετρικής απόκρισης θυλακοειδών μεμβρανών ακινητοποιημένων σε δύο διαφορετικούς τύπους ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας (Gold SPEs (DRP223AT) και Gold SPEs (DRP223AT))

7.5 Βελτιστοποίηση των συνθηκών εναπόθεσης

Επιλογή του υποστρώματος δότη

Η αρχική επιλογή του υποστρώματος δότη για την ανάπτυξη του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα ήταν ένα δισκίο χαλαζία επικαλυμμένου με ένα λεπτό φιλμ (40 nm) τιτανίου. Κατά την διαδικασία της εναπόθεσης με χρήση της τεχνικής LIFT, η ακτινοβολία του λεπτού φιλμ σε πυκνότητα ενέργειας ίση με 350 mJ/cm^2 προκαλεί την αποδόμησή του. Έχει επιδειχθεί πως η αποδόμηση μεταλλικών στόχων που βρίσκονται σε περιβάλλον υγρού οδηγεί στην δημιουργία μεταλλικών νανοσωματιδίων [Sakamoto et al. 2009, Mafuné et al. 2000, Mafuné et al. 2001]. Η διερεύνηση της δημιουργίας νανοσωματιδίων τιτανίου κατά την διαδικασία LIFT πραγματοποιήθηκε με μικροσκοπία TEM. Επιπρόσθετα, πραγματοποιήθηκαν εναποθέσεις με ένα δεύτερο τύπο υποστρώματος δότη - δισκίο χαλαζία επικαλυμμένου με ένα λεπτό φιλμ (40 nm) χρυσού - για να εξετασθεί η πιθανή επίδραση στην αμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα.

Εναποθέσεις σταγόνων θυλακοειδών μεμβρανών χρήση της τεχνικής LIFT πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά υποστρώματα παρατήρησης TEM (πλέγμα υπέρλεπτου χαλκού). Η πυκνότητα ενέργειας ήταν ίση με 350 mJ/cm^2 και για τους δύο τύπους υποστρώματος δότη. Στην **Εικόνα 70α** φαίνεται μια φωτογραφία νανοσωματιδίων τιτανίου που προέκυψαν από την αποδόμηση του υποστρώματος στόχου τιτανίου. Η αποδόμηση του υποστρώματος στόχου χρυσού κατά την εναπόθεση με την τεχνική LIFT οδήγησε στον σχηματισμό νανοσωματιδίων χρυσού όπως φαίνεται στην **Εικόνα 70β**. Και στις δύο περιπτώσεις η διάμετρος των νανοσωματιδίων εμφανίζει μεγάλη διακύμανση και κυμαίνεται από 5 nm έως και 25 nm.

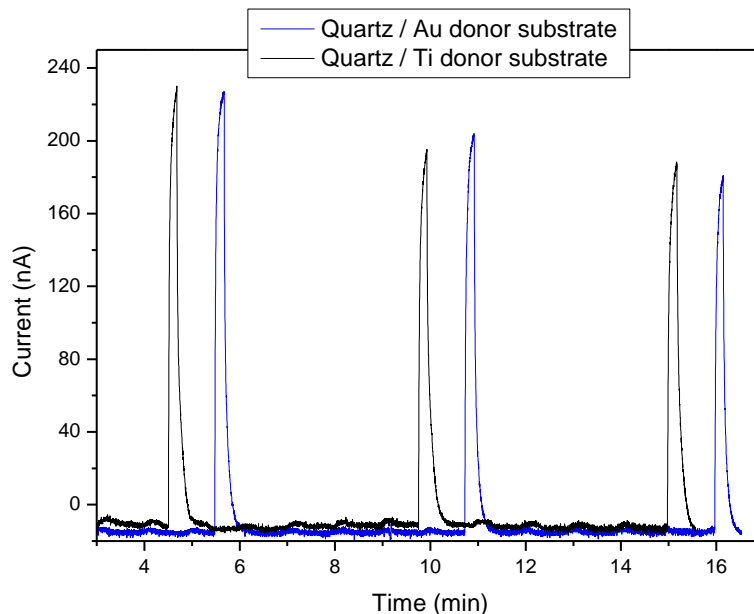


Εικόνα 70: Φωτογραφίες TEM σε σταγόνες θυλακοειδούς διαλύματος που έχουν εναποτεθεί σε ειδικό υπόστρωμα παρατήρησης (πλέγμα υπέρλεπτου χαλκού) α) Νανοσωματίδια τιτανίου που προέκυψαν από την αποδόμηση του υποστρώματος στόχου τιτανίου β) Νανοσωματίδια χρυσού που προέκυψαν από την αποδόμηση του υποστρώματος στόχου χρυσού.

Οι αμπερομετρικές μετρήσεις για τους δύο διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων δότη εμφανίζονται στην **Εικόνα 71**. Η φωτοσυνθετική δραστηριότητα των θυλακοειδών μεμβρανών που έχουν εναποτεθεί χρησιμοποιώντας τους δύο διαφορετικούς τύπους υποστρωμάτων δότη εμφανίζεται παρόμοια. Η αμπερομετρική απόκριση προϊόν της φωτοσυνθετικής δράσης κατά τον φωτισμό εμφανίζεται ισχυρή με υψηλό λόγο σήματος προς θόρυβο. Η παρουσία των νανοσωματιδίων στο διάλυμα των θυλακοειδών εμφανίζεται να μην επηρεάζει αρνητικά την φωτοσυνθετική τους δραστηριότητα. Επιπλέον, η παρουσία του ενός ή του άλλου τύπου των νανοσωματιδίων δεν διακρίνεται να έχει ενισχυτική επίδραση στην φωτοσυνθετική δραστηριότητα των θυλακοειδών μεμβρανών. Ως εκ τούτου, η επιλογή του υποστρώματος δότη τιτανίου διατηρήθηκε με κριτήριο την καλύτερη πρόσφυσή του στο δισκίο του χαλαζία. Αντιθέτως, στην περίπτωση του υποστρώματος δότη χρυσού η πρόσφυση του λεπτού φιλμ στον χαλαζία ήταν ασθενής και καταστρέφονταν μετά από διαδοχικές του επικαλύψεις με το διάλυμα των θυλακοειδών.

Επιλογή συνθηκών εναπόθεσης

Με στόχο την βελτιστοποίηση της απόκρισης του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα, προετοιμάστηκαν ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας με την τεχνική LIFT με διαφορετική ποσότητα ακινητοποιημένων θυλακοειδών μεμβρανών. Οι υπόλοιπες συνθήκες εναπόθεσης διατηρήθηκαν οι ίδιες για όλη την σειρά πειραμάτων. Το υπόστρωμα δότης προετοιμάστηκε με την επικάλυψη 10 μL του διαλύματος των θυλακοειδών μεμβρανών σε ένα δισκίο χαλαζία επικαλυμμένου με ένα λεπτό φιλμ (40 nm) τιτανίου. Η συγκέντρωση της χλωροφύλλης στο διάλυμα προσδιορίστηκε με βάση την φασματοσκοπική μέθοδο της Ενότητας 3.4.2 σε 2.5 mg/mL. Διακριτές σταγόνες από θυλακοειδή ή συνεχή φιλμ από θυλακοειδή εναποτέθηκαν ελέγχοντας την απόσταση μεταξύ των διαδοχικών εναποθέσεων. Σε κάθε περίπτωση η συστοιχία των εναποθέσεων είχε διαστάσεις 1 mm x 1 mm στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας. Η πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ επιλέχτηκε στα 350 mJ/cm², το μέγεθος της κηλίδας στα 60 μm και η απόσταση υποστρώματος δότη – δέκτη (Gold SPE) στα 300 μm .

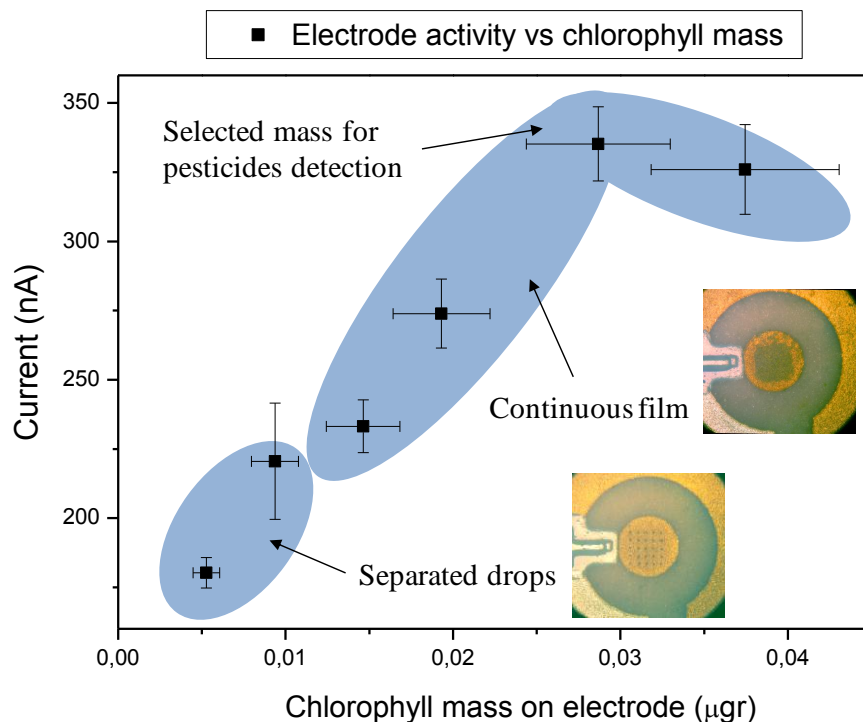


Εικόνα 71: Γράφημα αμπερομετρικής απόκριση θυλακοειδών μεμβρανών ακινητοποιημένων με χρήση της τεχνικής LIFT σε Gold SPE. Η μαύρη γραμμή αντιστοιχεί σε χρήση υποστρώματος δότη Quartz/Ti. Η μπλε γραμμή αντιστοιχεί σε χρήση υποστρώματος δότη Quartz/Au.

