



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
Σχολή Εφαρμοσμένων Μαθηματικών και
Φυσικών Επιστημών
Τομέας Φυσικής

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιοχημικοί Αισθητήρες Νανοσωματιδίων

Κατσαμπρόκου Κάριν

Υπεύθυνος Καθηγητής: Τσουκαλάς Δημήτριος

ΑΘΗΝΑ 2013

Copyright © 2013

Κατσαμπρόκου Κάριν, Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος, All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω για τη βοήθεια τους:

Τον υπεύθυνο επιβλέπων καθηγητή μου κ. Τσουκαλά Δημήτριο.

Τον Υ.Δ. Σκοτάδη Ευάγγελο για την καθοδήγηση του κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Τους ερευνητές κ. Χατζανδρούλη Σταύρο και κ. Τσούτη Βασιλική του ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος» για την βοήθεια τους κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας των χημικών αισθητήρων.

Την Επ. Καθηγήτρια κ. Ζεργιώτη Ιωάννα και την Υ.Δ. Χατζηπέτρου Μαριανέζα για την βοήθεια τους στην πειραματική διαδικασία των βιολογικών αισθητήρων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου που χωρίς την υποστήριξη τους τίποτα δεν θα ήταν εφικτό.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα διπλωματική εργασία ασχολείται με τη δημιουργία και τον χαρακτηρισμό αισθητήρων με νανοσωματίδια πλατίνας. Συγκεκριμένα, μελετώνται δύο διαφορετικά είδη αισθητήρων, από τη μία εύκαμπτοι χημικοί αισθητήρες που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση ατμών υγρασίας και αιθανόλης και από την άλλη βιολογικοί αισθητήρες που ανιχνεύουν συγκεκριμένες ακολουθίες βιολογικού υλικού (ολιγονουκλεοτίδια).

Αρχικά γίνεται μια εισαγωγή στα νανοσωματίδια και στις ιδιαίτερες ιδιότητες που αυτά επιδεικνύουν, δίνοντας έμφαση σε αυτές που συναντήσαμε και κατά τη διάρκεια των πειραματικών διαδικασιών. Αναφέρονται συνοπτικά διάφορες τεχνικές παραγωγής νανοσωματιδίων και αναλύεται συγκεκριμένα η μέθοδος παραγωγής νανοσωματιδίων μέσω της μαγνητικής ιοντοβολής που χρησιμοποιήσαμε.

Στη συνέχεια γίνεται εκτενής αναφορά σε μια άλλη μέθοδο εναπόθεσης υλικών, την εκτύπωση μέσω ψεκασμού σταγόνας (ink-jet). Αν και η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την εναπόθεση νανοσωματιδίων, στην περίπτωση μας χρησιμοποιήθηκε για την εναπόθεση πολυμερούς PHEMA στους χημικούς αισθητήρες και την εκτύπωση βιολογικού υλικού στους βιολογικούς αισθητήρες. Παρατίθενται λεπτομέρειες των παραπάνω εναποθέσεων καθώς και οπτικό υλικό.

Στο κύριο μέρος της εργασίας αναλύονται ξεχωριστά οι δύο τύποι των αισθητήρων. Και για τους δύο τύπους, η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει τον ηλεκτρικό χαρακτηρισμό (I-V) εύκαμπτων υποστρωμάτων πολυιμιδίου ή δισκιδίων πυριτίου με ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού και ένα στρώμα από νανοσωματίδια πλατίνας. Στους εύκαμπτους χημικούς αισθητήρες, η πειραματική διαδικασία περιλαμβάνει εναπόθεση πολυμερούς PHEMA πάνω από στρώμα νανοσωματιδίων πλατίνας σε υπόστρωμα πολυιμιδίου και τον χαρακτηρισμό των αισθητήρων σε περιβάλλον με ατμούς υγρασίας και αιθανόλης σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, με την παράλληλη μέτρηση των αποκρίσεων ηλεκτρικής

αντίστασης και χωρητικότητας. Για τους βιολογικούς αισθητήρες περιγράφεται η διαδικασία σιλιανοποίησης τους, η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων με εκτύπωση inkjet, πιπέτας και LIFT, η επιβεβαίωση της πρόσδεσης των ολιγονουκλεοτιδίων και της υβριδοποίησης τους μέσω φθορισμού και τέλος η ανίχνευση του βιολογικού αναλυτή μέσω αλλαγής στην αντίσταση του αισθητήρα.

ABSTRACT

This diploma thesis describes the fabrication and characterization of sensing devices with platinum nanoparticles. Namely, two different types of sensors are studied, flexible chemical gas sensors which are used for the detection of humidity and ethanol vapors and biological sensors which detect specific sequences of DNA (oligonucleotides).

Firstly, an introduction is made to the specific properties nanoparticles exhibit and especially to those involved in our experimental processes of the sensors. Also, we briefly refer to several nanoparticle synthesis techniques from the vapor phase and we further analyze magnetron sputtering technique which we used for the deposition of platinum nanoparticles.

The inkjet printing method is also analyzed. Although this method can be used for the deposition of nanoparticles as well, in our experimental processes was used for the deposition of PHEMA polymer on the chemical sensors and DNA on the biological sensors. Details of the depositions and optical material are demonstrated.

In the main part of the thesis, the two types of sensors are described in detail, separately. Both experimental processes include the electrical characterization (I-V) of flexible polyimide substrates and silicon wafers with gold interdigitated electrodes and a platinum nanoparticle layer. The experimental process of the flexible chemical sensors consists of the deposition of PHEMA polymer on top of a layer of platinum nanoparticles on the polyimide substrate and their response to humidity and ethanol vapors in different concentrations, which is determined as an increase in the electrical resistance and capacitance of the sensor. The experimental process of the biological sensors include a silane process, the deposition of DNA oligonucleotides using inkjet printing, pipette or LIFT and finally the sensing of the target DNA through hybridization which is observed both by fluorescence and measurements of the electrical resistance.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	4
Περιεχόμενα.....	7
Κεφάλαιο 1: Νανοσωματίδια	
1.1 Ιδιότητες των Νανοσωματιδίων.....	9
1.2 Μοντέλο Αγωγιμότητας Νανοσωματιδίων.....	11
1.3 Παραγωγή νανοσωματιδίων πλατίνας μέσω Μαγνητικής Ιοντοβολής (Magnetron Sputtering).....	14
Κεφάλαιο 2 : Μέθοδος εκτύπωσης μέσω ψεκασμού σταγόνας (Inkjet)	
2.1 Περιγραφή Διάταξης.....	18
2.2 Τρόπος λειτουργίας του μικρο-δοσομετρητή.....	20
2.3 Εκτύπωση πολυμερούς.....	21
2.4 Εκτύπωση βιολογικού υλικού.....	23
Κεφάλαιο 3: Χημικοί Αισθητήρες	
3.1 Εισαγωγή.....	30
3.2 Κατασκευή των αισθητήρων.....	30
3.3 Πειραματική Διάταξη και Διαδικασία.....	32
3.4 Ηλεκτρική Αντίσταση.....	35
3.4.1 Μηχανισμοί Αγωγιμότητας.....	35
3.4.2 Αρχή Λειτουργίας.....	36
3.4.3 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων.....	37
3.5 Χωρητικότητα.....	43
3.5.1 Θεωρητική Προσέγγιση.....	43
3.5.2 Αρχή Λειτουργίας.....	46
3.5.3 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων.....	46
3.6 Συμπεράσματα.....	48

Κεφάλαιο 4: Βιολογικοί αισθητήρες

4.1	Εισαγωγή.....	52
4.2	Θεωρητική Προσέγγιση.....	52
4.3	Κατασκευή αισθητήρων.....	54
4.4	Πειραματική Διαδικασία.....	56
4.5	Παρουσίαση Αποτελεσμάτων.....	57
4.5.1	Εικόνες Φθορισμού.....	57
4.5.2	Επίδραση του διαλύτη στη μεταβολή της αντίστασης.....	61
4.5.3	Υβριδοποίηση.....	64
4.6	Συμπεράσματα.....	69

Κεφάλαιο 1







Νανοσωματίδια

1.1 Ιδιότητες των Νανοσωματιδίων

Στη φυσική ως σωματίδιο ορίζεται ένα μικρό αντικείμενο το οποίο συμπεριφέρεται σαν αυτόνομη μονάδα όσον αφορά την κίνηση και τις ιδιότητες του. Τα σωματίδια μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το μέγεθος τους σε:

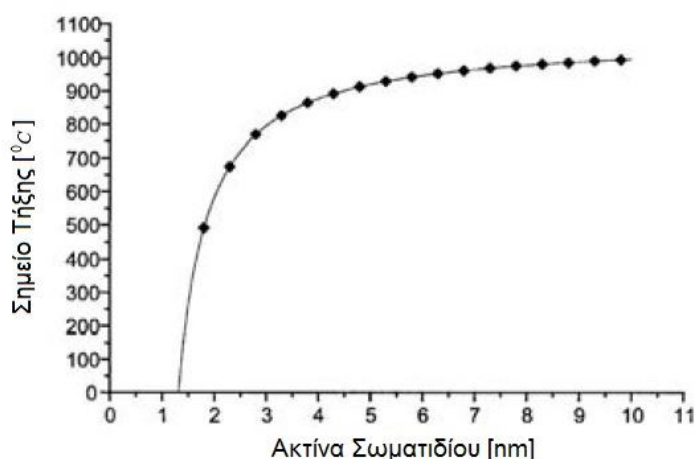
- αδρά (*coarse*), με διάμετρο μεταξύ 10.000 και 2.500 νανόμετρα
- λεπτά (*fine*), με διάμετρο μεταξύ 2.500 και 100 νανόμετρα και
- υπέρλεπτα (*ultrafine*) ή **νανοσωματίδια**, με διάμετρο μεταξύ 1 και 100 νανόμετρα [1]

Τα νανοσωματίδια είναι αυτά που παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον εξαιτίας των ιδιαίτερων ιδιοτήτων που επιδεικνύουν. Οι ηλεκτρικές, μαγνητικές και οπτικές ιδιότητες που χαρακτηρίζουν ένα μακροσκοπικό υλικό, μπορούν να τροποποιηθούν όταν αυτό προσεγγίσει σε μέγεθος την κλίμακα των νανομέτρων. Η διαφοροποίηση αυτή των ιδιοτήτων, οφείλεται κυρίως σε δύο φαινόμενα: α) στην αύξηση του ποσοστού των επιφανειακών ατόμων και β) στον κβαντισμό λόγω μεγέθους (*size quantization*) που παρατηρείται στα μέταλλα και τους ημιαγωγούς.

	1 κυψελίδα	2 κυψελίδες	3 κυψελίδες	4 κυψελίδες	5 κυψελίδες	7 κυψελίδες
Αριθμός Μοναδιαίων Κυψελίδων						
Συνολικός # Ατόμων	13	55	147	309	561	1415
Επιφανειακά Ατομα (%)	92	76	63	52	45	35

Εικόνα 1.1: Σχέση μεταξύ συνολικού αριθμού ατόμων και ποσοστού επιφανειακών ατόμων σε ένα σωματίδιο

Σε ένα υλικό, όσο μειώνονται οι διαστάσεις του τόσο αυξάνεται το ποσοστό των ατόμων που βρίσκονται στην επιφάνεια. Για τα νανοσωματίδια, το ποσοστό αυτό είναι ιδιαίτερα αυξημένο. (Εικ. 1.1) Έτσι, ιδιότητες που εξαρτώνται κυρίως από τη μοριακή δομή ενός υλικού, διαφοροποιούνται συγκριτικά με τη μακροσκοπική συμπεριφορά τους, όταν το υλικό αυτό βρεθεί στην κλίμακα των νανομέτρων. Για παράδειγμα, το σημείο τήξης ενός υλικού παρατηρείται όταν αυτό αρχίζει να χάνει την πλεγματοειδή δομή του. Για μακροσκοπικά υλικά το σημείο αυτό είναι μια σταθερά αλλά όταν το ποσοστό των επιφανειακών ατόμων αυξηθεί σημαντικά, συγκριτικά και με τον συνολικό όγκο του υλικού, τότε αυτή η ιδιότητα αλλάζει και το σημείο τήξης μετατοπίζεται σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. (Εικ. 1.2) [2]

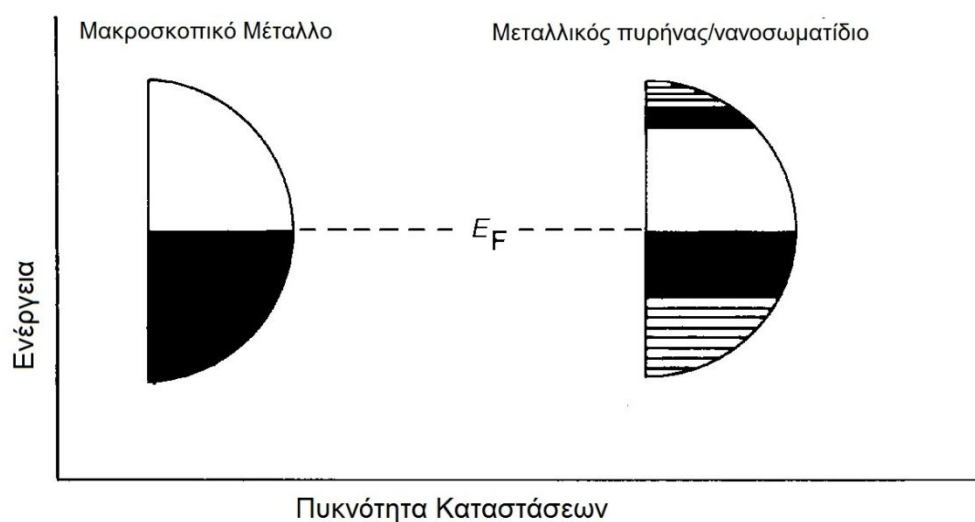


Εικόνα 1.2: Διάγραμμα σημείου τήξης συναρτήσει της ακτίνας ενός νανοσωματιδίου

Στα μέταλλα και τους ημιαγωγούς, η διαφοροποίηση των ιδιοτήτων οφείλεται επιπλέον και στον κβαντισμό λόγω μεγέθους. Σε ένα μακροσκοπικό υλικό, οι ενεργειακές στάθμες των ηλεκτρονίων αγωγιμότητας και σθένους είναι συνεχείς, με αποτέλεσμα τα ηλεκτρόνια να μπορούν να μεταβούν εύκολα από μια στάθμη σε μια άλλη, κάτι που συνεπάγεται και τις μεταλλικές ιδιότητες των υλικών. Όταν όμως οι διαστάσεις ενός σώματος γίνουν αρκούντως μικρές, όπως συμβαίνει στα

νανοσωματίδια, τότε οι διαστάσεις του είναι συγκρίσιμες με το μήκος κύματος de Broglie των φορέων φορτίου του.

Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τον διαχωρισμό των ενεργειακών σταθμών, δηλαδή την κβάντωση τους. (Εικ. 1.3) Η μέση απόσταση διαδοχικών ενεργειακών σταθμών ονομάζεται διάστημα Kubo (δ) και ισούται με $\delta = 4E_f / 3n$, όπου E_f η ενέργεια Fermi του μακροσκοπικού υλικού και n ο αριθμός των ηλεκτρονίων σθένους του νανοσωματιδίου. Σε θερμοκρασία δωματίου όπου $kT \cong 25$ meV τα περισσότερα νανοσωματίδια των μετάλλων και των ημιαγωγών διατηρούν τις μεταλλικές τους ιδιότητες. Σε χαμηλότερες θερμοκρασίες όμως, το διάστημα Kubo μπορεί να γίνει συγκρίσιμο με την ποσότητα kT μετατρέποντας έτσι το νανοσωματίδιο σε μονωτή. [3]



Εικόνα 1.3: Σχηματική απεικόνιση των ενεργειακών καταστάσεων μακροσκοπικού υλικού και νανοσωματιδίου

1.2 Μοντέλο Αγωγιμότητας Νανοσωματιδίων

Ένα πρώτο μοντέλο για την αγωγιμότητα μεταξύ νανοσωματιδίων παρουσιάστηκε από τους Neugebauer και Webb το 1961. [4] Το θεωρητικό μοντέλο τους περιλαμβάνει ένα λεπτό υμένιο που αποτελείται από πολλά,

μικρά διακριτά μεταλλικά σωματίδια ή νησίδες σωματιδίων ακτίνας r και μέσης απόστασης R . Σε κατάσταση ισορροπίας, ο αριθμός των φορέων φορτίου δίνεται από τη σχέση:

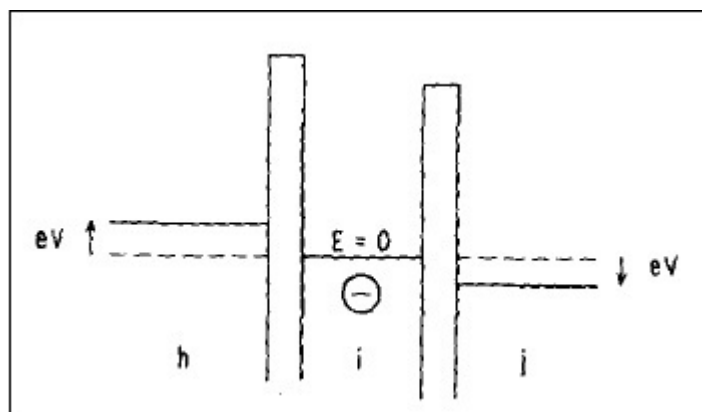
$$n = Ne^{-\epsilon/kT} \quad (1.1)$$

όπου N ο συνολικός αριθμός σωματιδίων στο υμένιο και ϵ η ενέργεια ενεργοποίησης που ισούται περίπου με e^2/r . Η πιθανότητα ένα ηλεκτρόνιο να μεταβεί, μέσω του φαινομένου της σήραγγας, από μια αρνητικά φορτισμένη νησίδα i , σε μια γειτονική της ουδέτερα φορτισμένη j , είναι ανάλογη της πυκνότητας των κατειλημμένων καταστάσεων της i και των ελεύθερων καταστάσεων της j :

$$P \propto \int_{-\infty}^{\infty} D f_i (1 - f_j) dE \quad (1.2)$$

όπου f η συνάρτηση Fermi και D ο συντελεστής διάχυσης, ο οποίος έχει εκθετική εξάρτηση από την απόσταση μεταξύ των νησίδων (R).

Εφαρμόζοντας ένα ηλεκτρικό πεδίο κατά την διεύθυνση του άξονα x , παρατηρούμε μια σχετική μετατόπιση των επιπέδων Fermi γειτονικών σωματιδίων. Συγκεκριμένα, η πιθανότητα μεταφοράς φορέων φορτίου αυξάνεται κατά την φορά του πεδίου και μειώνεται αντίστοιχη ποσότητα, κατά την αντίθετη φορά του εφαρμοσμένου πεδίου. (Εικ. 1.4)



Εικόνα 1.4: Μετατόπιση των επιπέδων Fermi με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου

Επομένως, η καθαρή πιθανότητα μεταφοράς φορτίου μεταξύ των νησίδων κατά την διεύθυνση του εφαρμοζόμενου ηλεκτρικού πεδίου θα είναι:

$$P_{net} = P_{+V} - P_{-V} \quad (1.3)$$

Η πιθανότητα μεταφοράς φορτίου κατά τη φορά του πεδίου, από τη νησίδα i στη νησίδα j, είναι ανάλογη της σχέσης:

$$P_{+V} \propto D \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{1+e^{E/kT}} \left(1 - \frac{1}{1+e^{(E+eV)/kT}} \right) dE \quad (1.4)$$

ενώ η πιθανότητα μεταφοράς φορτίου κατά την αντίθετη φορά του πεδίου, από τη νησίδα i στη νησίδα h:

$$P_{-V} \propto D \int_{-\infty}^{\infty} \frac{1}{1+e^{E/kT}} \left(1 - \frac{1}{1+e^{(E-eV)/kT}} \right) dE \quad (1.5)$$

Άρα από τις σχέσεις (1.3), (1.4) και (1.5) προκύπτει ότι η καθαρή πιθανότητα είναι:

$$P_{net} \propto D \left(\frac{eV}{1-e^{-eV/kT}} + \frac{eV}{1-e^{eV/kT}} \right) = D eV \text{ μεταφορές cm}^{-2} \text{ sec}^{-1} \quad (1.6)$$

Αν θεωρήσουμε την ενεργό διατομή μιας νησίδας ίση με r^2 , τότε η πιθανότητα μεταφοράς φορτίου από μια νησίδα στην επόμενη θα είναι:

$$P_r \propto D r^2 eV \text{ μεταφορές sec}^{-1} \quad (1.7)$$

Λαμβάνοντας υπόψη τις παρακάτω σχέσεις:

- $\tau = 1/P_r \text{ sec}$, χρόνος μεταφοράς (1.8)

- $R/\tau = R P_r \text{ cm sec}^{-1}$, ταχύτητα φορτίων (1.9)

- $\mu = R^2 P_r \propto D e r^2 R^2 \text{ cm}^2 \text{ v}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, κινητικότητα φορτίων (1.10)

- $n_r = \frac{1}{r^3} \exp\left(-\frac{e^2/r}{kT}\right)$, συγκέντρωση φορέων φορτίου (1.11)

και αντικαθιστώντας τες στη σχέση (1.7), προκύπτει η παρακάτω σχέση για την αγωγιμότητα:

$$\sigma \propto \frac{1}{r} R^2 e^2 D \exp\left(-\frac{e^2/r}{kT}\right) \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1} \quad (1.12)$$

Παρατηρούμε ότι η αγωγιμότητα ενός λεπτού υμενίου που αποτελείται από νησίδες νανοσωματιδίων, είναι ανεξάρτητη του ηλεκτρικού πεδίου και εξαρτάται εκθετικά από το αντίστροφο της θερμοκρασίας.

1.3 Παραγωγή νανοσωματιδίων πλατίνας μέσω Μαγνητικής Ιοντοβολής (Magnetron Sputtering)

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται πολλοί τρόποι σύνθεσης νανοσωματιδίων. Μια κατηγορία αυτών περιλαμβάνει τη σύνθεση νανοσωματιδίων από την αέρια φάση. Μερικά από τα πλεονεκτήματα των νανοσωματιδίων σε αέρια φάση έναντι άλλων καταστάσεων, όπως για παράδειγμα τα κολλοειδή διαλύματα, είναι:

- ❖ η καθαρότητα του διαλύματος αφού συνήθως ακόμα και το υπερκάθαρο νερό περιέχει ίχνη μετάλλων
- ❖ ο καλύτερος έλεγχος του προϊόντος σε ιδιότητες όπως το μέγεθος, ο βαθμός κρυσταλλικότητας, ο βαθμός συσσωμάτωσης, η στοιχειομετρία, η χημική ομοιογένεια κ.α.
- ❖ η παρασκευή των σωματιδίων σε μια ενιαία και συνεχόμενη διαδικασία και όχι σε διαδοχικά βήματα [5]

Μερικές διαδεδομένες μέθοδοι για την παρασκευή νανοσωματιδίων στην αέρια φάση είναι επιγραμματικά οι παρακάτω:

- ❖ Ιοντοβολή (ion sputtering)
- ❖ Αποκόλληση με λέιζερ (laser ablation)
- ❖ Μέθοδοι πλάσματος (plasma synthesis)

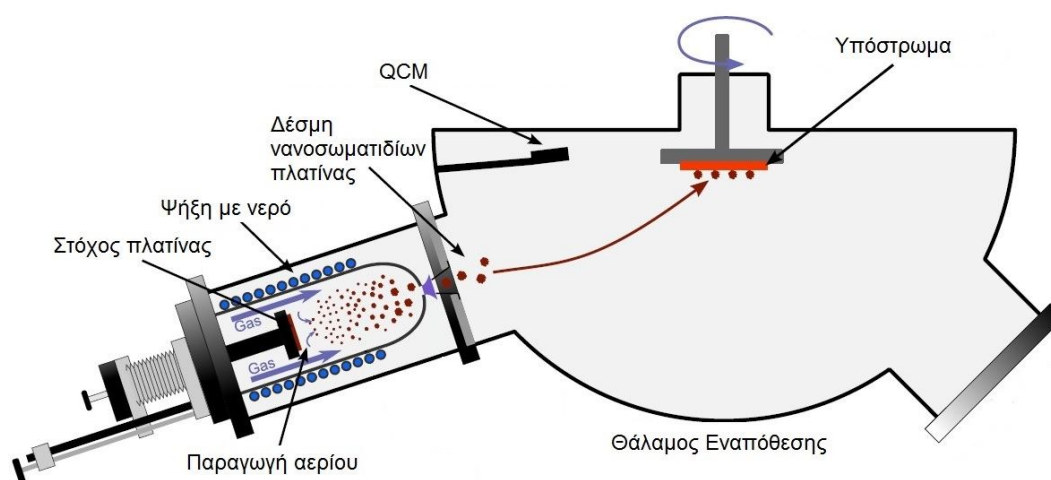
❖ Τεχνικές πυρόλυσης (spray/laser pyrolysis) [6]

Για τις ανάγκες των πειραμάτων που θα περιγράψουμε στη συνέχεια αυτής της εργασίας χρησιμοποιήσαμε νανοσωματίδια πλατίνας πάνω σε διαφορετικά επίπεδα υποστρώματα. Η μέθοδος που χρησιμοποιήσαμε για την ομοιόμορφη εναπόθεση τους είναι μια τροποποιημένη μέθοδος μαγνητικής ιοντοβολής. Η μαγνητική ιοντοβολή ανήκει στην γενικότερη κατηγορία της εναπόθεσης με ιοντοβολή, η οποία με τη σειρά της είναι μια μέθοδος φυσικής εναπόθεσης ατμών (PVD – Physical Vapor Deposition). Η μαγνητική ιοντοβολή έχει εξελιχθεί ραγδαία τα τελευταία χρόνια, με την εμφάνιση διαφόρων παραλλαγών της και προτιμάται έναντι άλλων τεχνικών επιφανειακής εναπόθεσης κυρίως σε εφαρμογές που απαιτούν επιστρώσεις υλικών με συγκεκριμένες οπτικές, ηλεκτρικές και μηχανικές ιδιότητες και επιστρώσεις ανθεκτικές στη φθορά και την οξειδωση.

