

Vilniaus universitetas
Fizikos fakultetas
Kvantinės elektronikos katedra

Simonas Varapnickas

FOTOJAUTRIŲ NANOKOMPOZITŲ POLIMERIZACIJOS, INICIJUOTOS
FEMTOSEKUNDINIAIS IMPULSIAIS, SAVYBIŲ TYRIMAS

Magistrantūros studijų baigiamasis darbas

Lazerinės technologijos
studijų programa

Studentas	Simonas Varapnickas
Darbo vadovas	dr. Mangirdas Malinauskas
Konsultantas	j. m. d. Linas Jonušauskas
Recenzentas	doc. dr. Domas Paipulas
Katedros vedėjas	prof. habil. dr. Valdas Sirutkaitis

Vilnius 2017

Turinys

Panaudotų sutrumpinimų ir žymėjimų sąvadas	1
Įvadas	2
1 Literatūros apžvalga	5
1.1 Fotopolimerizacijos mechanizmas	5
1.2 Trimatė lazerinė litografija	6
1.3 Trimačio formavimo lazeriu erdvinė skyra. Teorinis modelis ir empiriniai matavimai ..	8
1.4 Terminės akumuliacijos įtaka polimerizacijos reakcijai	11
1.5 Medžiagos, naudojamos daugiafotonės polimerizacijos taikymams	12
1.5.1 Monomerai, naudojami fotojautrių medžiagų sintezei	13
1.5.2 Iniciatoriai, naudojami mišinių fotojautrinimui	14
1.5.3 Nanodalelės	15
1.6 Optinės termometrijos principai	18
1.6.1 Jaučio serumo albuminu stabilizuoti aukso nanoklasteriai	19
1.6.2 Retųjų žemių jonais legiruotos dvipakopio perspinduliavimo nanodalelės ..	20
2 Eksperimentų metodika	22
2.1 Modifikuota tiesioginio lazerinio rašymo sistema	22
2.2 Liuminescencijos žadinimo / matavimo sistema su išorinio kaitinimo elementu ...	23
2.3 Panaudotos medžiagos	24
3 Eksperimentų rezultatai	29
3.1 Vandens įtaka hidrogelių polimerizavimui	29
3.2 Polimerizacijos ir optinio pramušimo slenksčių nustatymas Au ND legiruotuose fotopolimeruose	31
3.3 Koloidinio Au ND stabilumo įvertinimas	33
3.4 Polimero pirmtako spontaninės polimerizacijos tyrimas	34
3.5 Kalibraciniai temperatūrai jautrių nanokompozitų optinio atsako matavimai	36
3.6 <i>Ex-situ</i> JSA-Au NK fluorescencijos polimerinėse terpėse tyrimas	39
3.7 Temperatūrai jautrių nanokompozitų optinio atsako matavimai <i>in-situ</i>	40
3.7.1 Fluorescencinio JSA-Au NK atsako matavimas PEG-DA hidrogelio pirm- take	40
3.7.2 Liuminescencinio DP ND atsako matavimas SZ2080 polimero pirmtake ...	42
3.8 Rezultatų aptarimas	45
Pagrindiniai rezultatai ir išvados	46
Literatūros sąrašas	48
Summary	53
Santrauka	54
Priedai	55

Panaudotų sutrumpinimų ir žymėjimų sąvadas

- **3DLL:** trimatė lazerinė litografija
- **CW:** nuolatinės veikos (lazeris) (*angl. continuous wave*)
- **CMOS:** papildomo metalo oksido puslaidininkio (jutiklis) (*angl. complementary metal-oxide-semiconductor (device)*)
- **DP ND:** dvipakopiškai perspinduliuojančios nanodalelės (*angl. upconverting nanoparticles*)
- **fs:** femtosekundė, femtosekundinis
- I_{sl} : slenkstinis polimerizaciją inicijuojantis eksponavimo intensyvumas, trumpiau: polimerizacijos slenkstis
- $I_{o.p.}$: eksponavimo intensyvumas indukuojantis optinį medžiagos pramušimą, trumpiau: optinio pramušimo slenkstis
- **JSA:** jaučio serumo albuminas
- **NA:** Skaitinė apertūra (*angl. numerical aperture*)
- **ND, Au ND:** nanodalelės, aukso nanodalelės
- **NK, Au NK:** nanoklasteris, aukso nanoklasteris
- **NIR:** artimoji infraraudonoji spektro sritis (*angl. near infrared*)
- **PEG:** poli (etilen glikolis)
- **PEG-DA:** poli (etilen glikol) diakrilatas
- **ps:** pikosekundė, pikosekundinis
- **SEM:** skenuojantis elektroninis mikroskopas, skenuojanti elektroninė mikroskopija
- **TLR:** tiesioginis lazerinis rašymas
- **UV:** ultravioletinė spektro sritis
- **wt, wt%:** masės dalis, procentinė masės dalis