Δοκιμάστηκαν έξι διαφορετικά μοτίβα εναπόθεσης με διαφορετικό αριθμό σταγόνων στην επιφάνεια του αισθητήρα. Το αραιότερο μοτίβο περιείχε 36 σταγόνες, ενώ το πυκνότερο 256 σταγόνες. Για κάθε μοτίβο εναπόθεσης εξετάστηκαν τρία έως τέσσερα διαφορετικά ηλεκτρόδια. Ο μέσος όρος της απόκρισης εμφανίζεται στον **Πίνακας VII**. Η ολική ποσότητα της χλωροφύλλης που εναποτέθηκε σε κάθε ηλεκτρόδιο, υπολογίστηκε προσεγγιστικά, υποθέτοντας πως κάθε παλμός του Λέιζερ εκτοπίζει όλο του υπερκείμενο υγρό της περιοχής που ακτινοβολεί. Έτσι λαμβάνοντας υπόψη τον όγκο του διαλύματος που εναποτίθεται και την πυκνότητά του σε χλωροφύλλη (2.5 mg/mL), υπολογίζεται η συνολική ποσότητα της χλωροφύλλης στο ηλεκτρόδιο. Η εναπόθεση μοτίβου με 100 σταγόνες θυλακοειδούς αποτελεί το όριο κάτω από το οποίο οι σταγόνες παραμένουν διακριτές. Για εναπόθεση μεγαλύτερου αριθμού σταγόνων ένα φιλμ από φωτοσυνθετικό υλικό σχηματοποιείται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου εργασίας.

Πίνακας VII: Αντιστοιχία του αριθμού των ακινητοποιημένων σταγόνων θυλακοειδών σε μάζα χλωροφύλλης και αμπερομετρικό σήμα.

Αριθμός σταγόνων	Σήμα (nA)	Μάζα χλωροφύλλης (ngr)
36	180.3 ± 5.5	5.3 ± 0.8
64	220.5 ± 21.0	9.4 ± 1.4
100	233.2 ± 9.5	14.6 ± 2.2
132	273.9 ± 12.5	19.3 ± 2.9
196	335.2 ± 13.4	28.7 ± 4.3
256	326.0 ± 16.2	37.5 ± 5.6



Εικόνα 72: Εξάρτηση της αμπερομετρικής από απόκρισης των Gold SPEs από την συνολική μάζα που ακινητοποιήθηκε στο ηλεκτρόδιο εργασίας με χρήση της τεχνικής LIFT.

Η αμπερομετρική απόκριση για τα διαφορετικά μοτίβα εναπόθεσης εμφανίζεται στην **Εικόνα 72**. Αρχικά, η αμπερομετρική απόκριση των ηλεκτροδίων αυξάνεται με την αύξηση της ακινητοποιημένης χλωροφύλλης και λαμβάνει την μέγιστη τιμή της (335 ± 16.2 nm) για 196 σταγόνες θυλακοειδών (28.7 ± 4.3 ng). Περαιτέρω αύξηση της ποσότητας χλωροφύλλης οδηγεί σε οριακή μείωση της αμπερομετρικής απόκρισης. Η σταθεροποίηση στην αμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα, εικάζεται πως οφείλεται στο σχετικά αυξημένο πάχος του φωτοσυνθετικού στρώματος που εναποτίθεται για μοτίβα μεγαλύτερα από 196 σταγόνες. Η αύξηση του πάχους παρεμποδίζει την διείσδυση της ακτινοβολίας LED κατά μήκος του φωτοσυνθετικού στρώματος και την ενεργοποίηση των θυλακοειδών μεμβρανών στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Ως αποτέλεσμα των παραπάνω παρατηρήσεων έγινε επιλογή του μοτίβου των 196 σταγόνων (συστοιχία 14 x 14) για την προετοιμασία των φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων ανίχνευσης των ζιζανιοκτόνων.

7.6 Ανίχνευση ζιζανιοκτόνων

Η δράση των ζιζανιοκτόνων έγκειται στο ότι παρεμποδίζουν την αντίδραση Hill και ως εκ τούτου παρεμποδίζουν την φωτοσύνθεση των ζιζανίων και επομένως και την ανάπτυξή τους. Περίπου 30% των ζιζανιοκτόνων που χρησιμοποιούνται αναστέλλουν τις φωτεινές αντιδράσεις της φωτοσύνθεσης, εμποδίζοντας την ηλεκτρονιακή ροή στο Φωτοσυστήμα II και επομένως την παραγωγή του ATP και NADPH [Oettmeier 1999].

Το Diuron ((3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea)) και το Linuron ((3-(3,4-dichlorophenyl)-1-methoxy-1-methylurea)) είναι οι δύο τύποι ζιζανιοκτόνων, που ανιχνεύθηκαν στην παρούσα εργασία με χρήση του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα. Τα

δύο αυτά ζιζανιοκτόνα ανήκουν στην κατηγορία των φαινυλουρέων. Η δράση τους εντοπίζεται στην παρεμπόδιση της ροής των ηλεκτρονίων από την ημικινόνη QA⁻ στην κινόνη QB, επειδή συναγωνίζονται με την πλαστοκινόνη για τη θέση δέσμευσης της κινόνης QB [Vermaas et al. 1983]. Αυτή η παρεμπόδιση οφείλεται στη σύνδεση των ζιζανιοκτόνων στη περιοχή δέσμευσης QB της πρωτεΐνης D1 [Oettmeier 1999]. Η υψηλή δεσμευτική συγγένεια αυτών των ζιζανιοκτόνων στη πρωτεΐνη D1 προσφέρει μια μοναδική δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί το φωτόςύστημα II ως βιολογικό στοιχείο αναγνώρισης στον τομέα των βιοαισθητήρων για την ανίχνευση ζιζανιοκτόνων. Η ανίχνευση ζιζανιοκτόνου βασίζεται στην μείωση του σήματος του βιοαισθητήρα λόγω της αναστολής που προκαλείται παρουσία του ζιζανιοκτόνου (μείωση του ποσοστού μεταφοράς ηλεκτρονίων).

Οι φωτοσυνθετικοί βιοαισθητήρες που χρησιμοποιήθηκαν για την ανίχνευση των ζιζανιοκτόνων προετοιμάστηκαν σύμφωνα με τα αποτελέσματα της βελτιστοποίησης της αμπερομετρικής απόκρισης των θυλακοειδών μεμβρανών. Έτσι επιλέχθηκε ως ηλεκτρόδιο μεταξοτυπίας το Gold SPEs (DRP 223 BT) με την αυξημένη επιφανειακή τραχύτητα των 1.5 μm. Η επιλογή του υποστρώματος δότη ήταν χαλαζίας επικαλυμμένος με ένα λεπτό φιλμ τιτανίου. Το μοτίβο εναπόθεσης ήταν 196 σταγόνες διαλύματος θυλακοειδών (συστοιχία 14 x 14) που αντιστοιχούν σε 28.7 ± 4.3 ng χλωροφύλλης.

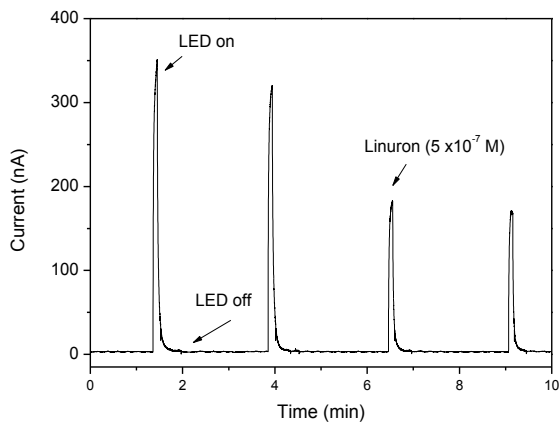
Η διαδικασία μέτρησης έχει ως εξής: Αρχικά, καταγράφεται η αμπερομετρική απόκριση του ακινητοποιημένου φωτοσυνθετικού υλικού ελλείψει του ζιζανιοκτόνου. Κατόπιν, το ζιζανιοκτόνο προστίθεται στην ροή του διαλύματος μέτρησης και καταγράφεται η νέα αμπερομετρική απόκριση του ακινητοποιημένου φωτοσυνθετικού υλικού. Ο λόγος των δύο σημάτων αποτελεί το ποσοστό αναστολής της φωτοσυνθετικής δράση εξαιτίας της παρουσίας του ζιζανιοκτόνου. Τα διάφορα βήματα της μέτρησης έχουν ως εξής:

- Ροή του διαλύματος μέτρησης παρουσία του τεχνητού ηλεκτρονιοδέκτη DCPIP
- Διαδοχικοί φωτισμοί των θυλακοειδών μεμβρανών για 7 sec ανά 2.5 λεπτά
- Προσθήκη του ζιζανιοκτόνου στο διάλυμα μέτρησης
- Διαδοχικοί φωτισμοί των θυλακοειδών μεμβρανών για 7 sec ανά 2.5 λεπτά

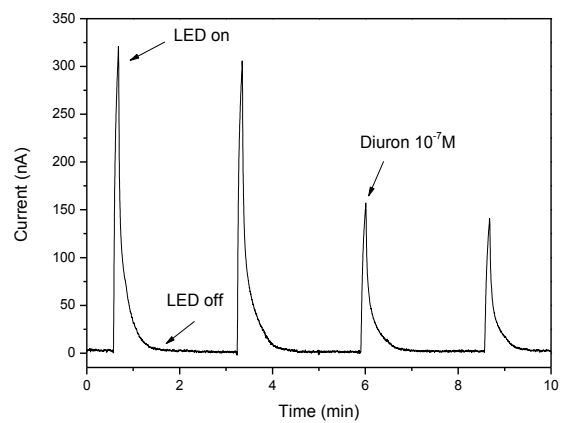
Μία χαρακτηριστική μέτρηση της αναστολής της φωτοσυνθετικής δράσης παρουσία του ζιζανιοκτόνων Linuron σε συγκέντρωση 5 x 10⁻⁷ M παρουσιάζεται στην **Εικόνα 73**. Στην **Εικόνα 74** παρουσιάζεται μια τυπική μέτρηση της αναστολής της φωτοσυνθετικής δράση παρουσία του ζιζανιοκτόνου Diuron σε συγκέντρωση 10⁻⁷ M. Και στις δύο περιπτώσεις είναι εμφανής η μείωση στην αμπερομετρική απόκριση του αισθητήρα μετά την προσθήκη του ζιζανιοκτόνου στο διάλυμα μέτρησης.