Η βασική μέθοδος μαγνητικής ιοντοβολής περιλαμβάνει τον βομβαρδισμό ενός στόχου (κάθοδος) από ενεργειακά ιόντα που παράγονται από πλάσμα αερίου. Η διαδικασία αυτή προκαλεί την απόσπαση ατόμων από την επιφάνεια του στόχου, τα οποία κατευθύνονται και εναποτίθενται σε ένα υπόστρωμα (άνοδος). Από τον βομβαρδισμό, εκπέμπονται από το στόχο και ηλεκτρόνια τα οποία παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του πλάσματος. Μαγνήτες τοποθετημένοι κοντά στο στόχο δημιουργούν ένα μαγνητικό πεδίο παράλληλο στην επιφάνεια του, το οποίο δεσμεύει τα ηλεκτρόνια στην περιοχή γύρω από αυτόν. Το φαινόμενο αυτό αυξάνει την πιθανότητα σύγκρουσης ηλεκτρονίων-ατόμων, αυξάνοντας τον ιονισμό του πλάσματος, κάτι που οδηγεί σε μεγαλύτερο ρυθμό εναπόθεσης στο υπόστρωμα. [7]

Η διάταξη που χρησιμοποιήσαμε για την εναπόθεση νανοσωματιδίων πλατίνας σε επίπεδα υποστρώματα βρίσκεται στον Καθαρό Χώρο του Τομέα Φυσικής Ε.Μ.Π. Στη διάταξη αυτή, η προς εναπόθεση επιφάνεια τοποθετείται μέσα σε ένα θάλαμο υψηλού κενού με μέση πίεση 10^{-6} mbar. Θετικά φορτισμένα ιόντα αργού βομβαρδίζουν τον στόχο, στην περίπτωση μας πλατίνα, προκαλώντας αποκόλληση των ατόμων της επιφάνειας.

Εξαιτίας της διαφοράς πίεσης (δύο τάξεις μεγέθους) μεταξύ του θαλάμου παραγωγής των νανοσωματιδίων και του θαλάμου που βρίσκεται το υπόστρωμα, τα νανοσωματίδια κατευθύνονται προς το υπόστρωμα όπου και τελικά εναποτίθενται. (Εικ. 1.5) Τα νανοσωματίδια παράγονται σε θερμοκρασία δωματίου παρουσιάζοντας καλή διασπορά μεγέθους. Το μέγεθος τους μπορεί να ελεγχθεί μεταβάλλοντας την απόσταση του στόχου από το άνοιγμα που χωρίζει τους δύο θαλάμους και κυμαίνεται μεταξύ 2 και 12nm.



Εικόνα 1.5: Σχηματική απεικόνιση της διάταξης μαγνητικής ιοντοβολής που χρησιμοποιήσαμε

Κρατώντας τη ροή των παραγόμενων νανοσωματιδίων και την απόσταση στόχου-υποστρώματος σταθερή, ο συνολικός χρόνος εναπόθεσης είναι ο μόνος παράγοντας που επηρεάζει την πυκνότητα των νανοσωματιδίων στην επιφάνεια του υποστρώματος. Η ροή των νανοσωματιδίων μπορεί να παρακολουθηθεί με τη μέθοδο QCM (quartz crystal microbalance) και το μέγεθος της μπορεί να προσαρμοστεί από τη ροή του αργού μέσα στο θάλαμο υψηλού κενού. Έτσι μπορούμε να ελέγξουμε την πυκνότητα του στρώματος των νανοσωματιδίων που δημιουργούνται πάνω στο υπόστρωμα, διαμορφώνοντας με αυτό τον τρόπο την ηλεκτρική του απόκριση και τον ρόλο που αυτή παίζει στη διάταξη των αισθητήρων.[8]

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] <http://en.wikipedia.org/wiki/Nanoparticle>
- [2] C. Minelli. Bottom-up Approaches for Organizing Nanoparticles with Polymers, EPFL, PhD thesis, 2004.
- [3] C.N.R. Rao, G.U. Kulkarni, P.J. Thomas, and P.P. Edwards. Metal nanoparticles and their assemblies. *Chemical Society Reviews*, 29(1):27–35, 2000.
- [4] C.A. Neugebauer and M.B. Webb. Electrical conduction mechanism in ultrathin, evaporated metal films. *Journal of Applied Physics*, 33:74, 1962.
- [5] F.E. Kruisa, H. Fissana and A. Peleda. Synthesis of nanoparticles in the gas phase for electronic, optical and magnetic applications—a review. *Journal of Aerosol Science*, Volume 29, Issues 5–6, 1 June 1998, Pages 511–535
- [6] M.T. Swihart. Vapor-phase synthesis of nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Volume 8, Issue 1, March 2003, Pages 127–133
- [7] P.J. Kelly and R.D. Arnel. Magnetron sputtering: a review of recent developments and applications. *Vacuum* 56 (2000), 159-172.
- [8] E. Skotadis, J.L. Tanner, S. Stathopoulos, V. Tsouti and D. Tsoukalas. Chemical sensing based on double layer PHEMA polymer and platinum nanoparticle films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 175, 2012, 85–91.

Κεφάλαιο 2

Μέθοδος εκτύπωσης μέσω ψεκασμού σταγόνας (Inkjet)

2.1 Περιγραφή διάταξης

Η εναπόθεση υγρού με τη μέθοδο εκτύπωσης μέσω ψεκασμού (inkjet) έγινε με το σύστημα μικρο-δοσομέτρησης με θερμαντήρα (Microdispenser system) «MicroDrop» της εταιρίας Microdrop Technologies GmbH. Η διάταξη βρίσκεται στον Καθαρό Χώρο του τομέα Φυσικής του Ε.Μ.Π. και απεικονίζεται παρακάτω. (Εικ. 2.2)

Η διάταξη αποτελείται από:

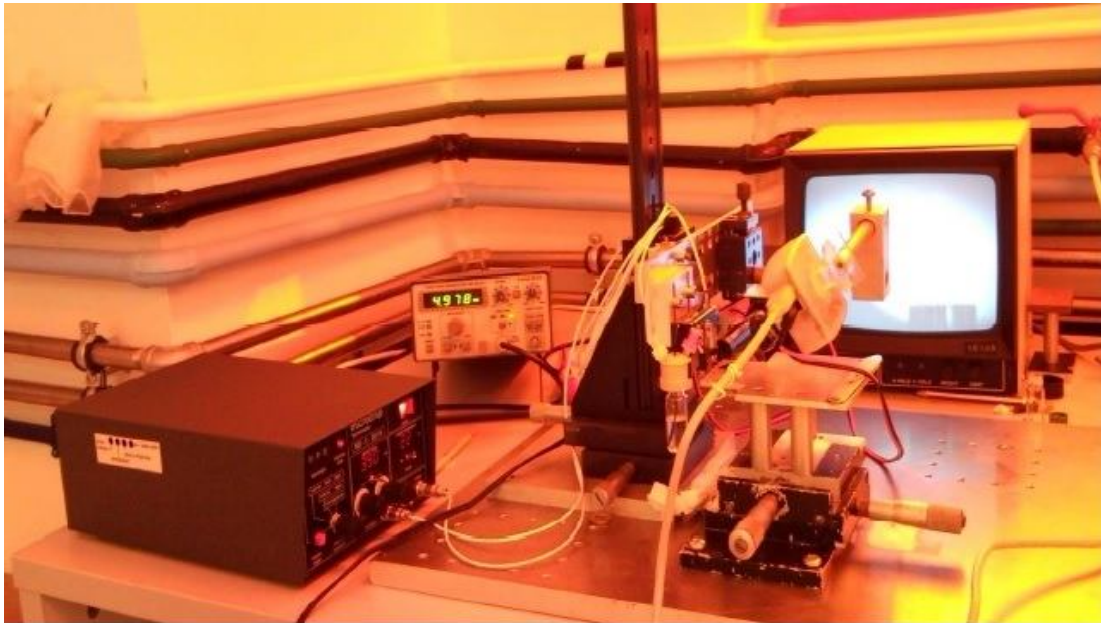
- 1) το κύριο μέρος του δοσομετρητή, που περιλαμβάνει την κεφαλή δοσομέτρησης (Εικ. 2.3) και το φιαλίδιο αποθήκευσης του υγρού (Εικ. 2.4), τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με ένα σωληνάκι από τεφλόν.



Εικόνα 2.1: Κύριο μέρος του μικροδοσομετρητή και ηλεκτρονικά οδήγησης

- 2) τα ηλεκτρονικά οδήγησης του συστήματος (Εικ. 2.1), που περιέχουν μια γεννήτρια συχνοτήτων, έναν ενισχυτή παλμού και μια στροβοσκοπική δίοδο (strobe diode) που φωτίζει την παραγόμενη σταγόνα, δίνοντας μας την δυνατότητα παρακολούθησης της.
- 3) τον μεταλλικό κορμό στήριξης του συστήματος, μια μεταλλική τράπεζα και δύο κάμερες CCD. Ο μεταλλικός κορμός στηρίζει τον

δοσομετρητή έτσι ώστε να είναι σταθερός, η μεταλλική τράπεζα δίνει την δυνατότητα κίνησης των προς ψεκασμό δειγμάτων σε δυο άξονες και οι δύο κάμερες CCD, συνδεδεμένες με οθόνες παρακολούθησης, μας επιτρέπουν την παρατήρηση τόσο της σταγόνας κατά τη δημιουργία της, αλλά και κατά την εναπόθεση της σε κάποια επιφάνεια.



Εικόνα 2.2: Διάταξη του μικροδοσομετρητή στον Καθαρό Χώρο. (εικόνα από τη διπλωματική της Βασιλικής Ρούσση "Χημικοί Αισθητήρες Νανοσωματιδίων")



Εικόνα 2.3: Κεφαλή του μικροδοσομετρητή

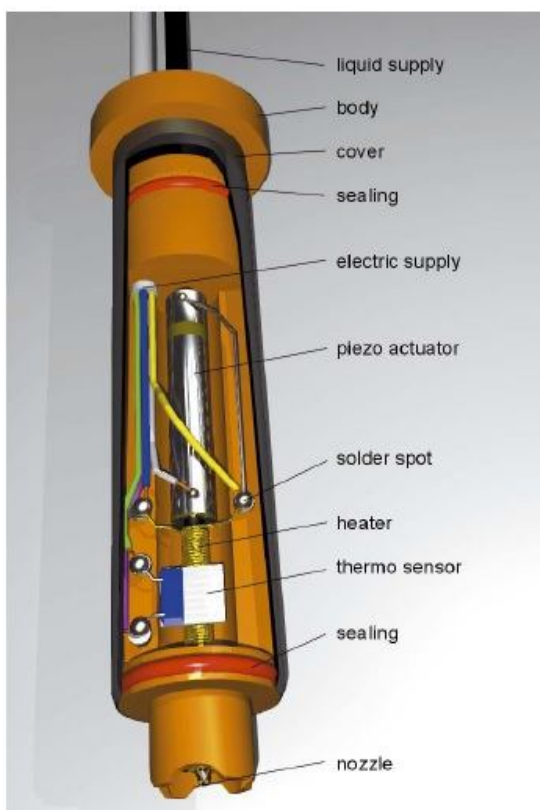


Εικόνα 2.4: Φιαλίδιο αποθήκευσης

Η εκτύπωση σταγόνας μέσω ψεκασμού είναι μια απλή και οικονομική μέθοδος εναπόθεσης, με καλή επαναληψιμότητα και δυνατότητα ψεκασμού ενός μεγάλου φάσματος υγρών. Ο μικρο-δοσομετρητής μπορεί να χρησιμοποιηθεί για υγρά με ιξώδες που κυμαίνεται από 0,5 ως 10.000 mPas. Συγκεκριμένα, υγρά με ιξώδες από 0,5 έως 20mPas, μπορούμε να τα χρησιμοποιήσουμε σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ για ιξώδες από 20mPas και πάνω, χρησιμοποιούμε το θερμαντήρα των ηλεκτρονικών οδήγησης για να θερμάνουμε το υγρό, επιτυγχάνοντας ως και 160 °C, προκειμένου να έχουμε καλύτερη ροή μειώνοντας το ιξώδες του. Ο δοσομετρητής δεν είναι κατάλληλος για υλικά όπως οι πάστες, υλικά που προσκολλώνται στα τοιχώματα του δοχείου με την θέρμανση και υλικά που αντιδρούν με τον αέρα.

2.2 Τρόπος λειτουργίας του μικρο-δοσομετρητή

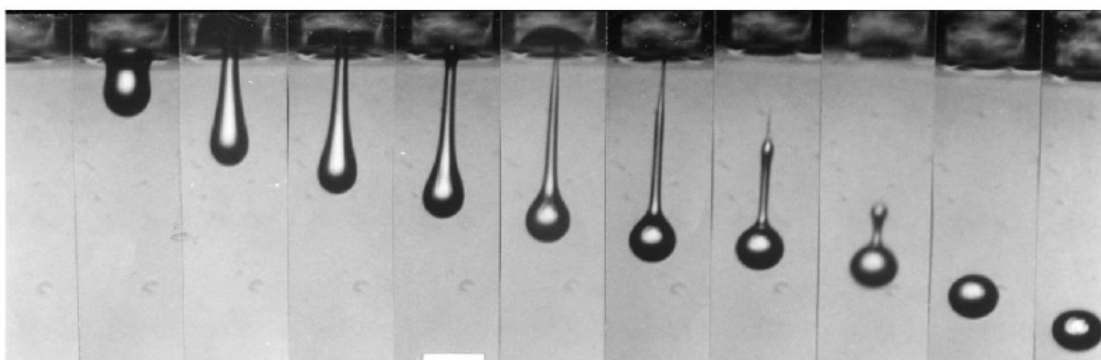
Το σύστημα δοσομέτρησης «MicroDrop» βασίζεται σε μια αρχή γνωστή από τους εκτυπωτές ψεκασμού. Ένας τριχοειδής γυάλινος σωλήνας γεμισμένος με υγρό δέχεται πίεση από έναν ομόκεντρο, κυλινδρικό, πιεζοηλεκτρικό ενεργοποιητή. Ο ενεργοποιητής αυτός τροφοδοτείται με ηλεκτρικούς παλμούς, συστέλλεται και ασκεί πίεση στον γυάλινο σωλήνα δημιουργώντας παλμούς πίεσης, οι οποίοι κινούνται κατά μήκος του υγρού, προς το ακροφύσιο. Εκεί το υγρό επιταχύνεται μέχρι 100.000g. Σε



Εικόνα 2.5: Ανάλυση της κεφαλής του δοσομετρητή

μικρό χρονικό διάστημα το υγρό επιτυγχάνει ταχύτητα μερικών μέτρων ανά δευτερόλεπτο, κάτι που οδηγεί στο σχηματισμό ενός πίδακα υγρού που αναδύεται από το ακροφύσιο. Σύντομα όμως, το υγρό επιβραδύνεται εξαιτίας της απώλειας πίεσης μέσα στο ακροφύσιο και της διαστολής του ενεργοποιητή. Λόγω δυνάμεων αδράνειας και επιφανειακής τάσης, ένας μικρός όγκος υγρού διαχωρίζεται δημιουργώντας μια σταγόνα που κινείται με ταχύτητα 2-3m/s στον αέρα.

Το μέγεθος της σταγόνας εξαρτάται από το μέγεθος του ακροφύσιου και κυμαίνεται μεταξύ 30 και 100μm σε διάμετρο. Ο όγκος της σταγόνας κυμαίνεται μεταξύ 30 και 500 πικόλιτρων και επηρεάζεται από το ιξώδες του υγρού και τις παραμέτρους των ηλεκτρονικών οδήγησης . Η επαναληψιμότητα του εξερχόμενου όγκου είναι πολύ υψηλή (<1%), όταν όλες οι άλλες παράμετροι παραμένουν σταθεροί. [1]

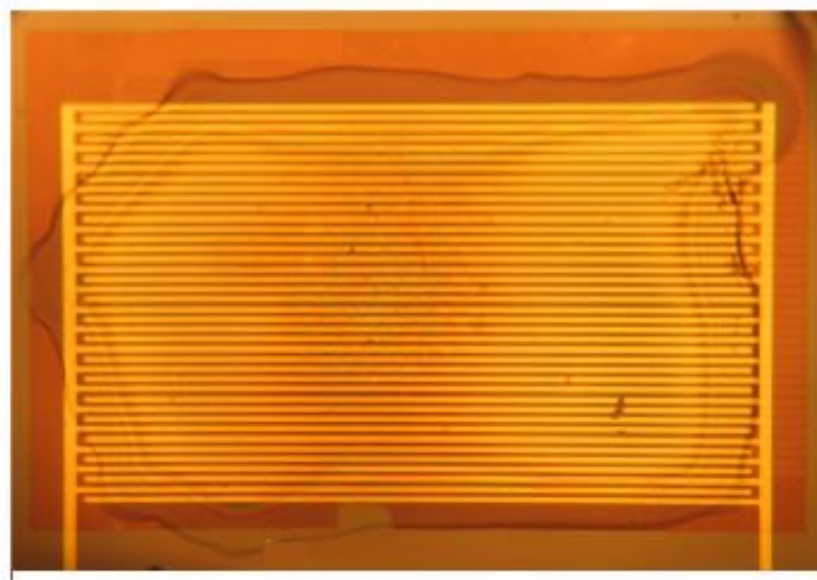


Εικόνα 2.6: Διαδοχικά στιγμιότυπα του ακροφύσιου κατά τον σχηματισμό της σταγόνας

2.3 Εκτύπωση πολυμερούς

Η δημιουργία των χημικών αισθητήρων που θα περιγράψουμε αναλυτικότερα στο επόμενο κεφάλαιο, περιλάμβανε την εναπόθεση πολυμερούς poly(2-hydroxyethylmethacrylate) ή συντομότερα ΡΗΕΜΑ, πάνω σε επίπεδα και εύκαμπτα υποστρώματα από πολυιμίδιο. Η εναπόθεση του ΡΗΕΜΑ έγινε με εκτύπωση μέσω ψεκασμού σταγόνας inkjet σε θερμοκρασία δωματίου. Ελέγχοντας τη συχνότητα και τον χρόνο εκτύπωσης μπορούμε να επιτύχουμε στρώματα πολυμερούς διαφορετικών πυκνοτήτων.

Στην περίπτωση μας εκτυπώθηκαν 1000 σταγόνες PHEMA, παράγοντας ένα στρώμα πολυμερούς πάχους 500-700nm. Το πολυμερές PHEMA που χρησιμοποιήσαμε, αγοράστηκε από την Sigma-Aldrich και πριν την εκτύπωση του είχε αραιωθεί σε ethyl-lactate με συγκέντρωση 0,5%.

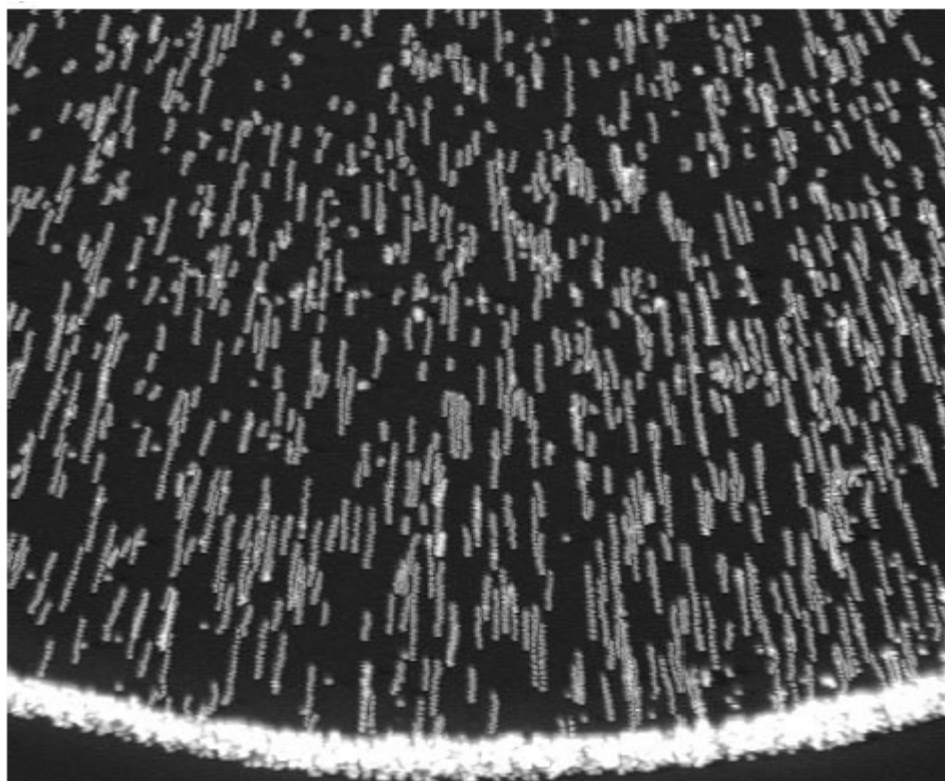


Εικόνα 2.7: Εικόνα από μικροσκόπιο μιας διάταξης ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρυσού με στρώμα πολυμερούς PHEMA

Το PHEMA είναι ένα υδρόφιλο πολυμερές γνωστό για τη σημαντική του διόγκωση και την αισθητή αλλαγή της διηλεκτρικής του σταθεράς όταν απορροφά υγρασία. Επίσης, παρουσιάζει υψηλή πολικότητα και δημιουργεί δεσμούς υδρογόνου, ενώ είναι χημικά αδρανές και σταθερό σε διαφορετικές συνθήκες pH και θερμοκρασίας. Οι ιδιότητες του αυτές το κάνουν ιδανικό υλικό για χημικούς αισθητήρες, συνεισφέροντας στους μηχανισμούς ηλεκτρικής αντίστασης και χωρητικότητας που θα μελετήσουμε.[2]

Η μορφολογία του εναποτιθέμενου στρώματος πολυμερούς PHEMA μπορεί να περιγραφεί από το γνωστό «φαινόμενο του δακτύλιου του καφέ» (coffee ring effect). Ακριβώς όπως μια σταγόνα του καφέ όταν στεγνώσει πάνω σε μια επίπεδη επιφάνεια αφήνει πίσω της ένα δακτυλιοειδές υπόλειμμα της περιμέτρου της, έτσι και οποιοδήποτε υγρό το οποίο περιέχει αιωρούμενα σωματίδια παρουσιάζει την ίδια συμπεριφορά όταν το αφήσουμε να εξατμιστεί πάνω σε μια επιφάνεια. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στην

τριχοειδή ροή των σωματιδίων του υγρού. Σε μια σταθερή επιφάνεια του υγρού έχουμε μεγαλύτερο ρυθμό εξάτμισης στα άκρα, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται δυνάμεις που μεταφέρουν υγρό από το κέντρο της σταγόνας προς τα άκρα. (Εικ. 2.8) [3]



Εικόνα 2.8: Τριχοειδής ροή σωματιδίων υγρού προς την περιφέρεια της σταγόνας

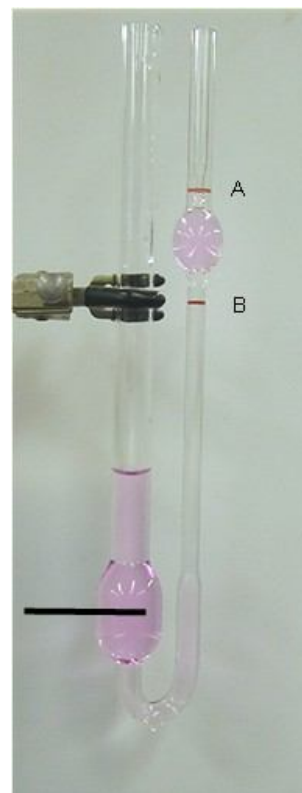
2.4 Εκτύπωση βιολογικού υλικού

Άλλη μια εφαρμογή στην οποία έγινε χρήση της διάταξης του inkjet ήταν η εναπόθεση βιολογικού υλικού πάνω σε μικροηλεκτρονικές διατάξεις, όπως ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια και μεμβράνες χωρητικότητας. Το βιολογικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε περιείχε μια συστοιχία ολιγονουκλεοτιδίων μέσα σε διαλύτη. Τα ολιγονουκλεοτίδια είναι μόρια DNA ή RNA μονού κλώνου, τα οποία μπορούμε να τα συνθέσουμε σε μια επιθυμητή ακολουθία.[4] Όπως είναι γνωστό από τη βιολογία, το DNA

συντίθεται από αλληλουχίες τεσσάρων αζωτούχων βάσεων, της κυτοσίνης (C), της γουανίνης (G), της θυμίνης (T) και της αδενίνης (A). Η κυτοσίνη είναι συμπληρωματική της γουανίνης και η θυμίνη συμπληρωματική της αδενίνης. Έτσι, αν κατασκευάσουμε μια συγκεκριμένη ακολουθία ολιγονουκλεοτιδίων, μπορούμε να κατασκευάσουμε και την πλήρως συμπληρωματικής της, οι οποίες όταν βρεθούν στο ίδιο περιβάλλον συνδέονται μέσω υβριδοποίησης σχηματίζοντας δίκλινα μόρια γενετικού υλικού.[5] Το βιολογικό υλικό που χρησιμοποιήσαμε στα πειράματα που θα περιγράψουμε στο επόμενο κεφάλαιο περιείχε μια ακολουθία 15 νουκλεοτιδίων, την πλήρως συμπληρωματικής της και μια μη συμπληρωματική ακολουθία. Ο διαλύτης του βιολογικού υλικού ήταν φωσφορικό κάλιο KH_2PO_4 .

