



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO DE LA MICROESTRUCTURACIÓN DEL
POLIDIMETILSILOXANO POR GRABADO
LÁSER Y SUS APLICACIONES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

FÍSICA

PRESENTA:

ANA LUCIA CABRIALES TORRIJOS

DIRECTOR DE TESIS:

DR. MATHIEU HAUTEFEUILLE



México, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Datos del Jurado

1. Datos del alumno:

Apellido paterno	Cabriales
Apellido materno	Torrijos
Nombre(s)	Ana Lucia
Universidad	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad	Facultad de Ciencias
Carrera	Física
Número de cuenta	305036490

2. Datos del tutor

Grado	Dr.
Nombre(s)	Mathieu
Apellido paterno	Hautefeuille

3. Datos del sinodal 1

Grado	Dra.
Nombre(s)	Maria del Pilar
Apellido paterno	Carreón
Apellido materno	Castro

4. Datos del sinodal 2

Grado	Dr.
Nombre(s)	Juan Arnaldo
Apellido paterno	Hernández
Apellido materno	Cordero

5. Datos del sinodal 3

Grado	Dr.
Nombre(s)	Victor Manuel
Apellido paterno	Velázquez
Apellido materno	Aguilar

6. Datos del sinodal 4

Grado	Dra.
Nombre(s)	Marina
Apellido paterno	Macías
Apellido materno	Silva

7. Datos del trabajo escrito

Título	“Estudio de la Microestructuración del Polidimetilsiloxano por Grabado Láser y sus Aplicaciones”
Número de páginas	65
Año	2015

*Este trabajo de tesis fue realizado en el Taller de Óptica Láser,
Facultad de Ciencias,
Universidad Nacional Autónoma de México*

Agradezco:

A Lalo y Linda, mis padres, por su amor y apoyo incondicional durante toda mi vida.

A Andre y Luna por su compañía y amor.

A Camila y Micaela por sus ronroneos.

A Marce por ser siempre mi cómplice, por toda su compañía y cariño.

A Ceci y Tere por su apoyo y amor durante todos estos años.

A Jero e Ivan por siempre estar.

A Alexis y Diana, mis compañeros y hermanos de carrera, por su amistad, por su ayuda y por estar cerca durante todos estos años.

A Reinher, Francisco y Yadira por sus enormes momentos llenos de risas, por todas las comidas y café que compartimos, por los kilómetros que recorrimos, por siempre darme palabras de apoyo, por toda su ayuda, por su cariño y sobre todo por su amistad.

A mi asesor, el Dr. Mathieu Hautefeuille, por ser un gran guía, por compartirme su visión del mundo, por todo el tiempo que me ha dedicado, por la confianza y apoyo que siempre me ha brindado y sobre todo por su amistad.

A Gerardo Fernández Sánchez por compartirme sus ideas y tiempo.

A mis compañeros de laboratorio, con quienes he compartido el espacio de trabajo, por su apoyo y compañía.

Al grupo de Óptica de la Facultad de Ciencias, Dr. Víctor Manuel Velázquez, Dr. Enrique López Moreno, Dra. Marcela Grether González, por abrirme las puertas de este espacio, por la confianza y el apoyo brindado.

A los proyectos con número de PAPIIT: IN16914, 100315 así como a los proyectos CONACyT con número 252043 y 224450 por el apoyo brindado.

A la Dra. Ma. del Pilar Carreón por todo su apoyo incondicional.

A Tatiana Fiordelisio, Mario Monroy, Jaquelin Cañetas, Mariana Cerda, Juan Carlos Castro, Margarita Rivera, Brenda Reyes y Alejandro Esparza por su invaluable apoyo técnico.

A la Dra. Marina Macias, a Marcela Sosa y a Aczel Sánchez por abrirme las puertas de sus laboratorios, por el apoyo y por el tiempo brindado al proyecto.

A mis sinodales por el tiempo que dedicaron a este trabajo y por sus enriquecedores comentarios.

A la UNAM por ser mi Alma Máter

Índice

Resumen	11
Capítulo 1	13
Introducción	13
<i>1.1 Técnicas de Microfabricación</i>	<i>13</i>
<i>1.1.1 Fotolitografía</i>	<i>14</i>
<i>1.1.2 Litografía suave</i>	<i>15</i>
<i>1.1.3 Microfabricación Láser</i>	<i>16</i>
<i>1.2 Interacción de la Luz Láser con la Materia</i>	<i>16</i>
<i>1.3 Ablación láser</i>	<i>17</i>
<i>1.4 Uso de Nanopartículas para Inducir el Efecto Fototérmico</i>	<i>18</i>
<i>1.5 Incandescencia de nanopartículas de carbón inducida por luz láser</i>	<i>19</i>
<i>1.6 Síntesis del capítulo</i>	<i>19</i>
<i>1.7 Referencias del Capítulo</i>	<i>20</i>
Capítulo 2	21
Método de Microfabricación Láser	21
<i>2.1 Equipo de Microfabricación Láser</i>	<i>21</i>
<i>2.1.1 Unidad Óptica: OPU</i>	<i>22</i>
<i>2.1.2 Plataforma Tridimensional</i>	<i>24</i>
<i>2.1.2.1 Posicionamiento Vertical</i>	<i>24</i>
<i>2.1.2.2 Posicionamiento Horizontal</i>	<i>24</i>
<i>2.1.3 Unidad de Visualización CCD</i>	<i>25</i>
<i>2.1.4 Sistema Electrónico</i>	<i>26</i>

2.1.5 <i>Software de Control</i>	27
2.2 <i>Preparación de Muestras</i>	28
2.3 <i>Principio de Fabricación</i>	29
2.4 <i>Síntesis del Capítulo</i>	30
2.5 <i>Referencias del Capítulo</i>	30
Capítulo 3	31
Fabricación de Mascarillas de Difracción	31
3.1 <i>Mascarillas Ópticas: Reto tecnológico</i>	31
3.2 <i>Metodología de Fabricación</i>	32
3.3 <i>Resultados</i>	33
3.3.1 <i>Mascarillas Grabadas</i>	33
3.3.2 <i>Caracterización de las Mascarillas Grabadas</i>	34
3.3.2 <i>Material Residual</i>	35
3.4 <i>Conclusiones del Capítulo</i>	37
3.5 <i>Referencias del Capítulo</i>	37
Capítulo 4	39
Microestructuración del Polidimetilsiloxano	39
4.1 <i>¿Por qué trabajar con PDMS?</i>	39
4.2 <i>¿Cómo microestructurar al PDMS?</i>	39
4.3 <i>Trabajo Experimental</i>	40
4.3.1 <i>Preparación de Muestras</i>	40
4.3.2 <i>Caracterización de la Incandescencia Inducida por Luz Láser para Grabar el PDMS</i>	41
4.3.2.1 <i>Características del Espectro de Emisión</i>	41
4.3.2.2 <i>Caracterización de la Intensidad de Emisión</i>	42
4.3.3 <i>Caracterización de las Propiedades Físico-Químicas del Grabado en PDMS</i>	43

<i>4.3.3.1 Micrograbado directo sobre el PDMS</i>	43
<i>4.3.3.2 Material Residual</i>	45
<i>4.3.3.3 Aumento de la Hidrofobicidad</i>	47
<i>4.3.3.4 Presencia de Fluorescencia y Guiado de Luz</i>	48
<i>4.4 Conclusiones del Capítulo</i>	49
<i>4.5 Referencias del Capítulo</i>	50
Capítulo 5	53
Fabricación de Sustratos Microestructurados para Cultivo Celular	53
<i>5.1 Cultivo Celular como Herramienta para el Desarrollo de la Ingeniería de Tejidos</i>	53
<i>5.2 Trabajo Experimental</i>	54
<i>5.2.1 Fabricación</i>	54
<i>5.2.2 Cultivo Celular</i>	55
<i>5.2.3 Resultados</i>	56
<i>5.3 Conclusiones del Capítulo</i>	59
<i>5.4 Referencias del Capítulo</i>	60
Conclusiones	61
Anexo A	63
Especificaciones del PDMS	63

Resumen

En esta tesis se presenta la utilización de un equipo de microfabricación láser que aprovecha las propiedades de la unidad óptica de un reproductor CD/DVD para obtener estructuras tridimensionales en diferentes materiales. El principio básico para grabar los materiales es el efecto fototérmico que propicia la incandescencia inducida por luz y que finalmente se traduce en ablación láser. En una primera etapa se trabajó en la implementación de esta técnica para la fabricación de mascarillas ópticas que pudieran ser utilizadas en difracción óptica o para la formación de luz estructurada. En una segunda etapa se trabajó en adaptar la incandescencia inducida con luz para grabar el polidimetilsiloxano (PDMS) que es un polímero transparente, flexible y biocompatible. Debido a la combustión localizada del PDMS, se obtienen estructuras a escalas micrométricas que presentan propiedades interesantes que se pueden aprovechar para aplicaciones en microfluídica y fotónica. Finalmente y debido a la biocompatibilidad del polímero se presenta la aplicación de las estructuras obtenidas como sustrato para cultivo celular de hepatocitos.

En el capítulo 1 se presenta un panorama general de las técnicas de microfabricación existentes, en particular se presentan aquellas que han logrado aplicar la tecnología láser para desarrollar algunos procesos. Partiendo de conceptos básicos involucrados en la fabricación láser, como la absorción de la luz por la materia, se introduce el término de incandescencia inducida por luz láser que es un fenómeno fundamental para el presente proyecto.

En el capítulo 2 se presenta el método de microfabricación de bajo costo y fácil de utilizar que consiste en la implementación de un equipo de microfabricación láser para realizar microestructuras de manera directa sobre materiales y sustratos útiles. El equipo permite controlar la potencia y el tiempo de pulso de un láser infrarrojo (780nm) enfocado. Se cuenta además con una plataforma motorizada que controla precisamente el movimiento de la muestra a grabar.

En el capítulo 3 presentamos la fabricación de mascarillas ópticas de alta resolución para aplicaciones en luz estructurada y difracción. El láser infrarrojo del equipo de microfabricación es enfocado en la superficie de un depósito de nanopolvo de carbón sobre vidrio, obteniendo así grabados transparentes. Se presenta una breve caracterización de los grabados obtenidos, así como algunas mascarillas fabricadas con la implementación de este método. Adicionalmente, se presentan algunos resultados de difracción obtenidos para dichas mascarillas.

En el capítulo 4 se presenta la fabricación directa de microestructuras sobre Polidimetilsiloxano (PDMS), un polímero transparente, flexible, biocompatible y de bajo costo. El láser infrarrojo (780nm) del equipo de microfabricación es enfocado en microagregados de nanopolvo de carbón que se encuentran sobre la superficie del polímero. Al controlar las condiciones del láser podemos obtener incandescencia inducida por luz láser que resulta en la combustión del polímero de manera localizada. Con este principio se obtienen patrones de alta resolución que presentan propiedades normalmente inducidas por láseres de alta potencia: tales como la formación de nanodominios de carbón, aumento de la hidrofobicidad, fluorescencia localizada y guías de onda.

En el capítulo 5 se presenta el trabajo de la microestructuración del PDMS para aplicaciones en ingeniería de tejidos y andamios celulares. Se realizaron cultivos de la línea celular C9 de hepatocitos utilizando como sustrato trozos de PDMS con microestructuras en la superficie. El cultivo fue estudiado por microscopía óptica y microscopía de fluorescencia.

Capítulo 1

1. Introducción

En este capítulo se presenta un panorama general de las técnicas de microfabricación existentes, en particular se presentan aquellas que han logrado aplicar la tecnología láser para desarrollar algunos procesos. Partiendo de conceptos básicos involucrados en la fabricación láser, como la absorción de la luz por la materia, se introduce el término de incandescencia inducida por luz láser que es un fenómeno fundamental para el presente proyecto. También se presenta el uso de nanopartículas como materiales fotoabsorbentes que permite obtener ablación láser en materiales que eran inicialmente transparentes e imposibles de grabar con métodos convencionales.

1.1 Técnicas de Microfabricación

Con el término microfabricación nos referimos al proceso que se encarga de fabricar estructuras, planas y tridimensionales, a escala micrométrica. Tradicionalmente estos procesos han estado relacionados a la tecnología de fabricación de semiconductores y circuitos integrados desarrolladas por el campo de la microelectrónica [I.5]. En la actualidad la aplicación de la microfabricación se ha diversificado permitiendo construir también sistemas no eléctricos como sistemas para microfluídica [I.1]. En la figura 1.1 se presenta la clasificación que Marc J. Madou hace para enumerar las tecnologías de miniaturización más relevantes, organizándolas en métodos tradicionales o no tradicionales y métodos litográficos o no litográficos.



Figura 1.1 Clasificación de las técnicas de microfabricación por Marc J. Madou. [I.5 p.3]

Uno de los procesos en los que se involucran diferentes técnicas es el proceso de fabricación de los Sistemas Micro Electro Mecánicos (MEMS: *MicroElectroMechanical Systems*), la mayoría de estas técnicas parten de los métodos de fabricación desarrollados por la industria de semiconductores. En la figura 1.2 se puede visualizar el proceso básico de fabricación de MEMS del cual se distinguen cinco etapas.

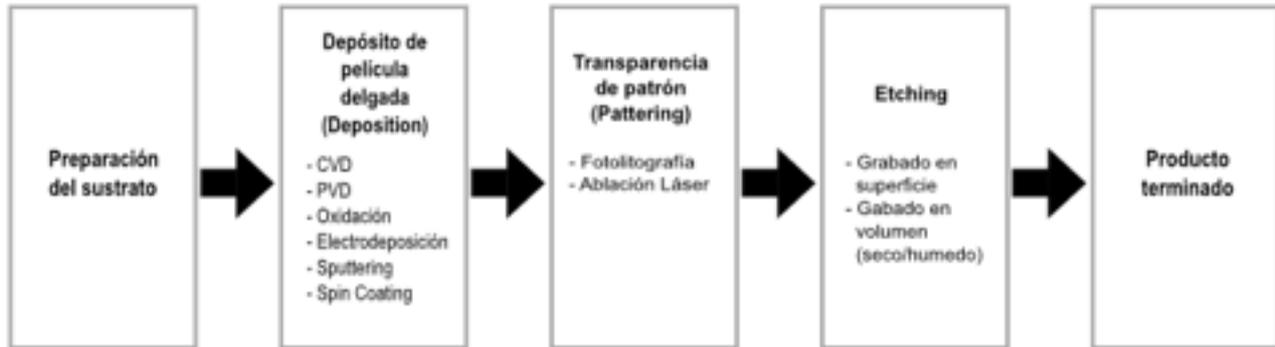


Figura 1.2 Proceso básico de fabricación para MEMS

Los materiales de fabricación utilizados para estos sistemas son variados, se pueden utilizar polímeros, cerámicos, biomateriales, carbón, etc. Las películas delgadas se depositan con diferentes técnicas químicas o físicas, de dichas técnicas dependerán las propiedades de las películas. Algunos ejemplos para el depósito de materiales son: depósito químico por vapor (CVD: *Chemical Vapor Deposition*), depósito físico por vapor (PVD: *Physical Vapor Deposition*), oxidación, electro deposición y recubrimiento por giro (*spin coating*) [1.2].

Posterior a la depósito de la película se realiza una etapa de fotolitografía con el fin de transferir el patrón diseñado en una resina fotosensible depositada a su vez sobre la película a grabar. Otra técnica utilizada para transferir el patrón directamente en el material sin requerir de la fotolitografía es el grabado directo por medio de la ablación láser.

Por último, se realiza la unión de sustratos ya sea para integrar múltiples funcionalidades, estructuras de mayor complejidad o para fines de empaquetamiento para llegar a un prototipo terminado con el cual se pueden realizar las pruebas de caracterización.

1.1.1 Fotolitografía

La fotolitografía, que ya hemos mencionado antes, es una técnica que se deriva de la técnica general conocida como litografía. En este proceso un patrón es transferido a una resina fotosensible debido a la exposición a una fuente de luz ultravioleta (UV) a través de una máscara. La máscara está formada de patrones opacos que evitan el paso de la luz sobre un soporte transparente que permite el paso de la luz, esta máscara se utiliza para definir las estructuras sobre el sustrato expuesto. El material fotosensible expuesto a la luz se vuelve más soluble (resina positiva) o menos soluble (resina negativa) en una solución química [1.3]. La resolución del diseño final depende de la resolución de la máscara, del tiempo de exposición, de la potencia de la luz y de la longitud de onda utilizada. En la figura 1.3 podemos observar gráficamente los pasos a seguir en la fotolitografía.

En el primer paso se limpia el sustrato de cualquier contaminante, puede ser deshidratado en un horno y agregar un químico que promueva la adhesión de la resina fotosensible (por ejemplo

HMDS: Hexamethyldisilazane). En el segundo paso se deposita la resina por el método de Spin Coating para homogeneizar la capa y controlar el espesor de la misma, después se puede hornear ligeramente (*Soft Bake*) para mejorar la adhesión al sustrato. En el tercer paso se procede a alinear la máscara con la resina e inmediatamente se expone el material a la luz UV. Previamente se debe caracterizar el material para establecer la potencia de la fuente y el tiempo de exposición para obtener la mejor resolución. En el ultimo paso se procede al revelado, se disuelven las zonas solubles de acuerdo al tipo de resina. En esta misma etapa se aplica un segundo horneado (*Hard Bake*) para endurecer la resina restante.

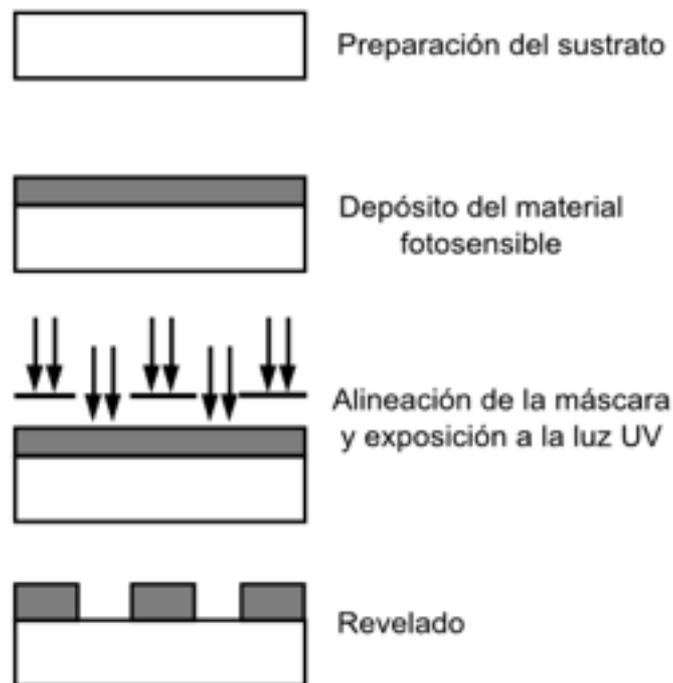


Figura 1.3 Proceso de fotolitografía

Con una alineación sucesiva de máscaras y la exposición de las mismas se pueden construir estructuras tridimensionales más complejas. Cada proceso de fotolitografía sucesivo tiene requisitos específicos de acuerdo con la complejidad de la estructura y requiere de una alta precisión en la alineación.

1.1.2 Litografía suave

La litografía suave es un término que agrupa diferentes técnicas que permiten la obtención de estructuras tridimensionales y perfiles curvos en una gran variedad de polímeros generando superficies bien definidas y controlables. Dentro de las principales técnicas de litografía suave se encuentra la impresión de microcontacto (μ CP: *MicroContact Printing*) y Molde/Réplica (REM: *Replica Molding*) [I.4].

Dentro de las ventajas de la litografía suave encontramos una gran flexibilidad en el uso de materiales como polímeros y materiales compatibles con aplicaciones biológicas, es un proceso que requiere menos tiempo de manufactura comparado con los métodos convencionales además de ser generalmente de bajos costo y de gran viabilidad en áreas de investigación. La litografía suave también se ha aprovechado tecnológicamente permitiendo desarrollar aplicaciones que incluyen la biología celular, microfluídica y sistemas del tipo Lab-on-a-chip [I.4].

1.1.3 Microfabricación Láser

Por microfabricación láser nos referimos a aquellas técnicas que utilizan la tecnología láser para obtener todo tipo de estructuras tridimensionales de alta resolución en diferentes materiales. Trabajar con luz láser permite un control espaciotemporal preciso que ha traído grandes ventajas como la rápida manufacturación sin bajar la calidad o resolución, evitar el contacto mecánico así como la precisión del corte en el material [I.5]. El láser puede ser utilizado como herramienta directa por medio de la ablación, corte y adición de material, ejemplos de esto se encuentra en las técnicas de estereolitografía (SLA: Stereolithography) y sinterización (SLS: Selected Laser Sintering). Por otro lado puede ser utilizado como herramienta indirecta para la fabricación de máscaras para litografía y transferencia de patrones.

La microfabricación láser que no es de tiempos ultracortos se basa en la absorción de la luz láser por un material de interés y su conversión en calor, a este fenómeno se le conoce como efecto fototérmico. La conversión proviene de la excitación y relajación de los electrones en los átomos o moléculas que conforman al material irradiado. La relajación de los estados excitados aumenta la energía cinética de los átomos, lo que se traduce en un incremento en la temperatura [I.8]. El aumento en la temperatura depende de parámetros importantes propios de la fuente de luz, como la longitud de onda del haz, la duración del pulso, la potencia o densidad de potencia (W/cm^2), el diámetro mínimo del punto en la superficie (*spot*) a la distancia focal que coincide con el área de irradiación, el tiempo de exposición y el perfil del haz (puede ser gaussiano o no) [I.6]; así como de las características propias del material como la absorción óptica, conductividad térmica y su coeficiente de difusión térmica que indicarán como será la distribución y la difusión del calor en el material. Se deben comprender los fenómenos térmicos, físicos y químicos involucrados debido a la interacción de la luz con la materia [I.7] tales como la reflexión, transmisión, absorción e incluso esparcimiento.

1.2 Interacción de la Luz Láser con la Materia

La luz interactúa de diferentes formas con la materia, esto depende en buena medida de las propiedades ópticas de la misma. Como hemos mencionado antes, los principales fenómenos que ocurren cuando la luz se encuentra con un material son: La reflexión, transmisión, esparcimiento y absorción. Los últimos dos tienen mayor impacto para la aplicación en microfabricación [I.8], por ejemplo, si queremos saber cuanto puede la luz penetrar un objeto medimos el coeficiente de absorción del mismo, esto tendrá efecto en la resolución del grabado.

La respuesta de la materia a la luz láser se distingue por el efecto que el láser causa a diferentes intensidades [I.8] y se clasifica en 5 tipos de fenómenos de los cuales mencionaremos algunas de sus características a continuación:

- **Fotoquímico:** El láser estimula estados excitados en las moléculas generando una reacción química sin aumentar la temperatura. Incluye reacciones fotodinámicas como fotooxidación, generación de radicales libres, fotoisomerización o reacciones que generan fluorescencia y fosforescencia. Se produce a densidades de potencia bajas, alrededor de 10^{-3} - $10 \text{ W}/\text{cm}^2$ y a tiempos de exposición altos, alrededor de 10 - 100 s.