Η ποσοτικοποίηση της απόκρισης των αισθητήρων πραγματοποιήθηκε καταγράφοντας τον λόγο της αμπερομετρικής απόκρισης που προκύπτει μετά την προσθήκη των ζιζανιοκτόνων προς την αρχική αμπερομετρική απόκριση. Η ποσοστιαία εναπομένουσα φωτοσυνθετική δράση RA (residual activity, **Εξίσωση 27**), χρησιμοποιήθηκε για την χάραξη των καμπύλων βαθμονόμησης του βιοαισθητήρα. Για κάθε συγκέντρωση των ζιζανιοκτόνων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις σε τρία με τέσσερα διαφορετικά ηλεκτρόδια. Οι καμπύλες βαθμονόμησης που προέκυψαν για το ζιζανιοκτόνο Linuron και Diuron φαίνονται στην **Εικόνα 75** και στην **Εικόνα 76**, αντίστοιχα.

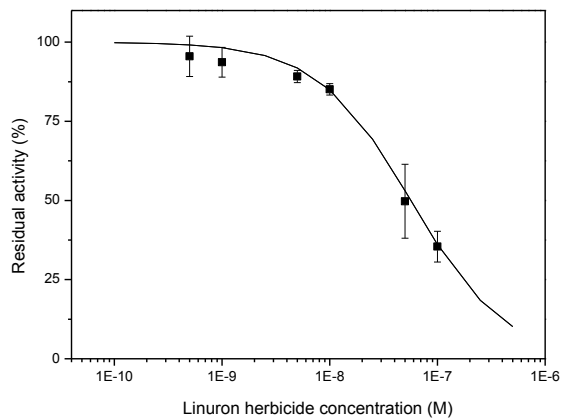
$$\text{Εξίσωση 27: } RA = \frac{I_{\text{Herbicide, peak}}}{I_{0, \text{peak}}} \times 100\%$$



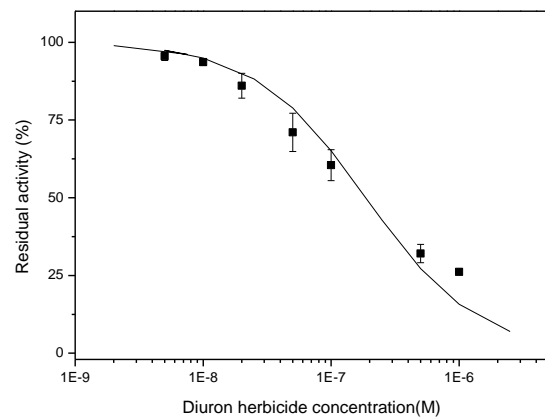
Εικόνα 73: Αμπερομετρική απόκριση ενδεικτική της αναστολής της φωτοσυνθετικής δράσης των θυλακοειδών μεμβρανών παρουσία του ζιζανιοκτόνου Linuron σε συγκέντρωση 5×10^{-7} M.



Εικόνα 74: Αμπερομετρική απόκριση ενδεικτική της αναστολής της φωτοσυνθετικής δράσης των θυλακοειδών μεμβρανών παρουσία του ζιζανιοκτόνου Diuron σε συγκέντρωση 10^{-7} M.



Εικόνα 75: Καμπύλη βαθμονόμησης της απόκρισης του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα στο ζιζανιοκτόνο Linuron.



Εικόνα 76: Καμπύλη βαθμονόμησης της απόκρισης του φωτοσυνθετικού βιοαισθητήρα στο ζιζανιοκτόνο Diuron.

Για την διερεύνηση των επιδόσεων του αισθητήρα, υπολογίστηκαν τα δύο βασικά μεγέθη που είναι χαρακτηριστικά της ευαισθησίας του, η τιμή I_{50} και το όριο ανίχνευσης (limit of detection, LOD). Αρχικά, από τις καμπύλες βαθμονόμησης υπολογίστηκε η τιμή I_{50} , η οποία ορίζεται ως η συγκέντρωση του ζιζανιοκτόνου που προκαλεί μείωση της φωτοσυνθετικής δράσης κατά 50%. Οι τιμές I_{50} που προέκυψαν για το ζιζανιοκτόνο Linuron και Diuron είναι 5.65×10^{-8} M και 1.87×10^{-7} M, αντίστοιχα. Το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε με δύο διαφορετικές μεθοδολογίες. Η πρώτη μέθοδος είναι γραφική και βασίζεται στην προτροπή υπολογισμού της IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry¹⁴) [Thompson et al. 2006]. Τα αποτελέσματα των υπολογισμών ήταν 7.8×10^{-9} M για την περίπτωση του Linuron και 2.4×10^{-8} M για την περίπτωση του Diuron. Η δεύτερη μέθοδος υπολογισμού βασίζεται στην εργασία των Koblížek et al. [Koblížek et al. 2002].

¹⁴ <http://www.iupac.org/>

Αρχικά, οι καμπύλες βαθμονόμησης προσομοιώνονται χρησιμοποιώντας την σχέση Langmuir:

$$\text{Εξίσωση 28: } RA = 100 - 100 \times \frac{M_{\text{Herbicide}}}{M_{\text{Herbicide}} + I_{50}}$$

Όπου RA η εναπομένουσα φωτοσυνθετική δράση, $M_{\text{Herbicide}}$ η συγκέντρωση του ζιζανιοκτόνου και I_{50} η συγκέντρωση του ζιζανιοκτόνου που προκαλεί αναστολή κατά 50%. Ο υπολογισμός του ορίου ανίχνευσης γίνεται στην βάση ενός διαστήματος εμπιστοσύνης 99 % (confidence interval) στο οποίο θεωρείται πως η διακύμανση αντιστοιχεί στην ποσοστιαία τυπική απόκλιση (relative standard deviation, RSD) της μέτρησης πολλαπλασιασμένη με τον παράγοντα 2.6:

$$\text{Εξίσωση 29: } LOD = \left(\frac{2.6 \times RSD \times I_{50}}{100 - 2.6 \times RSD} \right)$$

Οι τιμές RSD που προέκυψαν από την στατιστική ανάλυση των μετρήσεων, καθώς και οι τιμές για το όριο ανίχνευσης εμφανίζονται στον **Πίνακα VIII**.

Πίνακας VIII: Η ποσοστιαία τυπική απόκλιση των μετρήσεων και τα όρια ανίχνευσης για τους δύο τύπους ζιζανιοκτόνων.

Ζιζανιοκτόνο	I_{50} (M)	RSD % (relative standard deviation)	LOD1 (M) [Thompson et al. 2006]	LOD2 (M) [Koblížek et al. 2002]
Linuron	5.65×10^{-8}	5,09	7.8×10^{-9}	5.65×10^{-8}
Diuron	1.87×10^{-7}	4,77	2.4×10^{-8}	1.87×10^{-7}

Η χρήση της τεχνικής LIFT για την ακινητοποίηση των θυλακοειδών μεμβρανών στην επιφάνεια των ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας χρυσού (Gold SPEs) οδήγησε στην ανάπτυξη ενός φωτοσυνθετικού αισθητήρα υψηλών επιδόσεων. Χαρακτηριστικό της λειτουργίας του φωτοσυνθετικού αισθητήρα είναι το υψηλό σήμα της αμπερομετρικής απόκρισης, το οποίο φθάνει τα 335 nA κάτω από βελτιστοποιημένες συνθήκες εναπόθεσης. Το σήμα αυτό είναι μία τάξη μεγέθους υψηλότερο από αυτό που καταγράφεται σε προηγούμενες εργασίες [Koblížek et al. 1998, Koblížek et al. 2002, Toulouarakis et al. 2005, Maly et al. 2005]. Παράλληλα, η απόκριση εμφανίζει ένα εξαιρετικά μεγάλο λόγο σήματος προς θόρυβο.

Η επίτευξη αυτών των χαρακτηριστικών οφείλεται στην πρωτότυπη μέθοδο ακινητοποίησης με χρήση της τεχνικής LIFT. Η τεχνική εναπόθεσης - ακινητοποίησης αποτελεί μια φυσική μέθοδο, η οποία εξαλείφει τις αδυναμίες των συχνά χρησιμοποιούμενων τεχνικών. Κατά την ακινητοποίηση δεν εμπλέκεται η χρήση χημικών ή γέλης που αποδεδειγμένα επιδρούν αρνητικά στην φωτοσυνθετική δράση των θυλακοειδών μεμβρανών [Rouillon et al. 2006]. Ως αποτέλεσμα, επιτεύχθηκαν χαμηλά όρια ανίχνευσης για τα ζιζανιοκτόνα Diuron και Linuron στην κλίμακα των nM.

Αναφορές

Barthelmebs, L., Carpentier, R. & Rouillon, R. Physical and Chemical Immobilization Methods of Photosynthetic Materials. *Methods in Molecular Biology* 684, 247-256 (2011).

Bettazzi, F., Laschi, S. & Mascini, M. One-shot screen-printed thylakoid membrane-based biosensor for the detection of photosynthetic inhibitors in discrete samples. *Analytica chimica acta* 589, 14-21 (2007).

Boutopoulos, C., Touloupakis, E., Pezzotti, I., Giardi, M.T. & Zergioti, I. Direct laser immobilization of photosynthetic material on screen printed electrodes for amperometric biosensor. *Applied Physics Letters* 98, 093703 (2011).