Πριν από την εναπόθεση του έπρεπε πρώτα να διασφαλιστεί ότι το βιολογικό υλικό πληρούσε τις προϋποθέσεις χρήσης του εκτυπωτή inkjet. Για το λόγο αυτό, έγινε μέτρηση του ιξώδους του σε θερμοκρασίες μεταξύ 25 και 50°C. Συγκεκριμένα πραγματοποιήσαμε 3 διαφορετικές μετρήσεις ιξώδους με ιξωδόμετρο Ostwald (Εικ 2.9). Στην πρώτη μέτρηση εξετάσαμε μια ποσότητα βιολογικού υλικού κάποιας πυκνότητας. Στη δεύτερη, μια ποσότητα μικρότερης πυκνότητας και στην τρίτη εξετάσαμε το ιξώδες του διαλύτη του βιολογικού υλικού (buffer). Η διαδικασία μέτρησης του ιξώδους ήταν σχετικά απλή. Μέσα σε ένα λουτρό ελεγχόμενης θερμοκρασίας τοποθετήσαμε το ιξωδόμετρο με συγκεκριμένη ποσότητα υγρού μέσα. Για θερμοκρασίες από 25°C μέχρι 50°C με βήμα 5°C μετρήσαμε το χρόνο που απαιτείται για το υγρό να διέλθει μέσα από τον τριχοειδή σωλήνα του ιξωδόμετρου. Στη συνέχεια υπολογίσαμε το κινηματικό ιξώδες ν από τη σχέση:

$$\nu = 0,002901 \cdot T \text{ (mm}^2 \text{ / s)} \quad (2.1)$$



Εικόνα 2.9:
Ιξωδόμετρο Ostwald

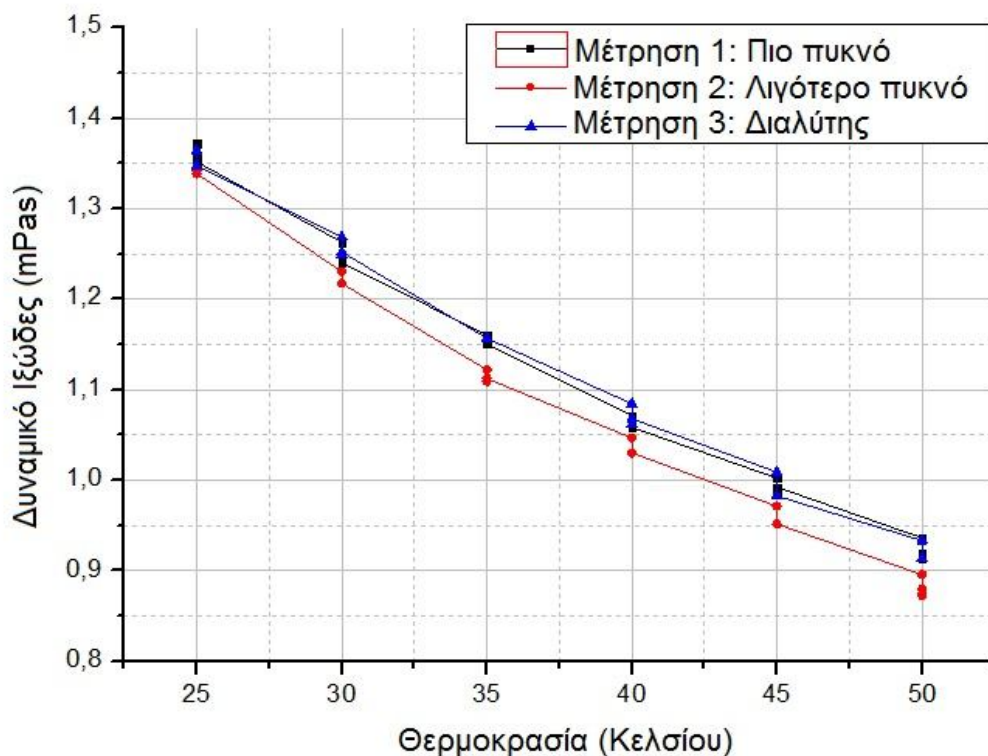
όπου T ο χρόνος σε δευτερόλεπτα και 0,002901 μια σταθερά που μας δίνεται από τον κατασκευαστή του ιξωδόμετρου. Το δυναμικό ιξώδες μ , που είναι και το μέγεθος που μας ενδιαφέρει δίνεται από τη σχέση:

$$\mu = \frac{V}{\rho} \text{ (mPa} \cdot \text{s)} \quad (2.2)$$

όπου ρ η πυκνότητα του υγρού. [6] Οι τιμές του δυναμικού ιξώδους για κάθε θερμοκρασία και για τις 3 μετρήσεις παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα και στο συγκριτικό διάγραμμα:

Θερμοκρασία (°C)	Δυναμικό Ιξώδες (mPas)		
	Πιο πυκνό	Λιγότερο πυκνό	Διαλύτης (buffer)
25	1,37164	1,34199	1,36377
25	1,35845	1,34199	1,34734
25	1,35186	1,33871	1,34734
30	1,26283	1,23043	1,26847
30	1,24305	1,21731	1,24875
30	1,23975	1,21731	1,25204
35	1,16062	1,12215	1,15674
35	1,15403	1,10903	1,15674
35	1,15073	1,11231	1,15674
40	1,07160	1,04669	1,08444
40	1,05841	1,03028	1,06144
40	1,05841	1,03028	1,06801
45	1,00235	0,97122	1,00886
45	0,98587	0,95153	0,98257
45	0,99246	0,95153	0,98257
50	0,93641	0,89575	0,93328
50	0,91333	0,87935	0,91356
50	0,91992	0,87279	0,91356

Πίνακας 2.10: Μετρήσεις δυναμικού ιξώδους

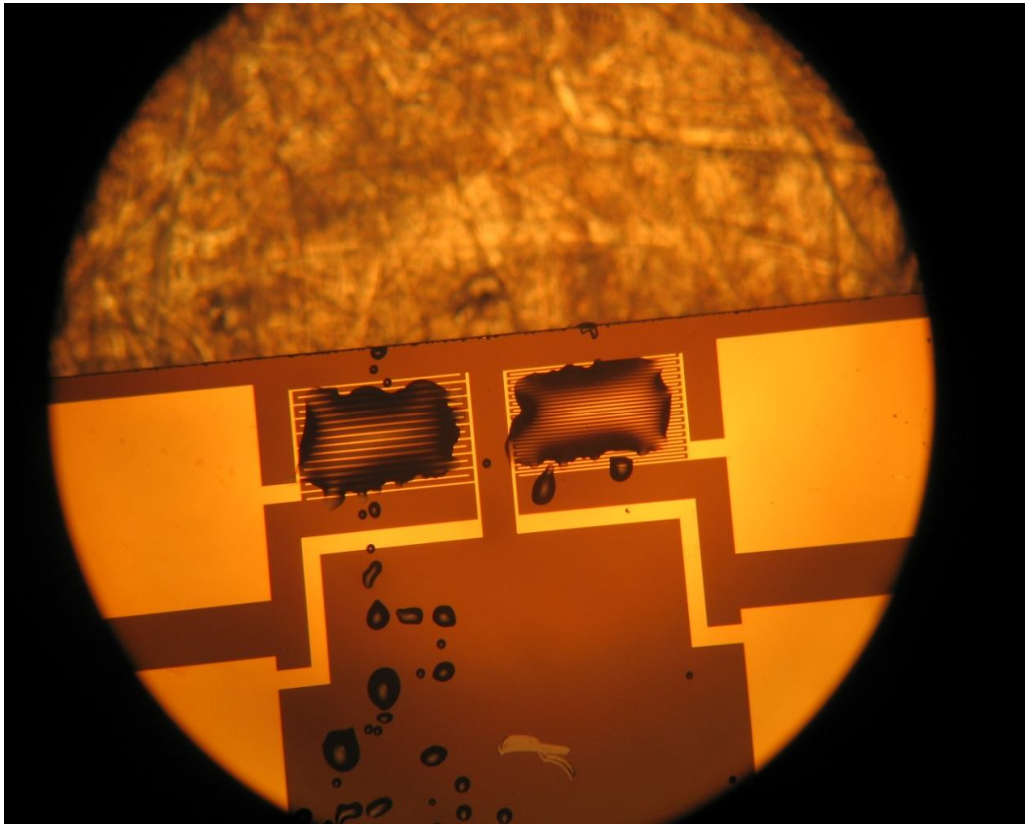


Διάγραμμα 2.11: Συγκριτικό διάγραμμα δυναμικού ιξώδους συναρτήσει της θερμοκρασίας

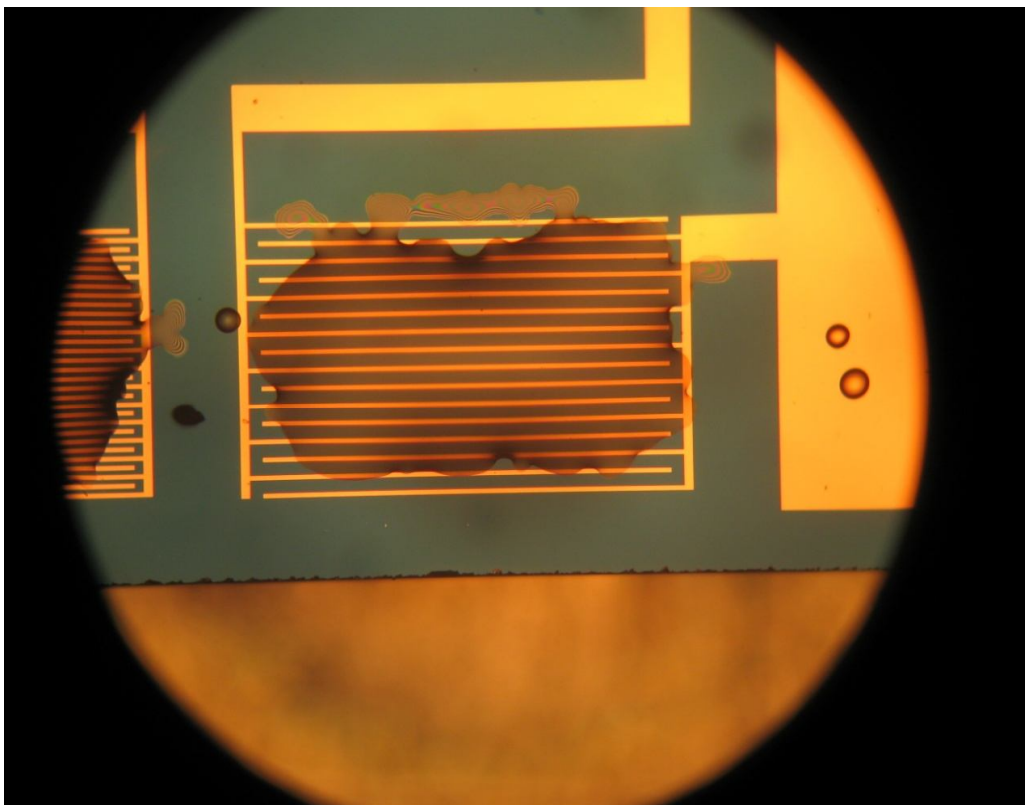
Παρατηρούμε ότι οι τιμές του ιξώδους κυμαίνονται από 0,87 ως 1,37mPas. Άρα το βιολογικό υλικό μαζί με το διαλύτη του είναι κατάλληλο για τον εκτυπωτή inkjet σε θερμοκρασία δωματίου.

Με τη χρήση του εκτυπωτή ψεκασμού inkjet πραγματοποιήσαμε εναπόθεση βιολογικού υλικού πάνω από ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού τα οποία είχαν ένα στρώμα από νανοσωματίδια πλατίνας και αποτελούν μέρος της διάταξης των βιολογικών αισθητήρων που θα περιγράψουμε στο επόμενο κεφάλαιο και επίσης πάνω σε μικρομεμβράνες χωρητικότητας (μέρος διαφορετικής πειραματικής διαδικασίας του Ινστιτούτου Μικροηλεκτρονικής «Δημόκριτος»). Η εναπόθεση έγινε με το ακροφύσιο του μικρο-δοσομετρητή να διατηρείται σε θερμοκρασία 40°C, μια τιμή που δε επηρεάζει τη σύσταση του βιολογικού υλικού. Η ποσότητα του που εναποτέθηκε δεν ήταν σταθερή, χρησιμοποιήθηκε σε κάθε περίπτωση τόση όση ήταν αρκετή για να καλύψει την κάθε επιφάνεια. Για τα ηλεκτρόδια έγινε εναπόθεση για περίπου ένα λεπτό με συχνότητα 5 Hz και για τις μεμβράνες για 2-3 δευτερόλεπτα με συχνότητα 3 Hz. Στις εικόνες

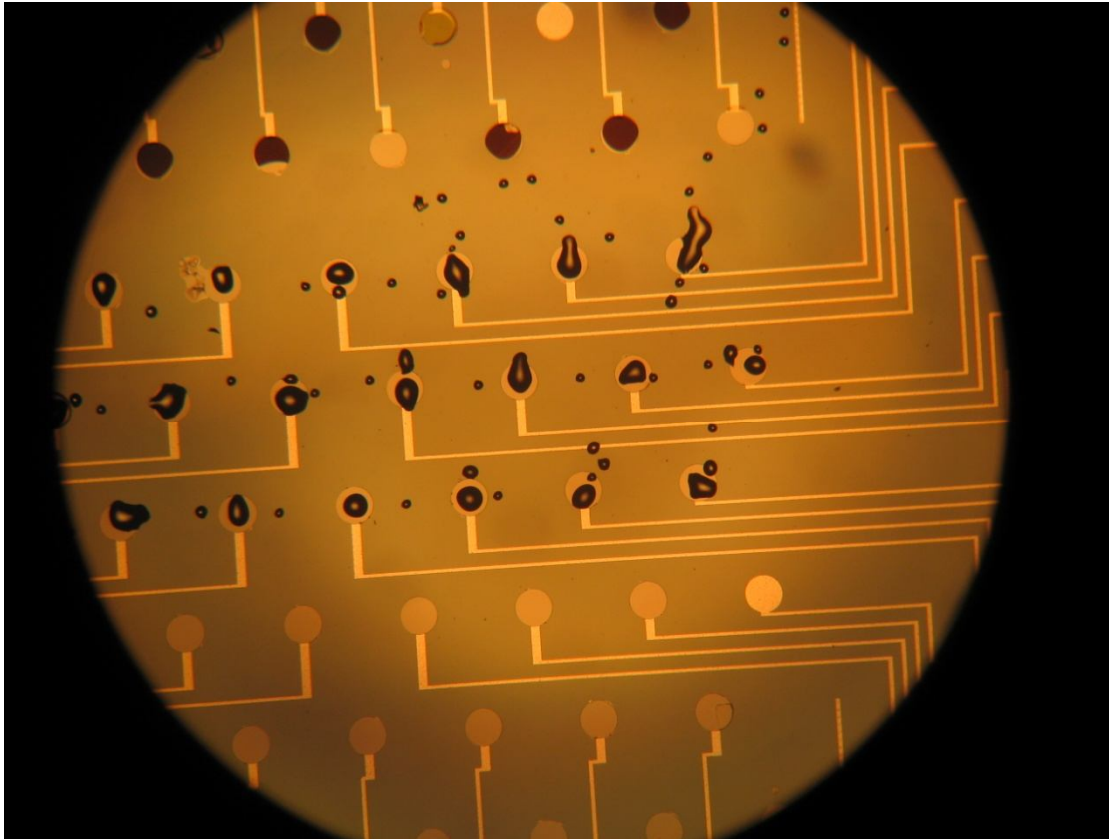
που ακολουθούν παρατίθενται εικόνες από μικροσκόπιο των διατάξεων των ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων και των μεμβρανών με το βιολογικό υλικό.



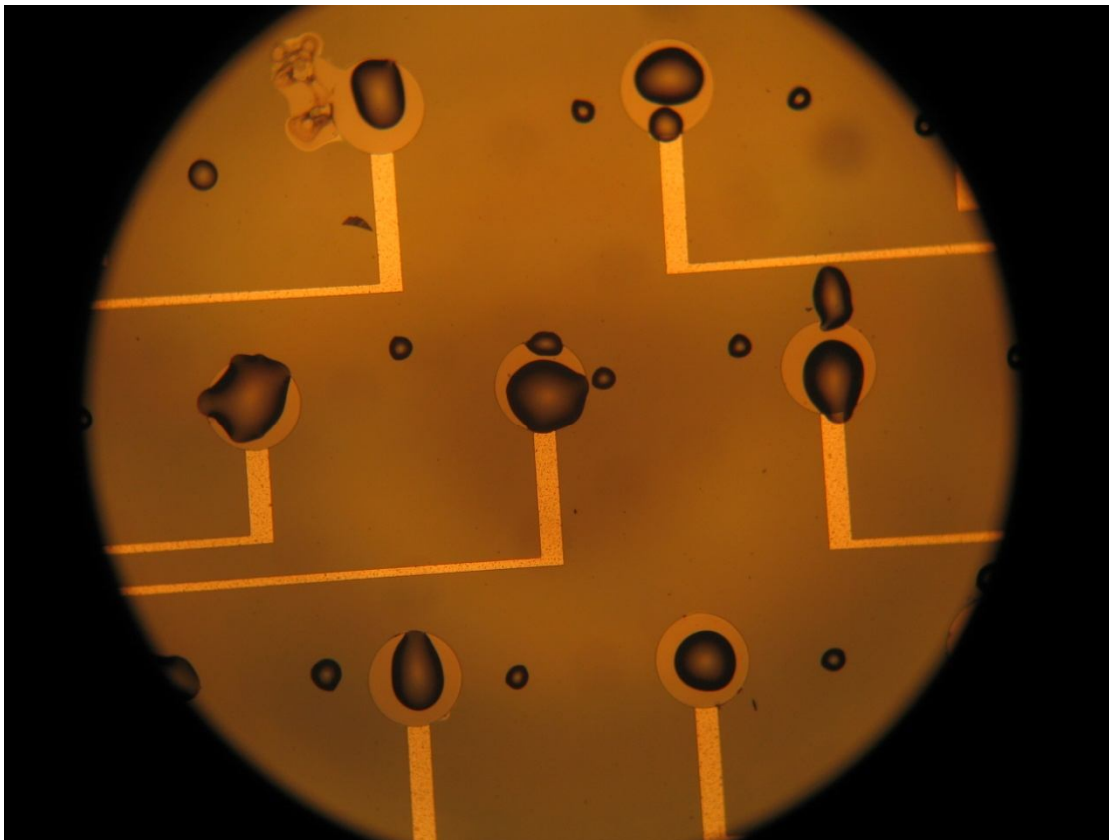
Εικόνα 2.12: Διάταξη δύο ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων με βιολογικό υλικό



Εικόνα 2.13: Ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια με βιολογικό υλικό



Εικόνα 2.14: Διάταξη μικρομεμβράνων μετά την εναπόθεση βιολογικού υλικού



Εικόνα 2.15: Κοντινότερη απεικόνιση των μεμβρανών με το βιολογικό υλικό στην επιφάνεια τους

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] User manual for Microdispenser system, Microdrop Technologies GmbH
- [2] E. Skotadis, J.L. Tanner, S. Stathopoulos, V. Tsouti and D. Tsoukalas. Chemical sensing based on double layer PHEMA polymer and platinum nanoparticle films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, Vol. 175, 2012, 85–91.
- [3] R.D. Deegan, O. Bakajin, T.F. Dupont, G. Huber, S.R. Nagel, and T.A. Witten. Capillary flow as the cause of ring stains from dried liquid drops. *Nature*, 389(6653):827–828, 1997.
- [4] <http://en.wikipedia.org/wiki/Oligonucleotide>
- [5] <http://en.wikipedia.org/wiki/DNA>
- [6] <http://en.wikipedia.org/wiki/Viscosity>

Κεφάλαιο 3

Χημικοί Αισθητήρες

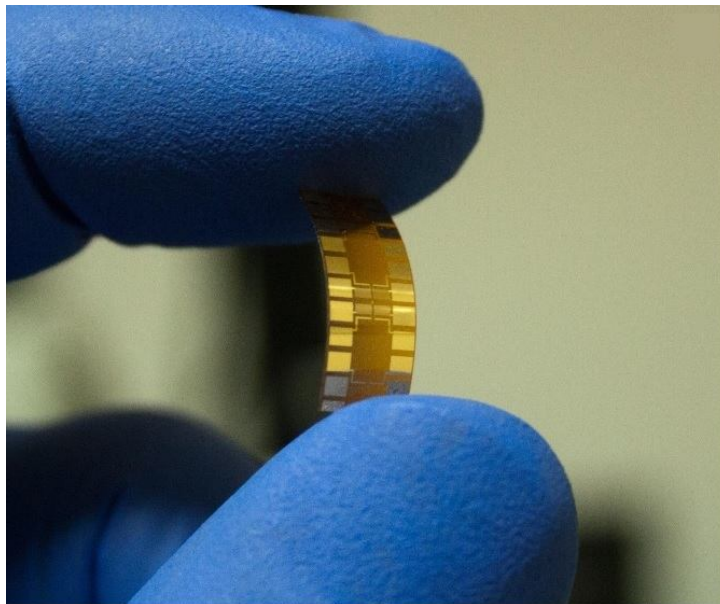
3.1 Εισαγωγή

Στόχος της πειραματικής μας διαδικασίας ήταν να κατασκευάσουμε χημικούς αισθητήρες νανοσωματιδίων πάνω σε εύκαμπτα υποστρώματα, οι οποίοι θα έχουν τη δυνατότητα να ανιχνεύσουν χαμηλές συγκεντρώσεις ατμών υγρασίας και αιθανόλης μέσω μεταβολής της ηλεκτρικής τους αντίστασης και της χωρητικότητας. Η μεθοδολογία κατασκευής των αισθητήρων που εφαρμόσαμε, έχει χρησιμοποιηθεί και σε παλιότερα πειράματα παρόμοιων χημικών αισθητήρων πάνω σε υπόστρωμα πυριτίου. [1][2] Η καινοτομία αυτής της πειραματικής διαδικασίας ήταν να ελέγξουμε εάν είναι δυνατή η κατασκευή χημικών αισθητήρων πάνω σε εύκαμπτα υποστρώματα και ποιος είναι ο βαθμός απόκρισης τους σε ατμούς υγρασίας και αιθανόλης. Το πολυιμίδιο είναι ένα πολυμερικό υλικό, το οποίο σε σύγκριση με το πυρίτιο έχει χαμηλότερο κόστος και μπορεί να βρει πρακτική εφαρμογή σε περισσότερους τομείς λόγω της εύκαμπτης φύσης του και της ανθεκτικότητας του.