- *Fototérmico*: En esta interacción la luz se convierte en calor. El calor puede producir diferentes efectos en la materia según se van alcanzando diferentes temperaturas. Por ejemplo, se puede vaporizar el agua a 100 °C o si se trabaja con grandes potencias se podría llegar a carbonizar el material (150-300 °C). Para que se presente este fenómeno se debe trabajar con densidades de potencia del orden de $1-10^6$ W/cm² y tiempos de exposición entre 1ms - 100s.
- *Fotoablación*: Este fenómeno implica una ruptura física de la estructura del material. Los componentes se separan fotoquímicamente por acción de la luz intensa resultando en la fragmentación de la estructura causando remoción del material, a esto es a lo que se le conoce como ablación. Para observar este fenómeno se debe trabajar con densidades de potencia muy altas ($10^7 - 10^{10}$ W/cm²)
- *Plasma inducido por fotoablación*: Debido a que se trabaja con densidades de potencia muy altas, se inducen campos eléctricos intensos que provocan la ionización de las moléculas o átomos del material originando un plasma. Para observar este fenómeno se utilizan láseres pulsados de alta potencia, con densidades de potencia de $10^8 - 10^{12}$ W/cm² y tiempos de pulso del orden de 10ps - 100ns. Bajo estas condiciones se puede alcanzar altas temperaturas de hasta 1000 °C. El plasma puede remover fragmentos del material.
- *Fotodisrupción*: Se refiere a la formación de ondas de choque provocadas por la aparición de plasmas o burbujas de cavitación. La ondas fragmentarán el material debido al impacto mecánico. Para su aparición se debe trabajar con densidades de potencia y tiempos de exposición similares a los necesarios para la producción de plasma.

El buen entendimiento y control preciso de dichas interacciones ha permitido que el láser pueda utilizarse como herramienta en el presente proyecto.

1.3 Ablación láser

Una de las técnicas de microfabricación que aprovechamos en este trabajo es la técnica de ablación láser o fotoablación mediante la cual se remueve localmente una parte del material deseado a través de irradiar al mismo con un rayo láser. Un factor fundamental en esta técnica es la energía umbral de ablación que corresponde a la energía mínima necesaria para que se produzca un cambio en la superficie del material.

Cuando trabajamos con densidades de energía altas, por encima de la energía umbral de ablación, los fotones del láser se absorben por el material entonces se aumenta la temperatura y se produce un cambio de fase además de una expulsión de masa en estado líquido y en estado gaseoso, esto produce un plasma de alta densidad que contribuye a la transformación del material. El plasma a su vez transfiere energía en forma de calor a la capa debajo de la superficie originándose una micro-explosión, entonces el plasma baja de densidad debido a la expansión adiabática y finalmente ocurre el colapso en la superficie [1.5].

En la figura 1.4 se muestra el cráter que se obtiene con la ablación láser, éste cuenta con regiones bien definidas y siempre se le podrá asociar un diámetro externo y una profundidad. Generalmente los cráteres tienen un perfil gaussiano debido a la naturaleza gaussiana del haz láser de excitación. Se observa además que se genera un borde debido a la resolidificación del material en la superficie,

este borde será más pronunciado y el tamaño del cráter aumentará si aumentamos la energía con la que se trabaja, entonces la resolución del grabado láser está relacionada con el tamaño del cráter.

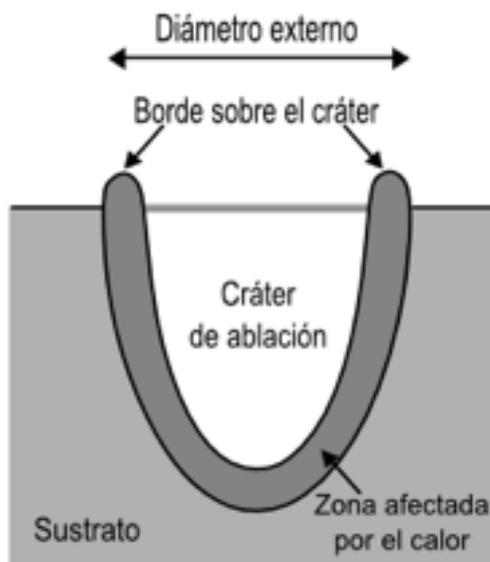


Fig. 1.4 Cráter generado por ablación láser [I.6]

Para mejorar la resolución, es decir reducir la zona afectada por el calor, se utilizan pulsos cortos del orden de nanosegundos (ns) o femtosegundos (fs) [I.9].

Además de la ablación láser existen otras técnicas de fabricación rápida como es la técnica de sinterización que consiste en enfocar directamente el láser sobre partículas de polvo [I.10], debido al aumento de la temperatura las partículas se funden obteniendo un material compacto y con distintas características mecánicas.

Como hemos mencionado ya, la resolución a la que se puede acceder con la microfabricación láser, es decir el tamaño del punto mínimo que se puede obtener depende fuertemente de las características térmicas y ópticas del material como las del láser, será importante el incremento en la temperatura, la distribución del calor, así como la disipación del mismo en la muestra. Por ejemplo, si el tiempo de pulso es mayor que el tiempo de disipación de calor, el material transmite el calor al material vecino afectando sus alrededores. En cambio, si el tiempo de pulso es menor que el tiempo de disipación de calor, éste no se pierde por disipación quedando confinado en el área de irradiación. Por lo tanto, si se logra el confinamiento térmico, el calor estará localizado y la zona afectada disminuirá lo que se traduce en una mayor resolución.

1.4 Uso de Nanopartículas para Inducir el Efecto Fototérmico

En las secciones anteriores hemos mencionado que el láser es aprovechado para diferentes técnicas de microfabricación y que para que esto sea posible es indispensable que la muestra que se desea grabar absorba los fotones provenientes del láser para su conversión en calor y lograr un aumento localizado en la temperatura. Pero ¿qué sucede cuando se desea trabajar con materiales cuya absorción óptica es baja sin perder resolución ni versatilidad para trabajar en materiales diferentes? Para resolver este problema se han utilizado láseres de alta potencia, del orden de watts o decenas de watts y de tiempos ultracortos, esto implica utilizar equipos costosos que requieren de infraestructura y personal especializados. Con el fin de evitar una fuerte inversión adicional se han

utilizados ciertos materiales como agentes fotoabsorbentes. En general, el uso de nanopartículas es una alternativa poderosa ya que permite alcanzar altas temperaturas con láseres de baja potencia y así aprovecharlas para ablación localizada [I.8].

Actualmente la nanotecnología ofrece una gran variedad de nanopartículas que pueden ser utilizadas con este fin, principalmente se han utilizado nanoestructuras de oro o de carbón como materiales fotoabsorbentes en el espectro de la luz infrarroja. Estas nanopartículas ofrecen diferentes geometrías como nanoesferas, nanovarillas y nanocajas de oro; o bien nanotubos (de pared sencilla o multipared), nanocuernos y fullerenos de carbón. El uso de las nanopartículas de carbón ofrece dos importantes ventajas sobre las de oro: una es que los nanotubos de carbón requieren un tercio de la potencia utilizada para obtener fototermia con nanovarillas de oro y la segunda es que tienen un espectro de absorción amplio que permite utilizar diferentes longitudes de onda para iniciar el efecto fototérmico [I.8]. El calor generado por las nanopartículas de carbón estará limitado por la potencia del láser, penetración de la luz en el material, concentración del nanocarbón y de la disipación del calor por la muestra.

1.5 Incandescencia de nanopartículas de carbón inducida por luz láser

En diversos trabajos se han estudiado las propiedades ópticas y térmicas de los nanomateriales. Un fenómeno que ha interesado mucho, sobre todo por la amplia variedad de aplicaciones en las cuales se puede utilizar, es la emisión de luz blanca al ser irradiadas las partículas con láseres cuya longitud de onda se encuentra en el infrarrojo cercano, dicha emisión puede suceder en condiciones de presión y temperatura ambiente [I.11]. Se cree que lo que sucede es la formación de un microplasma, que es un estado de la materia que contiene iones y electrones libres pero en conjunto es eléctricamente neutro. Debido a que se tienen muy altas energías en una región pequeña, los átomos agitados se mueven a altas velocidades provocando que en los choques con otros átomos se liberen electrones.

A pesar de que este fenómeno se ha observado para micro y nanopartículas de diferentes materiales se ha observado que las de carbón emiten de forma más intensa, en particular los nanotubos multipared y el nanopolvo de carbón tienen la emisión más brillante [I.11]. Por otro lado las partículas metálicas emiten débilmente aunque lo suficiente para que se observe a simple vista. El fenómeno se puede desencadenar a diferentes longitudes de onda pero hay factores que influyen en el espectro de emisión como las condiciones de presión, potencia del láser o alineación de las partículas.

1.6 Síntesis del capítulo

En este capítulo hemos incluido de manera general las técnicas de microfabricación que se conocen hoy en día. Damos mayor énfasis en la microfabricación láser debido a la importancia que tiene para el presente proyecto. Hablamos de la interacción de la luz láser con la materia, resaltando el papel fundamental que juega la absorción óptica del material para su transformación en calor. Esto permite que se aumente la temperatura de forma localizada y así llegar a la fotoablación.

Mencionamos la posibilidad de utilizar algunos materiales como fotoabsorbentes que pueden convertir un material que inicialmente era transparente en uno con alto coeficiente de absorción para la luz infrarroja. Al emplear nanopartículas de carbón no sólo se logra aumentar la temperatura sino que se logra incandescencia inducida por luz láser que es el fenómeno en el que las partículas

emiten luz visible al ser irradiadas con el láser. Debido a las temperaturas extremas durante la emisión es posible crear surcos en el material que se encuentra en contacto con las partículas. Este fenómeno puede ser aprovechado para desarrollar un método de microfabricación láser de bajo costo.

1.7 Referencias del Capítulo

- [I.1] J. Cooper McDonald and G. M. Whitesides, “Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)” *Electrophoresis* 21, 27-40 (2000).
- [I.2] MEMS Thin Films Deposition Processes (2015)
<https://www.memsnet.org/mems/processes/deposition.html>
- [I.3] R. Zaouk, B. Y. Park and M. J. Madou. “Introduction to Microfabrication Techniques”, PubMed:16508060 (2006).
- [I.4] D. Qin, Y. Xia, G. M. Whitesides, “Soft lithography for micro and nanoscale patterning”, *Nature Protocols* DOI:10.1038/nprot.2009.234 (2010).
- [I.5] Jiménez Zenteno, Alejandro Kayum; “Fabricación de microsistemas y máscaras de alta resolución con tecnología láser”, Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México (2012).
- [I.6] T. C. Chong, M. H. Hong, L. P. Shi, “Laser precision engineering from microfabrication to nanoprocessing”, *Laser & Photonics* DOI:10.1002/lpor.200810057 (2009).
- [I.7] N. P. Mahalik, S. Jeong, “Micromanufacturing and Nanotechnology” Chapter 3: Láser Technology in Micromanufacturing, Springer (2006).
- [I.8] R. Pimentel-Dominguez, “Terapia Fototérmica como alternativa en oncología”, Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM (2014)
- [I.9] K. Sugioka, M. Meunier, A. Piqué, “Laser precision Microfabrication”, Springer series in materials science, Springer DOI: 10.1007/978-3-642-10523-4 (2010).
- [I.10] M. T. Lee, D. Lee, A. Sherry, C. P. Grigoropoulos, “Rapid Selective Metal Patterning on Polidimethylsiloxane (PDMS) Fabricated by Capillarity-Assisted laser direct write”, *IOPScience J. Micromech. Microeng* DOI: 10.1088/0960-1317/21/9/095018 (2011).
- [I.11] Pimentel Dominguez, Reinher, “Interacción de la luz con micro y nanoestructuras”, Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México (2013)

Capítulo 2

2. Método de Microfabricación Láser

Como se ha mencionado en el capítulo anterior, la tecnología láser se ha podido aprovechar en algunos procesos de microfabricación. A pesar de la gran variedad de equipos comerciales para dichos procesos en el mercado actual, el difícil acceso a estas herramientas limita típicamente la experimentación. En este capítulo se presenta un método de fabricación de bajo costo y fácil de utilizar con el cual se pueden obtener microestructuras de manera directa sobre materiales y sustratos transparentes, útiles para diversas aplicaciones.

2.1 Equipo de Microfabricación Láser

La base de este equipo es la OPU (Optical Pick-up Unit) de un sistema comercial de grabación/reproducción de CD/DVD que contiene un par de diodos láser y un sistema de enfocamiento preciso útiles para el objetivo de microfabricación láser. En la figura 2.1 se observa el diagrama general del equipo de microfabricación. La OPU se encuentra sobre una plataforma de control preciso del movimiento en los ejes (XY) y con control vertical en el eje (Z) que permite manipular la distancia de la OPU a la superficie de la muestra que se desea grabar y por lo tanto se controla precisamente la posición del punto focal del haz láser.

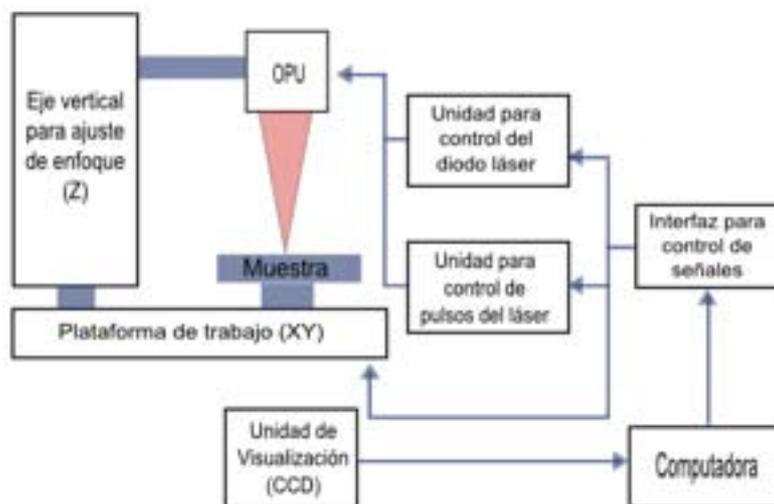


Fig. 2.1 Diagrama general del sistema de microfabricación [II.1]

El equipo cuenta con una unidad de visualización en tiempo real formada a partir de un detector CCD (charge-coupled device) reciclado de una cámara web al cual se le adaptó un objetivo de microscopio con amplificación de 20X.

Con una computadora se controla el encendido de la señal láser así como el control del desplazamiento en el plano (XY). A partir de un programa de control numérico computarizado (CNC) se pueden grabar patrones previamente diseñados y digitalizados en formato de imagen.

2.1.1 Unidad Óptica: OPU

En la actualidad es posible encontrar en un mismo dispositivo los sistemas para grabar y reproducir formatos Compact Disc (CD) y Digital Versatile Disc (DVD). Esto ha sido posible debido a la gran variedad de longitudes de onda que ofrecen los diodos láser así como a la posibilidad de integrar los sistemas electrónicos, ópticos y mecánicos para poder enfocar con alta precisión un haz láser. En particular la unidad con la que trabajamos fue reciclada de un equipo comercial de reproducción y grabado CD/DVD y cuenta además con la tecnología de impresión láser conocida como *LightScribe*TM [II.2]. Con esta unidad tenemos dos diodos láser disponibles, uno infrarojo de 780nm (CD) y uno rojo de 650nm (DVD) con mayor potencia óptica de trabajo que otras plataformas similares.

El arreglo óptico que está implementado dentro de la OPU proporciona un enfocamiento preciso del haz láser, ofreciendo un *spot* de escala micrométrica. Los elementos ópticos que se encargan de esto son:

- Una *rejilla de difracción* que se encarga de dividir el rayo de luz en varios haces más finos, de esta manera se obtiene un haz central con otros laterales de menor intensidad;
- Una *lente colimadora* tiene como finalidad la obtención de rayos paralelos a partir de los rayos divergentes que inciden directamente sobre ella;
- Un *divisor de haz* que se encarga de dirigir el haz láser hacia el disco (o superficie a grabar), una vez reflejado se desvía hacia un arreglo de fotodetectores. Este elemento consta de dos prismas de 45° con una superficie común en la cual se encuentra una membrana dieléctrica que permite la transferencia de la luz polarizada horizontalmente del láser transmisor y desvía hacia los fotodetectores la luz polarizada verticalmente (que es la que corresponde a la reflejada por el disco)
- Una *lámina de cuarto de onda* que es responsable de controlar la polarización de la luz, lleva este nombre porque está constituida por un vidrio birrefringente, la luz asociada con el mayor índice de refracción se retarda en fase 90° respecto a la luz que tiene un menor índice de refracción. Este vidrio, con propiedad astigmática de doble refracción, polariza al haz de forma circular.
- Finalmente el *lente objetivo*, que generalmente se observa a simple vista, es una lente convexa y se encarga de hacer converger los rayos de luz en un punto focal determinado por la distancia focal intrínseca de la lente, la cual es típicamente de unos milímetros.

En la figura 2.2 se puede observar esquemáticamente el arreglo óptico así como la trayectoria que sigue el haz láser, se inicia en la fuente de semiconductor. El haz láser es polarizado

horizontalmente, pasa sin cambios a través del divisor de haz a la lámina de cuarto de onda, que proporciona la polarización circular. La superficie del disco refleja la luz polarizada circularmente como un espejo. Al pasar de nuevo por la lámina de cuarto de onda se rectifica la luz, dándole polarización vertical. Esta polarización no puede pasar por el divisor de haz por lo que se desvía a los sensores optoelectrónicos integrados también en la OPU.

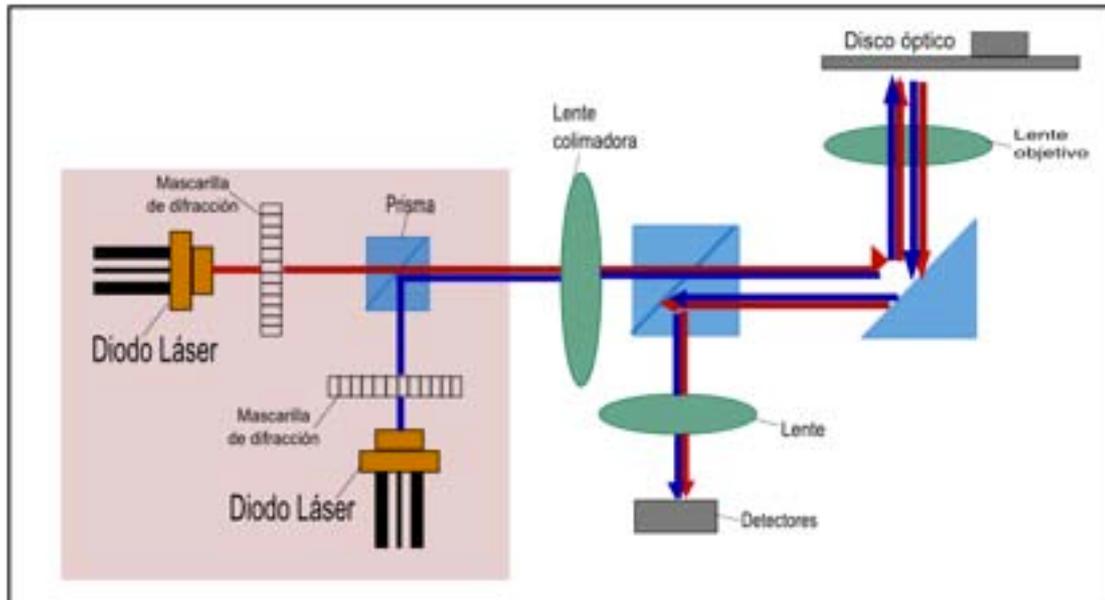


Fig. 2.2 Esquema arreglo óptico interno [II.1 p.18]

El arreglo de sensores optoelectrónicos normalmente sirve para leer la información del disco, para determinar el error de enfocamiento vertical entre la lente y el disco (*Focus Error*) y para determinar el error de seguimiento de pista (*Tracking Error*) que sirve para *sensar* el seguimiento de la pista pre-grabada por el haz. En la figura 2.3 se puede observar una OPU con las partes visibles más importantes. Respecto a la lente objetivo se debe tener cuidado de no manipularla bruscamente o tocarla directamente para evitar mancharla de grasa o polvo ya que es el punto de salida del haz y la que se encarga de enfocar. Algún daño en la lente repercute directamente sobre la forma y limpieza del punto focal y por lo tanto repercute en la resolución del grabado.

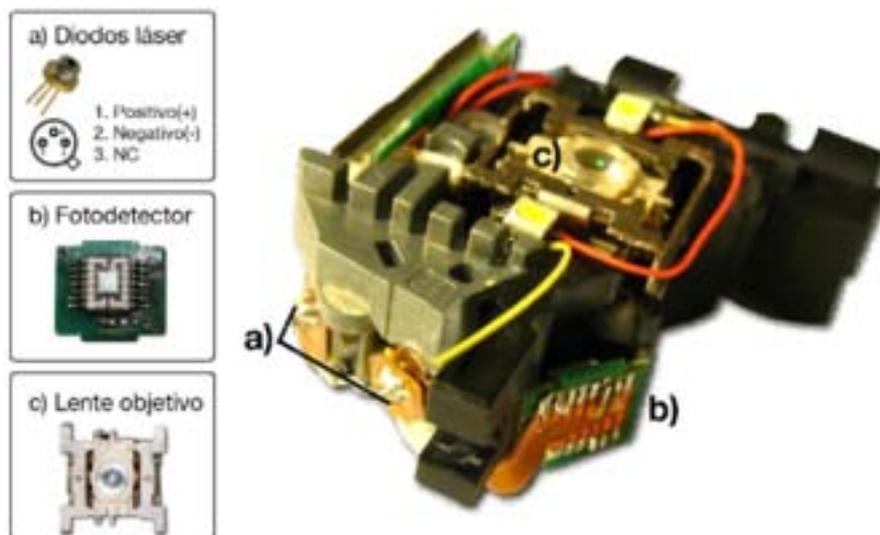


Fig. 2.3 Principales componentes de una OPU montada en el equipo: a) Diodo láser, b) Fotodetector, c) Lente objetivo [II.1 p.25]

2.1.2 Plataforma Tridimensional

2.1.2.1 Posicionamiento Vertical

Intentando mantener, en la medida de lo posible, las condiciones del montaje de fábrica, la OPU se dejó en el soporte metálico horizontal que se muestra en la figura 2.4a). Éste se adapta a una base que fue reciclada de un microscopio óptico convencional para manipular el movimiento vertical y controlar precisamente la distancia a la cual se encuentra el punto focal del láser. Este eje (Z) es manipulado de forma manual con una resolución nominal de $0.5\ \mu\text{m}$. Se debe cuidar que la OPU montada esté lo más horizontal posible para asegurar que el punto focal llegue perpendicularmente a la superficie que se desea grabar, ofreciendo la mejor resolución posible.

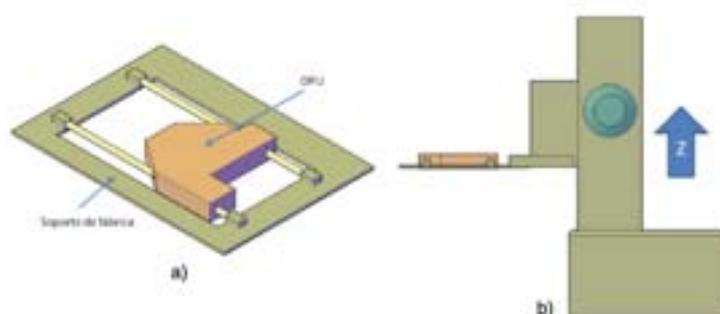


Fig. 2.4 a) Soporte de fábrica de la OPU b) montado en la base de microscopio [II.1 p.33]

2.1.2.2 Posicionamiento Horizontal

El posicionamiento horizontal es realizado por una plataforma con movimiento en el eje X y el eje Y, la llamaremos plataforma XY. Ésta es ensamblada sobre una mesa óptica anti vibratoria a partir de plataformas manuales de desplazamiento lineal (marca Newport). Cada uno de los desplazadores, que comúnmente se utilizan en experimentos de óptica, se caracterizan por tener movimiento lineal en una sola dirección además de tener un retorno automático debido a un resorte interno. Si se montan dos desplazadores, uno sobre otro a 90° , se logra obtener movimiento en los dos ejes. A esta plataforma se le agregan una base sobre la cual se colocarán los sustratos a grabar, ésta cuenta con un agujero en el que se coloca la unidad de visualización, de la cual hablaremos más adelante.