Buonasera, K., Pezzotti, G., Scognamiglio, V., Tibuzzi, A. & Giardi, M.T. New platform of biosensors for prescreening of pesticide residues to support laboratory analyses. *Journal of agricultural and food chemistry* 58, 5982-90 (2010).

Deegan, R., Bakajin, O., Dupont, T. & Huber, G. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature* 389, 827-829 (1997).

Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Morenza, J.L. & Serra, P. Time-resolved imaging of the laser forward transfer of liquids. *Journal of Applied Physics* 106, 084907 (2009).

Duocastella, M., Fernández-Pradas, J.M., Serra, P. & Morenza, J.L. Jet formation in the laser forward transfer of liquids. *Applied Physics A* 93, 453-456 (2008).

Hu, H. & Larson, R.G. Marangoni effect reverses coffee-ring depositions. *The journal of physical chemistry. B* 110, 7090-4 (2006).

Kobližek, M. et al. A biosensor for the detection of triazine and phenylurea herbicides designed using Photosystem II coupled to a screen-printed electrode. *Biotechnology and bioengineering* 78, 110–116 (2002).

Kobližek, M. et al. A sensitive photosystem II-based biosensor for detection of a class of herbicides. *Biotechnology and bioengineering* 60, 664-9 (1998).

Laberge, D., Rouillon, R. & Carpentier, R. Comparative study of thylakoid membranes sensitivity for herbicide detection after physical or chemical immobilization. *Enzyme and microbial technology* 26, 332-336 (2000).

Liu, B. & Lange, F.F. Pressure induced transition between superhydrophobic states: configuration diagrams and effect of surface feature size. *Journal of colloid and interface science* 298, 899-909 (2006).

Mafuné, F., Kohno, J.-ya, Takeda, Y., Kondow, T. & Sawabe, H. Formation and Size Control of Silver Nanoparticles by Laser Ablation in Aqueous Solution. *The Journal of Physical Chemistry B* 104, 9111-9117 (2000).

Mafuné, F., Kohno, J.-ya, Takeda, Y., Kondow, T. & Sawabe, H. Formation of Gold Nanoparticles by Laser Ablation in Aqueous Solution of Surfactant. *The Journal of Physical Chemistry B* 105, 5114-5120 (2001).

Maly, J. et al. Direct mediatorless electron transport between the monolayer of photosystem II and poly(mercapto-p-benzoquinone) modified gold electrode--new design of biosensor for herbicide detection. *Biosensors & bioelectronics* 21, 923-32 (2005).

Oettmeier, W. Herbicide resistance and supersensitivity in photosystem II. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 55, 1255 (1999).

Rouillon, R. Entrapment of chloroplasts and thylakoids in polyvinylalcohol-SbQ. Optimization of membrane preparation and storage conditions. *Analytica Chimica Acta* 311, 437-442 (1995).

Rouillon, R., Piletsky, S.A., Piletska, E.V., Euzet, P. & Carpender, R. Comparison of the Immobilization Techniques for Photosystem II. *Biotechnological Applications of Photosynthetic Proteins: Biochips, Biosensors and Biodevices* 73-83 (2006).

Sakamoto, M., Fujistuka, M. & Majima, T. Light as a construction tool of metal nanoparticles: Synthesis and mechanism. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* 10, 33-56 (2009).

Thompson, M., Ellison, S.L.R. & Wood, R. The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry* 78, 145-196 (2006).

Touloupakis, E. et al. A multi-biosensor based on immobilized Photosystem II on screen-printed electrodes for the detection of herbicides in river water. *Biosensors & bioelectronics* 20, 1984-92 (2005).

Τουλoupάκης, Ε. Ανάπτυξη βιοαισθητήρα που βασίζεται σε φωτοσύστημα για την ανίχνευση ζιζανιοκτόνων. Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης (2006).

Vermaas, W.F.J. & Arntzen, C.J. Synthetic quinones influencing herbicide binding and Photosystem II electron transport. The effects of triazine-resistance on quinone binding properties in thylakoid membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 725, 483-491 (1983).

Κεφάλαιο 8: Συμπεράσματα - Προτάσεις

Στο Κεφάλαιο 8 παρουσιάζεται μια ανασκόπηση στα βασικά αποτελέσματα και συμπεράσματα της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Παράλληλα, γίνονται προτάσεις για περαιτέρω έρευνα στο πεδίο της ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ.

8.1 Συμπεράσματα

Η ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής οδηγεί στην εξαγωγή μιας σειράς συμπερασμάτων σχετικά με την βελτιστοποίηση της τεχνικής μικρο-εναπόθεσης με χρήση Λέιζερ. Επίσης, αναδεικνύεται η δυνατότητα χρήσης της τεχνικής για την μεταβολή των καταστάσεων διαβροχής μιας τραχιάς επιφάνειας. Παράλληλα, παρουσιάζεται μια σειρά από πλεονεκτήματα από την χρήση της τεχνικής LIFT στην ανάπτυξη χημικών και βιολογικών μικρο-αισθητήρων.

Μικρο-εναπόθεση πρότυπων διαλυμάτων με χρήση Λέιζερ - Βελτιστοποίηση της τεχνικής

Για την μελέτη επιλέχθηκαν διαλύματα γλυκερόλης με διαφορετικές τιμές ιζώδους: 60 % γλυκερόλη - 40 % νερό (8.7 mPa s, 25 °C), 40 % γλυκερόλη - 60 % νερό (3.2 mPa s, 25 °C) και 20 % γλυκερόλη - 80 % νερό (1.2 mPa s, 25 °C). Τα πρότυπα αυτά διαλύματα καλύπτουν ένα ρεαλιστικό φάσμα τιμών ιζώδους που απαντώνται στα συνήθη βιολογικά διαλύματα. Διαπιστώθηκε πως η αύξηση στο ιζώδες του διαλύματος προκαλεί αύξηση στην οριακή πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ που οδηγεί στην εναπόθεση σταγόνας. Έτσι για 1.2 mPa s, 3.2 mPa s και 8.5 mPa s οι αντίστοιχες οριακές πυκνότητες ενέργειας είναι 100 mJ/cm², 200 mJ/cm² και 260 mJ/cm². Το εύρος των πυκνοτήτων ενέργειας για το οποίο η εναπόθεση οδηγεί σε ομοιόμορφες κυκλικές σταγόνες, αυξάνεται με αύξηση του ιζώδους του διαλύματος. Για τα 3.2 mPa s καθορίζεται στα 320 mJ/cm² - 520 mJ/cm², ενώ για τα 8.5 mPa s στα 410 mJ/cm² - 975 mJ/cm². Σημειώνεται επίσης η αποτυχία στην εναπόθεση καλά καθορισμένων σταγόνων από το διάλυμα χαμηλού ιζώδους (1.2 mPa). Η τιμή αυτή του ιζώδους αποτελεί το όριο στο οποίο η κινητική ενέργεια της πρόσκρουσης υπερσχύει των δυνάμεων συνοχής του υγρού οδηγώντας σε διασπορά της σταγόνας στο υπόστρωμα. Όπως προέκυψε από τον χαρακτηρισμό των εναποτιθέμενων δομών, με την διαδικασία LIFT υγρής φάσης μπορεί να καλυφθεί ένα μεγάλο εύρος στην διάμετρο (70 μm - 160 μm) και τον όγκο (1 pL - 33 pL) των εναποτιθέμενων σταγόνων για διάμετρο κηλίδας Λέιζερ ίση με 30 μm. Έτσι, με κατάλληλη επιλογή της πυκνότητας ενέργειας του Λέιζερ μπορούν να επιτευχθούν οι επιθυμητές διαστάσεις που καθορίζονται από μια εφαρμογή.

Μεταβάσεις φάσης διαβρεξιμότητας (από υδρόφοβη σε υδρόφιλη συμπεριφορά) επιφανειών με χρήση της τεχνικής LIFT.

Η διαβρεξιμότητα είναι μια από τις σημαντικότερες ιδιότητες μια στερεάς επιφάνειας και υποδηλώνει την δυνατότητά της να παραμένει σε επαφή με ένα υγρό. Η χρήση της τεχνικής LIFT υγρής φάσης κάτω από κατάλληλες συνθήκες, είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της γωνίας επαφής σταγόνων ενός πρότυπου βιολογικού διαλύματος που εναποτέθηκε σε ηλεκτροδίου μεταξοτυπίας υψηλής τραχύτητας. Ως αποτέλεσμα, μια μετάβαση από μια κατάσταση μερικής διαβρεξιμότητας (89.4°) σε μία κατάσταση πλήρους

διαβρεξιμότητας (18.5°) έλαβε χώρα για πυκνότητες ενέργειας του Λέιζερ μεγαλύτερες από 275 mJ/cm^2 . Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η πλήρης διαβρεξιμότητα της επιφάνειας του ηλεκτροδίου είναι αποτέλεσμα της εξαιρετικά γρήγορης εκτόξευσης του υγρού με την τεχνική LIFT ($100 \text{ m/s} - 200 \text{ m/s}$) και δεν μπορεί να αναπαραχθεί με συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης. Το jet υψηλής ταχύτητας με το οποίο επιτυγχάνεται η εναπόθεση του υγρού ασκεί στην επιφάνεια μια πίεση διαβροχής που ξεκινά από 0.3 MPa για τα 125 mJ/cm^2 (25 m/s) και λαμβάνει την μέγιστη τιμή των 11 MPa για τα 350 mJ/cm^2 (150 m/s). Η τιμή της πίεσης των 2 MPa εμφανίζεται να είναι το όριο για το οποίο υπερνικείται η πίεση αντι-διαβροχής και το υγρό εισχωρεί στους πόρους της τραχιάς επιφάνειας. Η πλήρης διαβροχή επιτυγχάνεται για πίεση μεγαλύτερη από 5.8 MPa (275 mJ/cm^2). Η πλήρης αυτή διαβροχή της επιφάνειας είναι ικανή να μεγιστοποιήσει την ακινητοποίηση των βιομορίων του διαλύματος στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου μέσω μηχανισμών φυσικής προσρόφησης. Ο μηχανισμός των αλλαγών φάσης διαβρεξιμότητας παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον τόσο για την ανάπτυξη βιοαισθητήρων όσο και για το πεδίο του χαρακτηρισμού υπερ-υδροβωβικών επιφανειών. Η τεχνική LIFT μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό της σταθερότητάς τους αλλά και για την μελέτη του ενεργειακού κατωφλίου για μεταβάσεις Cassie – Wenzel (υπερ-υδρόφοβη σε υδρόφοβη και υπερ-υδρόφοβη σε υδρόφιλη συμπεριφορά). Η ιδιαίτερα αυξημένη πίεση διαβροχής που αναπτύσσεται με την τεχνική LIFT είναι κατά μία τάξη μεγέθους μεγαλύτερη από αυτές που μπορούν να επιτευχθούν με συμβατικές τεχνικές. Ως αποτέλεσμα, δύναται να γίνει χρήση της τεχνικής LIFT για τον χαρακτηρισμό της σταθερότητας ισχυρά υδροφοβικών επιφανειών, που έχουν αυξημένο ενδιαφέρον για τεχνολογικές εφαρμογές.