3.2 Κατασκευή των αισθητήρων

Οι χημικοί αισθητήρες που κατασκευάσαμε και χαρακτηρίσαμε αποτελούνταν από ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού, διαφορετικών αποστάσεων μεταξύ των ηλεκτροδίων, πάνω σε εύκαμπτο υπόστρωμα από πολυιμίδιο, ένα στρώμα νανοσωματιδίων πλατίνας και ένα στρώμα πολυμερούς PHEMA. Τα βήματα που ακολουθήθηκαν για την κατασκευή τους είναι τα εξής:

- ❖ Κατασκευή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρυσού πάνω σε υπόστρωμα από πολυιμίδιο. Φύλλα πολυιμιδίου μέσου πάχους 120 μm και επιφανειακής τραχύτητας 0,7-0,8 nm χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα. Με τη μέθοδο της συμβατικής οπτικής λιθογραφίας σχηματίστηκαν τα ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια πάνω σε αυτό. Με την τεχνική του e-gun δημιουργήθηκαν τα ηλεκτρόδια με πάχος ως και 100 nm μετά από τη διαδικασία του lift-off. (Εικ. 3.1)
- ❖ Εναπόθεση λεπτού υμενίου νανοσωματιδίων πλατίνας (βλ. § 1.3)
- ❖ Εναπόθεση στρώματος πολυμερούς PHEMA (βλ. § 2.3)



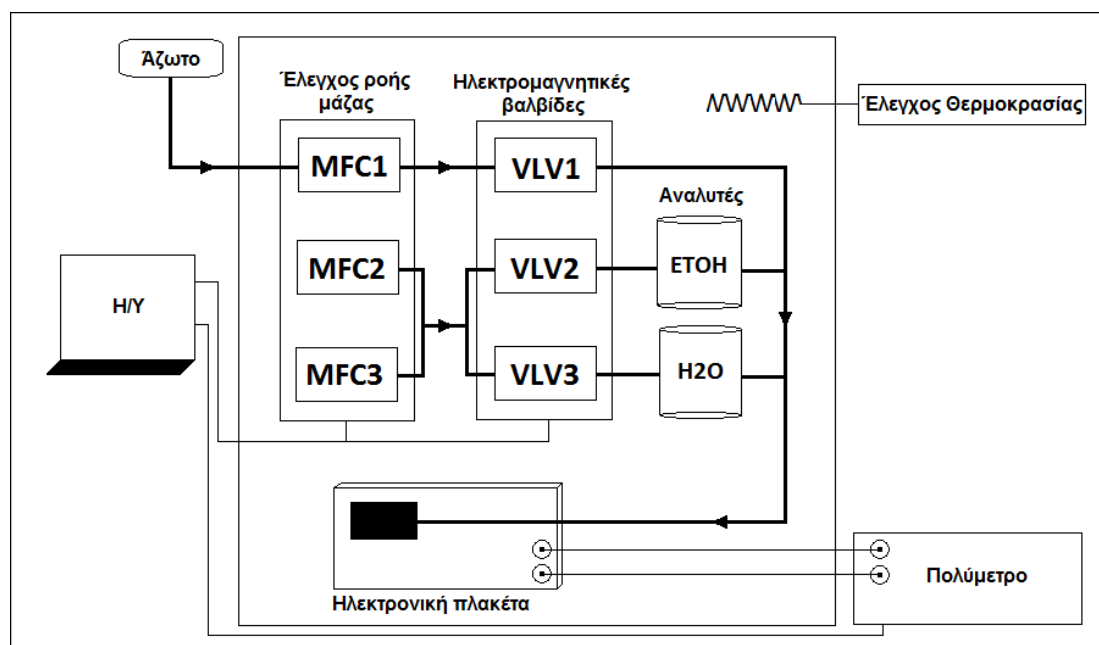
Εικόνα 3.1: Ηλεκτρόδια χρυσού πάνω σε υπόστρωμα από πολυιμίδιο

Με την παραπάνω διαδικασία κατασκευάσαμε 3 ομάδες αισθητήρων με διαφορετικούς χρόνους εναπόθεσης η κάθε μια. Οι δύο από τις ομάδες αποτελούνταν από δύο αισθητήρες η κάθε μια, με διαφορετικές αποστάσεις μεταξύ των ηλεκτροδίων, 5 μm και 10 μm . Η τρίτη ομάδα περιλάμβανε έναν αισθητήρα με απόσταση ηλεκτροδίων μόνο 5 μm . Αμέσως μετά την κατασκευή των αισθητήρων έγινε ο ηλεκτρικός χαρακτηρισμός τους (I-V) σε κλίμακα τάσης από -1 ως 1 V με τη συσκευή HP 4140B. Η πρώτη ομάδα αισθητήρων είχε αντίσταση 35 Ω για την απόσταση των 5 μm και 50 Ω για την απόσταση των 10 μm . Η δεύτερη ομάδα είχε αντίσταση 400 Ω για την

απόσταση των 5 μm και 6 $\text{k}\Omega$ για τα 10 μm . Τέλος η τρίτη ομάδα είχε τιμή 566 $\text{k}\Omega$ για τα 5 μm που περιείχε.

3.3 Πειραματική Διάταξη και Διαδικασία

Η πειραματική διάταξη στην οποία έγιναν οι μετρήσεις απόκρισης ηλεκτρικής αντίστασης και χωρητικότητας των χημικών αισθητήρων σε περιβάλλον διαφορετικών συγκεντρώσεων ατμών υγρασίας και αιθανόλης, βρίσκεται στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος». Μια σχηματική αναπαράσταση της διάταξης απεικονίζεται παρακάτω.



Εικόνα 3.2: Σχηματική αναπαράσταση της πειραματικής διάταξης των χημικών αισθητήρων

Η διάταξη αποτελείται από:

1. Ένα σύστημα ελέγχου ροής μάζας (mass flow controllers)
2. Ηλεκτρομαγνητικές βαλβίδες (VLV1-3)
3. Δοχεία με αναλυτές (Αιθανόλη και Νερό)
4. Ένα θαλαμίσκο στον οποίο περιέχεται ο αισθητήρας, συνδεδεμένος σε μια ηλεκτρονική πλακέτα

5. Ηλεκτρονικό υπολογιστή με κατάλληλο πρόγραμμα ελέγχου του συστήματος
6. Μετρητική ηλεκτρονική συσκευή (Πολύμετρο)
7. Παροχή αζώτου
8. Σύστημα ελέγχου θερμοκρασίας

Οι ελεγκτές ροής μάζας MFC1 - 3 ελέγχουν την ποσότητα των αερίων στο σύστημα μέσω του ηλεκτρονικού υπολογιστή. Ο MFC1 αντιστοιχεί στη ροή του αζώτου, η οποία είναι σταθερή στα 1000 ml το λεπτό καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας. Οι MFC2 και MFC3 αντιστοιχούν σε ροή αερίου μεγαλύτερη των 100 ml/min και μικρότερη, αντίστοιχα. Οι ηλεκτρομαγνητικές βαλβίδες VLV1 - 3, μέσω του υπολογιστή, ελέγχουν ποιοι αναλυτές θα κυκλοφορήσουν στο σύστημα. Η βαλβίδα 1 αντιστοιχεί στο άζωτο, η 2 στον αναλυτή της αιθανόλης και η 3 στον αναλυτή του νερού (υγρασία). Η συνολική ροή των αερίων κατευθύνεται σε έναν θαλαμίσκο μεγέθους 4 mm³ περίπου, μέσα στον οποίο βρίσκεται ο προς εξέταση αισθητήρας. Ο θαλαμίσκος είναι συνδεδεμένος με μια πλακέτα ηλεκτρονικών, η οποία με τη σειρά της συνδέεται στον υπολογιστή αλλά και στο πολύμετρο. Το παραπάνω περιγραφόμενο σύστημα περιέχεται σε ένα μεγάλο κουτί από πλέξιγλας, μέσα στο οποίο η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους 30 °C. Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής χρησιμοποιώντας ένα κατάλληλα διαμορφωμένο υπολογιστικό πρόγραμμα τύπου LabVIEW, μέσω της ηλεκτρονικής πλακέτας, πραγματοποιεί δειγματοληπτική συλλογή δεδομένων αντίστασης ή χωρητικότητας διαδοχικά για κάθε αισθητήρα, σύμφωνα με τις μετρήσεις του πολύμετρου και τις αποθηκεύει. Για τη μέτρηση της αντίστασης γίνεται χρήση πολυμέτρου Keithley και για τη μέτρηση της χωρητικότητας καπασιτόμετρου HP 4278A. Η ποσότητα των αναλυτών που παρέχεται στον αισθητήρα ξεκινά από μικρές συγκεντρώσεις και αυξάνεται σταδιακά, παράλληλα με την συνεχή, σταθερή ροή του αζώτου. Στον παρακάτω πίνακα δίνεται η ρουτίνα των αερίων στα οποία εκτίθεται ο αισθητήρας για περίπου 14 ώρες.

Χρόνος (min)	Υδρατμοί	Ποσότητα (ml/min)	Συγκέντρωση (ppm)
0	N ₂	1000	
200	ΕΤΟΗ	18	2.000
225	N ₂	1000	
245	ΕΤΟΗ	45	5.000
270	N ₂	1000	
290	ΕΤΟΗ	75	8.000
315	N ₂	1000	
335	ΕΤΟΗ	95	10.000
360	N ₂	1000	
380	ΕΤΟΗ	150	15.000
415	N ₂	1000	
435	ΕΤΟΗ	210	20.000
460	N ₂	1000	
520	H ₂ O	12	500
540	N ₂	1000	
565	H ₂ O	23	1.000
585	N ₂	1000	
610	H ₂ O	48	2.000
630	N ₂	1000	
655	H ₂ O	129	5.000
675	N ₂	1000	
700	H ₂ O	224	8.000
720	N ₂	1000	
745	H ₂ O	297	10.000
765	N ₂	1000	
790	H ₂ O	523	15.000
810	N ₂	1000	
835	H ₂ O	844	20.000
855	N ₂	1000	

Πίνακας 3.3: Χρονική ακολουθία των συγκεντρώσεων ατμών αιθανόλης και υγρασίας στο περιβάλλον του αισθητήρα

Αρχικά ο αισθητήρας εκτίθεται μόνο σε ροή αζώτου για αρκετό χρονικό διάστημα προκειμένου να υπάρχει ισορροπία στο περιβάλλον του, πριν την εισαγωγή των αναλυτών.

3.4 Ηλεκτρική Αντίσταση

3.4.1 Μηχανισμοί Αγωγιμότητας

Οι κύριοι μηχανισμοί αγωγιμότητας σε διατάξεις νανοσωματιδίων είναι τα άλματα φορτίου (hopping) και το κβαντικό φαινόμενο της σήραγγας (tunneling). Αν και η θερμιονική εκπομπή είναι επίσης ένας πιθανός μηχανισμός, έχει βρεθεί [3] ότι σε τέτοιες καταστάσεις υπερισχύουν οι άλλοι δύο μηχανισμοί, με τα άλματα φορτίου να παρατηρούνται περισσότερο σε χαμηλές θερμοκρασίες. Όπως είδαμε και στο κεφάλαιο 1, η αγωγιμότητα σε διατάξεις νανοσωματιδίων είναι ανάλογη της σχέσης (1.12):

$$\sigma \propto \frac{1}{r} R^2 e^2 D \exp\left(-\frac{e^2 / r}{kT}\right) \Omega^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

Σύμφωνα και με άλλες μελέτες [4][5], έχει αποδειχθεί ότι για την αγωγιμότητα ισχύει σχέση μορφής:

$$\sigma \propto \exp(-\delta\beta) \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (3.1)$$

όπου δ η απόσταση μεταξύ των νανοσωματιδίων ή νησίδων, β ο κβαντικός συντελεστής σήραγγας και E_a η ενέργεια ενεργοποίησης για μεταφορά φορτίου. Παρατηρούμε από τις δύο παραπάνω σχέσεις ότι η ηλεκτρική αντίσταση ενός λεπτού υμενίου νανοσωματιδίων, που ισούται με το αντίστροφο της αγωγιμότητας, εξαρτάται:

- από την απόσταση μεταξύ των νανοσωματιδίων (ή των νησίδων)
- από το μέγεθος αυτών και
- από τη θερμοκρασία

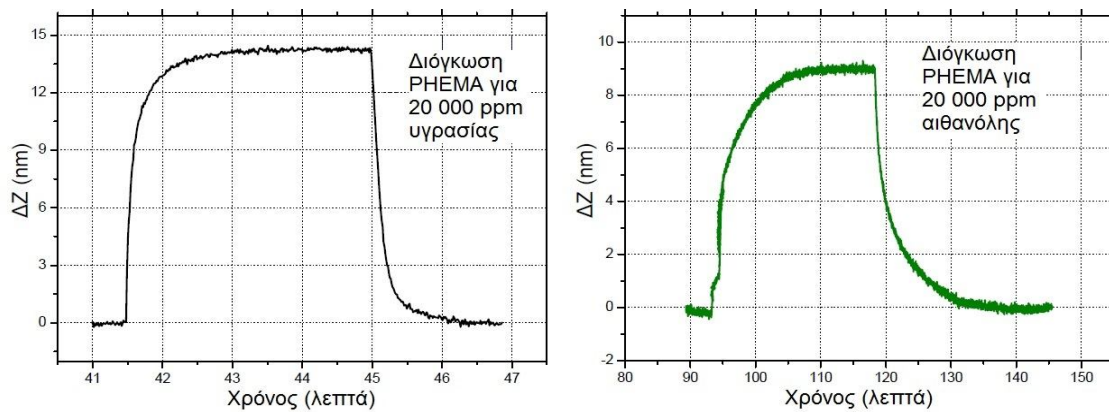
Ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης ενός συστήματος και υπεισέρχεται στην παρούσα μελέτη, είναι η μεταβολή της διηλεκτρικής σταθεράς του. Η διηλεκτρική

σταθερά ενός υλικού αντιστοιχεί στο λόγο της ηλεκτρικής ενέργειας που αποθηκεύεται σ' αυτό όταν του εφαρμοστεί ηλεκτρική τάση, προς την αντίστοιχη ποσότητα που αποθηκεύεται στο κενό. Όταν λοιπόν ένα υλικό με μεγάλη διηλεκτρική σταθερά τοποθετηθεί μέσα σε ένα ηλεκτρικό πεδίο, η τιμή του πεδίου αυτού μέσα στο υλικό μειώνεται αισθητά. Επομένως, η αύξηση του μέτρου της διηλεκτρικής σταθεράς ενός υλικού αυξάνει και την ηλεκτρική του αντίσταση.

3.4.2 Αρχή λειτουργίας

Στην περίπτωση της δικής μας πειραματικής διαδικασίας εξετάζουμε τον κάθε παράγοντα που επηρεάζει την ηλεκτρική αντίσταση. Η θερμοκρασία καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος διατηρείται σταθερή. Το ίδιο συμβαίνει και με το μέγεθος των νανοσωματιδίων, με τη μέση διάμετρο τους να είναι 4-6 nm. Η μεταβολή λοιπόν που παρατηρείται στην τιμή της ηλεκτρικής αντίστασης κατά την έκθεση του αισθητήρα σε ατμούς, οφείλεται στην παραμόρφωση του υβριδικού στρώματος πολυμερούς-νανοσωματιδίων που έχει σαν αποτέλεσμα να μεταβάλλονται τα μεγέθη της διηλεκτρικής σταθεράς και της απόστασης των νανοσωματιδίων.

Το στρώμα του PHEMA βρίσκεται σε επαφή με το στρώμα των νανοσωματιδίων. Όταν οι ατμοί του αναλυτή έρθουν σε επαφή με το πολυμερές, αυτό τους απορροφά με αποτέλεσμα να αυξάνεται ο όγκος του αισθητήρα, όπως παρατηρείται και στην εικόνα 3.4. Αυτό συνεπάγεται ότι και τα νανοσωματίδια που είναι «καρφιτσωμένα» πάνω στο PHEMA θα απομακρυνθούν το ένα από το άλλο, μεγαλώνοντας έτσι την μεταξύ τους απόσταση και διαταράσσοντας τα αγώγιμα μονοπάτια που προϋπήρχαν πριν τη διόγκωση. Επίσης, η σχετικά μεγάλες τιμές της διηλεκτρικής σταθεράς του νερού και της αιθανόλης ($\epsilon_{\nu\gamma\rho\alpha\sigma\iota\alpha\varsigma}=80,1$ και $\epsilon_{\alpha\iota\theta\alpha\nu\omicron\lambda\eta\varsigma}=24,3$) θα συνεισφέρουν στην αύξηση της διηλεκτρικής σταθεράς του PHEMA.



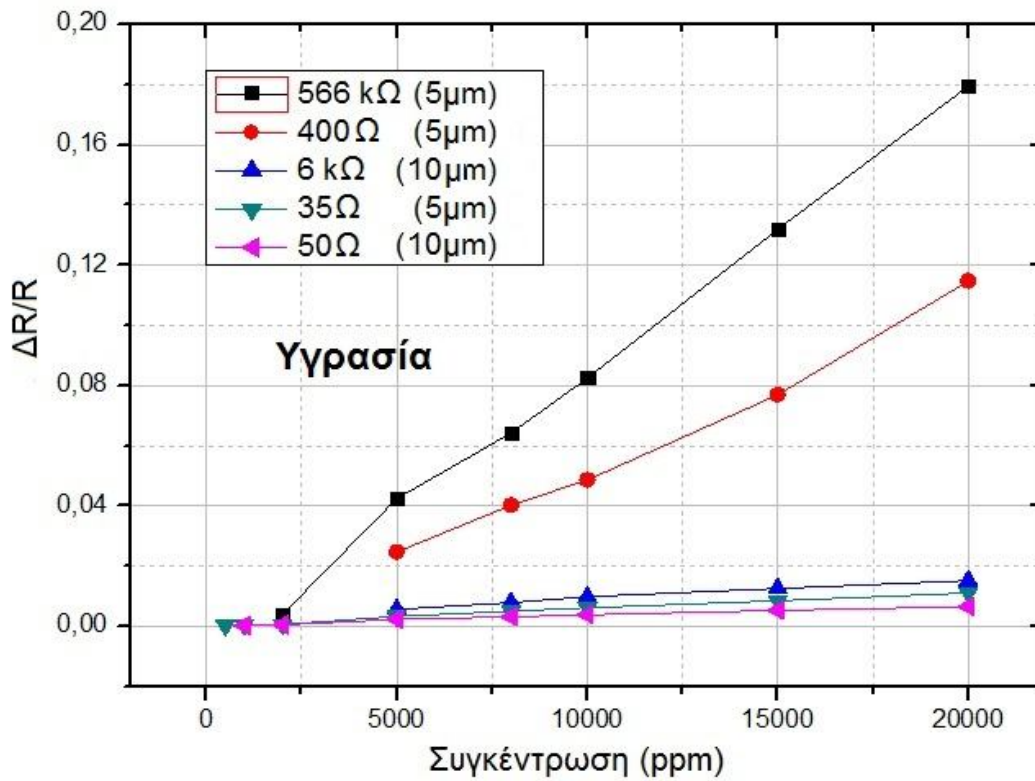
Εικόνα 3.4: Διαγράμματα μεταβολής του όγκου του PHEMA με την απορρόφηση υγρασίας και αιθανόλης

Οι δυο αυτοί παράγοντες προκαλούν την αύξηση της ηλεκτρικής αντίστασης που παρατηρούμε κατά τη διάρκεια της πειραματικής μέτρησης. Συγκεκριμένα, σταδιακά με την είσοδο του αναλυτή στο σύστημα η ηλεκτρική αντίσταση ξεκινά να αυξάνεται μέχρι ένα σημείο κορεσμού. Στη συνέχεια με την αντικατάσταση του αναλυτή από παροχή μόνο αζώτου, ο αναλυτής που έχει απορροφηθεί από το πολυμερές εξατμίζεται και το πολυμερές επανέρχεται στον αρχικό του όγκο μέχρι την εισαγωγή της επόμενης συγκέντρωσης στο σύστημα.

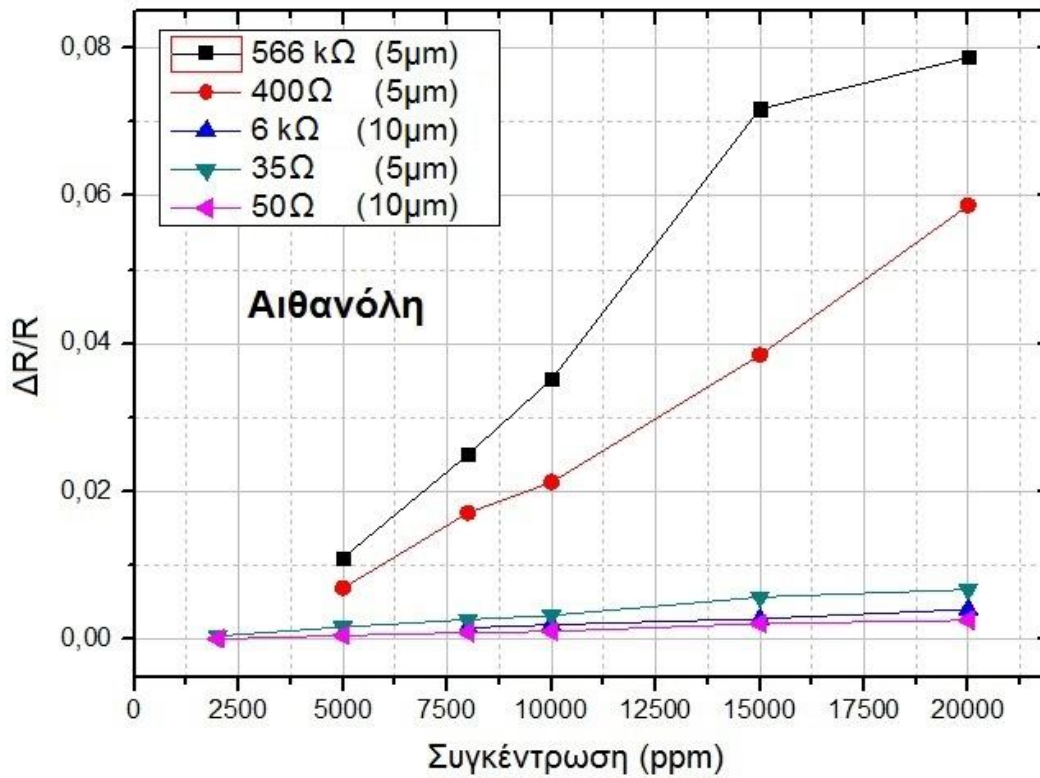
3.4.3 Παρουσίαση αποτελεσμάτων

Στα διαγράμματα που θα ακολουθήσουν παρουσιάζεται η απόκριση των αισθητήρων που αναφέρθηκαν παραπάνω, σε ατμούς υγρασίας και αιθανόλης. Προκειμένου όλοι οι αισθητήρες να συγκριθούν στην ίδια κλίμακα, δεδομένου ότι ο καθένας από αυτούς παρουσιάζει διαφορετική ηλεκτρική αντίσταση, έχουμε υπολογίσει την απόλυτη μεταβολή της αντίστασης ($\Delta R/R$) για τον καθένα από αυτούς.

Στα παρακάτω διαγράμματα απεικονίζονται οι απόλυτες μεταβολές της αντίστασης και για τους πέντε αισθητήρες, τόσο για τους ατμούς της υγρασίας, όσο και για της αιθανόλης.