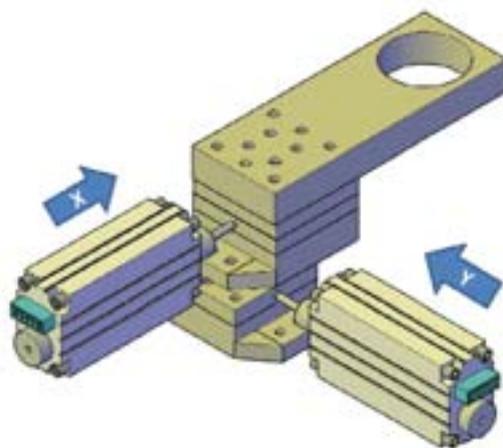


Fig. 2.5 Plataforma XY con motores integrados [II.1 p. 33]

A esta plataforma se le agregan un par de motores a pasos con mecanismo de desplazamiento lineal. La resolución lineal de estos motores es de 1 μm . En la figura 2.5 se puede ver la plataforma XY ya con los motores integrados

2.1.3 Unidad de Visualización CCD

Esta unidad sirve como apoyo visual para colocar la muestra así como en el proceso de grabado. Justo debajo de la muestra a grabar (en el agujero de la plataforma XY), se coloca un objetivo de microscopio con un aumento de 20x, como se ilustra en la figura 2.6. Al objetivo se le adapta a su vez un sensor CCD, reciclado de una webcam de bajo costo. Entre el objetivo de microscopio y el CCD se encuentra además un filtro infrarrojo para evitar que el CCD se sature. Esto permite visualizar en tiempo real el grabado de las muestras siempre y cuando exista cierta transparencia o bien, siempre que el láser perfora totalmente la muestra. Esta unidad sirve además para controlar el enfocamiento del haz sobre la superficie que se desea grabar debido a que se puede visualizar y estimar la posición para la cual se ve más pequeño. En el capítulo 1 mencionamos además que al enfocar el láser sobre nanopartículas, hay emisión de luz visible, por lo tanto sabemos que estamos bien enfocados en la muestra cuando se observa dicha emisión; es particularmente útil para las muestras opacas.

Desde la computadora se pueden tomar fotografías y vídeos, pudiendo así documentar el proceso de grabado. Sin embargo es necesario utilizar otros equipos para realizar mediciones más precisas de las estructuras obtenidas.

Es importante resaltar que el objetivo de microscopio está adaptado a una plataforma manual de resolución micrométrica en las tres direcciones, ver figura 2.6a). Esto permite seleccionar y enfocar la zona que se desea grabar y a su vez sirve para hacer coincidir la distancia focal del objetivo con la distancia focal del láser.

Para ayudar a la visualización de la muestra, la unidad también cuenta con iluminación externa proporcionada por un LED blanco, colocado a un lado de la lente de la OPU.

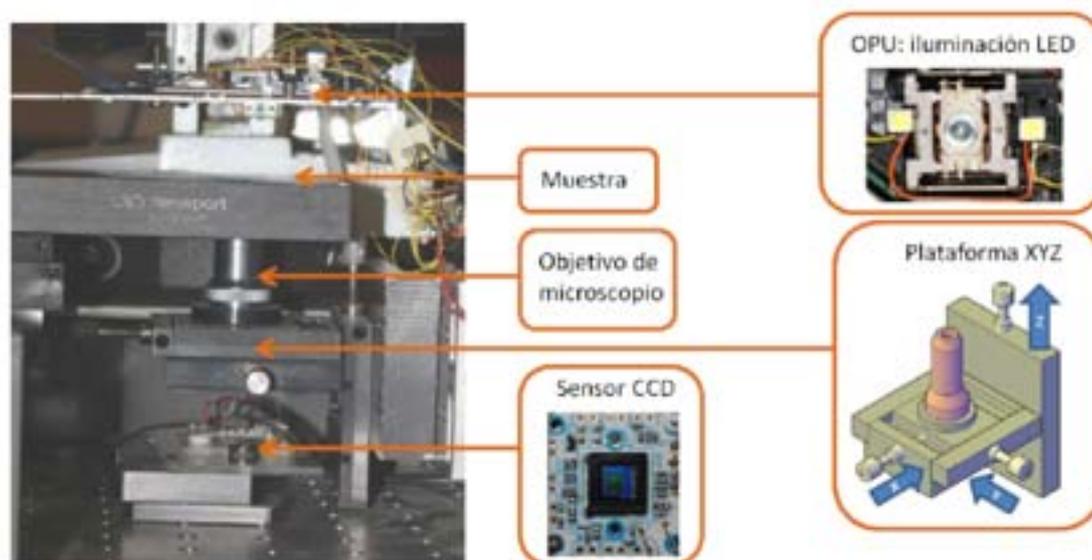


Fig 2.6 Unidad de visualización [II.1 p.34]

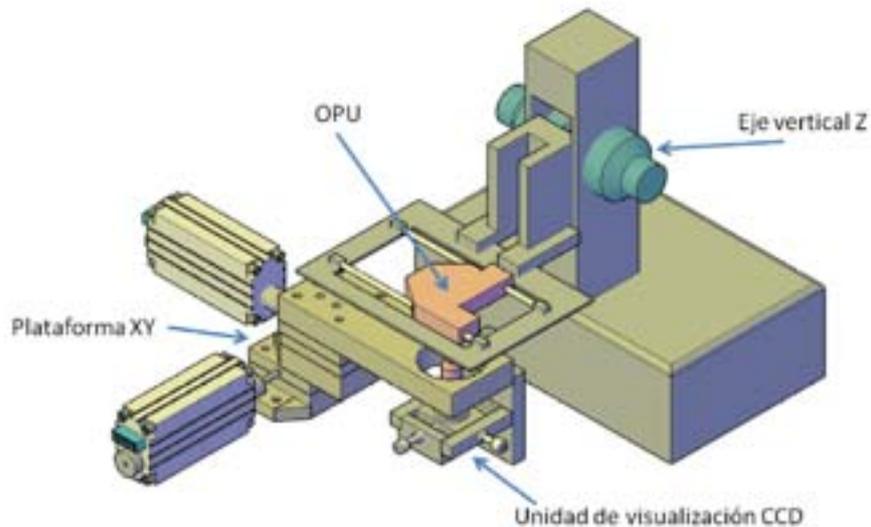


Fig. 2.7 Esquema del prototipo final [II.1 p.35]

2.1.4 Sistema Electrónico

Con el sistema electrónico se controlan los principales parámetros del diodo láser, en particular el tiempo de encendido y la potencia eléctrica suministrada. Además controla el movimiento de los motores para el posicionamiento de la plataforma XY. La computadora, a través de su puerto paralelo, controla y sincroniza las señales hacia la plataforma de trabajo y la señal de control del diodo láser. Se eligió el puerto paralelo debido a su facilidad de programación y porque permite controlar varias señales simultáneamente con tiempo de respuesta del orden de milisegundos. Un driver de corriente protege de posibles retornos de corriente el puerto de salida y además suministra la corriente necesaria para los motores de paso.

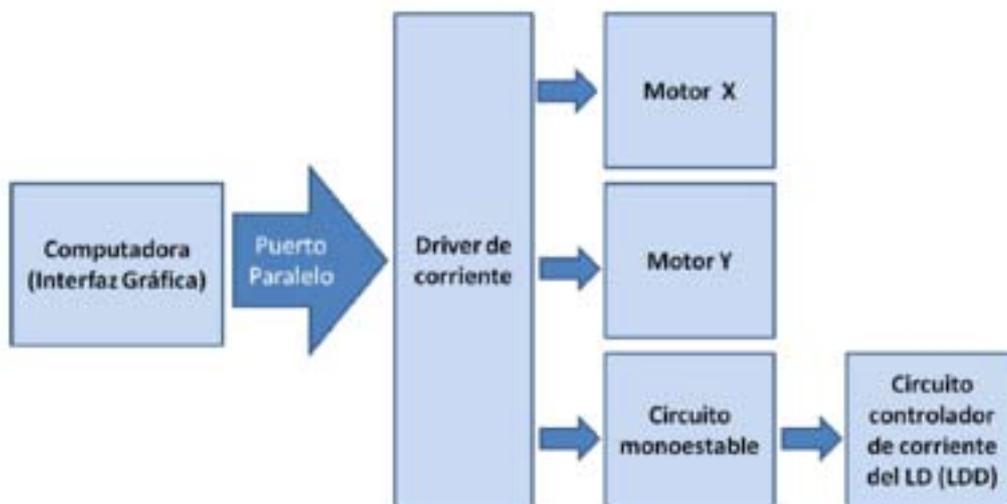


Fig. 2.8 Esquema del sistema electrónico [II.1 p.36]

Es muy importante controlar la potencia luminosa suministrada por el diodo a la muestra así como el tiempo de pulso. Teniendo esto en mente se cuenta primero con un multivibrador en configuración de circuito monoestable que administra, por medio de un arreglo de resistencia-capacitor externo e intercambiable, la duración del tiempo de pulso de encendido del láser. Dicho circuito tiene un ancho de pulso de salida configurable a partir de una resistencia y un capacitor

externos, ofreciendo tiempos que van desde los 40ns hasta los 28s. Esta señal de salida controla después el bit de “enable” de un controlador de corriente que limita el suministro de corriente eléctrica del diodo. A través de un LDD (*Laser Diode Driver*), que controla dos diodos láser (no simultáneamente), se asegura mayor flexibilidad en los niveles de corriente. Con esta configuración se depende únicamente de una señal de habilitación general (ENABLE) como señal de encendido del diodo que proviene de la parte de temporización. Las entradas de corriente analógica se conectan a una fuente de voltaje variable que va desde 0V hasta 2V con lo que se ajusta el valor deseado de corriente suministrada al diodo que va desde 0mA hasta 250mA

2.1.5 Software de Control

La interfaz de control se desarrolló en Visual Basic a través de Excel. Con ella se controla tanto los motores de movimiento como la señal de encendido del láser. Se cuenta con dos programas, el primero, figura 2.8, hace que los motores recorran distancias específicas, que son determinadas por el operador, en ambos sentidos, es decir, avanzando y retrocediendo. También ofrece la opción de enviar la señal de encendido del diodo láser, recordando que el tiempo de duración de encendido se controla externamente con el circuito monoestable.

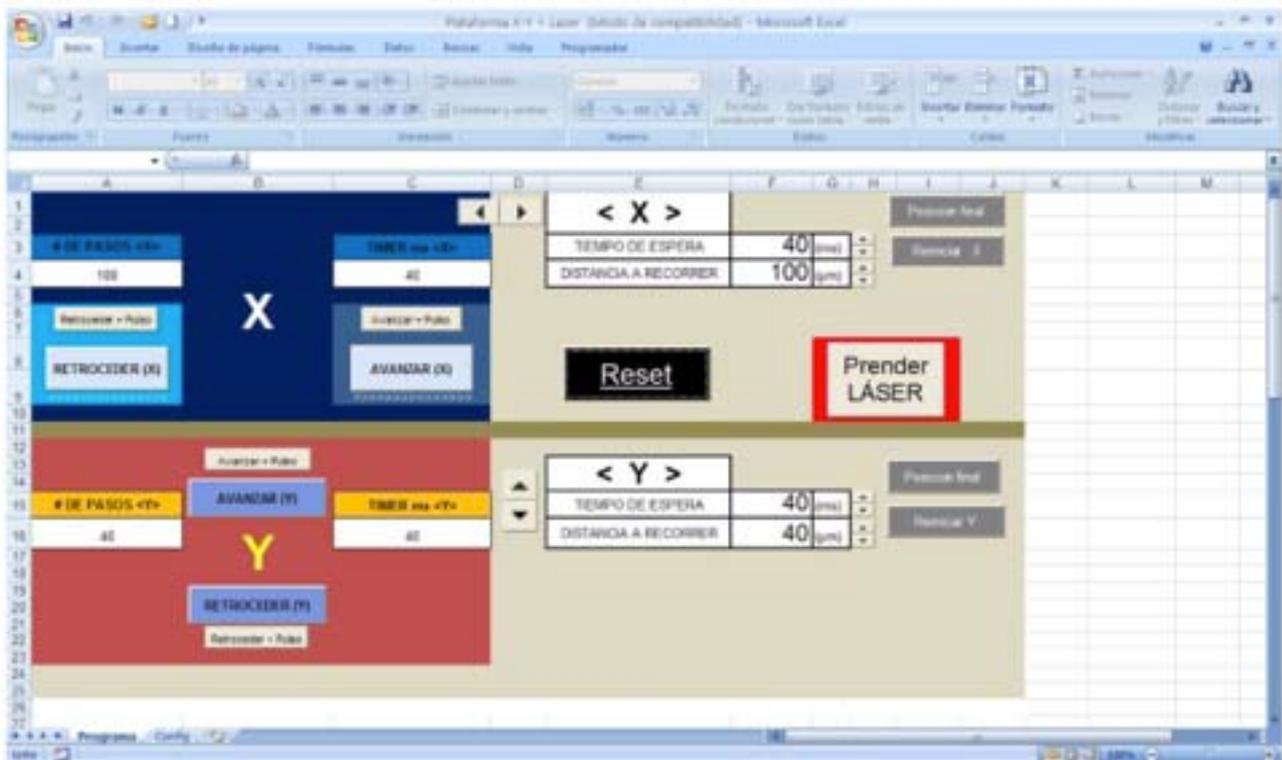


Fig. 2.8 Impresión de pantalla de la interfaz de control de la plataforma XY

El segundo, figura 2.9, permite automatizar el grabado de diseños predeterminados, imitando un sistema de control numérico por computadora (CNC). A partir de un dibujo, diseñado previamente en un formato de *bitmap* monocromático, se obtiene una tabla de valores binarios. El programa lee dicha tabla, la cual contiene toda la información necesaria para realizar el grabado es decir contiene las coordenadas de los puntos a grabar y el tamaño total en número de pixeles de la imagen. El programa CNC informa al operador el tiempo que tardará transferir su diseño a la muestra y graba automáticamente todo el diseño punto por punto, esto último debido a que el programa traduce un 0 como “no grabar” y un valor superior como “encender el láser”. Dicho valor puede usarse para

controlar el número de pasadas láser en cada pixel. Para convertir la imagen *bitmap* se desarrolló un programa sencillo en *Matlab*.

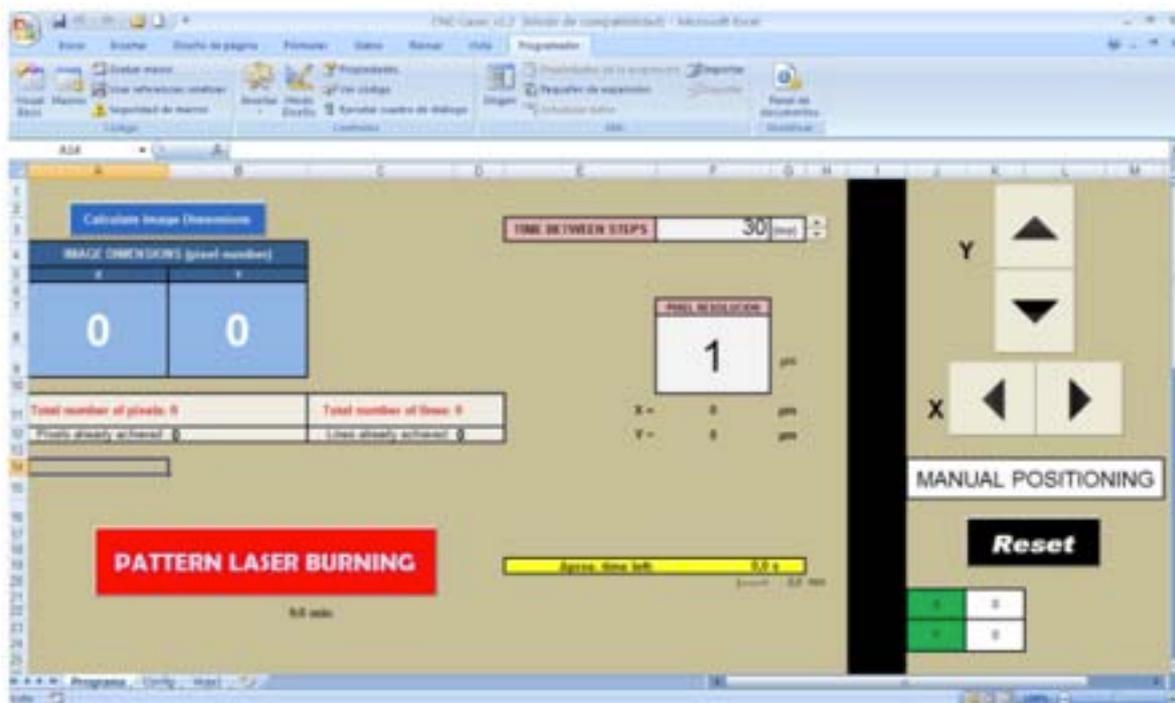


Fig. 2.9 Impresión de pantalla de la interfaz de control tipo CNC

2.2 Preparación de Muestras

Un factor determinante en el proceso de microfabricación es la interacción de la luz láser con el material que se desea grabar. En la sección 1.4 hablamos del uso de nanomateriales como agentes fotoabsorbentes que permiten obtener altas temperaturas de forma localizada, efecto que puede utilizarse para la ablación láser. En particular vimos que el nanopolvo de carbón es un material que aumenta localmente su temperatura hasta lograr la incandescencia inducida por luz láser (ver sección 1.5) por lo tanto las muestras utilizadas en este trabajo se obtienen al depositar una capa absorbente (negra) de nanopartículas de carbón sobre un sustrato transparente, que puede ser un portaobjetos de vidrio, una lamina de PDMS o un portaobjeto de acrílico. La selección de cada sustrato determina sus aplicaciones, en los capítulos siguientes se describirá cada caso.

Para obtener una capa homogénea en la superficie del sustrato se utiliza la técnica de depósito doctor blade la cual consiste en deslizar una navaja sobre una pasta homogénea de nanopolvo de carbón (Nanopolvo de Carbón; Sigma Aldrich, número de parte: 633-100) con un polímero de bajo costo, hecho a base de poliéster y alcohol (MPS-95, PolyformasPlasticas S.A. de C.V.), el material de carbón adquirido en Sigma Aldrich es utilizado sin mayor tratamiento. Controlando la presión sobre la navaja y la velocidad con la que se mueve la misma, se puede controlar el espesor y homogeneidad de la película [II.3], en la figura 2.10 se muestra una esquematización de dicha técnica. Una vez que se tiene la capa deseada se deja secar a temperatura ambiente. El secado se debe realizar paulatinamente ya que si se realiza de forma violenta por calentamiento se pueden provocar que la muestra final quede con rugosidad excesiva debido a la formación de islas de agregados haciendo que se deseche el depósito. Efectivamente se busca obtener una capa negra homogénea que absorba la luz eficientemente y que mida algunos micrómetros de espesor.

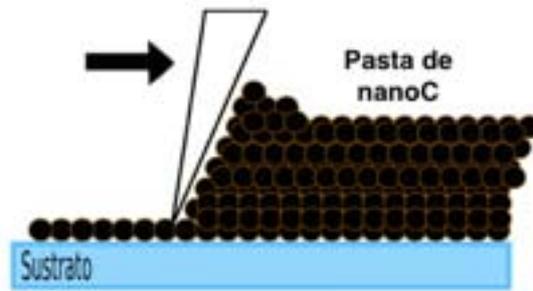


Fig. 2.10 Esquematación de la técnica doctor blade para depositar nanopartículas de carbono sobre un sustrato de vidrio [II.4]

En este proyecto se utiliza el nanopolvo de carbono debido a que es un material que absorbe ambas longitudes de onda disponibles en el equipo además de su relativamente fácil utilización. Se seleccionó este polímero en particular debido a su bajo costo, fácil utilización y su relativamente baja conductividad térmica. Esto último evitó el transporte térmico en la superficie promoviendo así la incandescencia inducida localmente, lo que no sucedió con otros materiales fijadores de carbono que se probaron para crear pastas homogéneas y de alta percolación [II.4].

2.3 Principio de Fabricación

Una vez obtenida la muestra se procede a colocarla en el equipo de microfabricación. En una primera etapa se enfoca el objetivo de microscopio (ver figura 2.6) en la superficie cubierta con el nanocarbono, esto es para poder visualizar la muestra que se desea grabar y monitorear en tiempo real el proceso de grabado. Enseguida se procede a enfocar el láser en la superficie a grabar, es decir hacer que la distancia que hay entre la lente objetivo de la cabeza óptica y la superficie del sustrato sea igual a la distancia focal de la lente objetivo, este enfocamiento se realiza visualizando el spot en la computadora. Se observó que cuando el láser está precisamente enfocado (con margen de error de enfocamiento muy limitado estimado a menos de 20 micrómetros) se presenta incandescencia inducida por luz láser, fenómeno que consiste en la emisión de luz visible al irradiar las nanopartículas de carbono con el láser infrarrojo del equipo (780nm). Por lo tanto, la obtención de la chispa de incandescencia es un método inmediato, visible y preciso para enfocar el láser.

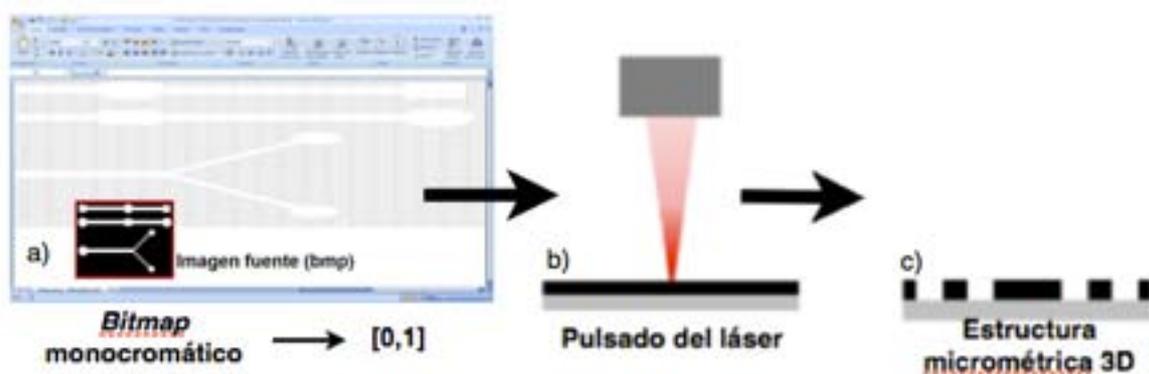


Fig. 2.11 Esquema general del proceso de microfabricación. a) Ejemplo de la conversión de imagen en datos binarios b) Esquematación del láser irradiando la muestra c) Estructuras 3D obtenidas

En la figura 2.11 se muestra un esquema general del principio de fabricación, se muestra un ejemplo de un diseño y su conversión en tabla binaria, abierta como hoja de cálculo en Excel. Esta tabla es leída por el programa CNC (ver sección 2.1.5) y es la que le indica al láser cuando pulsar (1) y

cuando debe permanecer apagado (0). Por lo tanto es transferido automáticamente un diseño predeterminado a la muestra, generando una estructura de escala micrométrica en tres dimensiones. La resolución de las microestructuras depende del tipo de muestra con la que se está trabajando, de un buen enfocamiento y de la energía óptica suministrada, que a su vez depende de la intensidad de la corriente y el tiempo de exposición, es decir el tiempo de pulso del láser.