Ανάπτυξης χημικών και βιολογικών μικρο-αισθητήρων

Η χρήση της τεχνικής LIFT για την ανάπτυξη των χημικών και βιολογικών μικρο-αισθητήρων αποδείχθηκε ιδανική για την επιλεκτική κάλυψη των μεμβρανών πυριτίου με τα ευαίσθητα πολυμερικά και βιολογικά υλικά. Σημαντικό ρόλο στην επίτευξη επιλεκτικής κάλυψης διαδραματίζει η δυνατότητα έλεγχου του μεγέθους των εναποτιθέμενων δομών, που επιτυγχάνεται με την τεχνική LIFT. Με την χρήση πυκνοτήτων ενέργειας του Λέιζερ από 150 mJ/cm^2 έως και 775 mJ/cm^2 και διάμετρο κηλίδας $30 \mu\text{m}$, επιτυγχάνεται ένα μεγάλο εύρος ($30 \mu\text{m}$ έως και $200 \mu\text{m}$) διαστάσεων των εναποτιθέμενων σταγόνων των πολυμερικών υλικών (PHEMA, PAA και P4VP). Επιπρόσθετα, η εξάρτηση της διαμέτρου των εναποτιθέμενων σταγόνων από την πυκνότητα ενέργειας τείνει να είναι γραμμική, γεγονός που διευκολύνει τις ελεγχόμενες επικαλύψεις των αισθητήρων με πολυμερικά στρώματα. Με χρήση της διάταξης εναπόθεσης και του ενσωματωμένου μικροσκοπίου είναι δυνατή η ευθυγράμμιση των εναποτιθέμενων μικρο-σταγόνων με τα κέντρα των μεμβρανών του αισθητήρα διαμέτρου $150 \mu\text{m}$, $200 \mu\text{m}$ και $250 \mu\text{m}$. Ο χαρακτηρισμός των αισθητήρων χωρητικότητας δίμορφου σχηματισμού πραγματοποιήθηκε για την ανίχνευση υγρασίας και ατμών αιθανόλης σε συγκεντρώσεις 5000 ppm , 10000 ppm , 15000 ppm και 20000 ppm . Η κανονικοποιημένη απόκριση του αισθητήρα για τα διάφορα ποσοστά κάλυψης απέδειξε πως ένα ποσοστό κάλυψης της τάξης του 70% μεγιστοποιεί την απόδοση του αισθητήρα. Η ανάπτυξη των βιολογικών αισθητήρων χωρητικότητας επιτεύχθηκε με την επιλεκτική εναπόθεση ολιγονουκλεοτιδίων στις μεμβράνες. Τα ολιγονουκλεοτίδια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανίχνευσης υβριδοποίησης αλληλουχιών DNA, σχετίζονται με γνωστές μεταλλάξεις χαρακτηριστικές της ασθένειας της μεσογειακής αναιμίας (β -thalassaemia). Ο χαρακτηρισμός των αισθητήρων υπέδειξε τη δυνατότητα ανίχνευσης της υβριδοποίησης DNA με χρήση PCR συγκέντρωσης 36 nM .

Ανάπτυξη φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων – Απευθείας ακινητοποίηση βιολογικού υλικού

Στο πεδίο της ανάπτυξης φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων, η χρήση της τεχνολογίας LIFT ανέδειξε το πολύ σημαντικό πλεονέκτημα της απευθείας ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού (πρωτεϊνών) στην επιφάνεια ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας. Το φαινόμενο αυτό ερμηνεύτηκε με βάση τις παρατηρήσεις για τις μεταβάσεις φάσης διαβροχής επιφανειών αυξημένης τραχύτητας. Η πρόσκρουση του φωτοσυνθετικού υλικού (θυλακοειδής μεμβράνες) με μεγάλη ταχύτητα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου αυξάνει δραματικά την πίεση σε μερικά MPa και οδηγεί σε μια κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας του ηλεκτροδίου. Η απομάκρυνση του αέρα από τους πόρους του ηλεκτροδίου και η εισχώρηση των θυλακοειδών μεμβρανών σε αυτούς, ενισχύει την παγίδευση και την φυσική προσρόφησή τους στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου. Οι αισθητήρες που αναπτύχθηκαν με την τεχνική LIFT σε σύγκριση με προηγούμενες εργασίες προσφέρουν ένα ισχυρό φωτοσυνθετικό σήμα (~ 320 nA), το οποίο συνοδεύεται από ένα εξαιρετικά μεγάλο λόγο σήματος προς θόρυβο. Επίσης, επιτεύχθηκαν χαμηλά όρια ανίχνευσης για τα ζιζανιοκτόνα Diuron και Linuron στην κλίμακα των nM. Το βασικό πλεονέκτημα της τεχνολογίας LIFT που οδήγησε στην ανάπτυξη ενός αισθητήρα βελτιωμένων χαρακτηριστικών, συνίσταται στην εξάλειψη της χρήσης χημικών ή γέλης για την ακινητοποίηση του ενεργού υλικού. Ως αποτέλεσμα, το φωτοσυνθετικό υλικό διατηρεί αναλλοίωτη την φωτοσυνθετική του δράση, ενώ παράλληλα δεν παρεμποδίζεται η πρόσβαση του ηλεκτρονιοδέκτη και του αναλυτή σε αυτό. Σημειώνεται πως η απευθείας ακινητοποίηση βιολογικού υλικού με την χρήση της τεχνικής LIFT επιτεύχθηκε σε εμπορικά διαθέσιμα ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας (screen printed electrodes – SPEs) δίχως περαιτέρω χημική ενεργοποίηση. Τα SPEs έχουν ευρεία εφαρμογή στο πεδίο των αμπερομετρικών αισθητήρων. Η χρήση Λέιζερ για την εξάλειψη του βήματος της χημικής ενεργοποίησης των SPEs αναμένεται να βρει εφαρμογή και σε άλλους τύπους βιολογικών υλικών με δυνητικές εφαρμογές στην τεχνολογία των βιοαισθητήρων.

8.2 Προτάσεις για περαιτέρω έρευνα

Χρονοεξαρτώμενη απεικόνιση της τεχνικής ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ.

Η αποκόλληση υλικού από ένα δείγμα δότη του ακτινοβολείται με Λέιζερ και η μεταφορά του στο υπόστρωμα αποδέκτη είναι μια εξαιρετικά γρήγορη διαδικασία που ολοκληρώνεται σε λίγα μs. Η ανάλυση του μηχανισμού απαιτεί εξαιρετικά γρήγορες τεχνικές απεικόνισης με διακριτική ικανότητα ns. Δύο διαφορετικές τεχνικές επιτυγχάνουν τόσο υψηλή χρονική διακριτική ικανότητα α) Η πρώτη τεχνική βασίζεται σε χρήση συνεχόμενου φωτισμού και κάμερας ταχύτατου κλείστρου (gated-CCD με ταχύτητες ns) β) Η δεύτερη τεχνική βασίζεται στην χρήση ενός ns φωτεινού παλμού (δεύτερη πηγή Λέιζερ ή nano-flash), το οποίο “φωτίζει” ακαριαία το φαινόμενο το οποίο καταγράφεται από μια συμβατική κάμερα. Και στις δύο περιπτώσεις απαιτείται η χρήση πρόσθετων ηλεκτρονικών (φωτοδίοδοι και pulse delay generator). Τεχνικά η υλοποίηση τέτοιου είδους πειραμάτων δεν ήταν εφικτή το διάστημα που πραγματοποιήθηκε η παρούσα διατριβή. Προτείνεται όμως η διεξαγωγή τους για την καλλίτερη κατανόηση του μηχανισμού μικρο-εναπόθεσης με χρήση Λέιζερ. Ειδικότερα, η πραγματοποίηση των πειραμάτων χρονοεξαρτώμενης απεικόνισης θα δώσει την δυνατότητα καταγραφής της μορφολογίας και της ταχύτητας του jet εναπόθεσης. Επιπρόσθετα, δύναται να προσδιοριστεί η χρονική εξέλιξη του θύλακα

πίεσης κατά την ακτινοβολήση του στόχου με το Λέιζερ. Τα δεδομένα αυτά μπορούν να συσχετιστούν με θεωρητικούς υπολογισμούς συμβάλλοντας έτσι στην καλλίτερη κατανόηση των μηχανισμών μικρο-εναπόθεσης και την περαιτέρω βελτιστοποίηση της τεχνικής. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η εφαρμογή της τεχνικής για την παρατήρηση της αλλαγής φάσης διαβροχής μιας τραχιάς επιφάνειας σε πραγματικό χρόνο όπως αναλύεται στην παρακάτω παράγραφο.