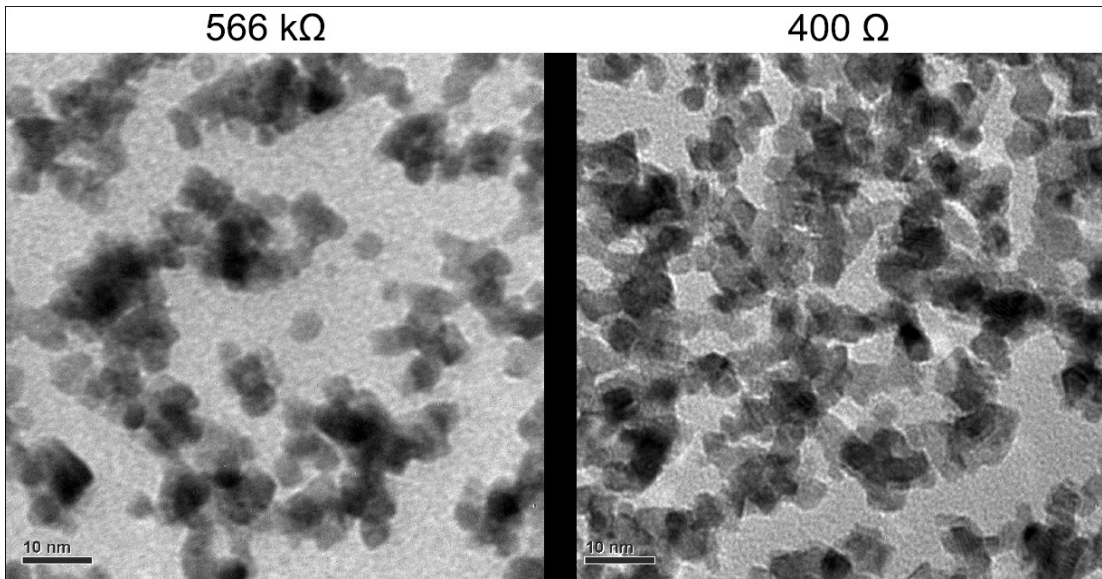
Εικόνα 3.5: Απόλυτη μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης όλων των αισθητήρων στην παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων ατμών υγρασίας



Εικόνα 3.6: Απόλυτη μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης όλων των αισθητήρων στην παρουσία διαφορετικών συγκεντρώσεων ατμών αιθανόλης

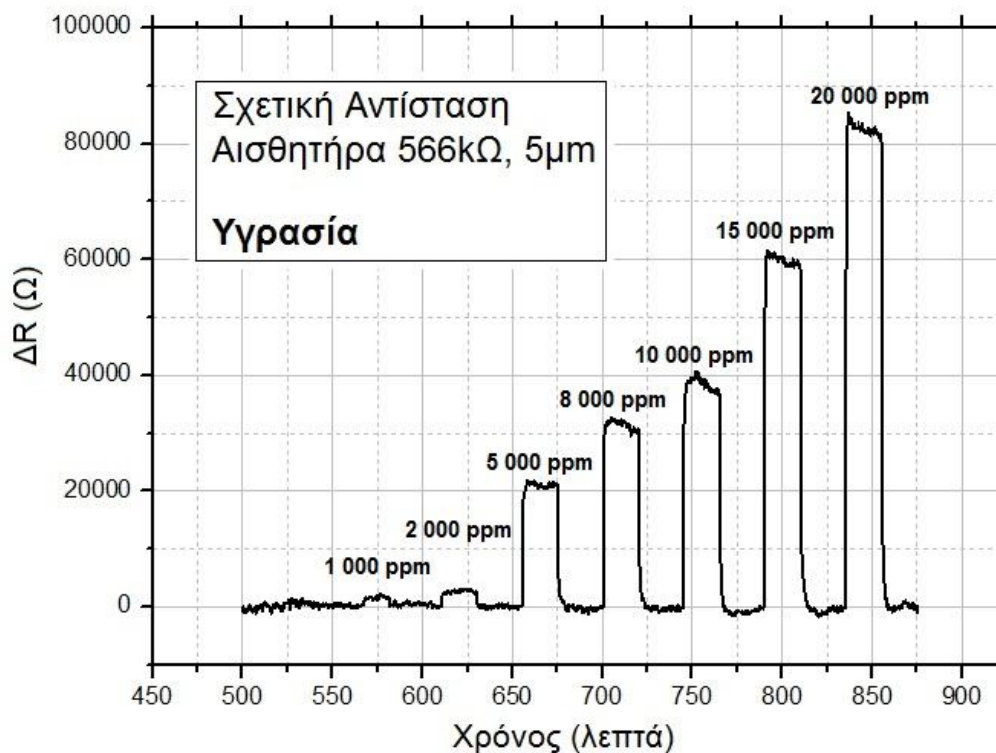
Παρατηρούμε και στις δύο περιπτώσεις ότι οι αισθητήρες των οποίων τα ηλεκτρόδια έχουν απόσταση $5\mu\text{m}$ μεταξύ τους, έχουν καλύτερη απόκριση από τους αντίστοιχους με απόσταση $10\mu\text{m}$ για την κάθε ομάδα αισθητήρων (που όπως είπαμε κάθε ομάδα έχει διαφορετικό χρόνο εναπόθεσης). Αυτό είναι αναμενόμενο, αφού έχει βρεθεί [6] ότι η μείωση της απόστασης μεταξύ των ηλεκτροδίων αυξάνει την αισθητηριακή τους ικανότητα.

Κάτι άλλο που αξίζει να σημειωθεί είναι ότι μεταξύ αισθητήρων με την ίδια απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων (π.χ. $5\mu\text{m}$), καλύτερη απόκριση παρουσιάζουν αυτοί με την μεγαλύτερη αρχική αντίσταση. Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί [1][7] ότι ενδιάμεσες τιμές συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων, που αντιστοιχούν σε μια ηλεκτρική αντίσταση της τάξεως των $\text{k}\Omega$ παρουσιάζουν καλύτερη ηλεκτρική απόκριση. Η ιδανική αυτή τιμή της συγκέντρωσης των νανοσωματιδίων συνδέεται με τον αριθμό των αγώγιμων δρόμων που υπάρχουν στο στρώμα των νανοσωματιδίων. Για αισθητήρες με αντίσταση της τάξης των $\text{M}\Omega$ είναι λογικό να πούμε ότι δεν θα έχουν καλή απόκριση εξαιτίας της μειωμένης συγκέντρωσης νανοσωματιδίων και κατ' επέκταση της έλλειψης αγώγιμων μονοπατιών. Για αισθητήρες μεγάλης αγωγιμότητας, με αντίσταση μόνο μερικών Ω , η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων είναι τόσο μεγάλη που το στρώμα τους έχει μεταλλικές ιδιότητες (*Εικ. 3.7*). Οποιαδήποτε διόγκωση της πολυμερικής μήτρας δεν θα επιφέρει κάποια μεγάλη αλλαγή στην αντίσταση του αισθητήρα αφού υπάρχουν άπειροι αγώγιμοι δρόμοι να αντικαταστήσουν αυτούς που καταστρέφονται κατά την παραμόρφωση.

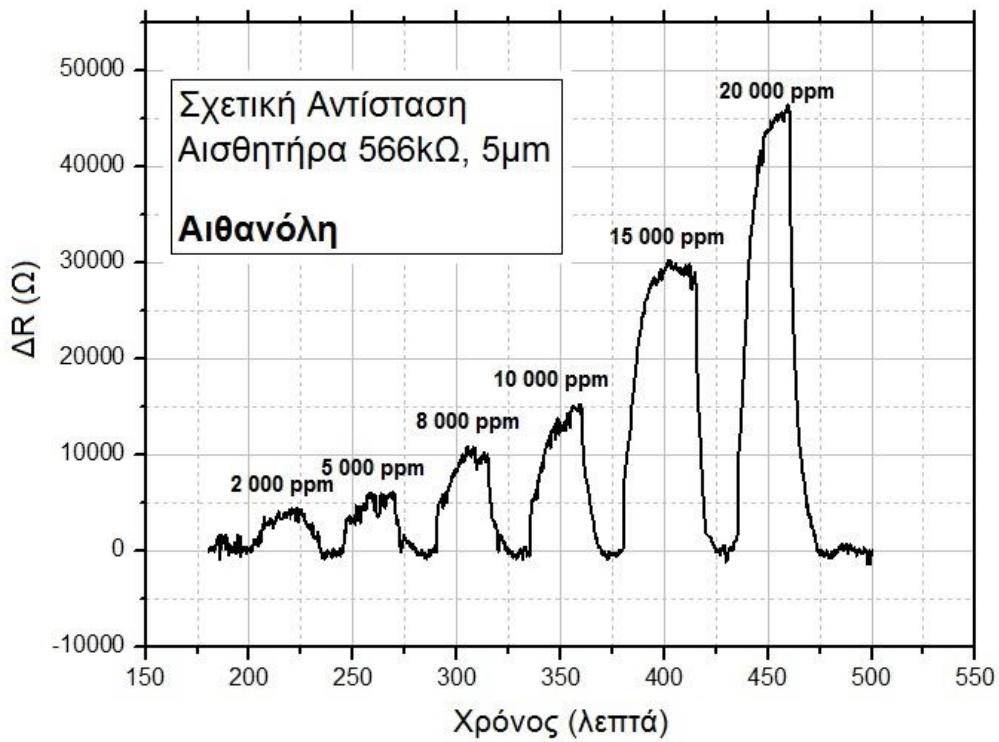


Εικόνα 3.7: Απεικόνιση από μικροσκόπιο TEM της πυκνότητας νανοσωματιδίων στην επιφάνεια αισθητήρων

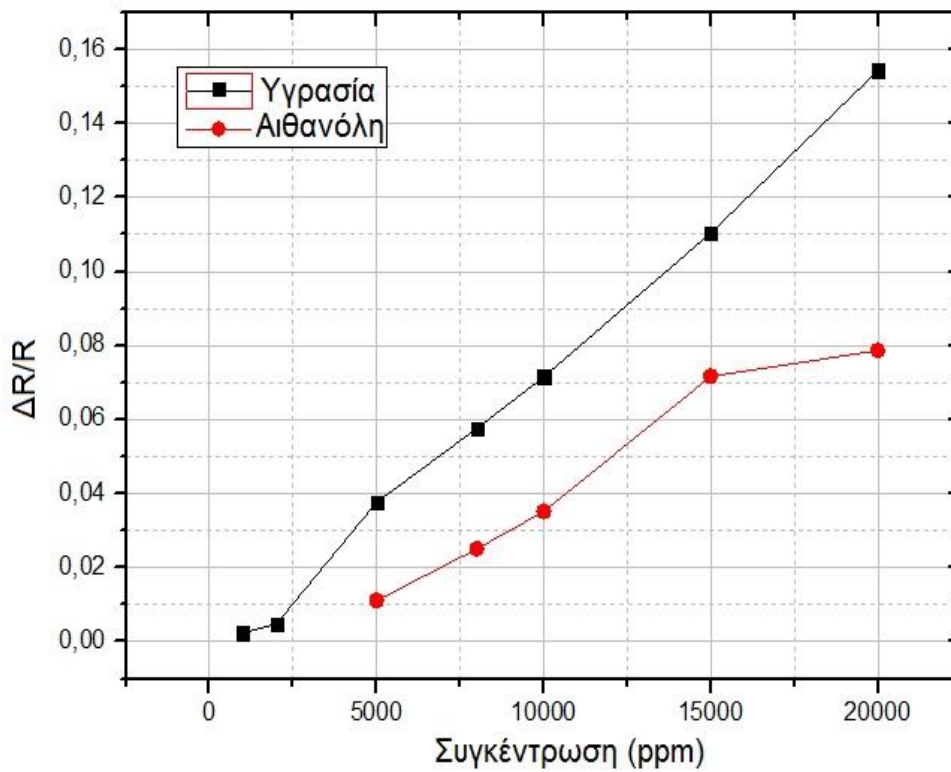
Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, ο αισθητήρας με τιμή αντίστασης 566kΩ και απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων 5μm, είχε την καλύτερη απόκριση, όπως αναμενόταν. Στη συνέχεια παρουσιάζεται η σχετική μεταβολή της αντίστασης του στις διαφορετικές συγκεντρώσεις ατμών υγρασίας και αιθανόλης, καθώς και η σύγκριση των δύο αυτών απόλυτων μεταβολών.



Εικόνα 3.8: Σχετική μεταβολή της αντίστασης του αισθητήρα για διαφορετικές συγκεντρώσεις υγρασίας



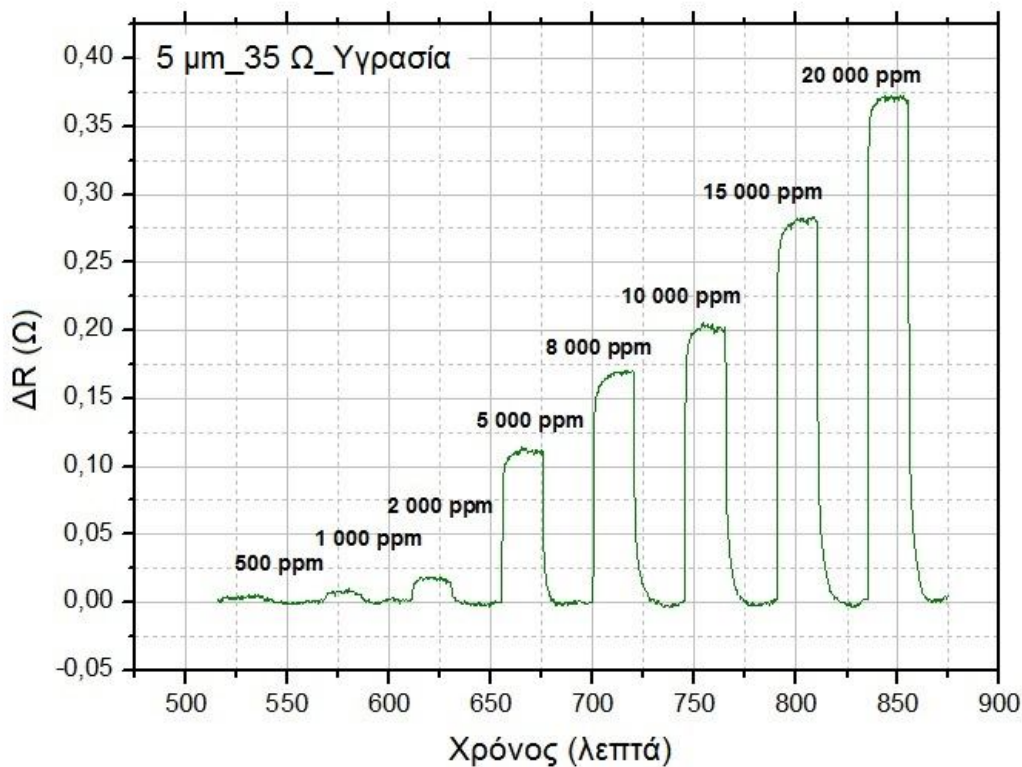
Εικόνα 3.9: Σχετική μεταβολή της αντίστασης του αισθητήρα για διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθανόλης



Εικόνα 3.10: Σύγκριση της απόκρισης του αισθητήρα 566 kΩ σε ατμούς υγρασίας και αιθανόλης

Από τα παραπάνω διαγράμματα που αφορούν τον καλύτερο σε απόδοση αισθητήρα μπορούμε να βγάλουμε και συμπεράσματα για τον χρόνο απόκρισης και επαναφοράς του. Χρόνος απόκρισης ονομάζεται ο χρόνος που απαιτείται για να λάβει ο αισθητήρας το 70% της τελικής τιμής του. Χρόνος επαναφοράς είναι ο χρόνος που χρειάζεται ο αισθητήρας για να επιστρέψει στην αρχική του κατάσταση όταν αφαιρεθεί ο αναλυτής από το περιβάλλον του. Έτσι για την περίπτωση των ατμών υγρασίας ο αισθητήρας των 566 kΩ παρουσιάζει χρόνο απόκρισης 14 δευτερολέπτων και χρόνο επαναφοράς 115 δευτερολέπτων. Για τους ατμούς αιθανόλης παρατηρήθηκε χρόνος απόκρισης 240 δευτερολέπτων και χρόνος επαναφοράς 400 δευτερόλεπτα.

Συγκρίνοντας την απόδοση του αισθητήρα των 566 kΩ με την απόκριση αντίστοιχου αισθητήρα σε υπόστρωμα πυριτίου [1], θα παρατηρήσουμε ότι οι αισθητήρες πάνω σε πυρίτιο υπερτερούν αυτών του πολυιμιδίου. Συγκεκριμένα, ο καλύτερος αισθητήρας σε πυρίτιο παρουσιάζει μια απόλυτη μεταβολή στην αντίσταση της τάξεως του 42%, ενώ ο αντίστοιχος στο πολυιμίδιο 15,5%. Παρόλ' αυτά και οι δύο τύποι αισθητήρων είναι ικανοί να ανιχνεύσουν τις ίδιες συγκεντρώσεις αερίων. Τέλος κάτι που αξίζει να σημειωθεί είναι ότι οι αισθητήρες υψηλής αγωγιμότητας (35 Ω και 50 Ω) κατάφεραν να ανιχνεύσουν συγκεντρώσεις των 500 ppm για ατμούς υγρασίας, που είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση που έχει παρατηρηθεί ακόμα και στους αισθητήρες με υπόστρωμα πυριτίου.



Εικόνα 3.11: Απόκριση του αισθητήρα των 35 Ω και 5 μm σε διάφορες συγκεντρώσεις ατμών υγρασίας

3.5 Χωρητικότητα

3.5.1 Θεωρητική Προσέγγιση

Για την κατασκευή χημικών αισθητήρων πολλές φορές βασίζομαστε σε φαινόμενα χωρητικότητας. Η χρήση ενδοδιαπλεκόμενων δομών έναντι μεμβρανών ή μικροδοκών (cantilever) έχει μεγαλύτερη απήχηση αφού προσφέρει μεγαλύτερη ανθεκτικότητα και λιγότερα βήματα κατασκευής, κάτι που συνεπάγεται χαμηλότερο κόστος. Επομένως μια διάταξη ενδοδιαπλεκόμενων δακτύλων από μέταλλο, μεταξύ των οποίων περιέχεται ένα στρώμα πολυμερικού υλικού μπορεί να λειτουργήσει σαν μια σειρά από πυκνωτές των οποίων μελετάμε την χωρητικότητα. Η απόκριση του αισθητήρα προκύπτει από την απορρόφηση ενός συγκεκριμένου αναλυτή

από το πολυμερικό στρώμα (ενεργό υλικό), η οποία έχει σαν αποτέλεσμα α) την αλλαγή της διηλεκτρικής σταθεράς του και β) τη διόγκωση του.

Το μέγεθος που χαρακτηρίζει τη συμπεριφορά ενός πολυμερούς στην απορρόφηση ενός συγκεκριμένου αναλυτή ονομάζεται *συντελεστής κατανομής* K_C , είναι μια σταθερά χημικής ισορροπίας και ορίζεται από τη σχέση:

$$K_C = \frac{C_{poly}}{C_{gas}} \quad (3.2)$$

όπου C_{poly} η συγκέντρωση του αναλυτή στην πολυμερική φάση και C_{gas} η συγκέντρωση του αναλυτή στην αέρια φάση. Για έναν συγκεκριμένο αναλυτή, ο συντελεστής κατανομής είναι αντιστρόφως ανάλογος της τάσης κορεσμού των ατμών του και κατ' επέκταση έχει θερμοκρασιακή εξάρτηση. Επίσης εξαρτάται από την αλληλεπίδραση πολυμερούς – αναλυτή.

Αν αντικαταστήσουμε την συγκέντρωση του αναλυτή με την μερική πίεση του p_A στην παραπάνω σχέση και παίρνοντας τον κλασματικό όγκο του αναλυτή στο πολυμερές ως φ_A , τότε ο τύπος (3.2) γίνεται:

$$\varphi_A = \frac{p_A}{RT} K_C \frac{M}{\rho} \quad (3.3)$$

όπου M και ρ η μοριακή μάζα και η πυκνότητα του αναλυτή στην αέρια φάση.

Για χαμηλές συγκεντρώσεις, η σχέση διόγκωσης του πολυμερούς και απορροφώμενης ποσότητας είναι γραμμική, σύμφωνα με τη σχέση:

$$h_{eff} = h(1 + Q\varphi_A) \quad (3.4)$$

όπου h και h_{eff} είναι το αρχικό πάχος του πολυμερούς και το τελικό μετά την απορρόφηση, αντίστοιχα. Q είναι ένας αδιάστατος συντελεστής που

περιγράφει τη διόγκωση, με ιδανική τιμή $Q = 1$. Στην πραγματικότητα όμως $Q < 1$.

Για την διηλεκτρική σταθερά του συστήματος πολυμερούς – αναλυτή υπάρχουν πολλές θεωρίες που το περιγράφουν ανάλογα με το είδος του αναλυτή και την πολικότητα του. Οι βασικότερες είναι αυτές των Clausius – Mosotti και Debye. Μια απλοποιημένη σχέση που προσεγγίζει την τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του συστήματος για κάθε είδος αναλυτή είναι η παρακάτω:

$$\varepsilon_{eff} = \varepsilon_{poly} + \varphi_A \left[(\varepsilon_A - 1) - Q(\varepsilon_{poly} - 1) \right] \quad (3.5)$$

όπου ε_{eff} , ε_{poly} και ε_A η συνολική διηλεκτρική σταθερά και οι διηλεκτρικές σταθερές πολυμερούς και αναλυτή, αντίστοιχα.

Επομένως, οι παράγοντες που επηρεάζουν τη χωρητικότητα στο σύστημα πολυμερούς – αναλυτή είναι:

- η αλλαγή του όγκου του πολυμερούς λόγω της απορρόφησης του αναλυτή
- η αλλαγή της διηλεκτρικής σταθεράς του πολυμερούς λόγω της εισαγωγής του αναλυτή στο σύστημα του, που έχει διαφορετική διηλεκτρική σταθερά

Η μεταβολή αυτή της χωρητικότητας περιγράφεται από την παρακάτω σχέση:

$$\Delta C = \delta h \frac{\partial C}{\partial h}(h, \varepsilon_{poly}) + \delta \varepsilon \frac{\partial C}{\partial \varepsilon}(h, \varepsilon_{poly}) \quad (3.6)$$

[8]

3.5.2 Αρχή Λειτουργίας

Σύμφωνα με τη θεωρία η χωρητικότητα ιδανικού πυκνωτή με επίπεδες πλάκες εμβαδού A , σε απόσταση d που περιέχουν ανάμεσα τους διηλεκτρικό υλικό, δίνεται από τη σχέση:

$$C = \varepsilon_{eff} \varepsilon_0 \frac{A}{d} \quad (3.7)$$

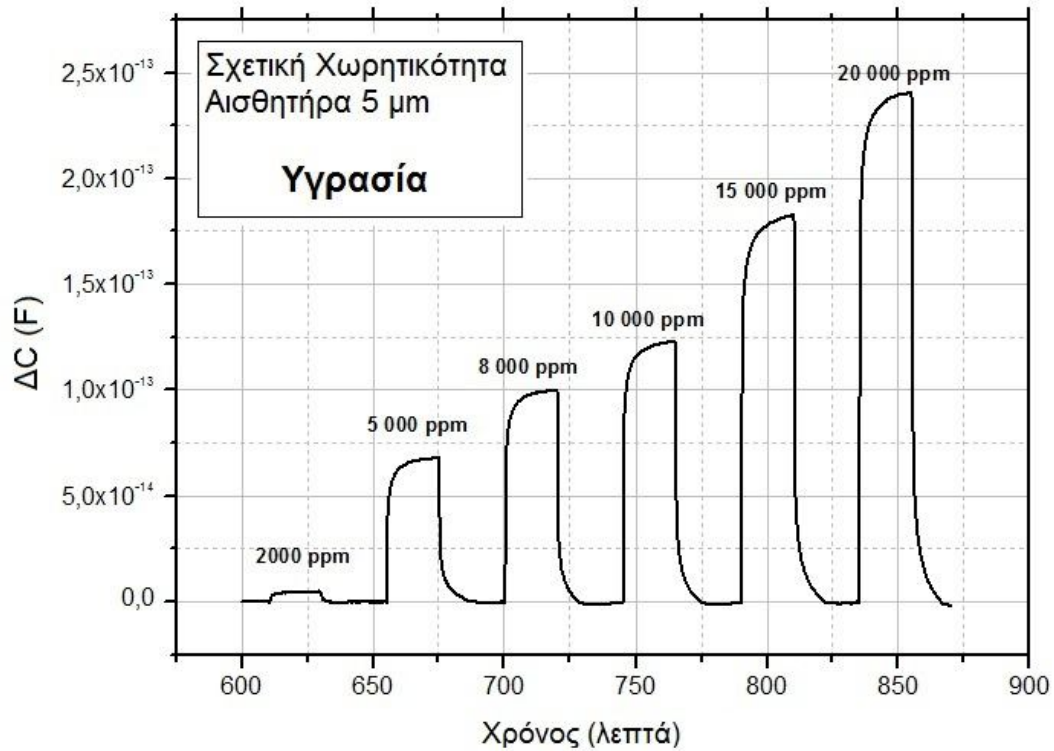
όπου ε_0 η διηλεκτρική σταθερά του κενού και ε_{eff} η διηλεκτρική σταθερά του συστήματος πολυμερούς – αναλυτή που προκύπτει από τη σχέση (4.5).