2.4 Síntesis del Capítulo

Se presentó un método de microfabricación de bajo costo y fácil realización que consiste en utilizar un equipo de microfabricación láser para la fabricación directa y automatizada de estructuras micrométricas sobre sustratos transparentes cubiertos por una capa homogénea de nanopolvo de carbón.

El equipo está basado en el sistema óptico láser de un reproductor CD/DVD comercial y permite controlar la potencia eléctrica y el tiempo de encendido del diodo láser así como el control preciso del posicionamiento en el plano XY. Además cuenta con una unidad de visualización en tiempo real que fue montada debajo de la plataforma de grabado que resulta de gran ayuda para el proceso de enfocamiento.

Las muestras con las que se trabaja consisten en utilizar la técnica doctor blade para depositar una capa homogénea y absorbente (negra) sobre sustratos transparentes. Es posible obtener estructuras tridimensionales sobre estas muestras debido a que al enfocar el láser infrarrojo del equipo se obtiene incandescencia inducida por luz láser y esto produce ablación láser localizada. La resolución de los grabados depende de la muestra con la que se trabaje, de un buen enfocamiento y de la energía óptica suministrada.

2.5 Referencias del Capítulo

[II.1] Jiménez Zenteno, Alejandro Kayum; “Fabricación de microsistemas y máscaras de alta resolución con tecnología láser”, Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México (2012).

[II.2] LightScribe (2015) Descripción general
<http://www.lightscribe.eu/index.php?go=descriptions>

[II.3] M. A. Aegerter and M. Mennig, eds., Sol-Gel Technologies for Glass Producers and Users, Springer (2004).

[II.4] L. Cabriales, M. Hautefeuille, G. Fernández, V. Velazquez, M. Grether and E. López-Moreno “Rapid Fabrication of on-demand high-resolution optical masks with a CD-DVD pickup unit” *Applied Optics*, 1559-128X/14/091802-06 (2014)

Capítulo 3

3. Fabricación de Mascarillas de Difracción

En este capítulo se presenta la implementación del método de fabricación presentado en el capítulo anterior para obtener de forma rápida, sencilla y de bajo costo mascarillas ópticas de alta resolución para aplicaciones en luz estructurada y difracción. Para esta aplicación se utilizaron muestras en las que el sustrato es vidrio recubierto de una capa homogénea de nanopolvo de carbón, al enfocar en esta superficie el láser infrarrojo del equipo se obtiene incandescencia inducida por luz láser que produce la ablación. Producto de la ablación se obtienen áreas transparentes del orden de magnitud de la longitud de onda por lo que es posible fabricar mascarillas de difracción hechas a la medida. Se presenta una breve caracterización de los grabados obtenidos, así como algunas mascarillas fabricadas con la implementación de este método. Adicionalmente, se presentan algunos resultados de difracción obtenidos para dichas mascarillas y la producción de haces estructurados.

3.1 Mascarillas Ópticas: Reto tecnológico

Las mascarillas ópticas de alta resolución son cada vez más requeridas en diversas aplicaciones como en fotolitografía, en la generación de patrones de difracción en óptica o en la generación de luz estructurada [III.1]. La fabricación de estas mascarillas representa un reto tecnológico importante debido a que se requieren procesos de alta precisión. El desarrollo de la microfabricación ha permitido, a su vez, que se logren fabricar mascarillas con resoluciones más altas, alcanzando dimensiones más pequeñas. Sin embargo, en todas las técnicas empleadas para la fabricación de mascarillas ópticas los costos son proporcionales a la resolución. Esto limita el rango de posibles aplicaciones en los laboratorios de docencia o investigación. Una solución práctica utilizada generalmente en el medio es imprimir el patrón deseado en acetato, sin embargo, en la mayoría de los casos esta técnica limita la resolución a la cual se puede llegar [III.2]. El desarrollo que la tecnología láser ha presentado en los últimos años, ha permitido que los láseres pulsados sean utilizados como principal herramienta para la microfabricación, haciendo que el grabado láser sea entonces una solución práctica en la fabricación de mascarillas ópticas. Contar con un equipo propio de microfabricación láser permite reducir costos y tiempos en el proceso.

3.2 Metodología de Fabricación

El método para preparar las muestras es una adaptación del método presentado en la sección 2.2, en este caso contamos con vidrio como sustrato y soporte para la capa homogénea de nanopolvo de carbón, ver figura 3.1a. El polímero además de permitir que las nanopartículas se queden fijas sobre el vidrio ha permitido que el depósito sea resistente al uso cotidiano y que fuera fácil manipular y almacenar en laboratorios de Óptica. Incluso se expuso la muestra a un láser de CO₂ con potencia de 5W y no se observó un daño aparente.

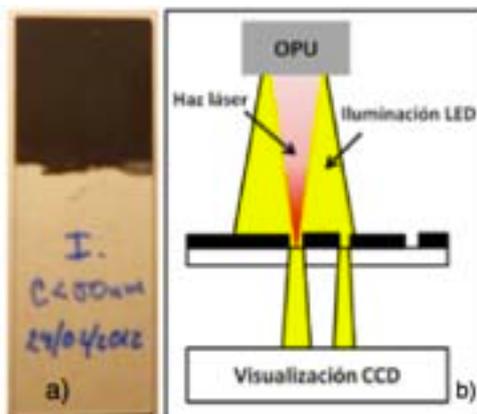


Fig. 3.1 a) Capa homogénea de nanocarbón sobre vidrio b) Por transparencia es posible observar la remoción del material [III.5].

En la figura 3.2 se muestra el principio de fabricación utilizado, también adaptado del principio expresado en la sección 2.3. Debido a la alta energía localizada, producida por el enfocamiento del láser en la superficie de carbon, se obtiene ablación láser que remueve el material de la superficie del sustrato. Esto se observa utilizando una técnica de transparencia, ver figura 3.1b, en la que es posible observar la luz proveniente de la iluminación LED que atraviesa el material grabado. Esto comprueba que el grabado puede ser utilizado como máscara para difracción óptica. En la figura 3.3a se observa una fotografía de la incandescencia obtenida en la superficie de la capa de carbón cuando el láser está debidamente enfocado. Utilizando el programa CNC, se pueden realizar grabados muy localizados transfiriendo *bitmaps* monocromáticos pixel por pixel y con una resolución de 1.2 micrómetros en la configuración óptima de las condiciones del láser. En la figura 3.2b y c es posible observar un ejemplo de la transferencia CNC de un diseño predeterminado, dicho diseño no fue seleccionado para alguna aplicación en particular.

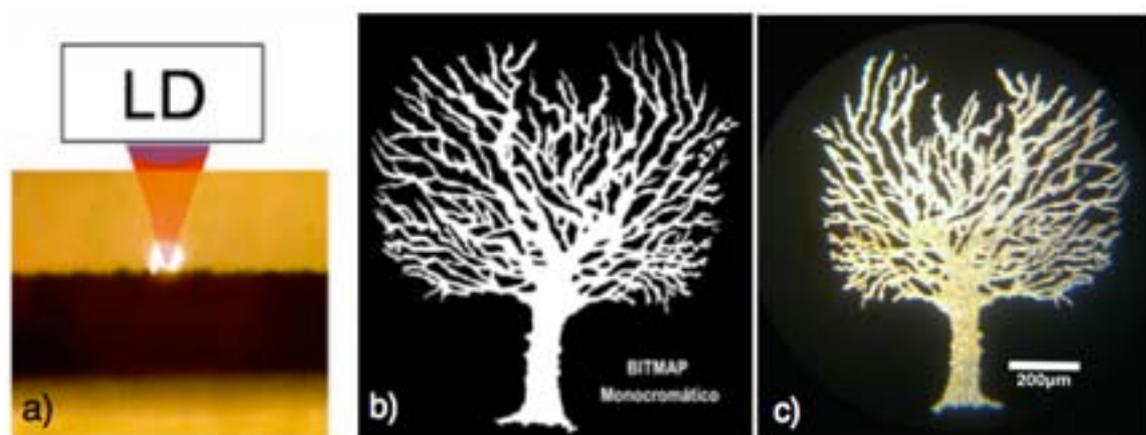


Fig. 3.2 a) Incandescencia inducida por luz láser en la superficie de la capa de carbón b) Diseño *bitmap* monocromático c) Diseño grabado en la muestra de carbón.

3.3 Resultados

3.3.1 Mascarillas Grabadas

En una primer etapa se grabaron mascarillas estándar como las múltiples rendijas, esto con el fin de comprobar que el proceso de fabricación en efecto permite obtener mascarillas de difracción. Una vez fabricadas, las mascarillas se probaron con un experimento simple de difracción, como el que se muestra en la figura 3.3. Se utilizó un láser rojo de He-Ne ($\lambda=633\text{nm}$). Para obtener un filtrado espacial se colocó un *pinhole* entre el láser y la mascarilla. Las fotografías se obtuvieron removiendo la lente de una cámara fotográfica reflex digital controlando el tiempo de exposición para evitar así una saturación de la imagen.

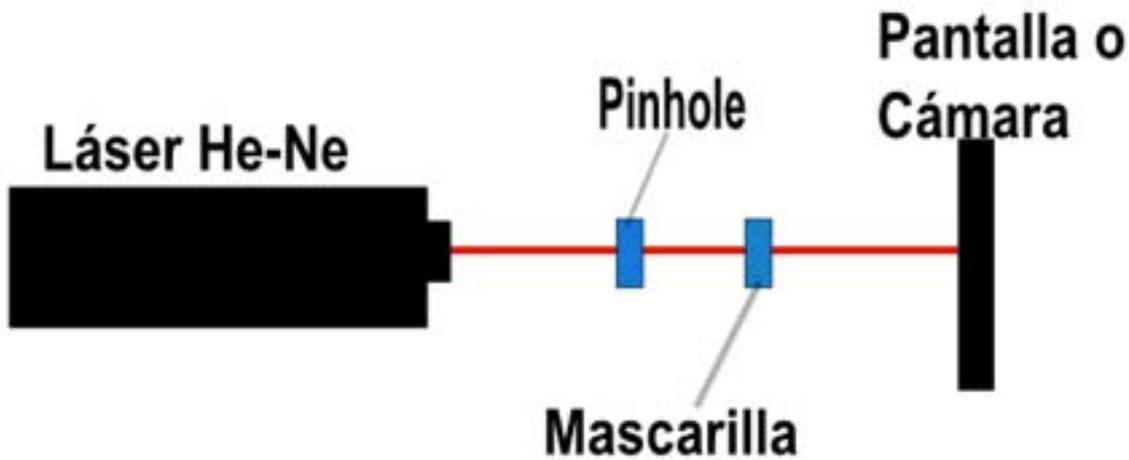


Fig. 3.3 Esquema experimental para la obtención de los patrones de difracción para las mascarillas fabricadas

En la figura 3.4 encontramos una triple rendija así como su patrón experimental y su comparación con el patrón teórico, esto comprueba que la mascarilla difracta la luz como se esperaba.

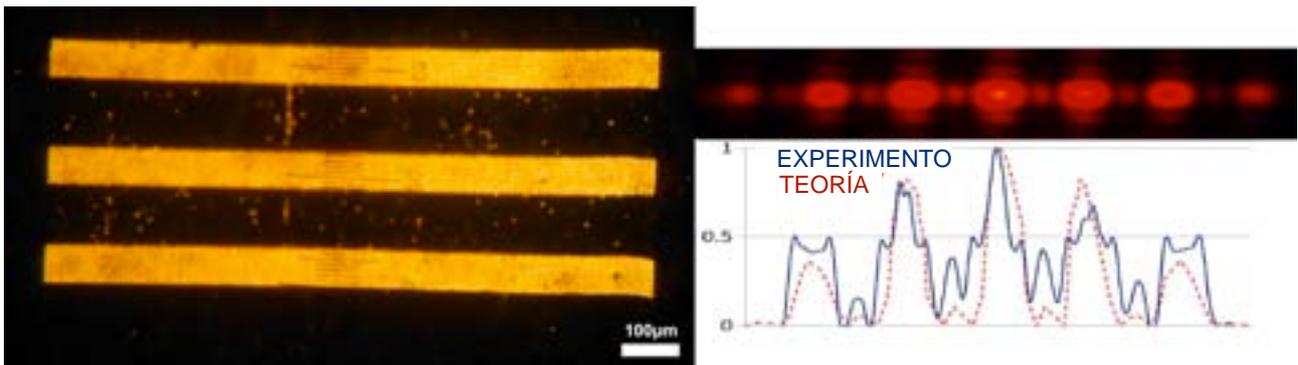


Fig. 3.4 a) Rendija de $80\mu\text{m}$ de apertura con $250\mu\text{m}$ de separación b) Patrón experimental c) Comparación con la teoría [III.5].

En una segunda etapa se fabricaron mascarillas más complejas que permiten dar momento angular orbital a la luz. Esto fue sugerido debido a la necesidad de fabricar estas mascarillas que permitieran la experimentación con luz estructurada en el Laboratorio de Óptica Avanzada de la Facultad de Ciencias de la UNAM. En la figura 3.5 se observan las mascarillas grabadas que incluyen una mascarilla de tenedor y el tenedor invertido [III.3, III.4]. De aquí se observa fácilmente que los patrones obtenidos con las mascarillas formadas con líneas son más definidos que aquellas con

puntos. Los patrones obtenidos son similares a los esperados teóricamente, estos patrones teóricos salen del proyecto que estudia la estructura fina de los patrones de difracción llevado a cabo en el laboratorio [III.3] por lo que se concluye que fue posible otorgar momento angular orbital a las luz que sale de las mascarillas y obtener así haces estructurados.

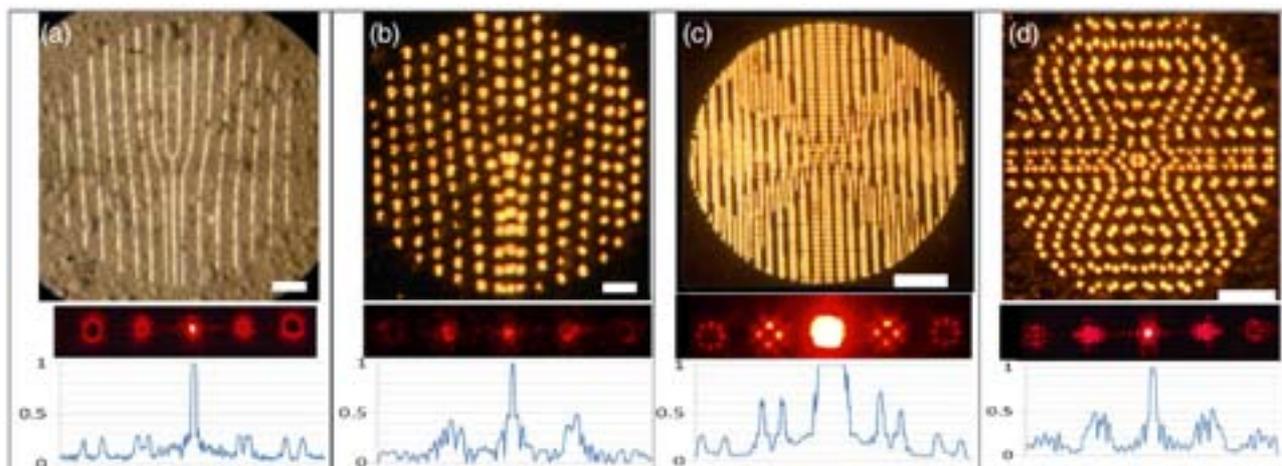


Fig. 3.5 Rejillas grabadas con su patrón experimental asociado y su gráfica de intensidad correspondiente de a) un tenedor hecho de líneas b) tenedor hecho con puntos c) tenedor invertido hecho de líneas d) tenedor invertido hecho de puntos [III.5].

3.3.2 Caracterización de las Mascarillas Grabadas

El tamaño de pixel que se logra con este proceso de microfabricación depende directamente de parámetros como la longitud de onda, el enfocamiento correcto, la densidad de potencia y el tiempo de pulso. Recordemos que todos estos parámetros son controlables con el equipo de microfabricación. Incluso podríamos utilizar el láser encendido continuamente (modo CW o continuous wave) en lugar de modo pulsado, sin embargo esto genera grabados menos repetibles y que resultan muy anchos para la aplicación en mascarillas de difracción. También fue posible trabajar con diferentes tiempos de pulso, se determinó que 5.8ms es un tiempo de pulso adecuado para la realización de los grabados controlando por otra parte la potencia.

Controlando el número de pasadas y el tiempo de pulso también se permite la obtención de patrones con escalas de gris, como las que se muestran en la figura 3.6, estas imágenes fueron tomadas con un microscopio electrónico de barrido (SEM, Jeol JSM5600 LV).

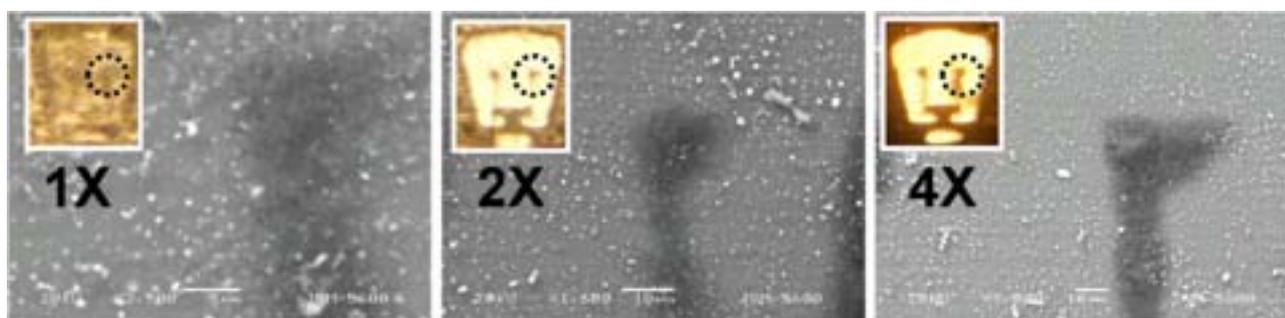


Fig. 3.6 Fotografías tomadas con SEM, se muestran patrones con escala de gris después de una (1X), dos (2X) y cuatro (4X) pasadas. Aquí se utilizó el láser infrarrojo con $30\text{mW}/\text{cm}^2$ y 5ms de tiempo de pulso. Insertadas se encuentran fotografías tomadas con un microscopio óptico invertido que es iluminado con un foco de 40W [III.5].

El nivel de transparencia o contraste, y la resolución de los detalles aumenta claramente con el aumento de número de pasadas. La calidad total de los grabados aumenta con el número de pasadas así como el tamaño de esferas microscópicas, las cuales son visibles como puntos blancos en las fotografías SEM y probablemente causadas por el calentamiento del polímero.

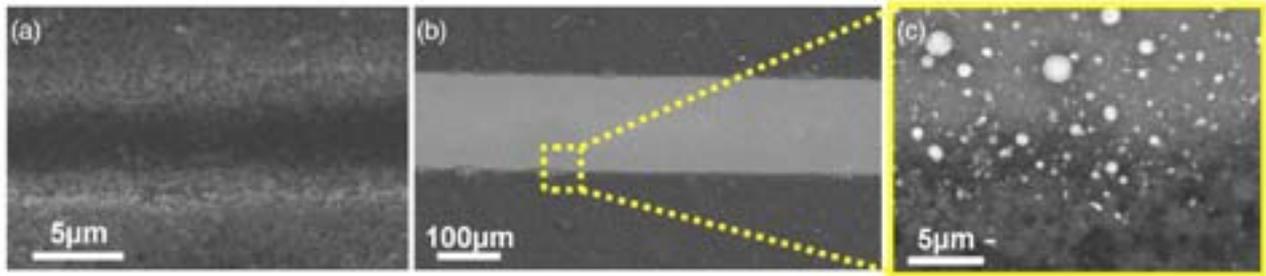


Fig. 3.7 a) Fotografía SEM de los detalles de una línea de un pixel de espesor grabada con el programa CNC b) abertura más grande con c) defectos visibles en forma de microesferas [III.5].

También se observan algunos defectos no deseados que, aún bajo las condiciones óptimas de grabado, se encuentran en las ventanas, éstos podrían afectar los resultados de la difracción. En la figura 3.7 se encuentran imágenes tomadas con SEM en donde es claro observar los defectos antes mencionados. Utilizando un software de procesamiento de imágenes se logró determinar la calidad de los grabados finales. Bajo las condiciones óptimas se garantiza una densidad de defectos aproximada de 1-10 defectos/mm² con un tamaño mínimo de defecto de 1.78µm y máximo de 5.2µm.

3.3.2 Material Residual

Otra consecuencia interesante del grabado y que se buscará analizar y aprovechar a futuro es la existencia de material residual nanoestructurado en los grabados. En la figura 3.8 se puede observar fácilmente que a pesar de haber abierto una ventana con el láser en la muestra de carbón tenemos un material residual. La caracterización con el microscopio electrónico de barrido evidenció también nano hojuelas.

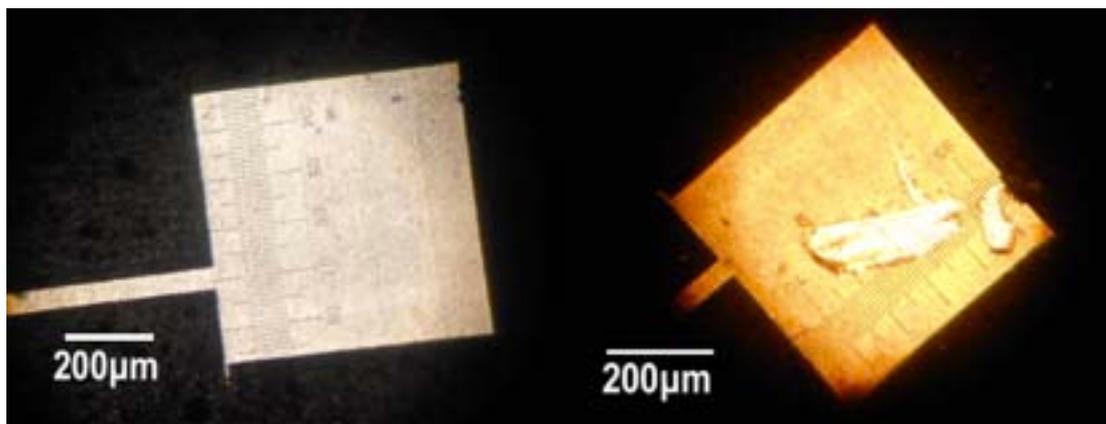


Fig. 3.8 a) Imagen del grabado b) Imagen del material residual

La existencia de este material debe tener un efecto directo en el patrón de difracción obtenido debido a la interacción que tiene la luz con la materia en esos puntos. Esto se comprobó al observar que la proyección del haz estructurado resultante presenta un desdoblamiento de los patrones no observado con las simulaciones o las mascarillas hechas con película fotográfica. En la figura 3.9 se

observa claramente la diferencia entre el patrón simulado con base en la teoría y el patrón experimental obtenido con una mascarilla grabada. Para entender si este efecto se puede asociar a la interacción de la luz con el material residual del grabado se realizaron mascarillas con el mismo diseño grabando repetidas veces para caracterizar cómo la interacción luz-material residual estructurado en nanohojuelas influye en el patrón. Efectivamente se ha observado que el número de pasadas influye directamente sobre el espesor de este material residual. Más trabajo en curso determinará si influye sobre su organización y estructuración planar.