Įvadas

Pastarojo meto pasiekimai vystant 3D lazerinės litografijos metodą, paremtą fotopolimerizacija, atvėrė galimybes gaminti sudėtingų geometrinių formų 3D nano-mikro-darinius. Didelio pasikartojimo dažnio ultratrumpųjų impulsų lazerių panaudojimas leidžia pasiekti submikrometrinę erdvinę struktūravimo skyrą bei įgalina tiksliai valdyti fotopolimerizacijos inicijavimo reakciją laike [1]. Šiuo metodu pagaminami mikrodariniai vis plačiau pritaikomi mikrooptikos, mikromechanikos, biotechnologijos ar nanofotonikos mokslų šakose [2].

Biomedicinos reikmėms tinkamų mikrodarinių, pavyzdžiui biosutaikomų audinių karkasų ar vaistų transportavimo agentų, gamybai perspektyvios medžiagos yra hidrogelių pirmtakai [3]. Hidrogeliai pasižymi itin mažu citotoksiškumu, o hidratacinės savybės ir lankstumas primena natūralius biologinius audinius [4]. Efektyvus hidrogelių struktūravimas TLR būdu įmanomas tik įterpiant polimerizacijos reakciją skatinančius agentus – fotoiniciatorius. Mokslinėje literatūroje gausu duomenų apie molekulinis junginius, inicijuojančius polimerizacijos reakciją, tačiau tyrimai rodo, jog dauguma fotoiniciatorių, ypač radikalus formuojantys skilimo būdu, yra citotoksiški [5–7]. Akivaizdu, jog bioskaidūs mikrodariniai, skirti įvedimui į gyvus organizmus, neturėtų būti gaminami naudojant radikalinius fotoiniciatorius. Naujų, juos pakeičiančių, medžiagų paieška ir tyrimas yra itin aktualus šių dienų nanopolimerizacijos mokslo uždavinys.

Mokslo bendruomenėje nėra vieningai sutariama dėl polimerizacijos reakcijos inicijavimo mechanizmų, eksponuojant medžiagą skirtingos trukmės impulsais [8]. Literatūroje pasiūlyta vos keletas modelių, aprašančių polimerizacijos kinetiką, įskaitant terminių reiškinių indėlių [9, 10], ir tik vienas bandymas tiesiogiai matuoti kiekybinius temperatūros pokyčius TLR metu [8]. Skirtingų grupių publikuoti netiesioginių matavimų rezultatai yra prieštaringi net bandymus atliekant su vienodomis medžiagomis ir panašiais eksponavimo paramerais [8, 11]. Prieštaringus rezultatus galima aiškinti didele medžiagų ir polimerizacijai inicijuoti tinkamų eksponavimo parametrų įvairove [12, 13]. Eksperimentiškai parodyta galimybė TLR metodu struktūruoti polimerinius darinius nenaudojant fotoiniciatorių [13, 14]. Tai leidžia manyti, jog egzistuoja polimerizacijos inicijavimo mechanizmas, kurio metu dominuojantis netiesinis reiškinys ne daugiafotonė sugertis (klasikinis požiūris), o griūtinė jonizacija, dėl kurios tikėtinas ir didesnis medžiagos kaitimas. Sukurti vieningą teorinį modelį, gerai atitinkantį eksperimentiškai stebimus dėsningumus, kintant eksponuojančio pluošto parametrams bei struktūrinamų medžiagų cheminei sudėčiai, įmanoma tik detaliam ištyrus terminių reiškinių dinamiką reakcijų metu. Taigi, patikimų eksperimentinių metodų paieška ir pritaikymas – dar viena aktuali šių dienų tema tarp TLR metodo tyrimus vykdančių mokslinių grupių.

Šiame tiriamajame darbe pristatomi hidrogelio pirmtako, fotojautrinto aukso nanodalelėmis, formavimo TLR būdu eksperimentai. Taip pat išbandyti du skirtingi funkciniai legirantai termojautrių nanokompozitų gamybai ir pateikti jų realaus laiko optinio atsako matavimų rezultatai, eksponuojant femtosekundiniais impulsais.