Επειδή οι αναλυτές που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα μας (νερό και αιθανόλη) έχουν μεγαλύτερη διηλεκτρική σταθερά από το πολυμερές PHEMA ($\varepsilon_{υγρασίας} = 80,1$ και $\varepsilon_{αιθανολης} = 24,3$), θα συνεισφέρουν αισθητά στην αύξηση της διηλεκτρικής σταθεράς του συστήματος πολυμερούς – αναλυτή μετά τη απορρόφηση τους. Αυτό θα έχει σαν αποτέλεσμα και την αύξηση της χωρητικότητας του συστήματος.

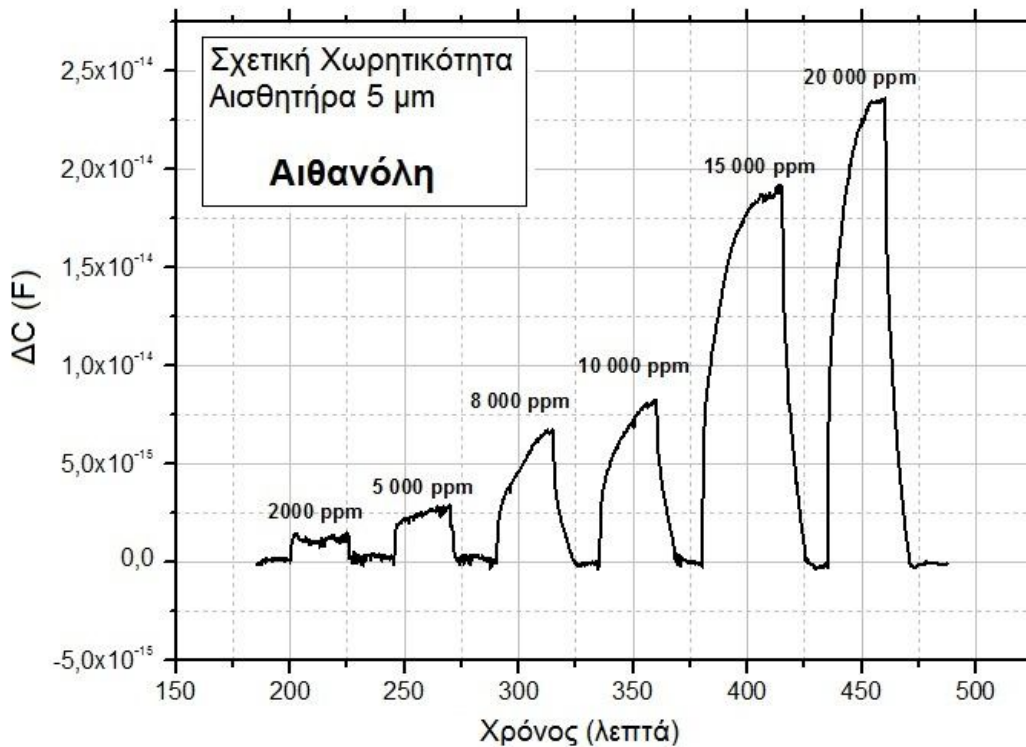
3.5.3 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων

Τον καλύτερο σε απόδοση αισθητήρα από τις μετρήσεις αντίστασης (566 kΩ), τον δοκιμάσαμε και ως αισθητήρα χωρητικότητας. Χρησιμοποιώντας τη διάταξη που περιγράφηκε στην § 3.3 και για τις ίδιες τιμές συγκεντρώσεων υγρασίας και αιθανόλης μετρήσαμε τη μεταβολή της χωρητικότητας.

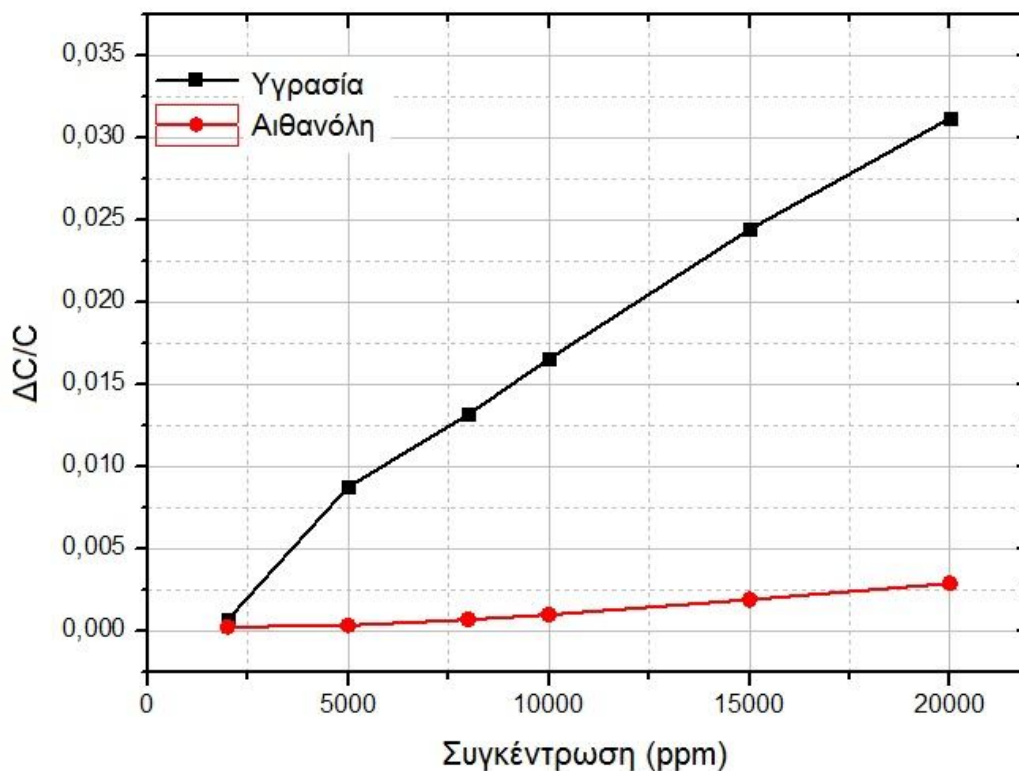
Στα επόμενα διαγράμματα απεικονίζεται η σχετική μεταβολή της χωρητικότητας του αισθητήρα για διάφορες συγκεντρώσεις ατμών υγρασίας και αιθανόλης, καθώς και η σύγκριση τους.



Εικόνα 3.12: Σχετική μεταβολή της χωρητικότητας του αισθητήρα για διάφορες τιμές συγκέντρωσης υγρασίας



Εικόνα 3.13: Σχετική μεταβολή της χωρητικότητας του αισθητήρα για διάφορες τιμές συγκέντρωσης αιθανόλης



Εικόνα 3.14: Σύγκριση απόκρισης χωρητικότητας του αισθητήρα των 566 kΩ σε υγρασία και αιθανόλη

Παρατηρούμε ότι όσον αφορά τις μετρήσεις χωρητικότητας και εδώ ο αισθητήρας παρουσιάζει καλύτερη απόκριση στην υγρασία απ' ότι στην αιθανόλη. Και στις δύο περιπτώσεις όμως ήταν δυνατή η ανίχνευση συγκεντρώσεων από 2000 ppm και πάνω. Ο χρόνος απόκρισης για την υγρασία ήταν 22 δευτερόλεπτα και 79 δευτερόλεπτα για την αιθανόλη. Ο χρόνος επαναφοράς μετρήθηκε 349 δευτερόλεπτα για την υγρασία και 456 δευτερόλεπτα για την αιθανόλη.

3.6 Συμπεράσματα

Μετά την ολοκλήρωση της πειραματικής διαδικασίας, το κύριο συμπέρασμα που προέκυψε είναι ότι η κατασκευή ενός αισθητήρα νανοσωματιδίων πάνω σε εύκαμπτο υπόστρωμα, του οποίου η λειτουργία βασίζεται τόσο στη μεταβολή της ηλεκτρικής του αντίστασης όσο και στη

μεταβολή της χωρητικότητας του στην παρουσία ατμών, είναι εφικτή. Παράμετροι που επηρεάζουν την απόδοση του αισθητήρα όπως η πυκνότητα των νανοσωματιδίων και η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων, ελέγχθηκαν προκειμένου να βρεθεί η κατάλληλη τιμή τους που θα μεγιστοποιήσει την απόδοση του αισθητήρα. Έτσι, προκειμένου να επιτύχουμε τη μέγιστη απόδοση χρειαζόμαστε μια πυκνότητα νανοσωματιδίων που αντιστοιχεί σε μια ηλεκτρική αντίσταση της τάξεως των μερικών MΩ και απόσταση μεταξύ των ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων ίση με 5 μm.

Συγκριτικά με τους συνηθισμένους αισθητήρες νανοσωματιδίων με υπόστρωμα πυριτίου, οι αντίστοιχοι εύκαμπτοι δυστυχώς δεν επέδειξαν τον ίδιο βαθμό απόκρισης σε περιβάλλον με ατμούς υγρασίας και αιθανόλης, παρόλ' αυτά ήταν εξίσου αποτελεσματικοί στην ανίχνευση χαμηλών συγκεντρώσεων, ως και 500 ppm. Η παρουσία του εύκαμπτου υποστρώματος, έναντι αυτού του πυριτίου δεν επηρέασε σημαντικά τη διαδικασία κατασκευής του αισθητήρα, όμως περαιτέρω μελέτη πάνω σε εύκαμπτα υποστρώματα είναι απαραίτητη προκειμένου να μελετηθούν πλήρως οι ιδιότητες του και το πώς αυτές μπορεί να συνεισφέρουν στην λειτουργία του αισθητήρα.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] J. Tang, E. Skotadis, S. Stathopoulos, V. Roussi, V. Tsouti and D. Tsoukalas. PHEMA functionalization of gold nanoparticles for vapor sensing: Chemi-resistance, chemi-capacitance and chemi-impedance. *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 170, 31 July 2012, Pages 129–136.
- [2] E. Skotadis, J.L. Tanner, S. Stathopoulos, V. Tsouti and D. Tsoukalas. Chemical sensing based on double layer PHEMA polymer and platinum nanoparticle films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 175, December 2012, Pages 85–91
- [3] C.A. Neugebauer and M.B. Webb. Electrical conduction mechanism in ultrathin, evaporated metal films. *Journal of Applied Physics*, 33:74, 1962.
- [4] F.P. Zamborini, L.E. Smart, M.C. Leopold and R.W. Murray. Distance-dependent electron hopping conductivity and nanoscale lithography of chemically-linked gold monolayer protected cluster films. *Analytica Chimica Acta* 496 (2003) 3–16.
- [5] M.E. Franke, T.J. Koplín and U. Simon. Metal and Metal Oxide Nanoparticles in Chemiresistors: Does the Nanoscale Matter? *small* 2006, 2, No. 1, 36 – 50.
- [6] M.G. Ancona, A.W. Snow, E.E. Foos, W. Kruppa and R. Bass. Scaling properties of gold nanocluster chemi-resistor sensors. *IEEE Sens. J.* 6 (2006) 1403–1414.
- [7] J.L. Tanner, D. Mousadakos, K. Giannakopoulos, E. Skotadis and D. Tsoukalas. High strain sensitivity controlled by the surface density of platinum nanoparticles. *Nanotechnology* 23 (2012) 285501-285506.

[8] A.M. Kummer, A. Hierlemann and H. Baltes. Tuning Sensitivity and Selectivity of Complementary Metal Oxide Semiconductor-Based Capacitive Chemical Microsensors. *Anal. Chem.* 2004, 76, 2470-2477.

Κεφάλαιο 4

Βιολογικοί Αισθητήρες

4.1 Εισαγωγή

Τα τελευταία χρόνια η επιστημονική κοινότητα έχει στρέψει το ενδιαφέρον της στις οπτικές και ηλεκτρικές ιδιότητες των μεταλλικών νανοσωματιδίων και στην εκμετάλλευσή τους για την ανίχνευση βιολογικού υλικού χρησιμοποιώντας διατάξεις χαμηλού κόστους, με σημαντικά μετρήσιμη ηλεκτρική απόκριση και χωρίς την χρήση εξειδικευμένων μετρητικών συσκευών. Στόχος της πειραματικής αυτής διαδικασίας είναι να ελέγξουμε τη δυνατότητα κατασκευής βιολογικών αισθητήρων με νανοσωματίδια, η ανιχνευτική ικανότητα των οποίων δεν θα βασίζεται στην ενεργοποίηση κάποιου ενεργού υλικού (label free), αλλά στην μεταβολή των ηλεκτρικών ιδιοτήτων της διάταξης και συγκεκριμένα στην ηλεκτρική αντίσταση. Στην πειραματική περιγραφή που θα ακολουθήσει επιχειρείται μια πρώτη προσέγγιση της κατασκευής των συγκεκριμένων αισθητήρων, όπου δίνεται κυρίως έμφαση στη λειτουργία του μηχανισμού ανίχνευσης.

4.2 Θεωρητική Προσέγγιση

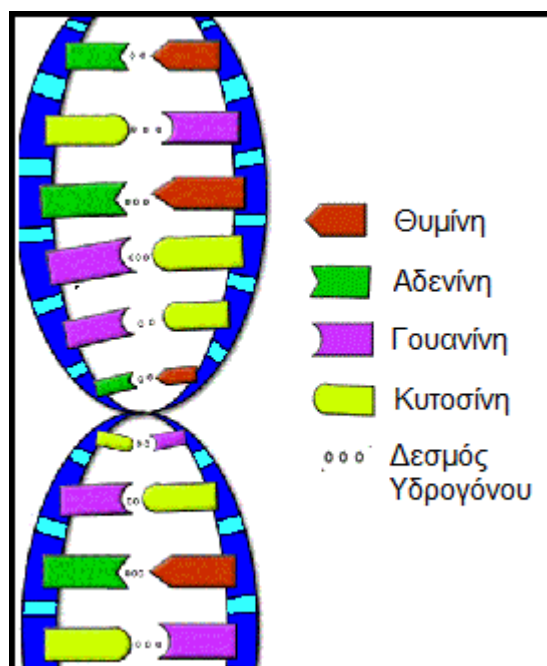
Η βασική αρχή στην οποία βασίζεται η λειτουργία του βιολογικού αισθητήρα είναι η υβριδοποίηση του DNA και η μείωση της ηλεκτρικής αντίστασης που αυτή επιφέρει. *Υβριδοποίηση* είναι η διαδικασία κατά την οποία οι αζωτούχες βάσεις ενός μονόκλωνου μορίου DNA (βλ. §2.4) αλληλεπιδρούν με τις συμπληρωματικές τους, αναπτύσσοντας δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός δίκλωνου μορίου βιολογικού υλικού. (*Εικ. 4.1*) Στο πείραμα μας, τα μονόκλινα μόρια της

ακολουθίας ολιγονουκλεοτιδίων του DNA τα οποία ακινητοποιούμε πάνω στον αισθητήρα τα ονομάζουμε ολιγονουκλεοτίδια – ανιχνευτές (probe oligonucleotides), ενώ τα συμπληρωματικά τους που θέλουμε να ανιχνεύσουμε, τα ονομάζουμε ολιγονουκλεοτίδια – στόχους (target oligonucleotides).

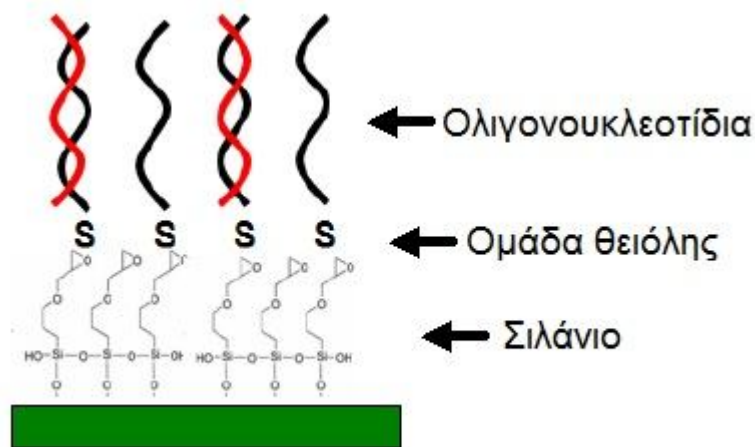
Στην βιβλιογραφία υπάρχουν πολλές αναφορές σχετικά με την αγωγιμότητα μιας αλυσίδας βιολογικού υλικού DNA. [1][2]

Συγκεκριμένα, δίκλωνες αλυσίδες DNA, παράλληλα διατεταγμένες, μπορούν να άγουν ρεύμα εάν τοποθετηθούν πάνω σε μεταλλικά ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια, κάθετα προς αυτά. [3] Ο μηχανισμός αγωγιμότητας μεταξύ των αζωτούχων βάσεων που αποτελούν την αλυσίδα του DNA (π.χ. Αδενίνη – Θυμίνη) είναι η μεταφορά φορέων φορτίου μέσω του φαινομένου της σήραγγας (tunneling). [4] Επομένως, η μετατροπή μιας μονόκλωνης αλυσίδας DNA σε δίκλωνη μέσω της υβριδοποίησης έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της αντίστασης του ηλεκτρικού συστήματος του αισθητήρα.

Για την ακινητοποίηση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών πάνω στην επιφάνεια των ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων/νανοσωματιδίων χρησιμοποιήθηκε μια επιστρωση από σιλάνιο (3-glycidoxypropyl trimethoxy silane - GOPTS). Το σιλάνιο είναι ένα υλικό το οποίο έχει την ιδιότητα να πολυμερίζεται σε κατάλληλες θερμοκρασίες πριν προσδεθεί πάνω στην επιφάνεια στην οποία εναποτίθεται. Πάνω σε αυτό είναι εύκολο να προσδεθούν τα ολιγονουκλεοτίδια τα οποία είναι τροποποιημένα με μια ομάδα θειώλης στο ένα τους άκρο. [5] (Εικ. 4.2)



Εικόνα 4.1: Σχηματική απεικόνιση υβριδοποίησης του DNA



Εικόνα 4.2: Ακίνητοποίηση ολιγονουκλεοτιδίων τροποποιημένων με θειόλη σε επιφάνεια μέσω σιλανίου

Προκειμένου να ανιχνεύσουμε την πρόσδεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών πάνω στην επιφάνεια του αισθητήρα, αλλά και την υβριδοποίηση τους με τα ολιγονουκλεοτίδια – στόχους, εκτός από τη μέτρηση της μεταβολής της αντίστασης, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τη μέθοδο του φθορισμού. Τροποποιώντας τις δύο ομάδες ολιγονουκλεοτιδίων με διαφορετικά φθορίζοντα μόρια τα οποία απορροφούν και εκπέμπουν σε διαφορετικά μήκη κύματος, μπορούμε μέσω του φθορισμού να ανιχνεύσουμε την παρουσία τους πάνω στην επιφάνεια του αισθητήρα χωρίς η μια χρωστική να επικαλύψει την άλλη. Στο πείραμα μας, για τα ολιγονουκλεοτίδια – ανιχνευτές χρησιμοποιήσαμε το φθορίζον μόριο fluorescein (FAM) χρώματος πράσινου και για τα ολιγονουκλεοτίδια – στόχους χρησιμοποιήσαμε το φθορίζον μόριο Texas Red, χρώματος κόκκινου. [6]

4.3 Κατασκευή αισθητήρων

Οι βιολογικοί αισθητήρες που χρησιμοποιήσαμε αποτελούνται από ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια πάνω σε υπόστρωμα πυριτίου, ένα στρώμα νανοσωματιδίων πλατίνας και το βιολογικό υλικό. Τα βήματα κατασκευής τους είναι τα εξής:

- ❖ *Κατασκευή ενδοδιαπλεκόμενων ηλεκτροδίων χρυσού και αλουμινίου πάνω σε υπόστρωμα από πυρίτιο. Ο τρόπος κατασκευής των ηλεκτροδίων είναι ίδιος με αυτόν που περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο. (βλ. § 3.2)*
- ❖ *Εναπόθεση λεπτού υμενίου νανοσωματιδίων πλατίνας (βλ. § 1.3)*
- ❖ *Ανάπτυξη στρώματος σιλανίου (3-glycidoxypyrpyl tri-methoxy silane - GOPTS). Η χημική διαδικασία ανάπτυξης στρώματος σιλανίου πάνω σε μια επιφάνεια είναι η εξής: Αρχικά τοποθετούμε την επιφάνεια σε διάλυμα που περιέχει 2% σιλάνιο σε 95% διάλυμα αιθανόλης για 6 ώρες σε θερμοκρασία 37 °C και στη συνέχεια το στεγνώνουμε για άλλη μία ώρα στους 135 °C.*
- ❖ *Εναπόθεση βιολογικού υλικού. Το βήμα αυτό χωρίζεται στην εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών που αποτελεί μέρος της κατασκευής του αισθητήρα και στην εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – στόχων που αποτελεί ουσιαστικά τον χαρακτηρισμό του αισθητήρα. Στην πειραματική μας διαδικασία η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων - ανιχνευτών έγινε είτε με τη χρήση εκτύπωσης ψεκασμού σταγόνας (inkjet), είτε με τη χρήση πιπέτας, είτε με τη χρήση LIFT. Η διαδικασία εκτύπωσης μέσω ψεκασμού σταγόνας παρουσιάστηκε αναλυτικά στο κεφάλαιο 2. Η χρήση της πιπέτας για την εναπόθεση υγρών διαλυμάτων μας προσφέρει το πλεονέκτημα της επιλεκτικής εναπόθεσης ελεγχόμενης ποσότητας υγρού. Δεν προτιμάται όμως για μικροδομές με διαστάσεις πολύ μικρότερες από το μέγεθος της σταγόνας και για μεγάλο αριθμό εναποθέσεων αφού η καλή επαναληψιμότητα δεν μπορεί να επιτευχθεί μέσω της χειροκίνητης χρήσης της πιπέτας. Η τεχνική LIFT (Laser Induced Forward Transfer) είναι μια τεχνική άμεσης γραφής όπου το προς εναπόθεση υλικό εκτυπώνεται με ακρίβεια πάνω στο υπόστρωμα με τη χρήση*

λέιζερ. Τα πλεονεκτήματα αυτής της τεχνικής είναι η υψηλή ακρίβεια, η επαναληψιμότητα και η οικονομία του εναποτιθέμενου υλικού αφού γίνεται χρήση μόνο της απαιτούμενης ποσότητας. [7] Μετά από την εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών ξεπλένουμε την επιφάνεια του αισθητήρα με κατάλληλο διάλυμα το οποίο απομακρύνει τα ολιγονουκλεοτιδία που δεν έχουν προσδεθεί στην επιφάνεια. Η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – στόχων έγινε με τη χρήση πιπέτας.

4.4 Πειραματική Διαδικασία

Ο αρχικός ηλεκτρικός χαρακτηρισμός (I-V) των βιολογικών αισθητήρων έγινε σε κλίμακα τάσης από -1 ως 1 V με βήμα 0,2 με τη συσκευή HP 4140B που βρίσκεται στον Τομέα Φυσικής του ΕΜΠ. Η χημική ανάπτυξη του στρώματος σιλανίου έγινε επίσης σε εργαστήριο του Τομέα Φυσικής ΕΜΠ. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών έγινε είτε με εκτύπωση μέσω ψεκασμού σταγόνας (inkjet), είτε με πιπέτα, είτε με την τεχνική του LIFT στα διαφορετικά πειράματα. Η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – στόχων έγινε με πιπέτα σε όλα τα πειράματα. Τα πειράματα φθορισμού έγιναν στο Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών της Ακαδημίας Αθηνών τόσο σε θερμοκρασία δωματίου όσο και στους 37 °C. Αυτό συνέβη γιατί σε αυτή τη θερμοκρασία εμποδίζεται ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου και κατά συνέπεια είναι δυσκολότερη η υβριδοποίηση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών με αυτά των στόχων. Αν σε αυτή τη θερμοκρασία παρατηρηθεί υβριδοποίηση είναι πολύ πιθανόν ότι θα είναι πολύ ευκολότερη η επίτευξη της σε οποιαδήποτε άλλη θερμοκρασία.

Η πειραματική μας διαδικασία μπορεί να χωριστεί σε δύο μέρη. Αρχικά πραγματοποιήσαμε μια σειρά πειραμάτων στα οποία μετρούσαμε την ηλεκτρική αντίσταση του αισθητήρα σε κάθε βήμα κατασκευής του. Δοκιμάστηκαν αισθητήρες τόσο με ηλεκτρόδια από χρυσό, όσο και από

αλουμίνιο, με διαφορετικές τιμές αρχικής αντίστασης και διαφορετικές αποστάσεις μεταξύ των ηλεκτροδίων. Η μέτρηση της αντίστασης γινόταν αρκετές ώρες μετά την εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων, αφού είχε στεγνώσει το υγρό από την επιφάνεια τους.