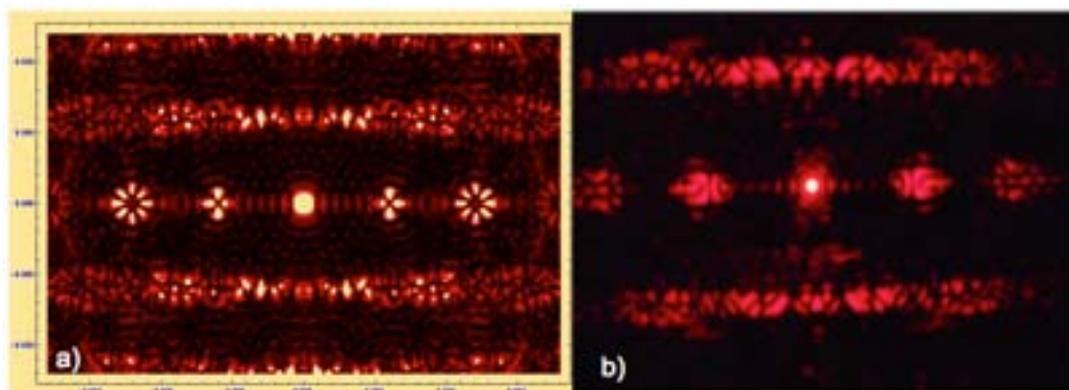


Fig. 3.9 Haz estructurado obtenido por a) simulación por Mathematica [III.3] o b) experimentalmente a partir de una rejilla de tenedor invertido.

En la figura 3.10 se observan los patrones obtenidos para la mascarillas de tenedor invertido grabado una, dos, cuatro y seis veces. A pesar de observar un cambio en los patrones de difracción según varía la cantidad de veces que se graba la mascarillas, es difícil establecer los parámetros adecuados para que el patrón que se obtienen experimentalmente se parezca cada vez más al simulado teóricamente. Es requerido un análisis más profundo pero hacerlo sale de los objetivos del presente proyecto.

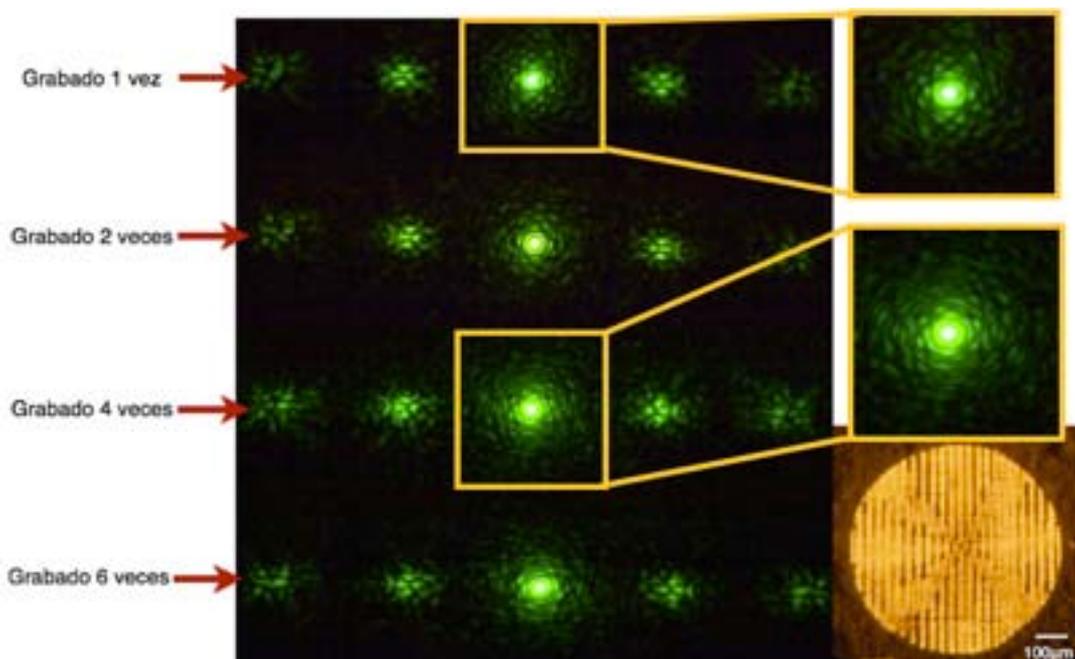


Fig. 3.10 En la parte inferior izquierda se muestra la mascarilla de tenedor invertido. De arriba hacia abajo se observan los patrones para mascarillas grabadas una, dos, cuatro y seis veces respectivamente. En el zoom se observa claramente la diferencia entre el máximo central para las mascarilla grabada una vez y la grabada 4 veces.

3.4 Conclusiones del Capítulo

Utilizando el equipo de microfabricación fue posible obtener incandescencia inducida por luz láser en la superficie de una capa de nanopartículas de carbón en matriz polimérica y sobre un sustrato limpio de vidrio; esto a su vez produce ablación láser que permite obtener ventanas transparentes en la muestra que inicialmente bloqueaba completamente la luz visible. Este proceso de fabricación rápido y de bajo costo permitió que se grabaran mascarillas personalizadas de área alrededor de 1mm x 1mm en 30 minutos aproximadamente. Se lograron fabricar alrededor de 50 diseños en una sola muestra demostrando así que esta técnica permite ahorrar material y tiempo y sirve como solución sencilla para la realización de experimentos de difracción en óptica.

Diseños más complejos, tales como el tenedor y el tenedor invertido, fueron probados. Las mascarillas permitieron otorgar momento angular orbital a la luz, formando así haces estructurados. Los patrones experimentales obtenidos con dichas mascarillas muestran diferencias con respecto a los patrones esperados, se encontró que esta diferencia se debe en gran medida al material residual que permanece en las regiones grabadas. Es requerido un estudio más preciso de estos fenómenos; sin embargo, éstos salen del propósito del presente proyecto.

3.5 Referencias del Capítulo

- [III.1] D. G. Grier, “A revolution in optical manipulation,” *Nature* 424, 810–816 (2003).
- [III.2] E. Orabona, A. Caliò, I. Rendina, L. De Stefano, and M. Medugno, “Photomasks fabrication based on optical reduction for microfluidic applications,” *Micromachines* 4, 206–214 (2013).
- [III.3] G. Fernandez Sánchez, “Estructura fina en los patrones de difracción de luz”, Tesis Doctoral, 2015
- [III.4] A. M. Yao and M. J. Padgett, “Orbital angular momentum: origins, behavior and applications,” *Adv. Opt. Photon.* 3, 161–204 (2011).
- [III.5] L. Cabriales, M. Hautefeuille, G. Fernández, V. Velazquez, M. Grether and E. López-Moreno “Rapid Fabrication of on-demand high-resolution optical masks with a CD-DVD pickup unit” *Applied Optics*, 1559-128X/14/091802-06 (2014)

Capítulo 4

4. Microestructuración del Polidimetilsiloxano

En este capítulo se presenta una técnica alternativa a la utilización de láseres pulsados de alta potencia para la fabricación directa de microestructuras en Polidimetilsiloxano (PDMS), un polímero transparente, flexible, biocompatible y de bajo costo. El láser infrarrojo (780nm) del equipo de microfabricación es enfocado en una película de nanopolvo de carbón recubriendo la superficie del polímero y en otros casos embebidos en el mismo. Al controlar las condiciones del láser podemos obtener incandescencia inducida por luz que resulta en la combustión del polímero de manera localizada. Con este principio se obtienen patrones de alta resolución que presentan una resolución micrométrica y propiedades normalmente inducidas por láseres de alta potencia: tales como la formación de nanodominios de carbón, aumento de la hidrofobicidad, fluorescencia localizada y guías de onda.

4.1 ¿Por qué trabajar con PDMS?

El Polidimetilsiloxano (PDMS) es un polímero que cuenta con interesantes propiedades eléctricas, mecánicas y ópticas que han motivado una infinidad de usos. Es un polímero viscoelástico transparente, flexible, generalmente inerte, y no inflamable. Sus aplicaciones varían desde los lentes de contacto hasta como aditivo en alimentos, lubricantes y materiales resistentes al calor. En los alimentos y bebidas ayuda a dar consistencia, puede usarse como antiespumante en algunos cosméticos y sirve como material antincendios [IV.1]. Es un material barato y fácil de usar que comúnmente sirve para obtener sistemas tridimensionales a microescala para diversas aplicaciones tales como la microfluídica y fotónica.

4.2 ¿Cómo microestructurar al PDMS?

Debido a la diversa utilización del PDMS existen técnicas estandarizadas para obtener estructuras tridimensionales con diseños deseados, la técnica más utilizada es la conocida como Molde/Réplica, dentro del panel de procesos de litografía suave descritos por George Whitesides [IV.2]. En la figura 4.1 se muestra una esquematización de dicha técnica. El molde requerido se fabrica típicamente con técnicas fotolitográficas, después se deposita el PDMS líquido y se deja curar por temperatura. Esto produce réplicas de gran fidelidad ya que se ha demostrado que el PDMS es capaz de replicar hasta 1nm [IV.3]. A pesar de que esta técnica ofrece alta resolución, la fabricación del molde con los

patrones y la resolución deseados sigue siendo costosa y de difícil acceso. Una alternativa a las técnicas fotolitográficas para la obtención del molde es utilizar láseres para fabricarlo directamente.

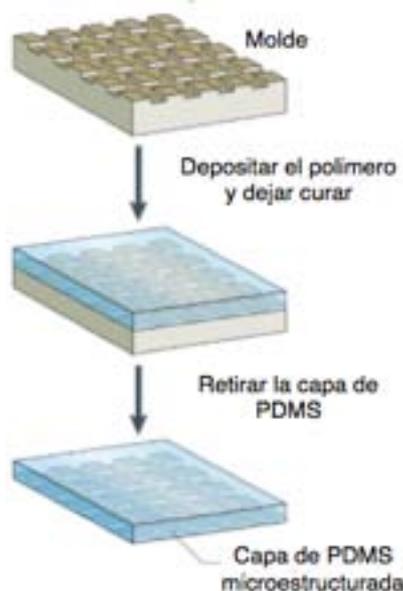


Fig. 4.1 Esquema de la técnica Molde/Réplica [IV.4]

Sin embargo, normalmente se emplean láseres de alta energía y pulsos ultra cortos para obtener estructuras directamente en el material. Incluso el PDMS líquido puede ser polimerizado localmente utilizando un láser con pulsos de femtosegundos (fs): debido al aumento de temperatura en una región determinada el material se polimeriza selectivamente y localmente. Dependiendo de las aplicaciones deseadas, los láseres de alta potencia pueden ser utilizados también para generar transformaciones físicas o químicas en la superficie del polímero de manera localizada y crear así microarreglos de elementos fotónicos como guías de onda por cambios locales de índice de refracción [IV.5] así como canales altamente hidrofóbicos utilizados en microfluídica utilizados en dispositivos poliméricos o heterogéneos [IV.6]. Láseres ultravioleta de alta energía también son empleados para modificar la superficie del PDMS y promover la adhesión de capas metálicas que se depositan después por evaporación en canales grabados para la futura fabricación de nervios sintéticos que podrían ser utilizados en aplicaciones médicas [IV.7].

En general, y como ya hemos mencionado anteriormente, el uso de láseres en estos procesos es costoso y limita el uso de estas técnicas para la fabricación rápida. Adaptar el método de fabricación que estamos desarrollando en este proyecto ofrece una alternativa de bajo costo y fácil de usar para obtener estructuras micrométricas con diseños deseados.

4.3 Trabajo Experimental

4.3.1 Preparación de Muestras

El PDMS es un material que presenta baja absorción de la luz visible e infrarroja cercana, esto impide el uso de dichas longitudes de onda para grabar directamente el material sin energías altas o pulsos ultracortos. Sin embargo, se observó que agregando nanopartículas de carbón que absorben las dos longitudes de onda con las que cuenta el equipo se puede generar localmente incandescencia inducida por luz láser, esto se obtiene cuando el láser está bien enfocado en la superficie deseada. Nuevamente el método para preparar las muestras es una adaptación del método presentado en la

sección 2.2, en este caso contamos con PDMS como sustrato y soporte para la capa homogénea de nanopolvo de carbón. La preparación de una película homogénea de PDMS (Sylgard 184 de Dow Corning) sigue el procedimiento descrito en el anexo A.

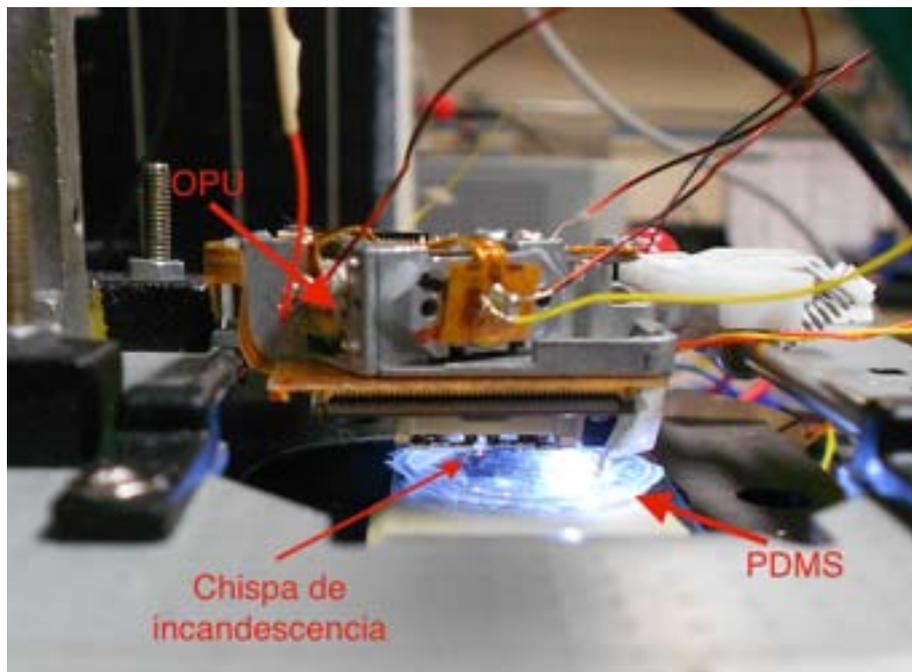


Fig. 4.2 Muestra de PDMS montada en el equipo de microfabricación, se observa la chispa de incandescencia.

4.3.2 Caracterización de la Incandescencia Inducida por Luz Láser para Grabar el PDMS

4.3.2.1 Características del Espectro de Emisión

El láser en la OPU produce el efecto fototérmico de manera localizada sobre el material de carbón. Esto permite la incandescencia inducida por luz, que es evidente al observar una luz visible brillante. Se observó en este caso que el material de carbón no sólo es retirado de la superficie por ablación láser, como es el caso de la fabricación de mascarillas ópticas descrito en la sección 3.2, sino que el PDMS sufre una combustión que permite la formación de microcanales en la superficie del polímero. Según la literatura, la temperatura mínima requerida para que exista combustión del PDMS es de alrededor de 1000K a 2000K [IV.8] por lo que se sabe que cuando el láser está debidamente enfocado en la superficie del material, la absorción óptica de las partículas permite que se alcancen rápidamente estas temperaturas.

Una condición que se observó para obtener incandescencia es que los agregados estén constreñidos, sin grado de libertad de movimiento en la superficie del PDMS. Se observó que cuando los agregados están libres, el calor generado por la absorción de la luz láser es suficiente para instantáneamente expulsarlos fuera del punto focal; este efecto se ha reportado en la literatura [IV.9] No obstante, la superficie de capas de PDMS curado y limpio permiten que el material adicional se adhiera ligera pero suficientemente a la superficie y es entonces adecuado para crear el microplasma y entonces grabar el PDMS localmente.

En la figura 4.3 se puede ver que el espectro de la emisión visible registrado durante la incandescencia muestra un perfil de campana centrado en la región del visible y no un perfil de radiación de cuerpo negro como ha sido reportado en otros trabajos [IV.10]. También se muestra el

espectro de emisión de partículas de carbón y nanotubos de carbón multipared, muy similar al de nanopolvo. Es observado un corrimiento al rojo de la longitud de onda central cuando las partículas se incorporan dentro de las capas de PDMS, unos micrómetros debajo de la superficie curada. Podría quizás explicarse por la pérdida de calor debido a la incrustación de los nanomateriales en el PDMS.

También se observó que si se espera a que desaparezca la radiación luminosa continua, algunos picos estrechos aparecen ocasionalmente en ciertas longitudes de onda. Este fenómeno es parecido al que es causado por la generación de microplasmas, como se observa en la Espectroscopía de Plasma Inducido por Láser (LIBS por sus siglas en inglés). En este caso, la emisión en PDMS puede estar relacionada con la ionización de la materia, y estos picos ocasionales pueden dar información acerca de la naturaleza del PDMS base. El análisis espectral parece confirmar esta hipótesis, ya que la localización de los picos demuestra la presencia de los tres elementos principales que conforman al PDMS: carbón (en la forma $2s^2 2p^3$ en 581nm y 656.9 nm), silicio ($3s^3 p^2 3s^2 4p$ en 390.6 nm) y oxígeno ($2s^2 2p^3 (2D^0) 3s$ en 382.3 nm) [IV.11].

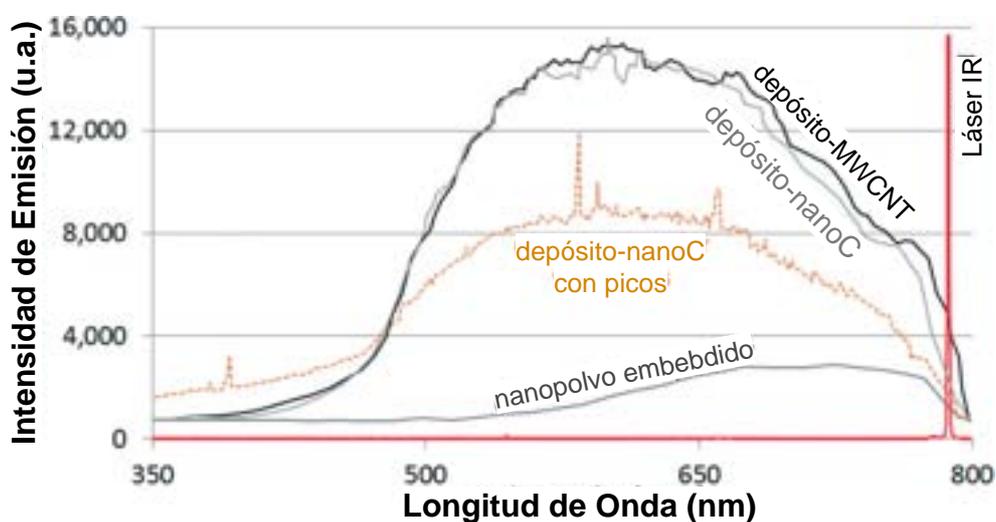


Fig. 4.3 Espectro de la incandescencia inducida por luz láser en el PDMS para diferentes materiales y tipos de muestras excitadas con un láser de 785nm a 65mWcm^{-2} (pulso de 5 ms) [IV.12]

A pesar del interés que causó esta observación, el estudio del comportamiento de este tipo de fenómeno no se seguirá en este trabajo sino en otros trabajos del grupo.

4.3.2.2 Caracterización de la Intensidad de Emisión

Se ha observado que la incandescencia en PDMS no es un fenómeno de corta duración y puede durar minutos si el láser está en modo CW. Es importante caracterizar la intensidad de incandescencia debido a que la duración e intensidad de la emisión son parámetros que juegan un papel importante en la resolución del grabado y en las propiedades finales de la superficie de las muestras. Primero se midió el tiempo de emisión tanto para el láser pulsado como para el láser continuo. La duración de emisiones cortas causadas por el láser pulsado fue monitoreada con una fibra óptica localizada en la superficie del PDMS y un tubo fotomultiplicador con un filtro infrarrojo para visualizar solamente la incandescencia. En este caso se midió el tiempo de decaimiento de la emisión, éste fue de algunos cientos de microsegundos, similar a aquellos reportados previamente bajo condiciones experimentales similares [IV.7]. La emisión también fue caracterizada utilizando el láser encendido continuamente, para este caso la intensidad depende

directamente de la densidad de potencia del láser tal como se muestra en la Fig. 4.4a). En la figura la intensidad de emisión se puede ajustar por una función asintótica con una densidad de potencia característica de 29 mWcm^{-2} .

Observamos también que es posible mantener la emisión por largo tiempo, mantuvimos la excitación por hasta 30 minutos y la emisión se mantuvo. En este caso se midió el tiempo de decaimiento de la intensidad de emisión. Como se muestra en la figura 4.4b), los datos experimentales se ajustan a un decaimiento exponencial con un tiempo de decaimiento característico de 90s. Estos tiempos son más cortos que aquellos obtenidos para experimentos que involucran la combustión de PDMS reportados en la literatura [IV.13]. Sin embargo, están dentro del orden de magnitud esperado lo que confirma que estamos en una combustión local. Efectivamente, el PDMS es un material anti-incendios porque los sub-productos de la combustión contrarrestan el proceso en poco tiempo.

Más información del espectro e intensidad de emisión del PDMS se muestra en la figura 4.4c). El espectro de emisión es rápidamente desplazado hacia longitudes de onda mayores. Este desplazamiento en longitud de onda también presenta un comportamiento asintótico exponencial que ajusta los datos experimentales, con un tiempo de desplazamiento característico de 110s, similar al del tiempo de decaimiento de la intensidad. Eso parece reflejar un decaimiento de la temperatura local, aunque no fue posible medirlo para confirmarlo.

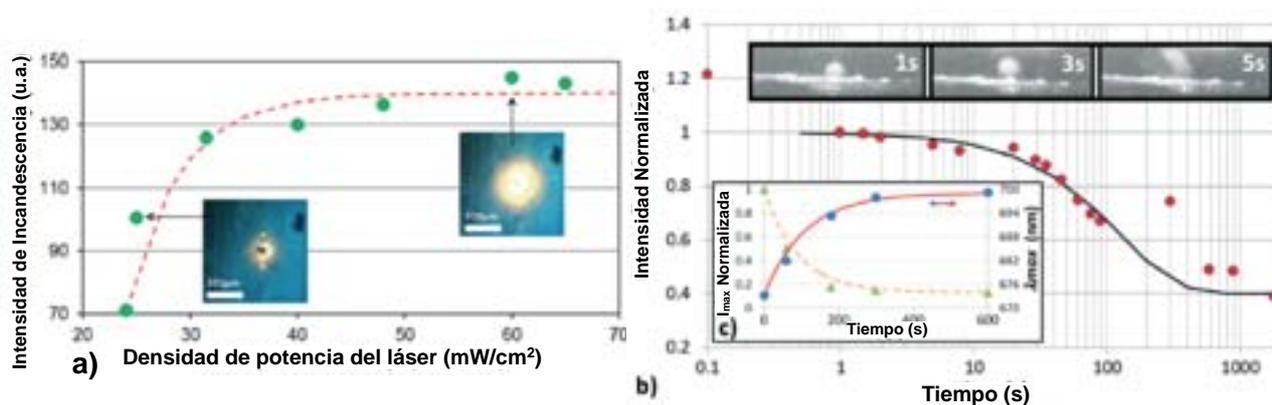


Fig. 4.4 a) Intensidad de incandescencia en función de la densidad de potencia del láser de grabado. b) Tiempo de decaimiento de la intensidad de emisión. c) Comportamiento de la longitud de onda en la emisión y en la relajación. En todos los casos los puntos son valores experimentales y las líneas corresponden a ajustes. [IV.12]

4.3.3 Caracterización de las Propiedades Físico-Químicas del Grabado en PDMS

Utilizando el láser de bajo costo de la OPU fue posible obtener modificaciones tales como la formación local de nanodominios derivados del polímero como productos de la combustión así como modificaciones en la hidrofobicidad, fluorescencia de los grabados. Cabe recordar que es un efecto nunca reportado con láser de baja potencia como el nuestro.