Μελέτη των αλλαγών φάσης διαβροχής πρότυπων επιφανειών

Ο βαθμός διαβρεξιμότητας μιας τραχιάς επιφάνειας καθορίζεται από την ισορροπία δύο πιέσεων, της πίεσης αντι-διαβροχής, η οποία οφείλεται στην εγκλωβισμένο αέρα στους πόρους και της πίεσης διαβροχής που προκύπτει από την πρόσκρουση μιας σταγόνας. Η πίεση αντι-διαβροχής εξαρτάται άμεσα και από την φύση της διεπιφάνειας υγρού – στερεού (επιφανειακή τάση, γωνία επαφής) αλλά και από την μορφολογία της επιφάνειας. Ακριβής υπολογισμός της πίεσης αντι-διαβροχής μπορεί να γίνει μόνο για πρότυπες επιφάνειες που εμφανίζουν κανονικές προεξοχές ή εσοχές (σφαιρικές, τετραγωνικές, ημισφαιρικές) σταθερών διαστάσεων και περιοδικότητας. Τέτοιες επιφάνειες μπορούν να κατασκευαστούν εύκολα με την τεχνική της λιθογραφίας. Για την καλλίτερη κατανόηση των μηχανισμών αλλαγής φάσεων διαβροχής που επιτυγχάνεται με την τεχνική LIFT προτείνεται ο σχεδιασμός και ο χαρακτηρισμός μια σειράς πρότυπων επιφανειών. Η υλοποίηση του πειράματος χρονοεξαρτώμενης απεικόνισης που έχει ήδη περιγραφεί μπορεί να οδηγήσει στον ακριβή υπολογισμό της πίεσης διαβροχής που προκαλεί το jet (μέτρηση ταχύτητας) αλλά και την εξάρτησή της από την πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ. Επομένως, ο σχεδιασμός των πρότυπων επιφανειών πρέπει να γίνει βάσει των παραπάνω πειραμάτων. Στόχος θα πρέπει να είναι η κάλυψη ενός εύρους πιέσεων αντι-διαβροχής όμοιου με το εύρος των πιέσεων διάβροχης που επιτυγχάνονται με την εναπόθεση με χρήση της τεχνικής LIFT. Οι μετρήσεις της διαβρεξιμότητας τέτοιων επιφανειών για διαφορετικές συνθήκες της παλμικής ακτινοβολίας Λέιζερ μπορούν να οδηγήσουν σε πληρέστερη κατανόηση αλλά και απεικόνιση του μηχανισμού μεταβάσεων φάσης. Επιπρόσθετα, τέτοιου είδους επιφάνειες, ιδιαίτερα οι υπε-υδρόφοβες που εμφανίζουν αυξημένο τεχνολογικό ενδιαφέρον μπορούν να χαρακτηριστούν ως προς την σταθερότητα της υπερ-υδροφοβικής τους φάσης.

Παράρτημα

ΠΙΝΑΚΑΣ Ι: Πειραματικές συνθήκες για την εναπόθεση διαλυμάτων γλυκερόλης

Date	Experiment	Substrate	LIFT-ed solution	Target	Coating process	Mass on target (μL)	Estimated thickness	Laser beam size (μm)	Sub - Target distance (μm)	Angle	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm ²)	Total droplets	Viscosity
14/5/2010	MS_LIFT_17_1	SiO ₂ /Si	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	108	11,216	1246	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_2	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	106	10,661	1185	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_3	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	104	8,773	975	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_4	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	103	7,996	888	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_5	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	102	6,996	777	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_6	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	101	5,941	660	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_7	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	100	5,386	598	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_8	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	98	4,831	537	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_9	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	94	3,665	407	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_10	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	93	2,310	257	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_11	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	92	1,377	153	1x12	8,48

Date	Experiment	Substrate	LIFT-ed solution	Target	Coating process	Mass on target (μL)	Estimated thickness	Laser beam size (μm)	Sub - Target distance (μm)	Angle	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm^2)	Total droplets	Viscosity
14/5/2010	MS_LIFT_17_12	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	91	0,777	86	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_13	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	90	0,444	49	1x12	8,48
14/5/2010	MS_LIFT_17_14	Glass	60% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	10	17,61	30,00	200	89	0,311	35	1x12	8,48
17/5/2010	MS_LIFT_24_1	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	108	8,784	976	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_2	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	106	8,349	928	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_3	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	104	6,870	763	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_4	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	103	6,262	696	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_5	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	102	5,479	609	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_6	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	101	4,653	517	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_7	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	100	4,218	469	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_8	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	98	3,783	420	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_9	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	94	2,870	319	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_10	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	93	1,809	201	1x12	3,21

Date	Experiment	Substrate	LIFT-ed solution	Target	Coating process	Mass on target (μL)	Estimated thickness	Laser beam size (μm)	Sub - Target distance (μm)	Angle	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm^2)	Total droplets	Viscosity
17/5/2010	MS_LIFT_24_11	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	92	1,078	120	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_12	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	91	0,609	68	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_13	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	90	0,348	39	1x12	3,21
17/5/2010	MS_LIFT_24_14	Glass	40% glycerol (w/w), 2mg/ml SDS	Ti (40nm) on quartz	blade coating	8	14,76	30,00	200	89	0,244	27	1x12	3,21

ΠΙΝΑΚΑΣ II: Πειραματικές συνθήκες για την εναπόθεση του φωτοσυνθετικού υλικού στα ηλεκτρόδια μεταξοτυπίας

Date	Experiment	Substrate	Thylacoid solution (stock) (mg/mL)	LIFT-ed solution	Target	Volume on target (μL)	Laser beam diameter (μm)	Sub - Target distance (μm)	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm ²)	Pattern	Total droplets	Estimated diameter (μm)	Thylakoid volume 10 x (A irradiated/ A target) μL	Thylakoid mass (μgr)
16/6/2010	AuLT_3	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x11	121	150	0,00697	0,01770
16/6/2010	AuLT_4	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	6x6	36	150	0,00207	0,00527
17/6/2010	AuLT_5	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
17/6/2010	AuLT_6	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
17/6/2010	AuLT_7	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
17/6/2010	AuLT_8	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
17/6/2010	AuLT_9	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	8x8	64	150	0,00369	0,00936
17/6/2010	AuLT_10	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	6x6	36	150	0,00207	0,00527
17/6/2010	AuLT_11	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	10x10	100	150	0,00576	0,01463
18/6/2010	AuLT_12	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Gold (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
18/6/2010	AuLT_13	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
18/6/2010	AuLT_14	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Gold (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931

Date	Experiment	Substrate	Thylacoid solution (stock) (mg/mL)	LIFT-ed solution	Target	Volume on target (μL)	Laser beam diameter (μm)	Sub - Target distance (μm)	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm ²)	Pattern	Total droplets	Estimated diameter (μm)	Thylakoid volume 10 x (A irradiated/ A target) μL	Thylakoid mass (μgr)
18/6/2010	AuLT_15	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Gold (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
18/6/2010	AuLT_16	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Gold (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
18/6/2010	AuLT_17	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Gold (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
22/6/2010	AuLT_18	DS Au electrode	2,54	2,54	Failed										
22/6/2010	AuLT_19	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	11x12	132	150	0,00760	0,01931
22/6/2010	AuLT_20	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14x14	196	150	0,01129	0,02868
22/6/2010	AuLT_21	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	16x16	256	150	0,01475	0,03745
22/6/2010	AuLT_22	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	10x10	100	150	0,00576	0,01463
22/6/2010	AuLT_23	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	8x8	64	150	0,00369	0,00936
22/6/2010	AuLT_24	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	6x6	36	150	0,00207	0,00527
23/6/2010	AuLT_26	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	70:30 (v/v) thylacoid:PEDOT:PSS	Ti (40nm) on quartz	15	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02007
23/6/2010	AuLT_28	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	70:30 (v/v) thylacoid:buffer	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02007

Date	Experiment	Substrate	Thylacoid solution (stock) (mg/mL)	LIFT-ed solution	Target	Volume on target (μL)	Laser beam diameter (μm)	Sub - Target distance (μm)	Energy (μJ)	Energy density (mJ/cm ²)	Pattern	Total droplets	Estimated diameter (μm)	Thylakoid volume 10 x (A irradiated/ A target) μL	Thylakoid mass (μgr)
23/6/2010	AuLT_29	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	70:30 (v/v) thylacoid:buffer	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02007
23/6/2010	AuLT_30	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02868
23/6/2010	AuLT_31	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	2,54	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02868
23/6/2010	AuLT_32	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	90:10 (v/v) thylacoid:20 nm Au NPs stock	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02581
23/6/2010	AuLT_33	DS Au electrode (1.6mm)	2,54	90:10 (v/v) thylacoid:20 nm Au NPs stock	Ti (40nm) on quartz	10	60	200	13,51	478	14X14	196	150	0,01129	0,02581

Περίληψη

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετάται η αλληλεπίδραση παλμικής ακτινοβολίας (ns) Λέιζερ και οργανικών υλικών για την ανάπτυξη εντοπισμένων μικρο-δομών με υψηλή χωρική διακριτική ακρίβεια. Η ανάπτυξη των οργανικών μικρο-δομών υλοποιείται με μια πρωτότυπη τεχνική εκτύπωσης με χρήση παλμών Λέιζερ (Laser Induced Forward Transfer – LIFT) στο υπεριώδες φάσμα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Η τεχνική της εναπόθεσης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ εφαρμόστηκε για την ανάπτυξη τριών διαφορετικών τύπων μικρο-αισθητήρων.