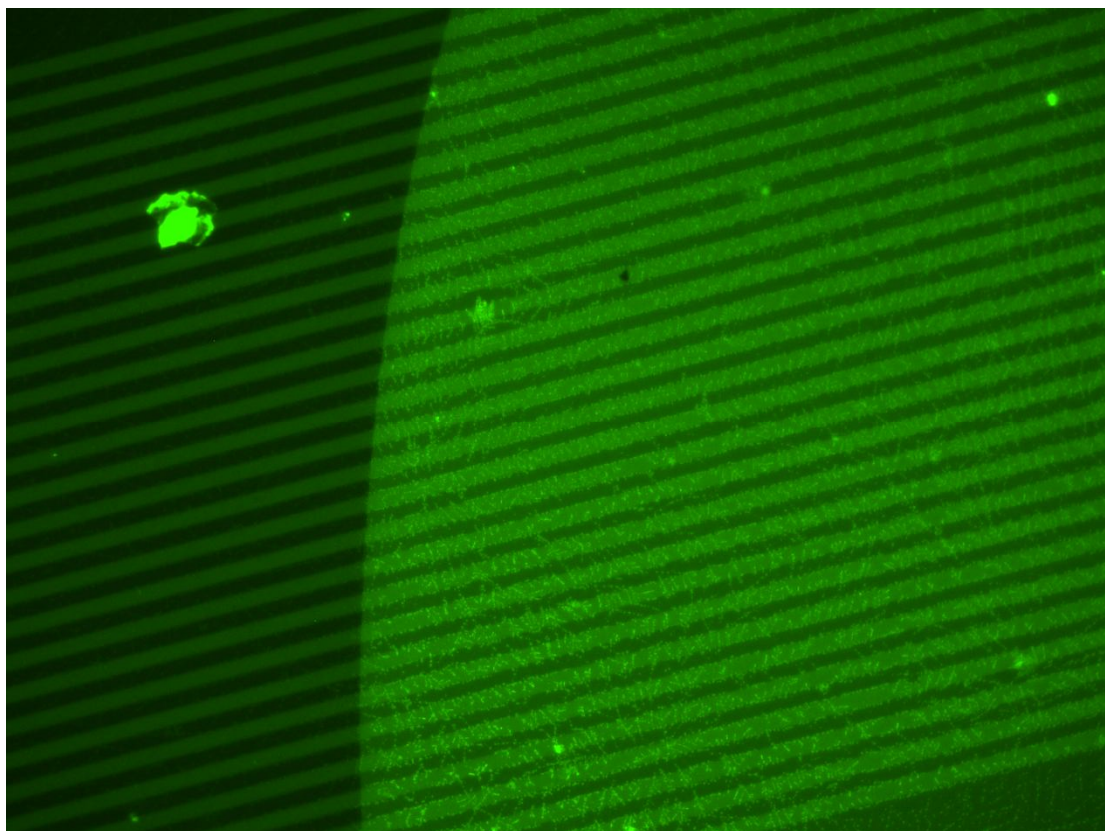
Επειδή αυτή η σειρά πειραμάτων δεν απέδωσε κάποια αξιοποιήσιμα πειραματικά αποτελέσματα, πραγματοποιήσαμε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων κατά την οποία η αντίσταση των αισθητήρων μετρήθηκε κατά τη διάρκεια της υβριδοποίησης (in situ) των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών με τα ολιγονουκλεοτίδια – στόχους. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν στο Ινστιτούτο Μικροηλεκτρονικής του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος». Προκειμένου όμως να είμαστε σίγουροι ότι η μεταβολή στην αντίσταση που παρατηρούμε οφείλεται στην υβριδοποίηση του βιολογικού υλικού και όχι σε κάποιον άλλον παράγοντα, όπως για παράδειγμα στην αγωγιμότητα που μπορεί να προσδίδει στο σύστημα ο διαλύτης (buffer) του βιολογικού υλικού, πριν από την εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – στόχων, με τη χρήση μιας πιπέτας ρίξαμε πάνω στους αισθητήρες και στα ολιγονουκλεοτίδια – ανιχνευτές μερικές σταγόνες από τον διαλύτη προκειμένου να εξετάσουμε την επίδραση του στην αγωγιμότητα του αισθητήρα.

4.5 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων

4.5.1 Εικόνες φθορισμού

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, από την πρώτη σειρά πειραμάτων δεν προέκυψαν κάποια αξιοποιήσιμα αποτελέσματα που να σχετίζονται με την υβριδοποίηση του βιολογικού υλικού. Αυτό που αξίζει να αναφέρουμε από αυτή τη σειρά πειραμάτων είναι οι εικόνες από τα πειράματα φθορισμού πριν και μετά την υβριδοποίηση.

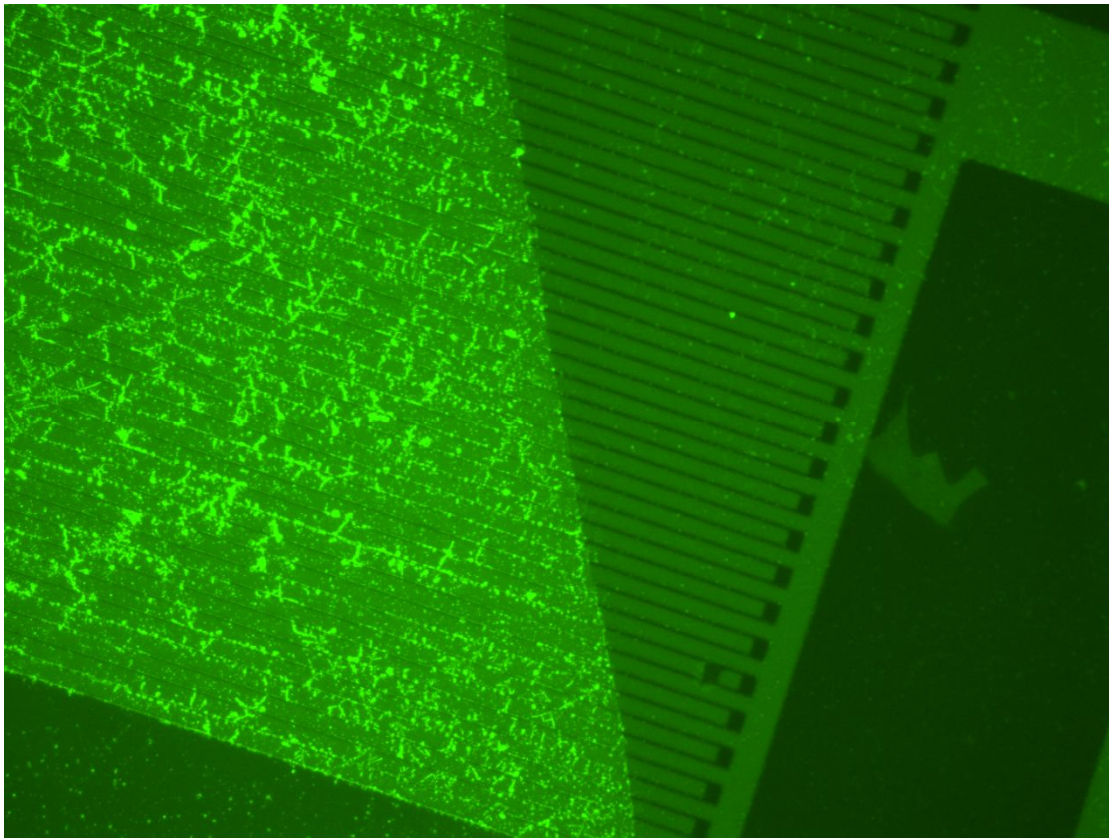
Η παρακάτω εικόνα (*Εικ. 4.3*) είναι από πείραμα φθορισμού για την ανίχνευση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών πάνω στην επιφάνεια αισθητήρα τροποποιημένου με σιλάνιο και με ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού.



Εικόνα 4.3: Εικόνα φθορισμού ολιγονουκλεοτιδίων - ανιχνευτών πάνω σε αισθητήρα με ηλεκτρόδια χρυσού

Η εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων σε αυτή την περίπτωση έχει γίνει με πιπέτα. Οι δύο διαφορετικές περιοχές φθορισμού που παρουσιάζονται στην εικόνα αποτελούν το όριο της σταγόνας που εναποτέθηκε. Παρατηρούμε λοιπόν ότι η πρόσδεση των ανιχνευτών στην επιφάνεια του αισθητήρα είναι επιτυχής, συγκριτικά με την περιοχή όπου δεν υπάρχει DNA (αριστερά).

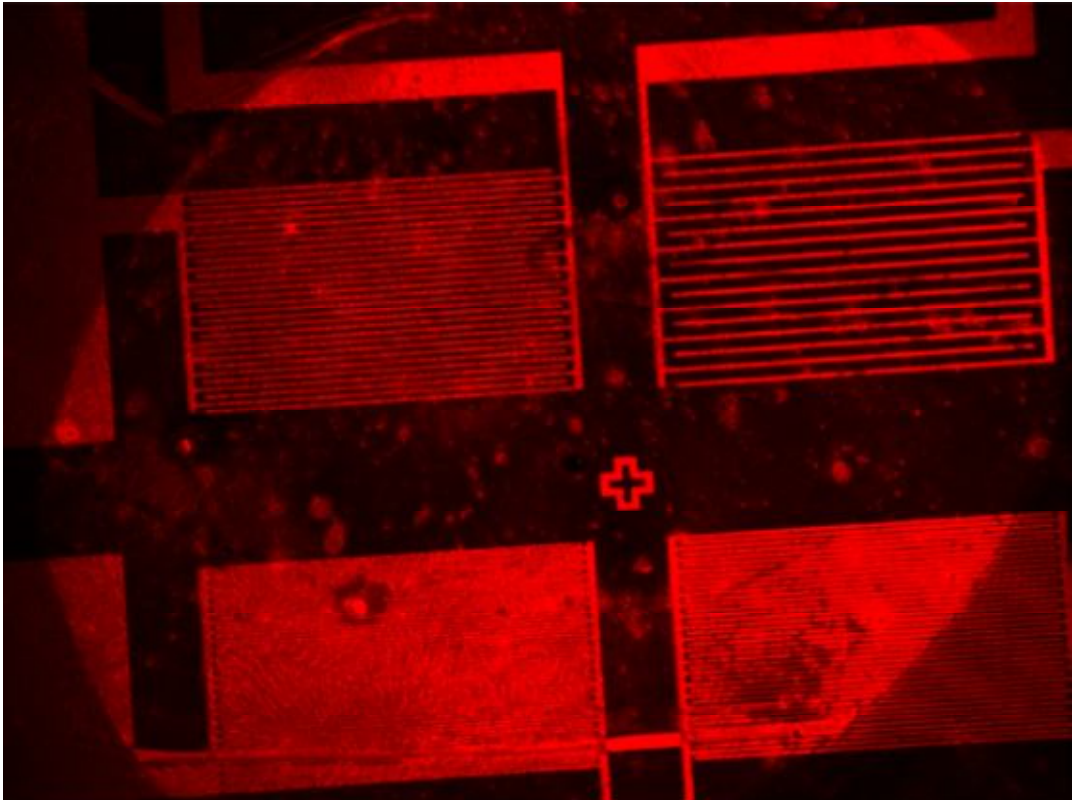
Στην επόμενη εικόνα φθορισμού (*Εικ. 4.4*) παρουσιάζεται ένας αισθητήρας με τα ίδια χαρακτηριστικά (επιφάνεια τροποποιημένη με σιλάνιο και εναπόθεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών με πιπέτα) αλλά με ηλεκτρόδια από αλουμίνιο.



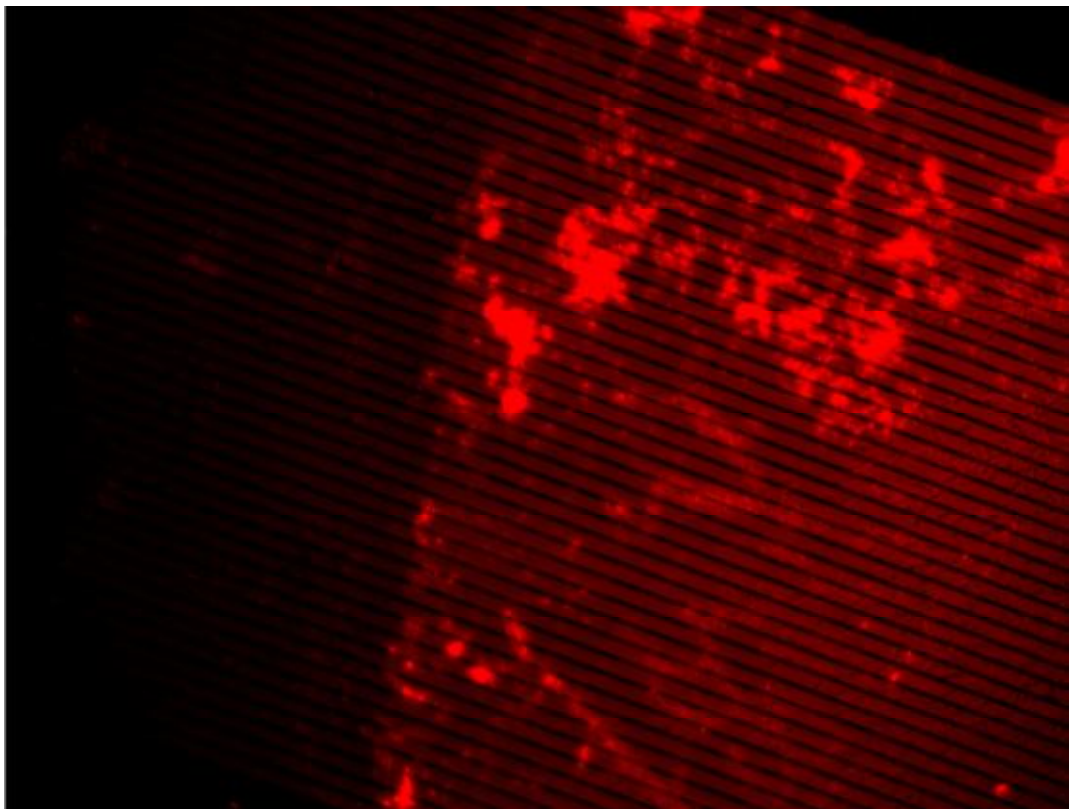
Εικόνα 4.4: Εικόνα φθορισμού ολιγονουκλεοτιδίων - ανιχνευτών σε ηλεκτρόδια αλουμινίου

Και σε αυτήν την περίπτωση μπορούμε να παρατηρήσουμε την καλή πρόσδεση των ολιγονουκλεοτιδίων – ανιχνευτών τόσο πάνω όσο και μεταξύ των ηλεκτροδίων, που προκύπτει από τον έντονο φθορισμό τους.

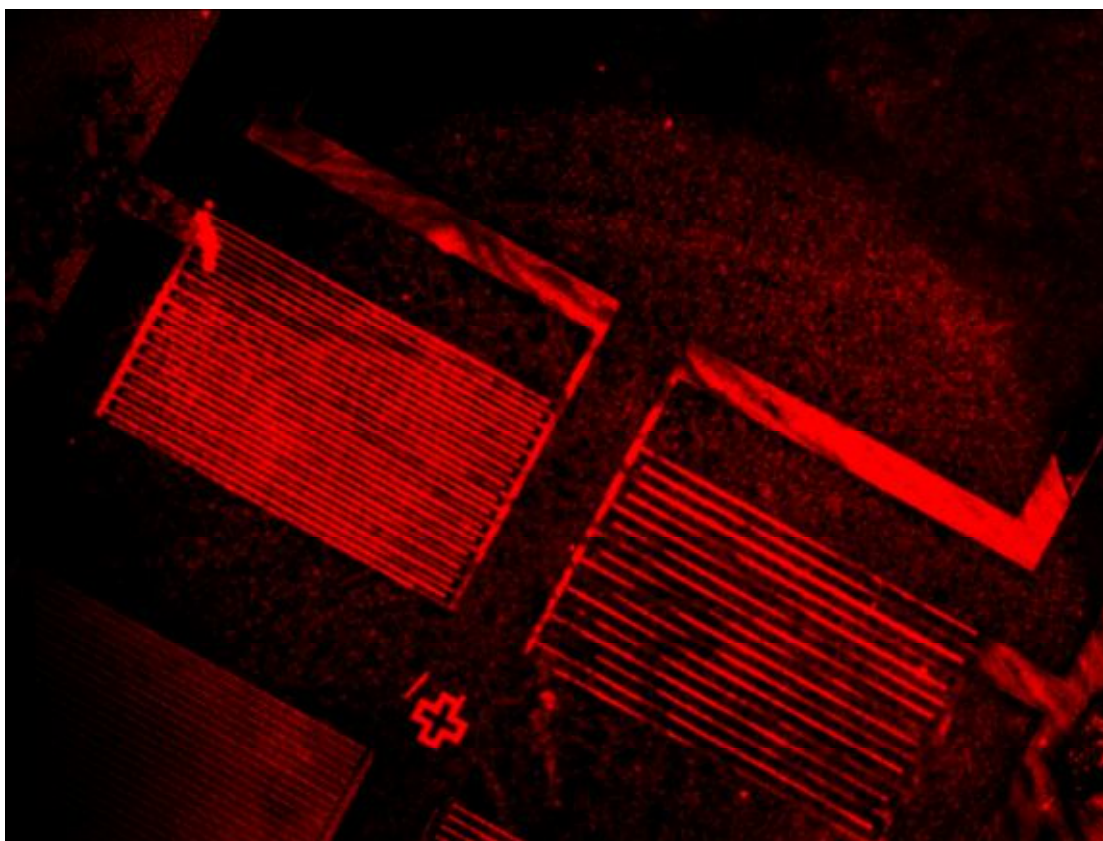
Στη συνέχεια παρατίθενται εικόνες φθορισμού μετά από την υβριδοποίηση του βιολογικού υλικού. Η υβριδοποίηση πραγματοποιήθηκε τόσο σε θερμοκρασία δωματίου, όσο και στους 37 °C. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, στη θερμοκρασία αυτή δυσχεραίνεται η ανάπτυξη των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών αζωτούχων βάσεων του βιολογικού υλικού με αποτέλεσμα να είναι δυσκολότερη η πραγματοποίηση της υβριδοποίησης. Οι επόμενες εικόνες προέρχονται από αισθητήρες που περιέχουν ηλεκτρόδια χρυσού με υβριδοποίηση σε θερμοκρασία δωματίου (*Εικ. 4.5*) και στους 37 °C (*Εικ. 4.6*) και με ηλεκτρόδια αλουμινίου όπου η υβριδοποίηση έγινε στους 37 °C (*Εικ.4.7*).



Εικόνα 4.5: Εικόνα φθορισμού μετά από υβριδοποίηση σε θερμοκρασία δωματίου σε αισθητήρα με ηλεκτρόδια χρυσού



Εικόνα 4.6: Εικόνα φθορισμού μετά από υβριδοποίηση στους 37 °C σε αισθητήρα με ηλεκτρόδια χρυσού



Εικόνα 4.7 : Εικόνα φθορισμού μετά την υβριδοποίηση σε θερμοκρασία 37 °C σε αισθητήρα με ηλεκτρόδια αλουμινίου

Όπως ήταν αναμενόμενο ο φθορισμός είναι πιο έντονος στην περίπτωση όπου η υβριδοποίηση έγινε σε θερμοκρασία δωματίου.

Επίσης να σημειωθεί ότι σε όλες τις παραπάνω περιπτώσεις τα ολιγονουκλεοτίδια – στόχοι ήταν πλήρως συμπληρωματικά των ανιχνευτών.

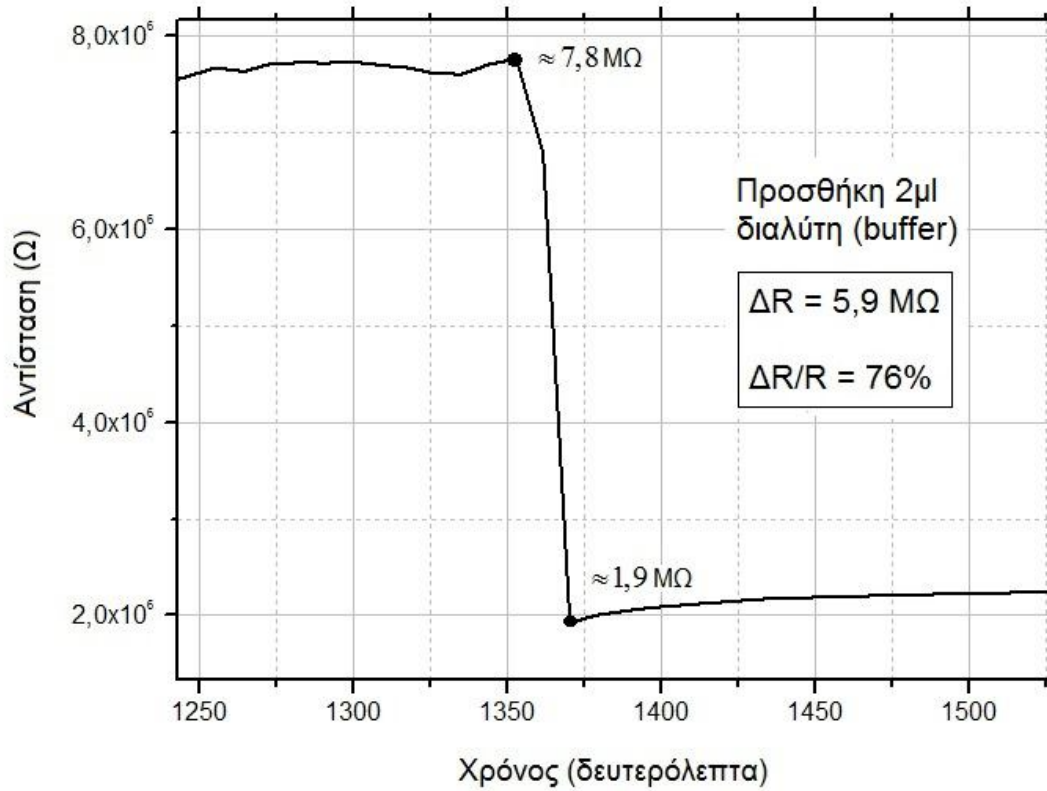
4.5.2 Επίδραση του διαλύτη στη μεταβολή της αντίστασης

Στο δεύτερο μέρος της πειραματικής μας διαδικασίας μετρήσαμε τη μεταβολή της αντίστασης κατά τη διάρκεια της υβριδοποίησης (in situ).

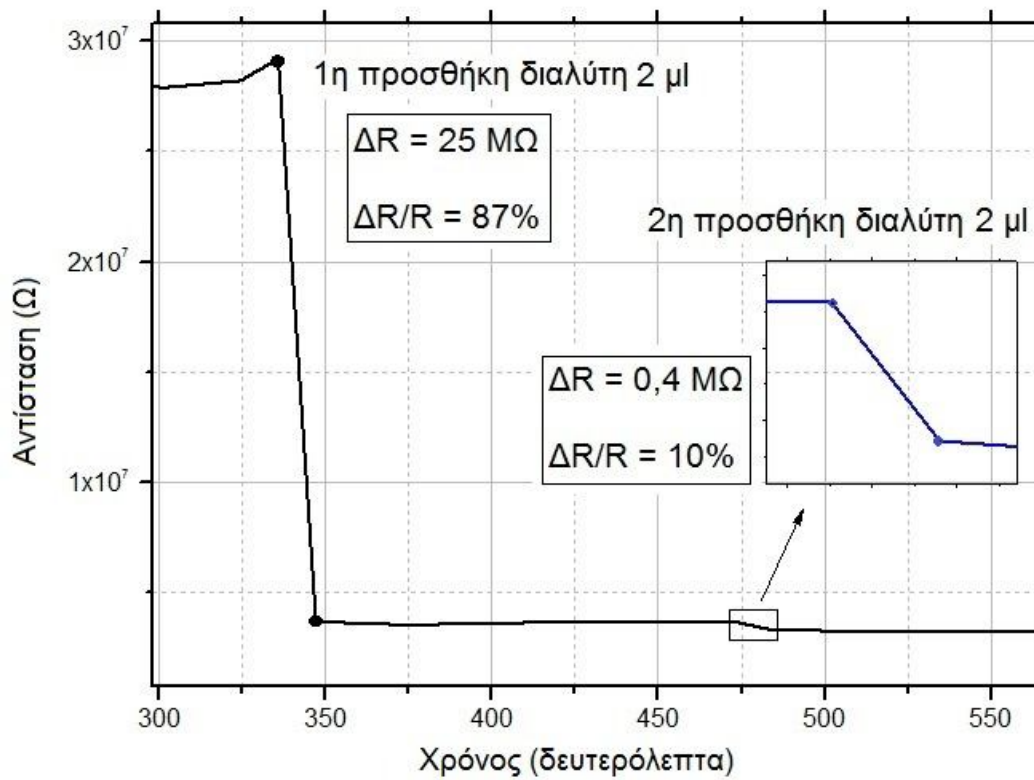
Προκειμένου να είμαστε σίγουροι ότι η μεταβολή στην αντίσταση που θα παρατηρήσουμε οφείλεται αποκλειστικά στην υβριδοποίηση του βιολογικού υλικού, έπρεπε να εξετάσουμε τη συνεισφορά άλλων παραγόντων αγωγιμότητας. Ένας τέτοιος παράγοντας είναι ο διαλύτης (buffer) του

βιολογικού υλικού. Πραγματοποιήσαμε λοιπόν μετρήσεις αντίστασης, στις οποίες πάνω στην επιφάνεια του αισθητήρα προσθέταμε μια μικρή ποσότητα (2 μl) διαλύτη με τη χρήση πιπέτας. Αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι όντως ο διαλύτης συνεισφέρει σημαντικά στη μείωση της αντίστασης από μόνος του χωρίς την παρουσία ολιγονουκλεοτιδίων. Αν όμως συνεχίσουμε να προσθέτουμε διαλύτη στο σύστημα του αισθητήρα η μείωση της αντίστασης φτάνει μέχρι ένα σημείο κορεσμού στο οποίο επιπλέον πρόσθεση δεν επιφέρει μεταβολή της αντίστασης. Στο σημείο αυτό του κορεσμού, μπορούμε στη συνέχεια να προσθέσουμε το DNA στόχο, παρατηρώντας μεταβολή στην αντίσταση που θα οφείλεται πλέον μόνο στην υβριδοποίηση. Παρατηρήθηκε ότι με τη προσθήκη 2 μl η μείωση της αντίστασης είναι αρκετά μεγάλη και μπορεί να φτάσει ως και το 80%. Μια δεύτερη προσθήκη όμως έχει πολύ λιγότερη επίδραση στην αντίσταση, από αμελητέα ως και το πολύ 10%. Επομένως, με την προσθήκη 6 μl διαλύτη μπορούμε να είμαστε σίγουροι για την εξάλειψη της συνεισφοράς του διαλύτη στην μεταβολή της αντίστασης.