4.3.3.1 Micrograbado directo sobre el PDMS

Con el método antes descrito se obtienen grabados en PDMS de manera controlada como el que se muestra en la figura 4.5. En esta imagen la muestra aún no ha sido limpiada del carbón que se utilizó para grabar y que sigue recubriendo la superficie del PDMS. Hemos mencionado antes que

la baja conductividad térmica permite obtener mejor resolución en el grabado, en particular utilizamos el PDMS debido a que presenta un coeficiente de conductividad térmica ($0.27\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ [IV.14]) que comparado con el del vidrio ($0.6-1\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ [IV.15]) es bajo. Sin embargo, a pesar de la baja conductividad térmica, el rayo láser altamente enfocado en la superficie hace que una pequeña región periférica alrededor del punto focal sea deformada durante el proceso, especialmente con el láser continuo.

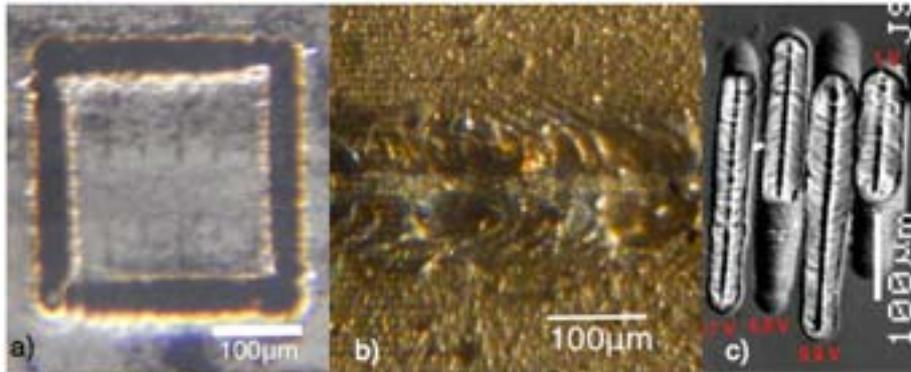


Fig. 4.5 a) Muestra de PDMS grabada a alta potencia observada con microscopio óptico b) Grabado característico en el que se muestra la región central correspondiente al punto focal c) Fotografías de SEM de grabados que muestran el material residual.

En la figura 4.6 se puede observar el perfil del grabado en PDMS medido con un perfilómetro (DEKTAK IIA). Se obtuvieron los perfiles de distintos grabados realizados a distintas potencias, en todos los casos fue posible ajustar una curva gaussiana como la que se muestra en la figura 4.6. Esto comprueba que en efecto el grabado preserva el perfil gaussiano del láser de fabricación, alcanzando la mayor profundidad en el punto de mayor intensidad del láser.

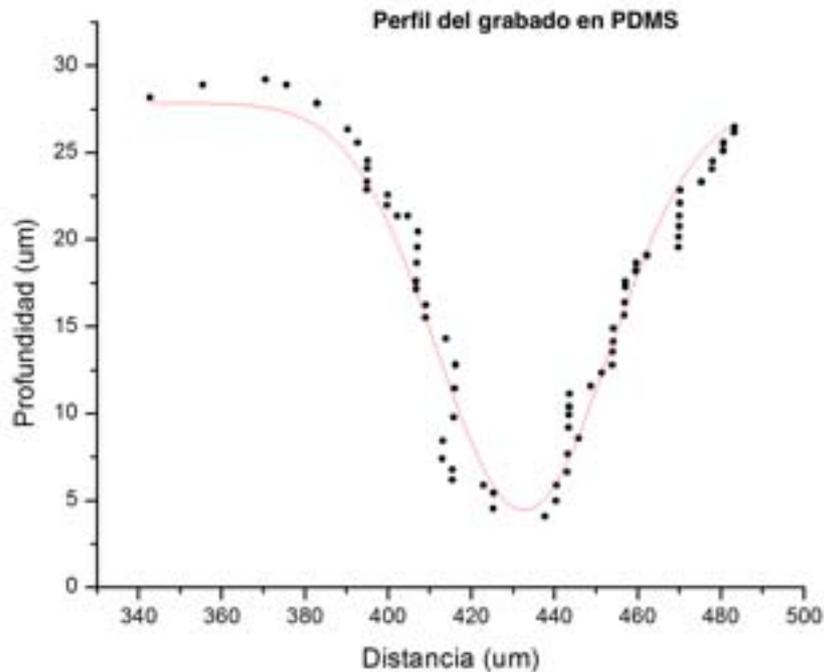


Fig. 4.6 Se presenta el perfil del grabado láser en PDMS, los puntos son valores experimentales y las líneas corresponde al ajustes gaussiano ($R^2=0.9297$). El ancho del canal es de $20.81 \pm 0.99\mu\text{m}$

En la figura 4.7 se observa que al aumentar la potencia del láser también se aumenta el ancho del canal. Los canales grabados se obtuvieron con el láser continuo. Bajo estas condiciones se observa que el tamaño mínimo de grabado que se puede obtener es de alrededor de $10\mu\text{m}$. En la gráfica los puntos corresponden con valores promedio de ancho del canal, por cada potencia se grabaron dos canales. Las barras corresponden entonces con la desviación estándar de la medición.

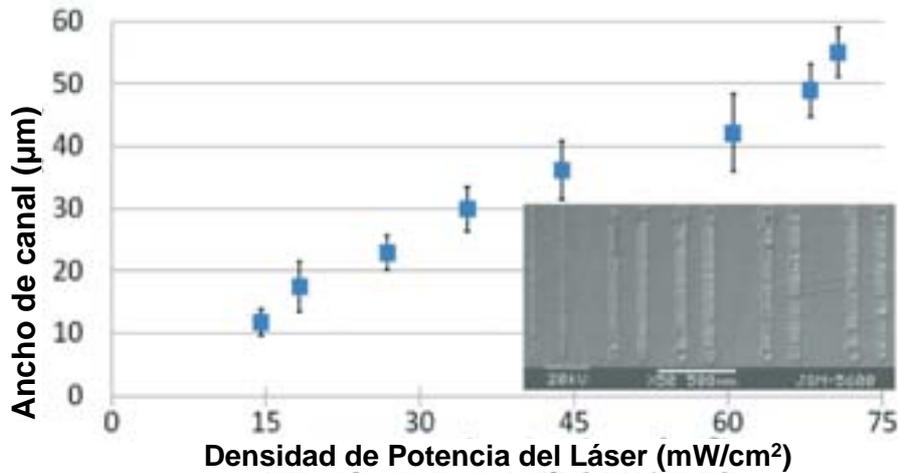


Fig. 4.7 Dimensiones de los canales en función de la densidad de potencia del láser [IV.12]

4.3.3.2 Material Residual

En la figura 4.5c se presenta una fotografía de SEM en el que se muestra material residual dentro de los canales grabados a máxima densidad de potencia, es claro observar diferentes texturas, en particular, en la región central donde el láser es más intenso. Estos residuos se remueven fácilmente de los canales simplemente al limpiar la superficie con agua o alcohol. Si no fueron removidos, la incandescencia puede ser inducida nuevamente al enfocar el láser en los residuos dentro de los ya existentes canales, incluso meses después del grabado inicial. En la figura 4.8 se observa una fotografía SEM de los grabados típicos obtenidos mediante la incandescencia del PDMS. Se pueden identificar claramente las diferentes texturas del canal y el material residual, en la parte derecha se encuentra el canal después de retirar el material residual, en la izquierda se observa el material residual dentro del canal además de que es fácil distinguir la parte central del grabado que corresponde al punto focal en el que el láser es más intenso.

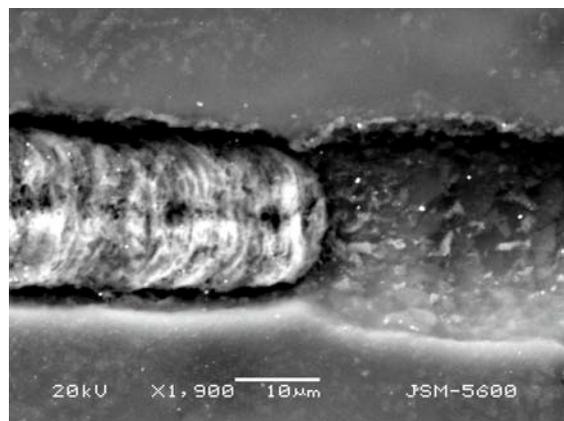


Fig. 4.8 Fotografía SEM de un canal grabado a $65\text{mW}/\text{cm}^2$.

Los productos residuales fueron analizados con un microscopio electrónico de barrido (SEM, Joel JSM5600 LV) acoplado a un espectrofotómetro de energía dispersiva (EDS) trabajando a 20 keV.

En la siguiente tabla se observa que la concentración de O, Si y C depende de la región en la que se encuentre y de la potencia con la que se realice el grabado.

Elemento	Peso del elemento (%) en PDMS virgen	Peso del elemento (%) en el material residual del PDMS grabado			
		Región central 65 mWcm ⁻²	Región periférica 65 mWcm ⁻²	Región periférica 45 mWcm ⁻²	Región periférica 30 mWcm ⁻²
O	38.68	29.28	52.07	49.07	46.26
Si	30.56	47.54	47.93	50.93	53.74
C	30.77	23.18	Trazas	Trazas	Trazas

Tabla 4.1 Composición medida con SEM-EDS de PDMS virgen y del material residual encontrado dentro de los canales de PDMS grabado.

Se emplearon también espectroscopía FTIR con Reflexión Total Atenuada (ATR-FTIR, *Perkin Elmer FTIR Spectrum 100*), en el espectro ATR-FTIR (ver figura 4.9) para ambos, PDMS virgen y grabado, se observa un desplazamiento en la posición del máximo de absorbancia en el espectro (792 cm⁻¹ y 1015cm⁻¹), sin embargo, ambos son muy similares como para demostrar modificaciones químicas causadas por grabarlos con el láser. Una banda de absorbancia asociada a un pequeño grupo OH también es registrada entre 3200cm⁻¹ y 3400cm⁻¹ en los canales grabados de PDMS.

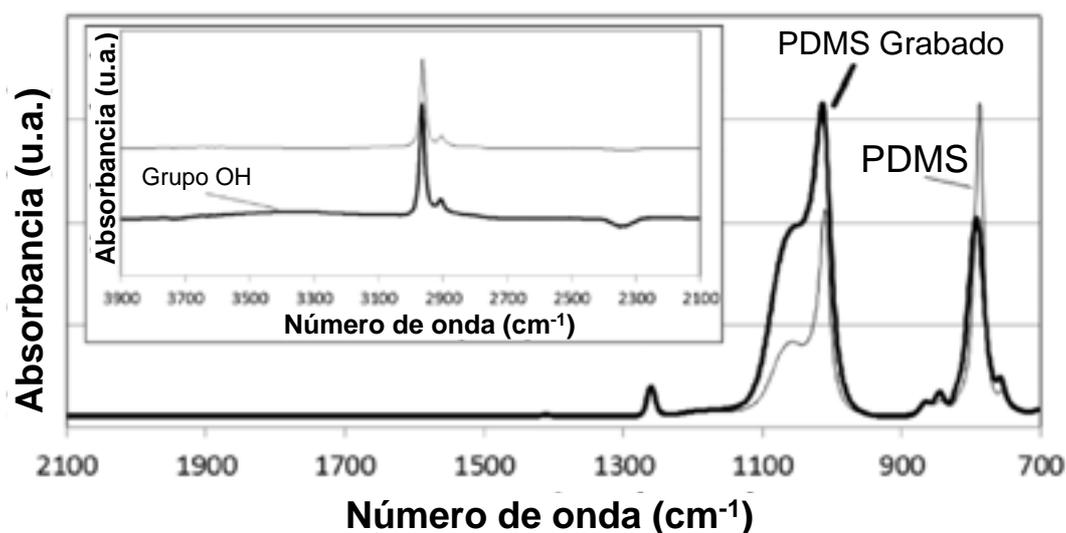


Fig. 4.9 Espectro ATR-FTIR de PDMS limpio y grabado [IV.12].

Como se mencionó, los residuos se lavan bien de la muestra. Sin embargo, a pesar de limpiar cuidadosamente, se sigue observando residuos de la superficie, como residuos atrapados por el proceso de enfriamiento-repolimerización del PDMS. Para estudiar más a fondo estos residuos, se empleó la caracterización por espectroscopia Raman (*Thermo Scientific DXR Raman microscope*) que permite estudiar materiales debajo de la superficie. Las bandas G (1580 cm⁻¹) y D (1345 cm⁻¹), características de nanodominios de carbón, se presentan claramente dentro de los canales grabados, ver figura 4.10. El proceso de incandescencia inducida por láser genera entonces formación térmica localizada de nanocristales de carbón sin la necesidad de irradiar con alta potencia [IV.16]. Incluso después de lavar los canales los nanodominios permanecen visibles. Probablemente están embebidos bajo la superficie. Esto último sugiere que la naturaleza de los residuos a micro o nano-escala obtenidos como subproducto de la ablación juegan el papel de nuevos fotoabsorbentes capaces de iniciar la incandescencia nuevamente.

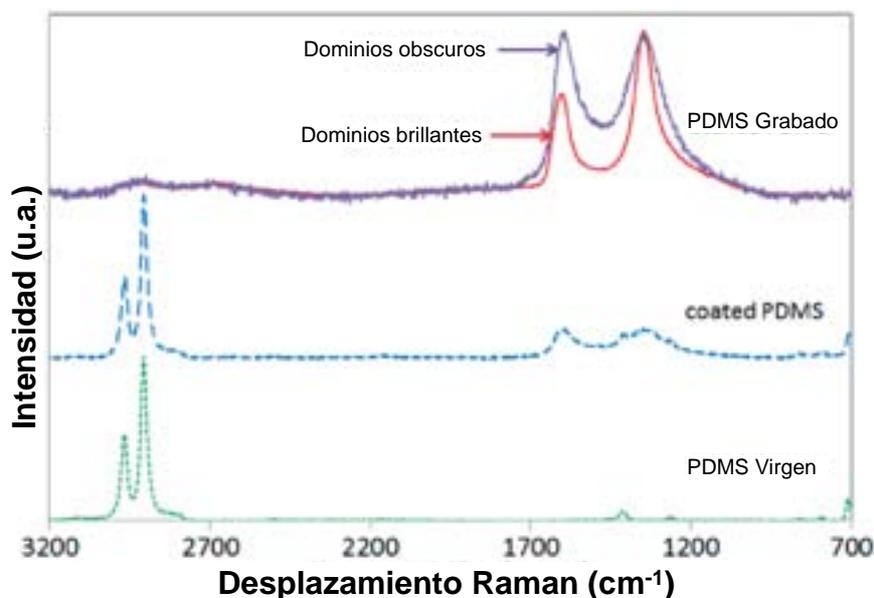


Fig. 4.10 Espectros Raman de PDMS virgen, depositado y grabado [IV.12].

4.3.3.3 Aumento de la Hidrofobicidad

Los micro-grabados con residuos nano-estructurados obtenidos sugieren que la incandescencia inducida por láser de baja potencia puede permitir la generación de modificaciones de la superficie localizadas para aumentar la hidrofobicidad en áreas seleccionadas del PDMS [IV.17]. Este fenómeno es especialmente interesante para sus aplicaciones potenciales en microfluídica o en biomedicina con la generación de un material con superficie súperhidrofóbica. Los ángulos de contacto (AC) para el agua se midieron para un área de 3mm x 3mm de PDMS (una muestra virgen y un grabado) con un Goniómetro de Bolsillo (modelo PG-3). En la tabla siguiente se muestran los ángulos obtenidos para cinco gotas de agua distintas.

Cuadro de 3mm x 3mm grabado con 147.0mA	
Gota	AC (°)
1	127.3
2	126.4
3	134.3
4	130.1
5	128.9

Tabla 4.2 Valores de AC para distintas gotas obtenidas con el Goniómetro. El valor promedio es de $129.4 \pm 3.1^\circ$

Esto implica que el AC para el PDMS grabado es de $129.4 \pm 3.1^\circ$ mientras que para la superficie virgen presenta un AC típico de $106.1^\circ \pm 2.3^\circ$. Estos resultados demuestran que la técnica presentada puede ser utilizada para inducir un aumento en la hidrofobicidad de manera localizada y así ofrecer una solución más sencilla comparada con las que involucran químicos o láseres de mayores potencias. También se observó que esta modificación en la superficie no depende de la intensidad del láser, esto indica que las modificaciones en la rugosidad son responsables del aumento en la hidrofobicidad, a diferencia de una transformación química involucrada en el proceso.

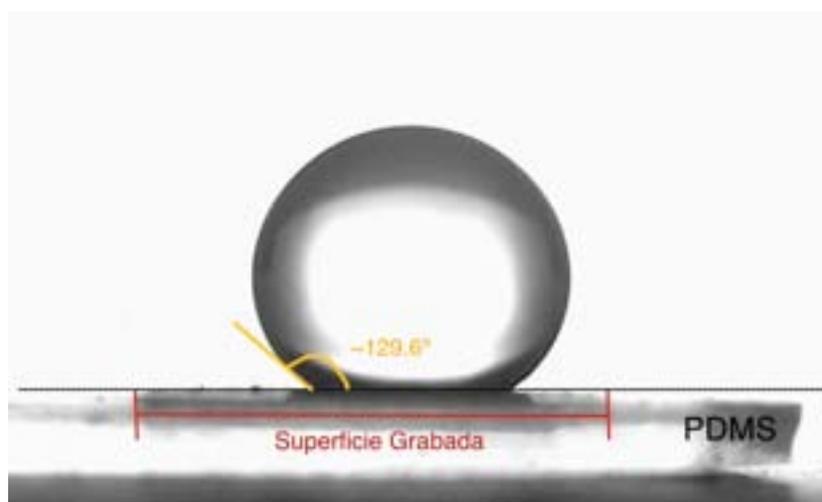


Fig. 4.11 Fotografía obtenida con el Goniómetro (modelo PG-3) para medir el ángulo de contacto entre una gota de agua y la superficie grabada de PDMS.

4.3.3.4 Presencia de Fluorescencia y Guiado de Luz

Un fenómeno que resultó de gran interés fue que todos los patrones grabados presentan fluorescencia localizada en el rango visible cuando se iluminan con luz violeta o ultravioleta. Esta consecuencia de la ablación del PDMS es ya conocida para láseres de alta potencia [IV.13, IV.18], sin embargo fue posible obtenerla utilizando el láser infrarrojo de baja potencia. La fluorescencia fue caracterizada con un microscopio invertido de fluorescencia (*Nikon Diaphot*) equipado con una cámara CCD *SensSys* y un filtro de visualización verde. Interesantemente, la intensidad promedio es dependiente de la densidad de potencia del láser utilizada para grabar, esta dependencia puede ser observada en la figura 4.12. Se observa que esta dependencia tiene un comportamiento asintótico exponencial cuya densidad de potencia característica es de 33.5 mWcm^{-2} , este valor resulta comparable con la densidad de potencia característica de 31 mWcm^{-2} ajustado para la intensidad de emisión por incandescencia visto de la figura 4.4a. También es importante remarcar que la fluorescencia es más intensa en áreas libres de residuos oscuros visibles a simple vista. Esto confirma el resultado de la caracterización Raman indicando que nanocristales de carbón están embebidos en la superficie grabada. El hecho de que la intensidad de fluorescencia sea dependiente de la densidad de potencia parece ser entonces una consecuencia de una mayor cantidad de nanodominios debidos a una mayor combustión (o calor).

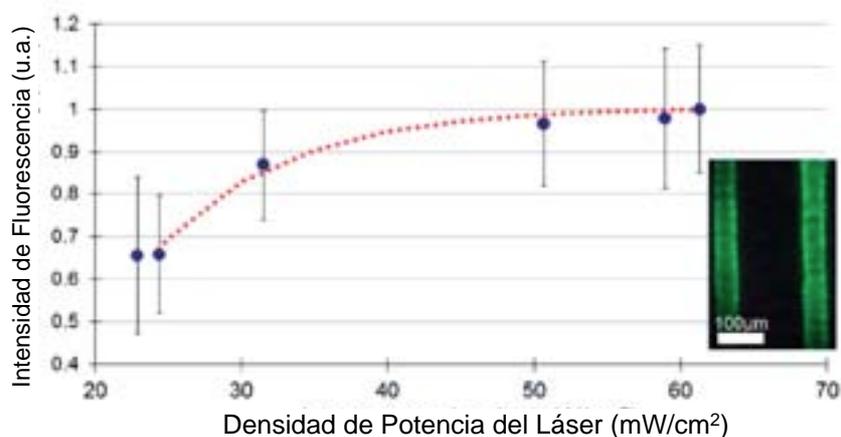


Fig. 4.12 Intensidad de fluorescencia en función de la densidad de potencia del láser de grabado [IV.12].

Otra observación de gran interés sobre todo por sus posibles aplicaciones en microfotónica es un guiado parcial de la luz en los grabados. En la figura 4.13a se observan canales grabados en una muestra de PDMS con 3mm de espesor a la más alta potencia, los cuales resultan funcionar como guías de onda. Sin embargo, cuando se observa dentro de los canales la superficie irregular y rugosa parece producir más esparcimiento que guiado de la luz aunque sigue observándose algún guiado, ver figura 4.13b,c y d. Cuando algunos residuos quedan en el canal, el esparcimiento de la luz parece ser aún más prominente.

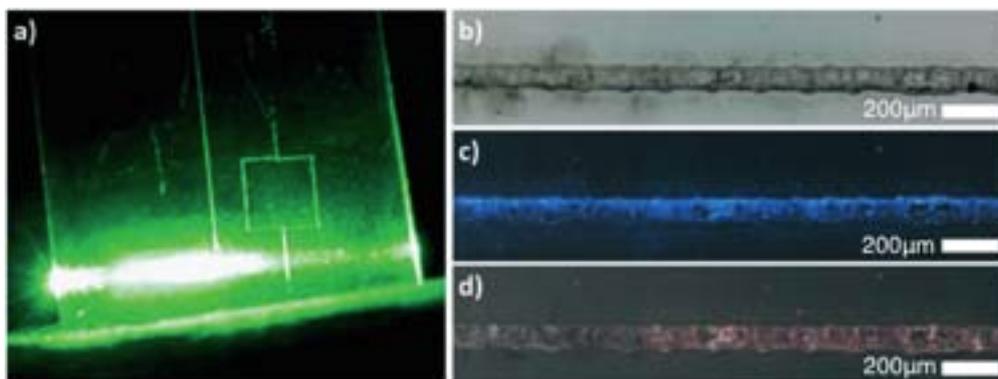


Fig. 4.13 a) Guiado de onda y esparcimiento de canales grabados en PDMS utilizando un láser verde He-Ne. b) Canal de referencia observado con luz blanca vistos con microscopio. Detalles de canales grabados utilizando luz c) azul y d) roja [IV.12].

4.4 Conclusiones del Capítulo

En este capítulo se presentó una técnica que permite grabar el PDMS que es un material inicialmente transparente a la longitud de onda del infrarrojo disponible con el equipo de microfabricación. Se demostró que los agregados microscópicos de materiales de carbón pueden ser utilizados como material fotoabsorbente que promueve el efecto fototérmico en la superficie del PDMS. Dicho efecto permite obtener incandescencia inducida por luz láser que es visible a simple vista mediante la obtención de una luz blanca brillante. En el punto focal se alcanzan temperaturas de hasta 1000K y 1500K que resultan suficientes para lograr la incandescencia y combustión del PDMS de forma localizada, y que permite obtener microestructuras de forma directa y rápida. Bajo las condiciones óptimas de grabado es posible obtener grabados de 10 μ m.