Αρχικά, η τεχνική της ανάπτυξης μικρο-δομών με χρήση Λέιζερ μελετήθηκε και βελτιστοποιήθηκε για την εναπόθεση πρότυπων οργανικών διαλυμάτων με μεταβλητό ιξώδες. Για την μελέτη επιλέχθηκαν διαλύματα γλυκερόλης με διαφορετικές τιμές ιξώδους από 1.2 mPa s έως και 8.5 mPa s. Διαπιστώθηκε πως η αύξηση στο ιξώδες του διαλύματος προκαλεί αύξηση στην οριακή πυκνότητα ενέργειας του Λέιζερ που οδηγεί στην εναπόθεση σταγόνας. Έτσι για 1.2 mPa s, 3.2 mPa s και 8.5 mPa s οι αντίστοιχες οριακές πυκνότητες ενέργειας είναι 100 mJ/cm², 200 mJ/cm² και 260 mJ/cm². Βρέθηκε ότι το εύρος των πυκνοτήτων ενέργειας για το οποίο η εναπόθεση οδηγεί σε ομοιόμορφες κυκλικές σταγόνες, αυξάνει με τη αύξηση του ιξώδους του διαλύματος. Για τα 3.2 mPa s καθορίζεται στα 320 mJ/cm² - 520 mJ/cm², ενώ για τα 8.5 mPa s στα 410 mJ/cm² - 975 mJ/cm². Ο χαρακτηρισμός των εναποτιθέμενων δομών απέδειξε πως χρησιμοποιώντας την τεχνική LIFT υγρής φάσης μπορεί να επιτευχθεί ένα μεγάλο εύρος στην διάμετρο (70 μm – 160 μm) και τον όγκο (1 pL – 33 pL) των εναποτιθέμενων σταγόνων για διάμετρο κηλίδας Λέιζερ ίση με 30 μm.

Η χρήση της τεχνικής LIFT υγρής φάσης κάτω από κατάλληλες συνθήκες είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της γωνίας επαφής των σταγόνων ενός πρότυπου βιολογικού διαλύματος που εναποτέθηκαν σε επιφάνειες υψηλής τραχύτητας. Ως αποτέλεσμα, έλαβε χώρα μια μετάβαση φάσης από μια κατάσταση μερικής διαβρεξιμότητας (89.4°) σε μία κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας (18.5°) για πυκνότητες ενέργειας του Λέιζερ μεγαλύτερες από 275 mJ/cm². Είναι σημαντικό να αναφερθεί πως η πλήρης διαβρεξιμότητα της επιφάνειας του ηλεκτροδίου, είναι αποτέλεσμα της εξαιρετικά γρήγορης εκτόξευσης του υγρού με την τεχνική LIFT (100 m/s – 200 m/s) και δεν μπορεί να αναπαραχθεί με συμβατικές τεχνικές εναπόθεσης. Το jet υψηλής ταχύτητας με το οποίο επιτυγχάνεται η εναπόθεση του υγρού ασκεί στην επιφάνεια μια πίεση διαβροχής που ξεκινά από 0.3 MPa για τα 125 mJ/cm² (25 m/s) και λαμβάνει την μέγιστη τιμή των 11 MPa για τα 350 mJ/cm² (150 m/s). Η τιμή της πίεσης των 2 MPa εμφανίζεται να είναι το όριο για το οποίο υπερνικείται η πίεση αντι-διαβροχής και το υγρό εισχωρεί στους πόρους της τραχιάς επιφάνειας. Η πλήρης διαβροχή επιτυγχάνεται για πίεση μεγαλύτερη από 5.8 MPa (275 mJ/cm²).

Για την ανάπτυξη χημικών αισθητήρων εναποτέθηκαν επιλεκτικά μικρο-δομές πολυμερών στην επιφάνεια μικρομηχανικών αισθητήρων χωρητικότητας. Σημαντικό ρόλο στην επίτευξη επιλεκτικής κάλυψης των αισθητήρων διαδραματίζει η δυνατότητα ελέγχου του μεγέθους των εναποτιθέμενων δομών που επιτυγχάνονται με την τεχνική LIFT. Με την χρήση πυκνοτήτων ενέργειας του Λέιζερ από 150 mJ/cm² έως και 775 mJ/cm² και διάμετρο κηλίδας 30 μm, επιτυγχάνεται ένα μεγάλο εύρος (30 μm έως και 200 μm) για τις διαστάσεις των εναποτιθέμενων σταγόνων των πολυμερικών υλικών (PHEMA, PAA και P4VP). Οι αισθητήρες χωρητικότητας δίμορφου σχηματισμού που αναπτύχθηκαν χαρακτηρίστηκαν ως προς την ανίχνευση υγρασίας και ατμών αιθανόλης σε συγκεντρώσεις 5000 ppm, 10000

ppm, 15000 ppm και 20000 ppm. Η κανονικοποιημένη απόκριση του αισθητήρα για τα διάφορα ποσοστά κάλυψης απέδειξε πως ένα ποσοστό κάλυψης της τάξης του 70% μεγιστοποιεί την απόδοση του αισθητήρα.

Η ανάπτυξη των βιολογικών αισθητήρων χωρητικότητας επιτεύχθηκε με την επιλεκτική εναπόθεση ολιγονουκλεοτιδίων στις μεμβράνες του μικρομηχανικού αισθητήρα χωρητικότητας. Τα ολιγονουκλεοτίδια που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα ανίχνευσης υβριδοποίησης αλληλουχιών DNA, σχετίζονται με γνωστές μεταλλάξεις χαρακτηριστικές της ασθένειας της μεσογειακής αναιμίας (β-thalassaemia). Ο χαρακτηρισμός των αισθητήρων υπέδειξε τη δυνατότητα ανίχνευσης της υβριδοποίησης DNA με χρήση PCR συγκέντρωσης 36 nM.

Στο πεδίο της ανάπτυξης φωτοσυνθετικών βιοαισθητήρων, η χρήση της τεχνολογίας LIFT ανέδειξε το πολύ σημαντικό πλεονέκτημα της απευθείας ακινητοποίησης φωτοσυνθετικού υλικού (πρωτεϊνών) στην επιφάνεια ηλεκτροδίων μεταξοτυπίας. Το φαινόμενο αυτό ερμηνεύτηκε με βάση τις παρατηρήσεις για τις μεταβάσεις φάσης διαβροχής επιφανειών αυξημένης τραχύτητας. Η πρόσκρουση του φωτοσυνθετικού υλικού (θυλακοειδής μεμβράνες) με μεγάλη ταχύτητα στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου αυξάνει δραματικά την πίεση σε μερικά MPa και οδηγεί σε μια κατάσταση πλήρους διαβρεξιμότητας του ηλεκτροδίου. Οι αισθητήρες που αναπτύχθηκαν με την τεχνική LIFT σε σύγκριση με προηγούμενες εργασίες προσφέρουν ένα ισχυρό φωτοσυνθετικό σήμα (~ 320 nA), το οποίο συνοδεύεται από ένα εξαιρετικά μεγάλο λόγο σήματος προς θόρυβο. Επίσης, επιτεύχθηκαν χαμηλά όρια ανίχνευσης για τα ζιζανιοκτόνα Diuron και Linuron στην κλίμακα των nM. Το βασικό πλεονέκτημα της τεχνολογίας LIFT που οδήγησε στην ανάπτυξη ενός αισθητήρα βελτιωμένων χαρακτηριστικών, συνίσταται στην εξάλειψη της χρήσης χημικών ή γέλης για την ακινητοποίηση του ενεργού υλικού.

Laser organic materials interactions for micro-sensors applications

PhD Thesis by Christos Boutopoulos

Summary

In this PhD Thesis the interaction of nanosecond laser pulses with organic materials was investigated for the selective deposition of micro-patterns with a high spatial resolution. The selective deposition of the materials was carried out by using a novel laser printing technique named Laser Induced Forward Transfer (LIFT). LIFT was employed for studding micro-deposition of model organic solutions and wetting state transitions of rough surfaces. The technique was also applied for the development of three different types of micro-sensors.

At the first part of this study, selective deposition of micro-droplets was investigated and optimized by using glycerol based organic solutions of different viscosity. The viscosity of the glycerol based solutions was varied from 1.2 mPa s to 8.5 mPa s. As the viscosity of the solutions is increased there is an increase to laser threshold fluence which is needed for the droplets ejection. The laser threshold energy for droplets ejection was defined to be 100 mJ/cm², 200 mJ/cm² and 260 mJ/cm² for viscosity values of 1.2 mPa s, 3.2 mPa s and 8.5 mPa s, respectively. The increase of the viscosity of the solutions resulted in an increase to the effective range of laser fluence, which could be defined as the laser fluence range that leads to the deposition of uniform droplets. The effective laser fluence range was found to be 320 mJ/cm² - 520 mJ/cm² and 410 mJ/cm² - 975 mJ/cm² for viscosity values of 3.2 mPa s and 8.5 mPa s, respectively. Optical microscopy characterization has shown that the diameter of the deposited droplets could be ranged from 70 μm to 160 μm (volume range 1pL to 33 pL) by using a laser spot size of 30 μm.

The use of LIFT for the deposition of liquid biomaterial droplets onto rough receiving substrates revealed the possibility of decreasing the contact angle of the droplets compared to conventional printing techniques. A wetting phase transition from a partial wetting state (89.4°, conventional pipette printing) to a complete wetting state (18.5°, LIFT) was observed for the deposition of biomaterial droplets onto a rough receiving electrode with laser pulse energy larger than 275 mJ/cm². The effect takes place due to the high velocity transfer (100 m/s – 200 m/s) of the liquid droplets onto the receiving substrate and could not be reproduced by conventional printing techniques. The mechanism of the droplets deposition is based on the formation of a high velocity liquid jet (10 m/s – 300 m/s) that induces a high wetting pressure onto the surface of the electrode. The wetting pressure was calculated to be 0.3 MPa for low velocity transfer (25 m/s) at 125 mJ/cm² and 11 MPa for high velocity transfer (150 m/s) at 350 mJ/cm². A wetting pressure of 5.8 MPa (275 mJ/cm²) was found to be the threshold for the transition to a complete wetting state of the surface.