Στα επόμενα διαγράμματα απεικονίζεται η μεταβολή αυτή σε δύο χαρακτηριστικές περιπτώσεις. Το μέγεθος ΔR αναφέρεται στη σχετική μεταβολή της αντίστασης και το μέγεθος $\Delta R/R$ στην απόλυτη ποσοστιαία μεταβολή της αντίστασης.



Εικόνα 4.8: Μεταβολή της αντίστασης εξαιτίας της προσθήκης διαλύτη του βιολογικού υλικού

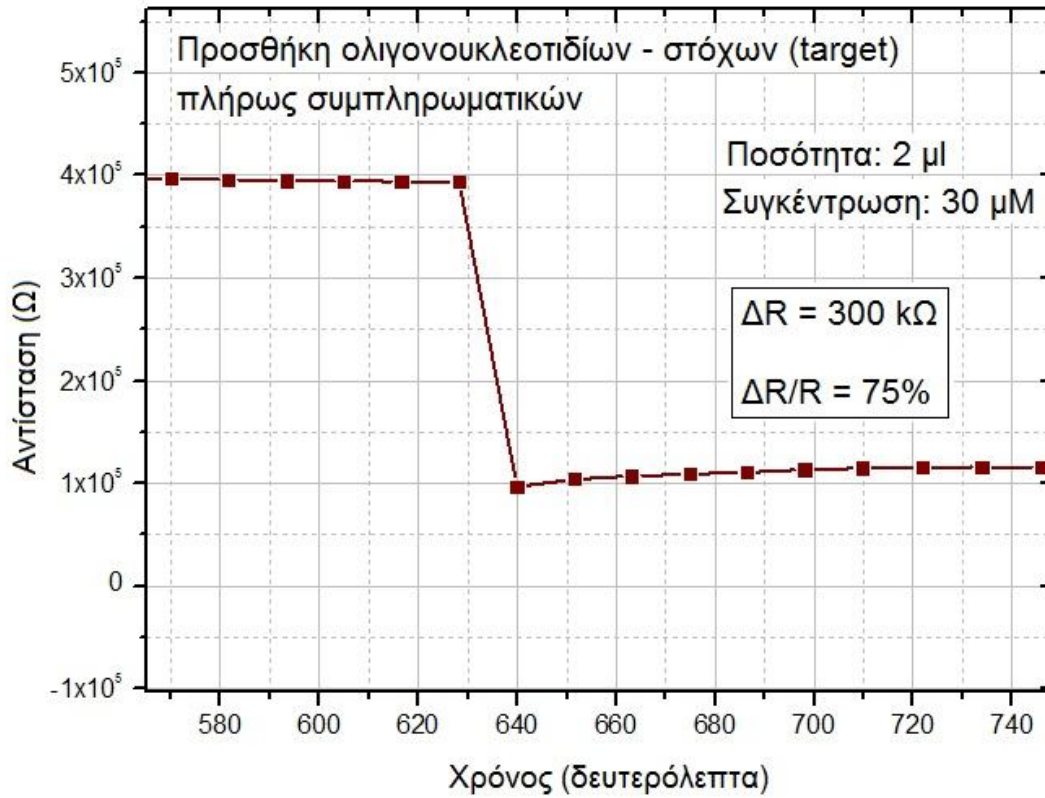


Εικόνα 4.9: Μεταβολή της αντίστασης λόγω της προσθήκης διαλύτη του βιολογικού υλικού 2 φορές

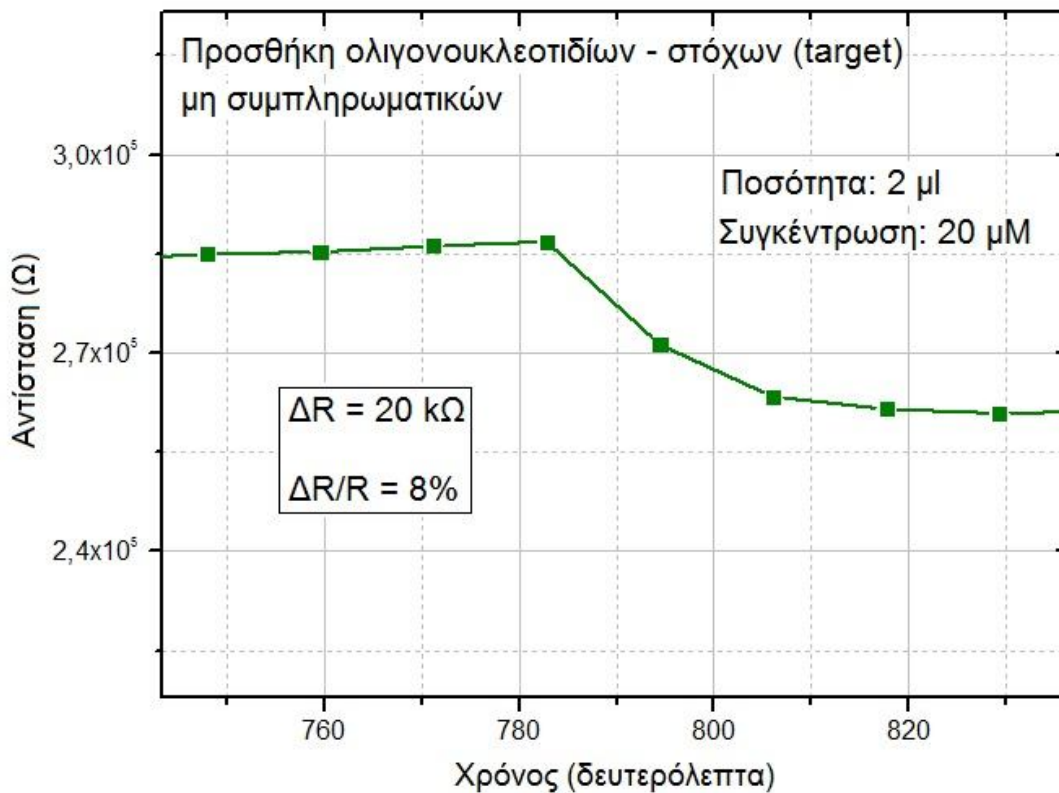
4.5.3 Υβριδοποίηση

Μετρήσεις της αντίστασης κατά την υβριδοποίηση έγιναν τόσο για πλήρως συμπληρωματικά (fully complementary – FC) ολιγονουκλεοτίδια των ανιχνευτών, όσο και για μη συμπληρωματικά (non complementary – NC). Να σημειωθεί ότι τα μη συμπληρωματικά δεν έχουν καμία συμπληρωματική σχέση με τα ολιγονουκλεοτίδια – ανιχνευτές σε όλο το μήκος της 15μερούς ακολουθίας. Παρολ’ αυτά υπάρχει πιθανότητα ένα μικρό ποσοστό αυτών να υβριδοποιηθεί με τυχαία νουκλεοτίδια. Στα επόμενα δύο διαγράμματα απεικονίζεται η μεταβολή της αντίστασης κατά την υβριδοποίηση, τόσο για πλήρως συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια (*Εικ. 4.10*), όσο και για μη συμπληρωματικά (*Εικ. 4.11*). Παρατηρούμε ότι η διαφορά μεταξύ των πλήρως και των μη συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων είναι εύκολα διακριτή. Στα πλήρως συμπληρωματικά το ποσοστό υβριδοποίησης είναι πολύ μεγάλο με αποτέλεσμα αυτό να επιφέρει μια αρκετά μεγάλη ποσοστιαία μεταβολή της αντίστασης. Αντίθετα, στα μη συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια οποιαδήποτε υβριδοποίηση είναι εφικτή αλλά και τυχαία, με αποτέλεσμα η ποσοστιαία μείωση της αντίστασης να κυμαίνεται σε αρκετά μικρά ποσοστά.

Διευκρινίζεται ότι τα δύο αυτά διαγράμματα προέρχονται από διαφορετικούς αισθητήρες, με διαφορετική αρχική αντίσταση ο καθένας. Επομένως η σχετική μεταβολή της αντίστασης χαρακτηρίζει μόνο τον εκάστοτε αισθητήρα και δεν αποτελεί μέτρο σύγκρισης μεταξύ των δύο μεταβολών.



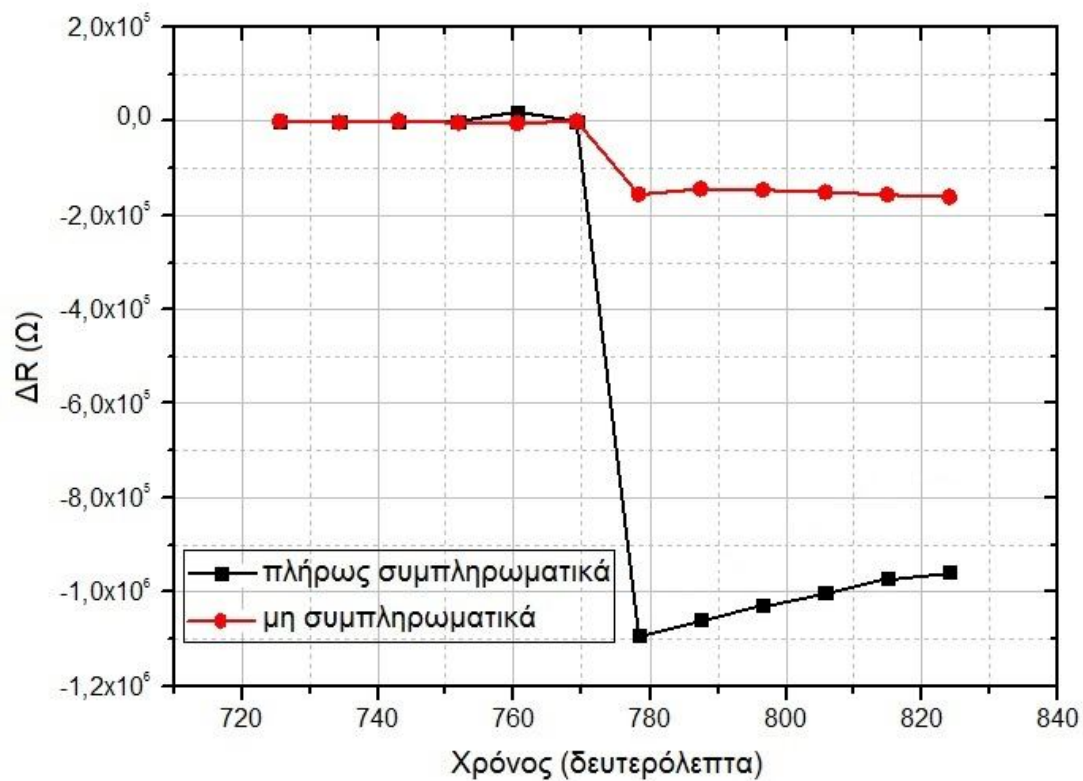
Εικόνα 4.10: Διάγραμμα μεταβολής της αντίστασης κατά την υβριδοποίηση πλήρως συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων



Εικόνα 4.11: Διάγραμμα μεταβολής της αντίστασης κατά την υβριδοποίηση μη συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων

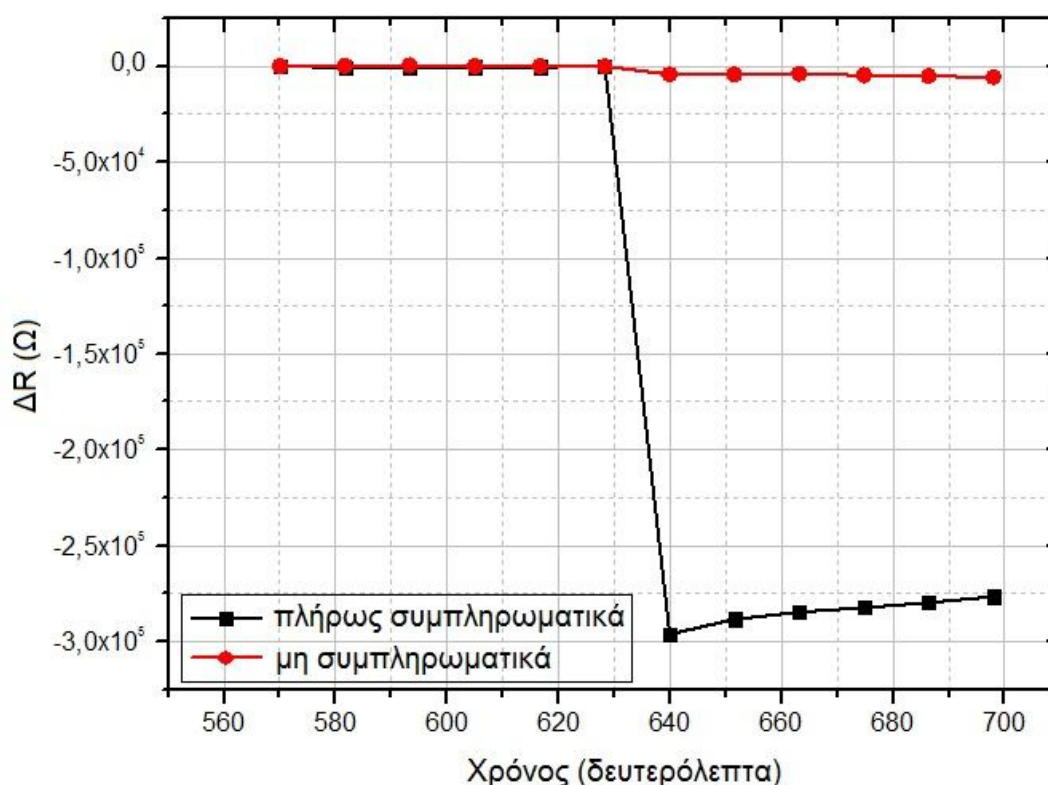
Προκειμένου να κρίνουμε τη μεταβολή της αντίστασης μεταξύ πλήρως και μη συμπληρωματικών ολιγονουκλεοτιδίων επί ίσους όρους, πρέπει οι αντίστοιχοι μετρούμενοι αισθητήρες να έχουν τα ίδια τεχνικά χαρακτηριστικά. Χαρακτηριστικά όπως η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων, το υλικό τους, την ίδια πυκνότητα νανοσωματιδίων που μεταφράζεται στην ίδια αρχική αντίσταση και ίδια τροποποίηση σιλανίου. Οι αισθητήρες των οποίων τα διαγράμματα σχετικής μεταβολής της αντίστασης παρουσιάζονται στη συνέχεια πληρούν τις παραπάνω προϋποθέσεις.

Το πρώτο διάγραμμα (*Εικ. 4.12*) αναφέρεται σε αισθητήρα με ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού απόστασης 10 μm μεταξύ των ηλεκτροδίων. Η περιεκτικότητα του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιήσαμε ήταν 20 μM για τα πλήρως συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια και 10 μM για τα μη συμπληρωματικά. Η μεταβολή της αντίστασης για τα πλήρως συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια είναι $\Delta R = 1 \text{ M}\Omega$ ενώ για τα μη συμπληρωματικά $\Delta R = 150 \text{ k}\Omega$. Αυτό αντιστοιχεί σε ποσοστιαία μεταβολή ίση με 40% για τα πλήρως συμπληρωματικά και σε μόλις 6% για τα μη συμπληρωματικά.



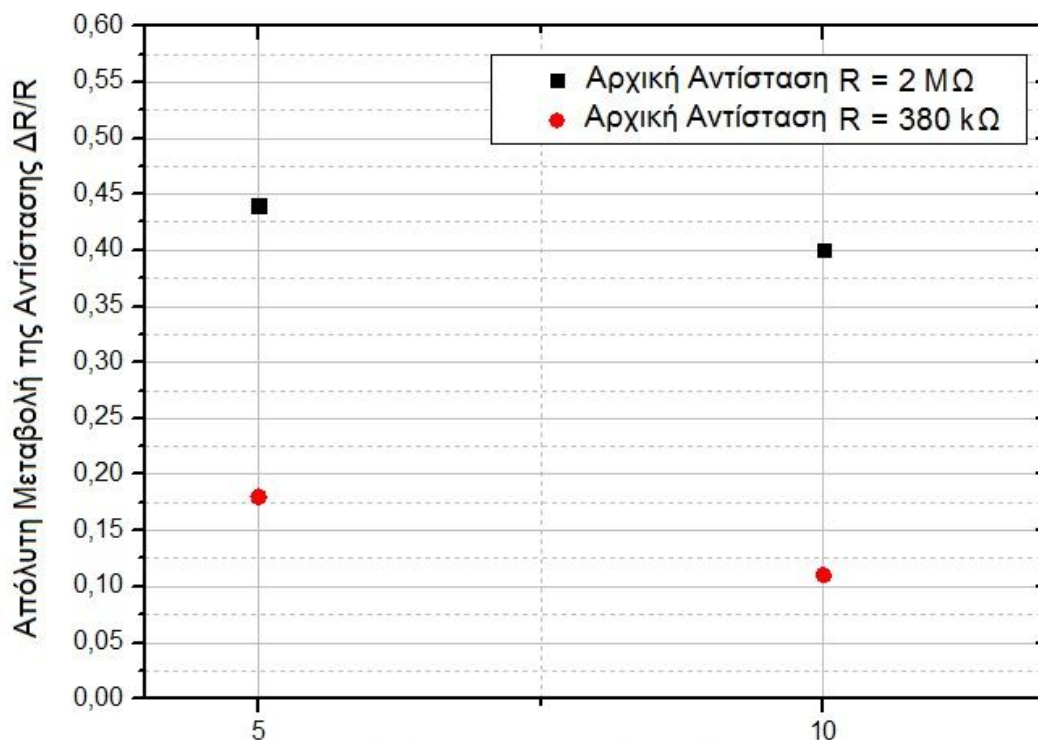
Εικόνα 4.12: Συγκριτικό διάγραμμα της σχετικής μεταβολής της αντίστασης για πλήρως και μη συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια

Το επόμενο διάγραμμα (*Εικ. 4.13*) αναφέρεται σε αισθητήρα με ενδοδιαπλεκόμενα ηλεκτρόδια χρυσού απόστασης 30 μm. Η περιεκτικότητα του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιήσαμε ήταν 20 μM τόσο για τα πλήρως όσο και για τα μη συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια. Για τα πλήρως συμπληρωματικά ολιγονουκλεοτίδια η μεταβολή της αντίστασης είναι $\Delta R = 300 \text{ k}\Omega$, ενώ για τα μη συμπληρωματικά $\Delta R = 4 \text{ k}\Omega$. Αυτό αντιστοιχεί σε 75% μεταβολή και σε 2% μεταβολή, αντίστοιχα.



Εικόνα 4.13: Συγκριτικό διάγραμμα της σχετικής μεταβολής της αντίστασης αισθητήρα κατά την υβριδοποίηση

Τέλος, ένα άλλο χαρακτηριστικό που παρατηρήσαμε είναι ότι η συγκέντρωση των νανοσωματιδίων στην επιφάνεια του αισθητήρα επηρεάζει τον βαθμό απόκρισης του. Ακριβώς όπως προέκυψε και από την μελέτη των χημικών αισθητήρων (κεφ. 3), οι αισθητήρες εκείνοι που έχουν μια αρχική αντίσταση της τάξεως των μερικών MΩ παρουσιάζουν καλύτερη απόκριση συγκριτικά με εκείνους που έχουν αρχικές αντιστάσεις με μικρότερες αλλά και με μεγαλύτερες τιμές (Εικ. 4.14). Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στον αριθμό των αγώγιμων μονοπατιών που δημιουργεί το στρώμα των μεταλλικών νανοσωματιδίων και στον τρόπο που η διόγκωση του πολυμερούς τα επηρεάζει (βλ. § 3.4.3).



Εικόνα 4.14: Σύγκριση της απόλυτης μεταβολής της αντίστασης για αισθητήρες με κενό μεταξύ των ηλεκτροδίων 5 και 10 μm και διαφορετική αρχική αντίσταση

4.6 Συμπεράσματα

Συνοψίζοντας, μπορούμε να πούμε ότι με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα, η κατασκευή ενός αισθητήρα που να ανιχνεύει βιολογικό υλικό και η λειτουργία του να βασίζεται στη μεταβολή της ηλεκτρικής αντίστασης είναι εφικτή. Παρόλ' αυτά υπάρχουν πολλές παράμετροι που μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση ενός τέτοιου αισθητήρα και τις οποίες δεν εξετάσαμε σε βάθος στην πρόιμη πειραματική μας διαδικασία. Τέτοιες παράμετροι είναι η πυκνότητα των νανοσωματιδίων, η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων, η συγκέντρωση του βιολογικού υλικού, ο τρόπος εναπόθεσης του και οι συνθήκες υβριδοποίησης, μεταξύ των άλλων. Επομένως απαιτείται περαιτέρω πειραματική διαδικασία και εξέταση αυτών των παραμέτρων, προκειμένου να έχουμε αξιόπιστα αποτελέσματα για την απόδοση ενός βιολογικού αισθητήρα με μεταβολή της αντίστασης.

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- [1] D. Porath, A. Bezryadin, S. de Vries and C. Dekker. Direct measurement of electrical transport through DNA molecules. *Nature* 403, 635-638.
- [2] M.R. Arkin, E.D.A. Stemp, R.E. Holmin, J.K. Barton, A. Hormann, E.J.C. Olson and P.F. Barbara. Rates of DNA-mediated electron transfer between metallointercalators. *Science* 1996, 273, 475.
- [3] Y. Okahata, T. Kobayashi, K. Tanaka and M. Shimomura. Anisotropic Electric Conductivity in an Aligned DNA Cast Film. *Journal of the American Chemical Society*, 120 (24), 6165-6166.
- [4] B. Giese. Long-distance charge transport in DNA: the Hopping Mechanism. *Acc. Chem. Res.* 2000, 33, 631-636.
- [5] Παραδοτέο 4 Lab-on-Chip Αίσθησις ΕΠΕ «Λεπτομερές πρωτόκολλο ενεργοποίησης βιομορίων και ελέγχου επιλεγμένων βιοαντιδράσεων σημαντικών για τη λειτουργία του βιοαισθητήρα και επιλογή κατάλληλων επιστρώσεων». 2010
- [6] Παραδοτέο 39 Lab-on-Chip Αίσθησις ΕΠΕ « Βιολογικό υλικό (ειδικά σχεδιασμένα DNA oligos) για ενεργοποίηση και αξιολόγηση των βιοαισθητήρων». 2011
- [7] M. Chatzipetrou, G. Tsekenis, V. Tsouti, S. Chatzandroulis, D. Thanos and I. Zergioti. Direct laser printing of oligonucleotides for the fabrication of a label-free biosensor. *Procedia Engineering*, 25 (2011), 851-855.