Se observó que el espectro de emisión visible registrado durante la incandescencia muestra un perfil de campana centrado en la región del visible comparable con el comportamiento de radiación de cuerpo negro. También se observó que durante las mediciones algunos picos estrechos aparecían ocasionalmente en ciertas longitudes de onda. Este fenómeno es parecido al que es causado por la generación de microplasmas, como se observa en la Espectroscopía de Plasma Inducido por Láser (LIBS) que puede dar información sobre la naturaleza del material base.

La plataforma presentada en este trabajo ofrece un buen control de todos los parámetros requeridos para fabricar dichas microestructuras. Se observó que el tamaño de los canales obtenidos aumenta asintóticamente al aumentar la densidad de potencia utilizada para grabar el material. Por otro lado se observó que todos los grabados presentan un material residual producto de la combustión del PDMS, dichos residuos tienen una textura determinada en función de la intensidad del láser. Un grabado característico presenta un perfil gaussiano que coincide con el perfil gaussiano del láser de

fabricación, además presenta una región central que corresponde a la región en la que el láser está más enfocado y por lo tanto es más energético, además se observa una región periférica. La composición del material residual depende de la región en la que se encuentre así como de la densidad de potencia con la cual se realizaron los grabados. Los residuos de la combustión se pueden retirar fácilmente con sólo un poco de agua. El proceso de ablación deja residuos de la combustión en forma de nanodominios de carbón con propiedades interesantes; en particular, fluorescencia localizada y aumento en la hidrofobicidad, fácilmente observados dentro de los canales grabados. Por lo tanto, esta técnica permite además modificar de forma localizada las propiedades fisicoquímicas del PDMS, de forma similar a lo obtenido con láseres de alta potencia.

La microfabricación láser de PDMS que estamos desarrollando en este proyecto abre la puerta al desarrollo de nuevas aplicaciones en fotónica, microfluídica, bioingeniería y dispositivos complejos del tipo lab-on-a-chip con combinaciones de estos campos. En particular exploraremos las aplicaciones a la biología desarrollando sustratos microestructurados para cultivo celular.

4.5 Referencias del Capítulo

- [IV.1] Wikipedia (2015) Polidimetilsiloxano. <http://es.wikipedia.org/wiki/Polidimetilsiloxano>.
- [IV.2] D. Qin, Y. Xia, G. M. Whitesides, “Soft lithography for micro and nanoscale patterning”, *Nature Protocols* DOI:10.1038/nprot.2009.234 (2010)
- [IV.3] F. Hua, Y. Sun, A. Gaur, M. A. Meitl, L. Bilhaut, L. Rotkina, J. Wang, P. Geil, M. Shim, J. A. Rogers, “Polymer Imprint Lithography with Molecular-Scale Resolution”, *Nano Letters* 4, 12, 2467-2471, 2004
- [IV.4] ELVEFLOW: Plug and Play Microfluidics (2015). <http://www.elflow.com/soft-lithography-reviews-and-tutorials/microfluidic-device-fabrication/introduction-about-soft-lithography-and-polymer-molding-for-microfluidic>
- [IV.5] D.A.Chang-Yen, R.K.Eich, B.K.Gale, A monolithic PDMS Waveguide system fabricated using soft-lithography techniques, *Journal of Lightwave Technology*, 23, 2005
- [IV.6] J.Cooper McDonald, D.C.Duffy, J.R.Anderson, D.T.Chiu, H.Wu, O.J.A.Schueller, G.M.Whitesides, Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane), *Electrophoresis* 2000, 21, 27-40
- [IV.7] C. Dupas-Bruzek, O. Robbe, A. Addad, S. Turrell and D. Derozier, Transformation of medical grade silicone rubber under Nd:YAG and excimer laser irradiation: First step towards a new miniaturized nerve electrode fabrication process, *Appl. Surf. Sci.*, 2009, 255, 8715–8721.
- [IV.8] G. Camino, S. M. Lomakin and M. Laguard, Thermal polydimethylsiloxane degradation. Part 2. The degradation mechanisms, *Polymer*, 2002, 43(6), 2011–2015.
- [IV.9] W. Huang, W. Qian and M. A. El-Sayed, Gold Nanoparticles Propulsion from Surface Fueled by Absorption of Femtosecond Laser Pulse at Their Surface Plasmon Resonance, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 128, 13330–13331.
- [IV.10] Z. H. Lim, A. Lee, Y. Zhu, K.-Y. Lim and C. H. Sow, Light-into-heat conversion in $\text{La}_2\text{O}_3:\text{Er}^{3+}-\text{Yb}^{3+}$ phosphor: an incandescent emission *Appl. Phys. Lett.*, 2009, 94, 073106.
- [IV.11] National Institute of Standards and Technology (2015), <http://www.nist.gov/pml/data/asd.cfm>.

- [IV.12] M. Hautefeuille, L. Cabriales, R. Pimentel-Domínguez, V. Velázquez, J. Hernández-Cordero, L. Oropeza-Ramos, M. Rivera, M. P. Carreon-Castro, M. Grether, and E. López-Moreno, “New perspectives in direct PDMS microfabrication using a CD–DVD laser,” *Lab Chip* 13, 4848–4854 (2013).
- [IV.13] G. Camino, S. M. Lomakin and M. Laguard, Thermal polydimethylsiloxane degradation. Part 2. The degradation mechanisms, *Polymer*, 2002, 43(6), 2011–2015.
- [IV.14] Dow Corning. Silgard 184 Silicon Elastomer Kit (2015) <http://www.dowcorning.com/applications/search/products/Details.aspx?prod=01064291>
- [IV.15] Wikipedia (20014) Coeficiente de conductividad térmica. https://es.wikipedia.org/wiki/Coeficiente_de_conductividad_térmica
- [IV.16] Low-cost formation of bulk and localized polymer-derived carbon nanodomains from polydimethylsiloxane, *Beilstein J. Nanotechnol.* 2015, 6, 744–748.
- [IV.17] A. Saha, R. Raj and D. L. Williamson, A Model for the Nanodomains in Polymer-Derived SiCO, *J. Am. Chem. Soc.*, 2006, 89(7), 2188–2195.
- [IV.18] K. L. N. Deepak, S. Venugopal Rao and D. Narayana Rao, Femtosecond-laser direct writing in polymers and potential applications in microfluidics and memory devices, *Opt. Eng.*, 2012, 51(7), 073402.

Capítulo 5

5. Fabricación de Sustratos Microestructurados para Cultivo Celular

La biocompatibilidad del PDMS ha ampliado su rango de aplicación hacia el área de la investigación en Biomedicina, se ha utilizado para la fabricación de membranas porosas, andamios, biosensores e incluso en sistemas más complejos del tipo *lab-on-a-chip* para estudios biológicos o médicos [V.1]. Por otro lado, la posibilidad de microestructurar el PDMS así como la posibilidad de modificar localmente sus propiedades físico-químicas ha motivado su utilización como sustrato para cultivo celular en el presente proyecto. En este capítulo se presenta efectivamente la fabricación de estructuras sobre PDMS, ya sea por grabado directo o por réplica, que después fueron probadas en cultivo utilizando hepatocitos de rata. Se presenta una serie de fotografías que muestra el efecto que tiene dicha estructuración en el comportamiento celular.

5.1 Cultivo Celular como Herramienta para el Desarrollo de la Ingeniería de Tejidos

La ingeniería de tejidos es un área de la Bioingeniería que busca imitar, regenerar o reemplazar sistemas biológicos y tejidos a partir de la combinación del uso de células cultivadas, métodos de ingeniería de materiales, bioquímica y fisicoquímica. Para poder restaurar, preservar o mejorar las funciones de diversos tejidos se ha requerido entender ampliamente su funcionamiento por lo que el cultivo celular de células especializadas es una de las herramientas principales. Una forma de favorecer *in vitro* la función celular es a través del biomimetismo que requiere emular la estructura de los soportes naturales de las células [V.2]. En los últimos años se ha demostrado que la geometría, las dimensiones y las propiedades físico-químicas del sustrato así como varios otros mecanismos externos juegan un papel determinante en la naturaleza y el desempeño de las células que se quieren cultivar o estudiar [V.3].

Es por esto que avances en microtecnología, así como en el estudio y control de las propiedades físico-químicas de los materiales que se pueden utilizar, están optimizando las plataformas de cultivo celular para responder preguntas biológicas específicas [V.4]. Dependiendo el tipo celular que se desea estudiar se fabrican dispositivos de cultivo a la medida según las necesidades específicas de cada tipo celular y cada problema biológico que se aspira estudiar. En la actualidad,

es posible encontrar comercialmente pozos de cultivo que cuentan con nanoestructura en forma de fibras que promueve la adhesión celular sin necesidad de contar con una proteína adicional como la colágena para que las células se adhieran al sustrato [V.6], esto es porque esta estructura imita la estructura de la matriz extracelular. Sin embargo, como ya hemos mencionado anteriormente, muchos de los procesos de fabricación para obtener estos dispositivos de cultivo resultan complejos y costosos, por lo que utilizar el método de fabricación láser que presentamos en este proyecto resulta ser una alternativa de bajo costo y sencilla que permite realizar microestructuras tridimensionales y a la medida en la superficie de PDMS. Esta microestructuración se puede realizar grabando directamente con el láser la superficie deseada o bien se puede grabar otros materiales para generar un molde y posteriormente obtener la réplica en PDMS.

5.2 Trabajo Experimental

5.2.1 Fabricación

Adaptando el método de fabricación presentado en el capítulo 2, es posible grabar acrílico para obtener un molde rígido que puede ser empleado para la obtención de réplicas de PDMS en repetidas ocasiones. La fabricación de la muestra consiste en adaptar el método de la sección 2.2, en el que el sustrato es acrílico cubierto con una capa homogénea de nanopartículas de carbón. Enseguida se utiliza el equipo de microfabricación láser para transferir el patrón previamente diseñado. Con este método de fabricación se tiene gran versatilidad en el tipo de estructuras que se pueden obtener. En la figura 5.2 se encuentra una serie de fotografías en las que se observan diferentes estructuras.



Fig. 5.1 Estructuras en réplica de PDMS

Por otro lado, se pueden obtener estructuras por grabado directo para lo que se necesita utilizar una muestra cuyo sustrato es PDMS recubierto de nanopartículas de carbón, ver figura 2.2. Se obtienen estructuras como las que se muestran en la figura 5.1.

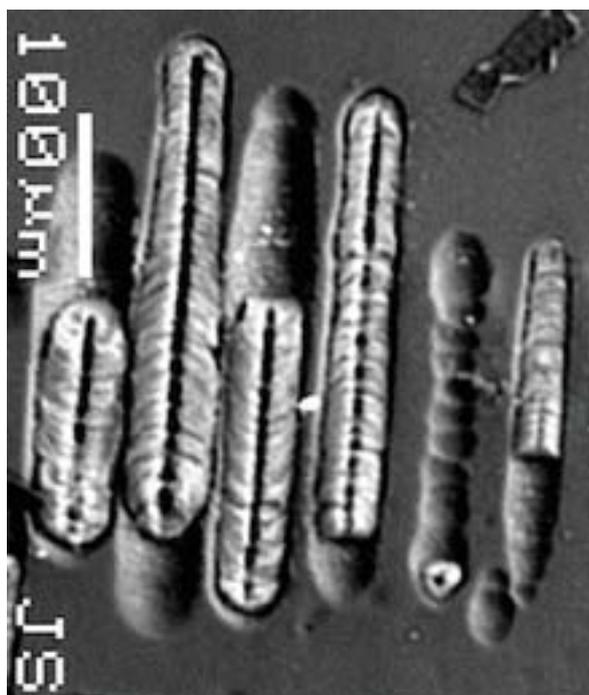


Fig. 5.2 Grabado directo sobre PDMS. Se muestran regiones con y sin material residual del grabado.

5.2.2 Cultivo Celular

Una vez obtenidas las microestructuras en la superficie de PDMS se procedió a realizar el cultivo celular sobre dichos sustratos. Se trabajó con la línea celular inmortalizada C9 que son hepatocitos de rata con fenotipo normal. Estas células se sembraron sobre muestras de PDMS microestructurado por grabado directo y por la técnica de molde /réplica. Las muestras se colocaron en el fondo de dos cajas de cultivo convencionales como la que se muestra en la figura 5.2, además se agregó un tercer recipiente de cultivo sin PDMS como control del experimento.



Fig. 5.3 Caja de cultivo de plástico

Un paso previo para limpiar al PDMS es fundamental para evitar contaminar el cultivo. Se determinó que el protocolo de limpieza es el siguiente: Se limpian las muestras con alcohol al 70%, en seguida se colocan en los pozos de cultivo que deben estar dentro de una campana de extracción de flujo laminar, se limpian nuevamente pero ahora con alcohol estéril, con ayuda de un buffer fosfato salino (PBS por sus siglas en inglés) se retira el exceso de alcohol, finalmente se dejan expuestos a luz UV durante 30 minutos.



Fig. 5.4 Diseño del experimento, muestra que se utilizaron tres cajas de cultivo, dos con PDMS microestructurado y una de control.

Se trabajó con el Medio de Cultivo Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM por sus siglas en inglés) que es un medio con baja glucosa y enriquecido con vitaminas, aminoácidos, sales y nutrientes [V.5], al cual se le agrega el 10% de suero fetal bovino y el 1% de penicilina/estreptomicina.

Una vez listo el medio de cultivo y estériles las muestras se procede al resembrado de las células que se encontraban inicialmente estériles en una caja Petri. Para poder manipularlas primero se debe retirar el medio de cultivo y agregar 1ml de tripsina que ayuda a retirar el resto de medio de cultivo y el suero, se vuelve a succionar todo. Nuevamente se agregan 2 ml de tripsina y se deja en la incubadora por 2 minutos, la tripsina es una enzima que sirve para despegar las células del fondo de la caja. Una vez transcurrido este tiempo se agregan 2 ml de medio de cultivo para inhibir la tripsina. Enseguida se sembró 1 ml de células por cada caja de cultivo, dos con PDMS microestructurado y un control como se muestra en la figura 5.3, se agregaron además 4 ml de medio de cultivo a cada una. Finalmente se coloca el experimento dentro de la incubadora a 37°C y suministro de CO₂ al 5% .

5.2.3 Resultados

Las fotografías que se presentan a continuación fueron tomadas 24 horas después de realizar el cultivo con un microscopio óptico invertido (Leica DMIL) al cual se le adaptó una cámara fotográfica (Moticam 2300). Una primer observación importante es que efectivamente los hepatocitos pueden crecer en cultivo sobre PDMS, se sabe que éstos no rechazaron al polímero debido a que se mantuvieron con vida hasta el momento de monitoreo. Tanto en la figura 5.5 como en la figura 5.6 se observa el crecimiento selectivo de los hepatocitos dentro de los canales grabados. Esto puede deberse a la diferencia de rugosidad dentro de los canales, debida a la presencia de nanodominios de carbón embebidos.

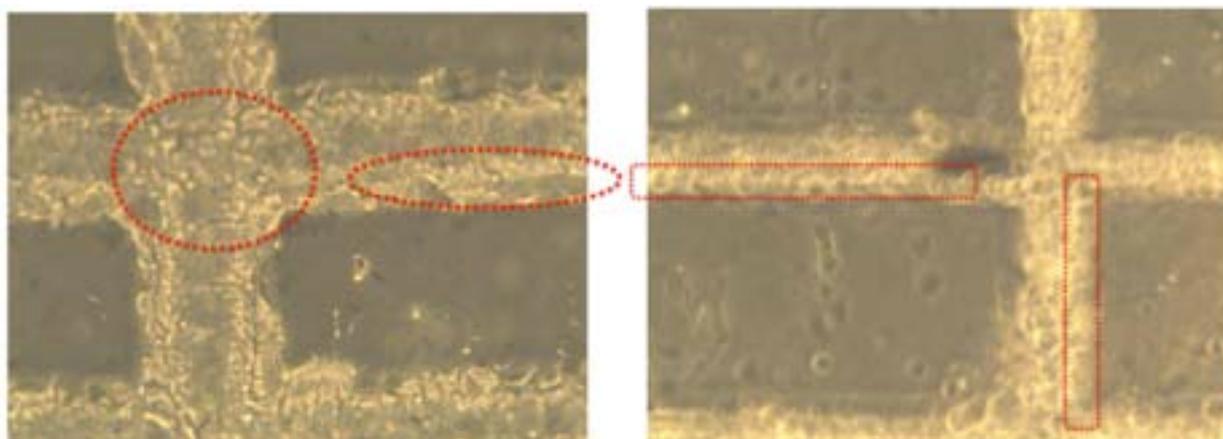


Fig. 5.5 Línea celular C9 cultivada sobre PDMS microestructurado por grabado directo.

Particularmente en la figura 5.6 se muestra una diferente organización de las células dentro de los canales grabados respecto a la organización fuera de los mismos. Además, las células dentro de los canales parecen ser más redondas que las que están fuera, esto podría deberse a que dentro del canal las células están más constreñidas que lo que están fuera.

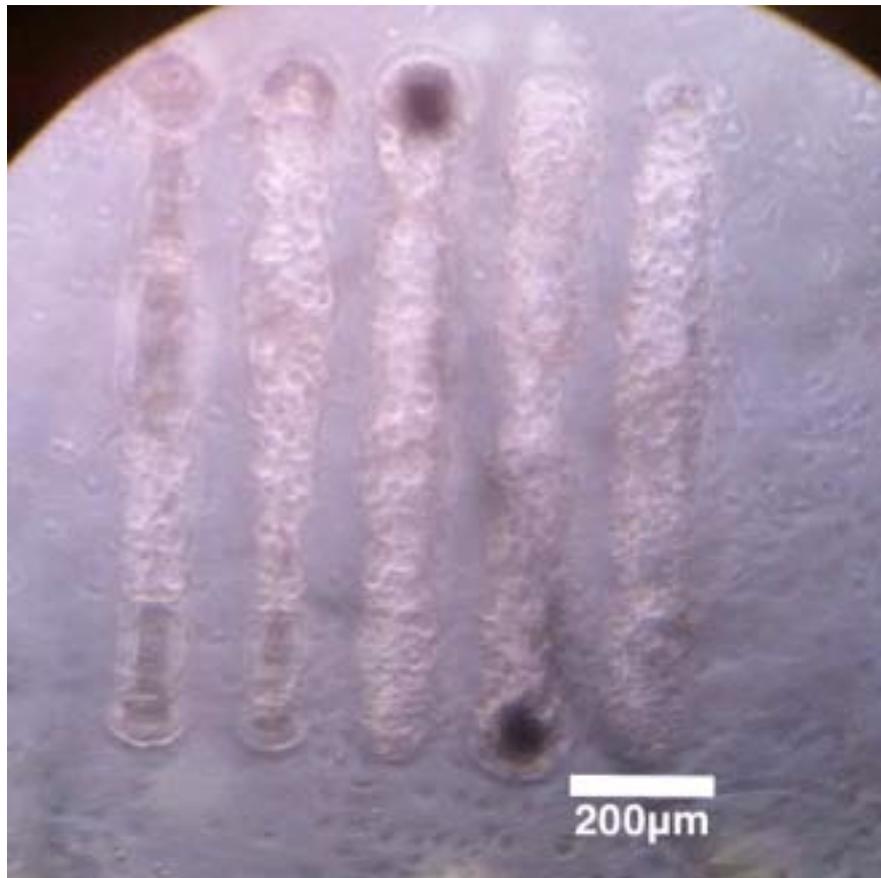


Fig. 5.6 Línea celular C9 cultivada sobre PDMS microestructurado por grabado directo.

En la figura 5.7 se presenta el cultivo celular de la línea celular C9 pero ahora sobre una réplica de PDMS. En la región señalada se observa igualmente una diferente organización y forma de los hepatocitos en la superficie de la estructura respecto a los que se encuentran fuera de la estructura.

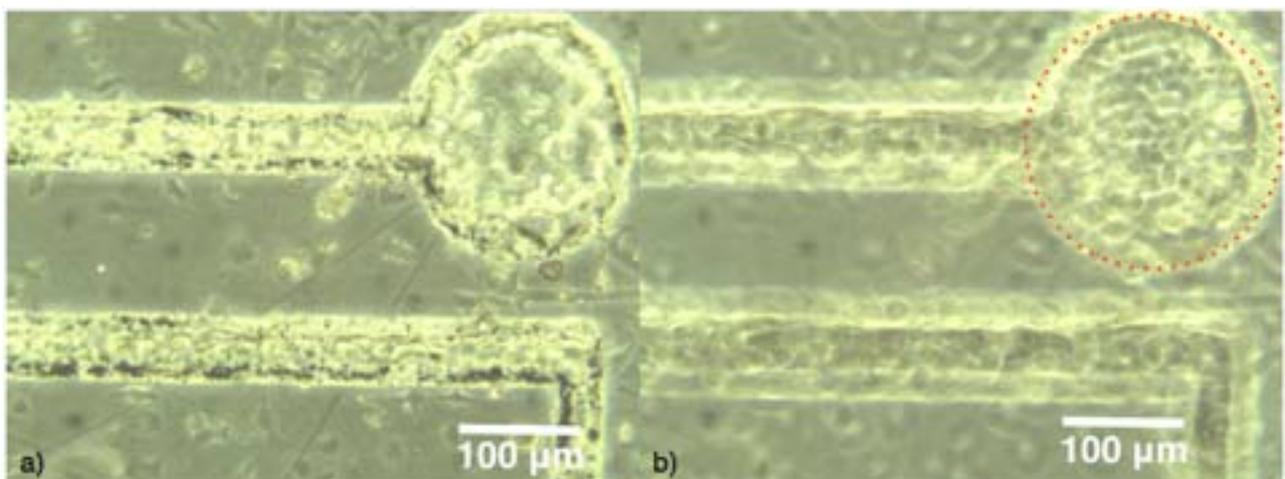


Fig. 5.7 Línea celular C9 cultivada sobre una réplica de PDMS. a) Fotografía tomada enfocando la base de las estructuras b) Fotografía tomada enfocando en la superficie de las estructuras, en la región señalada se observa un arreglo de células.

En la figura 5.8 es posible observar hepatocitos que se encuentran rodeados por paredes. Parece que la ramificación de la célula señalada se debe a que la célula es capaz de identificar las paredes que la rodean y modificar su crecimiento en función de esto. Es importante destacar que este comportamiento no es observado en el cultivo convencional dentro de cajas Petri sin PDMS.