Chemical micro-sensors were developed by using LIFT for the selective deposition of polymer layers (PHEMA, PAA and P4VP) onto the sensing sites (silicon membranes) of a capacitive micromechanical sensor. The diameter of the laser printed polymer layers was ranged from 30 μm to 200 μm for a laser spot size of 30 μm. The flexibility of the technique enabled partial coverage of the membranes with the polymer materials. The normalized response of the sensor to water vapour revealed that a partial coverage of 70 % percent optimizes its sensitivity. Following this result, chemical sensors were developed by LIFT and

characterized for the detection of water and ethanol vapour for a concentration range from 5000 ppm to 20000 ppm.

Biological micro-sensors were developed by using the LIFT technique for the deposition of oligonucleotides related to the β -thalassaemia disease onto of the capacitive micromechanical sensor. The sensors were then used for the detection of DNA hybridization using low concentration (36 nM) PCR product.

The use of LIFT for the development of a photosynthetic amperometric biosensor revealed a significant advantage of the technology. Direct immobilization of the photosynthetic material (proteins) onto the surface of the sensors was achieved without using chemical linkers. The effect is attributed to the wetting phase transition of the rough surface of the electrode due to the LIFT process. The ejected droplets induce high impact pressure on the sensor surface, which is calculated a few MPa. This pressure is higher to the barrier which is needed in order to transit from a partial to a complete wetting state. As a result of this wetting state transition, physical adsorption of the biomaterial on the electrode surface is enhanced. The photosynthetic sensors presented high photocurrent activity (~ 320 nA) combined with and high signal to noise ratio. By using the developed sensors, two widely used pesticides (Linuron and Diuron) were detected in the nM concentration range. LIFT enabled the development of an advanced photosynthetic sensor due to the direct immobilization method that eliminates surface functionalization of the electrode. Current immobilization technologies involve the use of chemical or gels that that are usually harmful for delicate biomaterials such as photosynthetic proteins.

Δημοσιοποίηση αποτελεσμάτων

Η ερευνητική δραστηριότητα του κ. Χ. Μπουτόπουλου, στα πλαίσια της παρούσας διδακτορικής διατριβής, οδήγησε στην δημοσιοποίηση των αποτελεσμάτων με τις παρακάτω δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά, πρακτικά διεθνών συνεδρίων, παρουσιάσεις διεθνή συνέδρια (ομιλίες ή αφίσες) και διπλώματα ευρεσιτεχνίας:

I. Δημοσιεύσεις σε διεθνή περιοδικά

- J1.** V. Tsouti, M. Filippidou, **C. Boutopoulos**, P. Broutas, I. Zergioti and S. Chatzandroulis, "*Self-Aligned Process for the Development of Surface Stress Capacitive Biosensor Arrays*", submitted for publication in Sens. Actuators B: Chem. (2011).
- J2.** E. Touloupakis, **C. Boutopoulos**, K. Buonasera, I. Zergioti and M.T. Giardi, "*Enhanced photosynthetic electron generation induced by laser printing technology*", submitted for publication in Analytical & Bioanalytical Chemistry (2011).
- J3.** S. Chatzandroulis, V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, M. Ioannou, D. Goustouridis, D. Kafetzopoulos, I. Zergioti, D. Tsoukalas, P. Normand, "*Evaluation of Capacitive Surface Stress BioSensors*", Microelectron. Eng., 10.1016/j.mee.2011.05.027 (2011).
- J4.** V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, I. Zergioti, S. Chatzandroulis, "*Capacitive Microsystems for Biological Sensing*", Biosens. Bioelectron., **27** 1-11 (2011).
- J5.** **C. Boutopoulos**, E. Touloupakis, I. Pezzotti, M. T. Giardi, and I. Zergioti, "*Direct laser immobilization of photosynthetic material on screen printed electrodes for amperometric biosensor*", Appl. Phys. Lett., **98** 093703 (2011).
(Also appeared in *Virtual Journal of Biological Physics Research*, Volume 21, Issue 5, March 2011)
- J6.** V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, P. Andreakou, M. Ioannou, I. Zergioti, D. Goustouridis, D. Kafetzopoulos, D. Tsoukalas, P. Normand, S. Chatzandroulis, "*Detection of DNA mutations using a capacitive micro-membrane array*", Biosens. Bioelectron. **26** (4), 1588-1592 (2010).
- J7.** V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, D. Goustouridis, I. Zergioti, P. Normand, D. Tsoukalas, S. Chatzandroulis, "*A chemical sensor microarray realized by laser printing of polymers*", Sens. Actuators B: Chem., **150** 148-153 (2010).
- J8.** **C. Boutopoulos**, C. Pandis, K. Giannakopoulos, P. Pissis, and I. Zergioti, "*Polymer/carbon nanotube composite patterns via laser induced forward transfer*", Appl. Phys. Lett., **96** 041104 (2010).
(Also appeared in *Virtual Journal of Nanoscale Science & Technology*, Volume 21, Issue 6, Feb. 2010)
- J9.** V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, P. Andreakou, M. Ioannou, I. Zergioti, D. Goustouridis, D. Kafetzopoulos, D. Tsoukalas, P. Normand, S. Chatzandroulis, "*Detection of the Biotin-Streptavidin interaction by exploiting surface stress changes on ultrathin Si membranes*", Microelectron. Eng., **86** 1495-1498 (2009).
- J10.** **C. Boutopoulos**, V. Tsouti, D. Goustouridis, S. Chatzandroulis and I. Zergioti, "*Liquid phase direct laser printing of polymers for chemical sensing applications*", Appl. Phys. Lett., **19** 191109 (2008).
- J11.** **C. Boutopoulos**, P. Andreakou, D. Kafetzopoulos, S. Chatzandroulis and I. Zergioti, "*Direct laser printing of biotin microarrays on Low Temperature Oxide on Si substrates*", Phys. Stat. Sol. (a), **205** 2505-2508 (2008).

II. Δημοσιεύσεις σε πρακτικά διεθνών συνεδρίων

- C1. C. Boutopoulos**, E. Touloupakis, I. Pezzotti, M. T. Giardi, and I. Zergioti, "*Laser immobilization of photosynthetic material on Screen Printed Electrodes*," in *CLEO:2011 - Laser Applications to Photonic Applications, OSA Technical Digest (CD) (Optical Society of America, 2011), paper CWE4*.
- C2.** S. Chatzandroulis, V. Tsouti, D. Goustouridis, P. Normand, **C. Boutopoulos**, I. Zergioti, D. Tsoukalas, M. Ioannou, D. Kafetzopoulos, J. Hue, R. Rousier, "*Sensitivity investigations of surface stress capacitive DNA sensor*", Proceedings of IEEE Sensors, art. no. 5690309, pp. 1554-1557 (2010).
- C3.** Tsouti, V. Goustouridis, D. Chatzandroulis, S. Normand, P. Andreakou, P. Ioannou, M. Kafetzopoulos, D. **Boutopoulos**, C. Zergioti, I. Tsoukalas, D. Hue, J. Rousier, R., "*A capacitive biosensor based on ultrathin Si membranes*", Proceedings of IEEE Sensors, art. no. 4716421, pp. 223-226 (2008).
- C4.** V. Tsouti, **C. Boutopoulos**, S. Chatzandroulis, D. Goustouridis, I. Zergioti, P. Normand, D. Tsoukalas, "*A chemical sensor array based on Si/Polymer bimorphs*", in Proceedings of EUROSENSORS, Dresden, Germany, September 07-10, 2008.

III. Προφορικές παρουσιάσεις σε διεθνή συνέδρια

- O1.C. Boutopoulos**, M. Filippidou, V. Tsouti, D. Kafetzopoulos, S. Chatzandroulis, I. Zergioti, "*Laser printing of oligonucleotides on a micro-membrane array for DNA mutations detection*", oral talk in the 4th International Conference "Micro&Nano2010", Athens, Greece, December 12-15, 2010.
- O2.C. Boutopoulos**, C. Pandis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, P. Pissis, I. Zergioti, "*Laser printing of polymers and carbon nanotube-polymer nanocomposites for chemical sensing applications*", oral talk in the ICO International Conference (PHOTONICS 2009), Delphi, Greece, September 7-9, 2009.
- O3.C. Boutopoulos**, C. Pandis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, P. Pissis, and I. Zergioti, "*Direct laser printing of polymers for gas sensing applications*", oral talk in the 1st International Conference on Nanostructured Materials and Nanocomposites (ICNM-2009), Kottayam, India, April 6-8, 2009
- O4.C. Boutopoulos**, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, D. Goustouridis, and I. Zergioti, "*Direct laser printing of polymers for chemical sensing applications*", oral talk in the 16th international conference on Advanced Laser Technologies (ALT08), Siofok, Hungary, September 13-18, 2008.

IV. Παρουσιάσεις αφίσας σε διεθνή συνέδρια

- P1. C. Boutopoulos**, C. Pandis, P. Pissis, I. Zergioti, "*Direct laser printing of polymer/CNT nanocomposites for gas sensing applications*", poster presentation in the symposium R, EMRS 2010 Spring Meeting, Strasbourg, France, June 7 - June 11, 2010.
- P2. C. Boutopoulos**, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, D. Goustouridis, P. Normand, D. Tsoukalas, and I. Zergioti, "*Direct laser printing of polymer materials for chemical sensing applications*", poster presentation in the 34th International Conference on Micro and Nano Engineering (MNE08), Athens, Greece, September 15-18, 2008.

P3. C. Boutopoulos, P. Andreakou, S. Chatzandroulis, D. Goustouridis, D. Kafetzopoulos, D. Tsoukalas & I. Zergioti, "*Direct laser printing of biomaterial microarrays on Si and LTO/Si substrates*", poster presentation in the Third International Conference "Micro&Nano2007", Athens, Greece, November 18-21, 2007.

V. Διπλώματα ευρεσιτεχνίας

P1. "*Biosensor by monitoring magnetically induced capacitance changes*" D. Kafetzopoulos, P. Andreakou, S. Chatzandroulis, D. Goustouridis, **C. Boutopoulos**, I. Zergioti, P. Normand, and D. Tsoukalas, GR Patent No. 1006438 (16-JUN-2009).