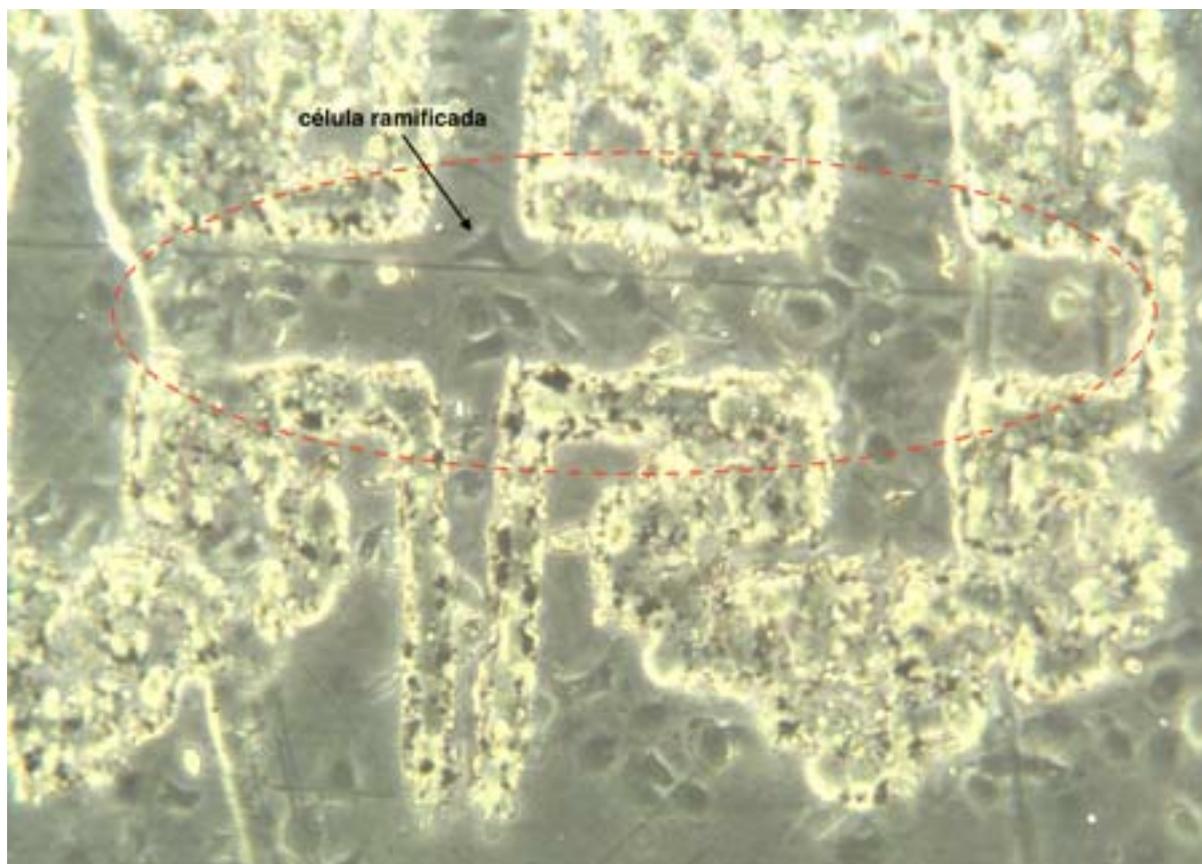


Fig. 5.8 Fotografías de cultivo de línea celular C9, hepatocitos de rata. Dentro de la sección señalada se observan células que parecen sentir las paredes de la estructura como es el caso de la célula ramificada.

En los dos casos de las estructuras que se muestran en la figura 5.9 fue posible observar que las células se adhieren a delgadas líneas, ver regiones destacadas. Esto comprueba que en efecto, las células son capaces de identificar tanto la geometría como el tamaño de las estructuras con las que se encuentran en contacto.



Fig. 5.9 Fotografías de cultivo de línea celular C9, hepatocitos de rata. Dentro de las secciones señaladas se observan células creciendo guiadas por una línea diagonal.

Una forma de obtener más información acerca de los hepatocitos en cultivo es utilizar la técnica de fluorescencia para marcar distintos biomarcadores, para este trabajo se selecciono visualizar la actina y los núcleos. La actina es una proteína que se encuentra en el citoesqueleto de las células y es fundamental para realizar algunas funciones importantes como la movilidad y la contracción de las células durante la división celular. Además es la encargada de establecer la mayoría de las interacciones con otras proteínas lo que lleva a la realización de diversas funciones celulares. Los filamentos de actina proveen a la célula de un andamiaje que permite darle una estructura (con posibilidad a ser modificada en respuesta a su entorno). Se trabajó con faloidina que es una proteína que se adhiere a los filamentos de actina, ésta proteína tiene a su vez un fluorocromo que emite en rojo (594nm) por lo tanto en un microscopio de fluorescencia se observan los filamentos de actina en color rojo. Por otro lado, se utilizó el DAPI que es un marcador fluorescente que se adhiere fuertemente a las regiones enriquecidas en Adenina y Timina en secuencias de DNA, esto sucede dentro del núcleo de las células por lo que es posible teñir los mismo de color azul y observarlos en el microscopio de fluorescencia. En la figura 5.10 es posible observar la orientación y alineación de los hepatocitos según la estructura. En la fotografía de campo claro (a la izquierda) es posible observar que aún siendo una réplica se encuentran en color negro algunos residuos provenientes del método de fabricación, es importante caracterizar con mayor precisión el efecto que tiene este material residual en el comportamiento de las células, sin embargo ese trabajo se dejará fuera del presente proyecto y se plantea como trabajo a futuro.

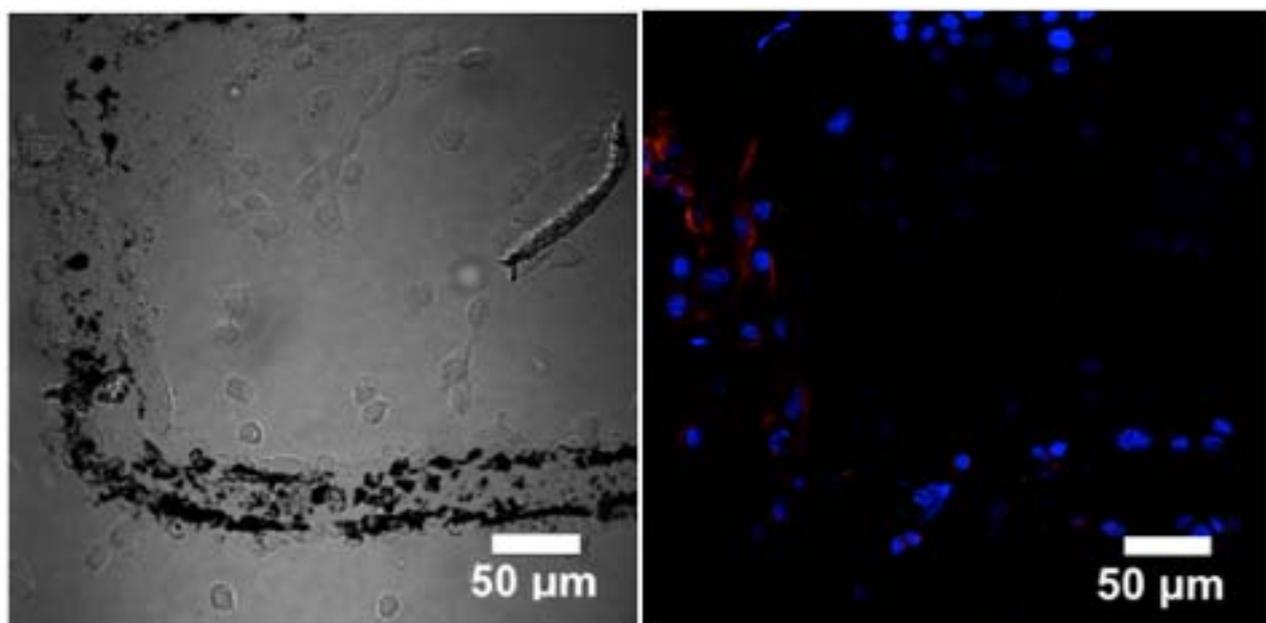


Fig. 5.10 Línea celular C9 cultivada sobre una réplica de PDMS. Es posible observar que las células se alinean según la estructura.

5.3 Conclusiones del Capítulo

En este capítulo se presentó la microestructuración del PDMS por grabado directo y por molde/réplica para utilizarlo como sustrato para cultivo celular. Utilizando el método de fabricación presentado en el presente trabajo fue posible obtener una gran variedad de estructuras hechas a la medida ofreciendo una tecnología de bajo costo y de fácil acceso para obtener sustratos microestructurados. Además de controlar la geometría de la topografía del sustrato es posible modificar localmente la rugosidad de las estructuras así como el aumento en la hidrofobicidad.

Se realizaron cultivos de la línea celular C9 de hepatocitos de rata con fenotipo normal. El cultivo fue estudiado por microscopía óptica y microscopía de fluorescencia. Se observó que es posible sembrar y crecer células sobre el PDMS. Se identificó que es posible el crecimiento selectivo de las células dentro de los canales grabados y sobre las estructuras de la réplica, la organización y morfología de las células en estos casos es distinta a las observadas fuera de las estructuras, parece que el que se encuentre más constreñidas las hace mantener una morfología más compacta como círculos. Se observó también que las células son capaces de identificar el tipo de paredes que tiene a su alrededor y esto fomenta que las mismas generen ramificaciones. Utilizando la técnica de fluorescencia fue posible observar que las células en efecto crecen y se alinean según la estructura, se cree que esto puede deberse a la presencia de material residual del método de fabricación, una caracterización más profunda es necesaria pero queda fuera de este proyecto.

Mencionamos que parámetros como la geometría, las dimensiones y las propiedades físico-químicas del sustrato así como varios otros mecanismos externos juegan un papel determinante en la naturaleza y el desempeño de las células que se quieren cultivar o estudiar. Por lo que es requerido que se evalúe el efecto que tiene cada uno de estos parámetros en el comportamiento celular, como trabajo a futuro se propone realizar la experimentación necesaria que permita determinar este efecto.

5.4 Referencias del Capítulo

- [V.1] A. Mata, E. J. Kim, C. A. Boehm, A. J. Fleisschman, G. F. Muschler and S. Roy, A three-dimensional scaffold with precise micro-architecture and surface micro-textures, *Biomaterials*, 2009, 30, 4610-4617
- [V.2] W.-B. Tsai, J.-H. Lin, Modulation of morphology and functions of human hepatoblastoma cells by nano-grooved substrata, *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 1442–1454
- [V.3] Y. Nakao, H. Kimura, Y. Sakai, T. Fujii, "Bile canaliculi formation by aligning rat primary hepatocytes in a microfluidic device", *Biomicrofluidics*, 5, 022212 (2011).
- [V.4] G.H. Underhill, P. Galie, C.S. Chen, S.N. Bhatia, "Bioengineering Methods for Analysis of Cells In Vitro", *The Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28:24.1-24.26 (2012).
- [V.5] Gibco by Life Technologies (2015) <https://www.lifetechnologies.com/order/catalog/product/31600034>
- [V.6] Sigma-Aldrich (2015) Corning plasticware cell culture product line <http://www.sigmaaldrich.com/labware/corning-products/corning-plasticware.html>

Conclusiones

En los últimos años, el desarrollo de diversas técnicas de microfabricación ha propiciado un gran avance en la tecnología así como en la investigación científica. Se han llegado a desarrollar equipos y métodos de fabricación de alta precisión para la obtención de micro y nanoestructuras en diferentes materiales. La utilización de estas técnicas ha permitido obtener microestructuras para aplicaciones en microelectrónica, fotónica integrada, microfluídica así como la combinación de estos últimos por la integración de sistemas del tipo lab-on-a-chip. En particular, trabajar con luz láser para la microfabricación permite un control preciso que ha traído grandes ventajas como la rápida manufacturación sin bajar la calidad o resolución, evitar el contacto mecánico así como la precisión del corte en el material. Sin embargo muchos de estos procesos complejos son costosos y limitan su utilización en laboratorios de investigación o docencia. Como alternativa se presentó un método de fabricación de bajo costo y fácil realización que consiste en utilizar un equipo de microfabricación láser que aprovecha las propiedades de la unida óptica de un reproductor de CD/DVD para la fabricación directa y automatizada de estructuras sobre sustratos transparentes cubiertos por una capa homogénea de nanopolvo de carbón. Al enfocar el láser infrarrojo de baja potencia disponible en el equipo sobre la superficie cubierta de carbón se obtiene incandescencia inducida por luz láser que resulta en la fotoablación de la superficie.

Cuando la capa homogénea de carbón está depositada sobre un sustrato limpio de vidrio, la ablación láser permite obtener ventanas transparentes en la muestra que inicialmente bloqueaba completamente la luz visible. Esto fue aprovechado para la fabricación de mascarillas ópticas personalizadas. Se lograron fabricar alrededor de 50 diseños en una sola muestra demostrando así que esta técnica permite ahorrar material y tiempo y sirve como solución sencilla para la realización de experimentos de difracción en óptica. Para validar este método se fabricaron mascarillas simples como múltiples rendijas que permitieron difractar un láser rojo de He-Ne como se esperaba. Diseños más complejos, tales como el tenedor y el tenedor invertido, fueron probados. Estas mascarillas permitieron otorgar momento angular orbital a la luz, formando así haces estructurados. Los patrones experimentales obtenidos con dichas mascarillas muestran diferencias respecto a los patrones esperados, se encontró que esta diferencia se debe en gran medida al material residual que permanece en las regiones grabadas. A partir de este resultado ha surgido un proyecto de investigación alterno sobre la caracterización del material residual en los grabados.

Se demostró que los agregados microscópicos de carbón pueden ser utilizados para promover la incandescencia inducida por luz láser en la superficie de sustratos como el PDMS. Debido a las temperaturas extremas durante la emisión es posible crear surcos en este material. En el punto focal

se alcanzan temperaturas de hasta 1000K y 1500K que resultan suficientes para lograr la incandescencia y combustión del PDMS de forma localizada, y que permite obtener microestructuras de forma directa y rápida. Se observó que el tamaño de los canales obtenidos aumenta asintóticamente al aumentar la densidad de potencia utilizada para grabar el material. Por otro lado se observó que todos los grabados presentan un material residual producto de la combustión del PDMS, dichos residuos tienen una textura determinada en función de la intensidad del láser. Un grabado característico presenta un perfil gaussiano que coincide con el perfil gaussiano del láser de fabricación, además presenta una región central que corresponde a la región en la que el láser está más enfocado y por lo tanto es más energético, además se observa una región periférica. La composición del material residual depende de la región en la que se encuentre, así como de la densidad de potencia con la cual se realizaron los grabados. Los residuos de la combustión se pueden retirar fácilmente con sólo un poco de agua. El proceso de ablación deja residuos de la combustión en forma de nanodominios de carbón con propiedades interesantes; en particular, fluorescencia localizada y aumento en la hidrofobicidad, fácilmente observados dentro de los canales grabados. Por lo tanto, esta técnica permite además modificar de forma localizada las propiedades fisicoquímicas del PDMS, de forma similar a lo obtenido con láseres de alta potencia.

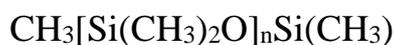
Muchos de los resultados aquí presentados requieren de una mayor caracterización. En el grupo de trabajo han surgido proyectos con la finalidad de entender y aprovechar los fenómenos observados. Actualmente se está trabajando en optimizar los grabados en PDMS utilizando el láser pulsado y aprovechando el programa CNC para transferir diseños predeterminados, esto permite tener una gran versatilidad en las estructuras que se pueden obtener. Una aplicación de este proyecto es utilizar los canales en PDMS para microfluídica. También se ha planteado la obtención de microelectrodos en PDMS, estos se obtiene rellinando los canales con un material conductor, actualmente se trabaja en la caracterización de los mismos. Como parte de otro proyecto, se está trabajando para controlar los nanodominios de carbón obtenidos *in situ* como producto de la combustión; se ha observado que esto puede controlarse al grabar con diferentes potencias y además se ha observado que se pueden utilizar otros materiales de carbón como fulerenos como aditivos al PDMS para propiciar la incandescencia inducida con láser y así controlar también los nanodominios que se pueden obtener. Esto puede conducir a un mejor control de las propiedades fisico-químicas como la fluorescencia y el aumento de la hidrofobicidad.

La microfabricación láser de PDMS que estamos desarrollando en este proyecto abre la puerta al desarrollo de nuevas aplicaciones en fotónica, fluídica, bioingeniería y dispositivos complejos del tipo lab-on-a-chip con combinaciones de estos campos. En particular exploramos las aplicaciones a la biología desarrollando sustratos microestructurados para cultivo celular. Efectivamente, se realizaron cultivos de hepatocitos de rata sobre estas estructuras en PDMS en los que se observó que es posible el crecimiento selectivo de células dentro de los canales grabados y sobre las estructuras de la réplica, la organización y morfología de las células en estos casos es distinta a las observadas fuera de las estructuras, parece que el que se encuentre más constreñidas las hace mantener una morfología más compacta como círculos. Se observó también que las células son capaces de identificar el tipo de paredes que tiene a su alrededor y esto fomenta que las mismas generen ramificaciones. Utilizando la técnica de fluorescencia fue posible observar que las células en efecto crecen y se alinean según la estructura, se cree que esto puede deberse a la presencia de material residual del método de fabricación. Siguiendo esta línea de investigación es preciso evaluar el efecto que tiene la geometría, las dimensiones y las propiedades fisico-químicas de las estructuras sobre el comportamiento celular en cultivo.

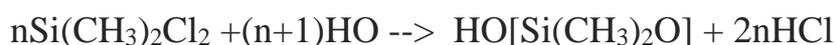
Anexo A

Especificaciones del PDMS

Como hemos mencionado anteriormente, el PDMS es un polímero viscoelástico transparente, flexible, generalmente inerte, y no inflamable. Sus aplicaciones varían desde los lentes de contacto hasta como aditivo en alimentos, lubricantes y materiales resistentes al calor. En los alimentos y bebidas ayuda a dar consistencia, puede usarse como antiespumante en algunos cosméticos y sirve como material antincendios. Es un material barato y fácil de usar que comúnmente sirve para obtener sistemas tridimensionales a microescala para diversas aplicaciones [A.1]. Es un polímero orgánico que se obtiene a través de procesos químicos a partir del dióxido de silicio y que pertenece al grupo de las siliconas. Su fórmula química es



donde n es el número de unidades monoméricas $[\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{O}]$. La síntesis industrial se realiza a partir de la hidrólisis del $\text{Si}(\text{CH}_3)_2\text{Cl}_2$ a través de la siguiente reacción



El PDMS con bajo índice de polidispersión y gran homogeneidad se obtiene a partir de la polimerización de apertura anular aniónica, esto quiere decir que el monómero es una molécula cíclica con grupo funcional OH, ver figura A.1, en este caso los aniones (ciclosiloxano) son los iniciadores de la apertura anular para formar cadenas lineales [A.2].

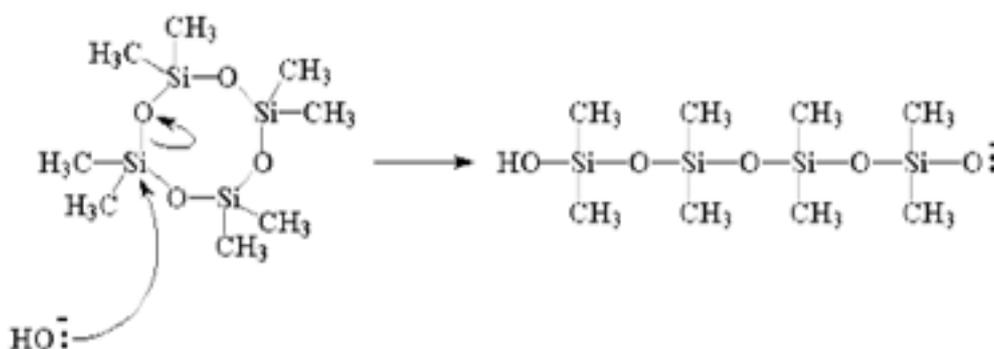


Fig. A.1 Polimerización por apertura anular aniónica

En la molécula de PDMS, las cadenas poliméricas son flexibles debido a sus enlaces siloxano que dotan de elasticidad al polímero.

Propiedad	Característica	Consecuencia
Químicas	Peso molecular de unidad repetitiva 207.4 (g/mol), con un peso molecular numeral promedio de 27000, una densidad de 0.982g/mL y una viscosidad de 500 cSt.	Tamaño máximo de poro es de $80 \mu\text{m}^2$, con una rugosidad de 550.87 nm, y líneas de dispersión Raman a 816.1, 830.1 y 882.4 nm. El espesor de la membrana es de 0.330 μm .
Óptica	Transparente; UV longitud de onda de corte, 240 nm. Índice de refracción 1.4235. Absorción del 0.04% y transmisión arriba del 95% en la región visible.	Detección óptica de 240 a 1100 nm. Transparente en la región visible. Siendo homogéneo, lineal e isotrópico.
Eléctrica	Aislante; voltaje de colapso o falla de 2×10^7 V/m.	Permite incrustación de circuitos; no presenta fallas al abrir conexiones.
Mecánica	Módulo de Young 1.2 MPa, Coeficiente de Poisson 0.46, Módulo cortante 411 KPa, Límite de tracción 1.9 MPa, Límite elástico 700 KPa, Densidad 0.982 g/mL.	Adopta la forma de la superficie; Facilidad de moldeado, y es reversible cuando se actúa sobre él al deformarlo.
Térmica	Aislante; conductividad térmica, 0.2 W/(m·K); Coeficiente de expansión térmica, 310 $\mu\text{m}/(\text{m} \cdot ^\circ\text{C})$.	Puede ser usado como aislante térmico; no permite disipación de calor resistivo de separación electroforética.
Interfacial	Baja energía libre superficial ~ 20 erg/cm ² , 100% de elongación.	Replicas son fácilmente removidas del molde; sellado reversible en materiales que contienen soluciones acuosas en canales.
Permeabilidad	Impermeable al agua; permeable a gases y solventes orgánicos no polares.	Permite transportar gas a través de grandes cantidades de material; incompatible con muchos solventes orgánicos.
Reactividad	Inerte; puede ser oxidado por exposición a un plasma; $\text{Bu}_4\text{N}^+\text{F}^-$ ((TBA)F).	No reactivo con muchas sustancias químicas; la superficie puede ser grabada; puede ser modificado para ser hidrofílico y también reactivo con silicón e hidrógeno; grabado con (TBA)F puede alterar la topografía de la superficie.
Toxicidad	No toxico.	Puede ser implantado en vivo; soporta células mamíferas en crecimiento.

Fig. A.2 Propiedades físicas y químicas de membranas de PDMS [A.3]

El PDMS Sylgard 184 con el que se trabajo en este proyecto se adquiere en kit de Dow Corning, este kit incluye el prepolímero con el agente curante y es preparado con un método estándar que se describirá a continuación. Es importante recalcar que es indispensable trabajar con guantes y bata por seguridad.

La mezcla del prepolímero con el agente curante se debe realizar en proporción en peso 10:1 respectivamente. Se procede a medir las cantidades a utilizar en una balanza de precisión, las cantidades requeridas dependen de las muestras poliméricas que se desean obtener. En particular, para este proyecto se trabajó con 1gr de prepolímero con 0.1gr de agente curante, con estas cantidades se pueden obtener alrededor de 4 laminillas de PDMS con espesor de 1mm.

Una vez en contacto el prepolímero con el agente curante se debe mezclar homogéneamente para garantizar un polimerización también homogénea, se recomienda utilizar un sonicador para optimizar el proceso de mezclado por alrededor de 10 minutos. Una vez transcurrido ese tiempo se coloca la mezcla en un desecador conectado a una bomba de vacío, esto es para extraer las burbujas que se formaron durante el mezclado, es importante retirar estas burbujas ya que podrían afectar el resultado en el proceso de molde/réplica o bien podrían resultar como fuentes de esparcimiento.

La mezcla sin burbujas es depositada sobre un molde, éste puede o no contar con una estructura que se desea replicar. El molde a su vez es colocado en una parrilla para curar las muestras a temperatura controlada de 80°C durante 2hrs. Para garantizar la limpieza de las muestras, los moldes deben ser cubiertos para aislarlos del ambiente y las partículas de polvo. Una vez transcurrido el tiempo se retiran las muestras del molde, ésta tendrá la estructura deseada o bien queda lista para emplear el método de grabado directo, presentado en el capítulo 4 de este trabajo.

Referencias

- [A.1] Wikipedia (2015) Polidimetilsiloxano. <http://es.wikipedia.org/wiki/Polidimetilsiloxano>
- [A.2] Comprendamos (2015) Una ruta para sintetizar macromoléculas: Polimerización por apertura de anillo. http://www.comprendamos.org/alephzero/52/una_ruta_para_sintetizar_macromoleculas_polimeriz.html
- [A.3] A. Santiago-Alvarado, S. Vázquez-Montiel, “Propiedades fisico-químicas de membranas de PDMS empleadas en lentes líquidas”, *Superficies y Vacío* 22, 61-66 (2009).