Šio magistrantūros studijų baigiamojo darbo tikslas – išsiaiškinti poli (etilen glikol) diakrilato, legiruoto aukso nanodalelėmis, polimerizacijos, eksponuojant femtosekundiais impulsais dėsningumus bei ištirti lokalių temperatūros pokyčių vaizdinimo *in-situ* polimerizacijos metu galimybes, naudojant temperatūrai jautrius nanokompozitus.

Iškelti tokie darbo uždaviniai:

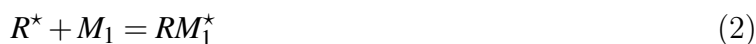
1. Susintetinti tiriamuosius fotopolimerus: (a) PEG-DA-700 monomerų mišinį, fotojautriant skirtingomis aukso nanodalelių (Au ND) koncentracijomis; (b) PEG-DA-700 monomerų mišinį, funkcionalizuojant jaučio serumo albuminu stabilizuotais aukso nanoklasteriais (JSA-Au NK); (c) hibridinį fotopolimerą SZ2080 funkcionalizuojant $\text{NaYbF}_4:\text{Er}^{3+}$ DP nanodalelėmis.
2. Nustatyti, ar PEG-DA monomerų vandeninis tirpalas yra tinkamas hidrogelio pirmtakas mechaniškai stabilių mikrodarinių gamybai 3DLL metodu.
3. Išmatuoti polimerizacijos slenksčio ir optinio pramušimo slenksčio priklausomybes nuo fotopolimero legiravimo Au ND laipsnio, esant skirtingiems struktūrinimo greičiams. Palyginti gautas vertes su atitinkamais atraminių medžiagų parametrais.
4. Sukonstruoti fluorescencijos žadinimo / surinkimo optinę schemą, tinkamą polimerų pirmtakų liuminescencinio atsako registravimui TLR metu.
5. Nustatyti temperatūrai jautrių nanokompozitų kalibracines liuminescencijos atsako priklausomybes, išoriškai keičiant mišinių temperatūrą.
6. Užregistruoti temperatūrai jautrių nanokompozitų liuminescencijos atsaką, realiu laiku TLR sistemoje formuojant mikrodarinius.

1 Literatūros apžvalga

1.1 Fotopolimerizacijos mechanizmas

Polimerizacija – tai cheminė reakcija, kurios metu mažos molekulinės masės molekulės dėl išorinio poveikio jungiasi į didelės molekulinės masės, bet identiškos cheminės sudėties junginius, suformuodamos trimačius polimerinių grandinių tinklus [1]. Monomerų molekulinės junginys į polimerų grandines gali būti inicijuojamas naudojant išorinę energiją. Egzistuoja du skirtingi tokios reakcijos mechanizmai: grandininė polimerizacija (*angl. chain polymerization*) ir žingsninė polimerizacija (*angl. step polymerization*), dar vadinama tinklinimu (*angl. photocrosslinking*). Tokia cheminė reakcija, kurios metu dėl išorinio šviesos poveikio suformuojami kieti polimeriniai tinklai, vadinama fotopolimerizacija [15].

Fotopolimerais vadinsime medžiagas, sudarytas iš dviejų pagrindinių komponentų: monomerų / oligomerų (žymėsime – M) bei fotoiniciatoriaus (žymėsime – FI). Fotoiniciatoriai – tai medžiagos, turinčios žemą foto-disociacijos energiją, skirtos padidinti mišinio fotojautrumą [1]. Tuo atveju, kai išorinis energijos šaltinis, inicijuojantis polimerizacijos reakciją, yra šviesa, dažniausiai pasireiškiantis polimerizacijos mechanizmas yra paremtas grandinės sklidimu. Šis mechanizmą sudaro trys stadijos: iniciacija, sklidimas ir nutrūkimas [16]. Iniciacija prasideda tuomet, kai dėl sąveikos su šviesa yra sužadinas fotoiniciatorius (FI^*) ir sukuriama laisvieji radikalai (R^*) (1 lygtis). Toliau šiems radikalams sąveikaujant su monomerais, sukuriamą naują molekulę, turinti laisvą jungtį (2 lygtis). Prasidėjus sklidimo procesui, vis nauja monomero molekulė prijungiama prie laisvosios jungties (lygtys 3, 4). Vykstant sklidimo procesui, polimero grandinė sparčiai ilgėja ir šiam procesui jau nebereikalinga sužadino energija. Sklidimo procesas tęsiasi tol, kol prie laisvosios jungties prijungiamas laisvasis radikalas (lygtis 5) arba prijungiama kita polimero grandinė turinti laisvą jungtį (6 lygtis). Po tokio prijungimo gaunama chemiškai nebeaktyvi polimero grandinė [17].

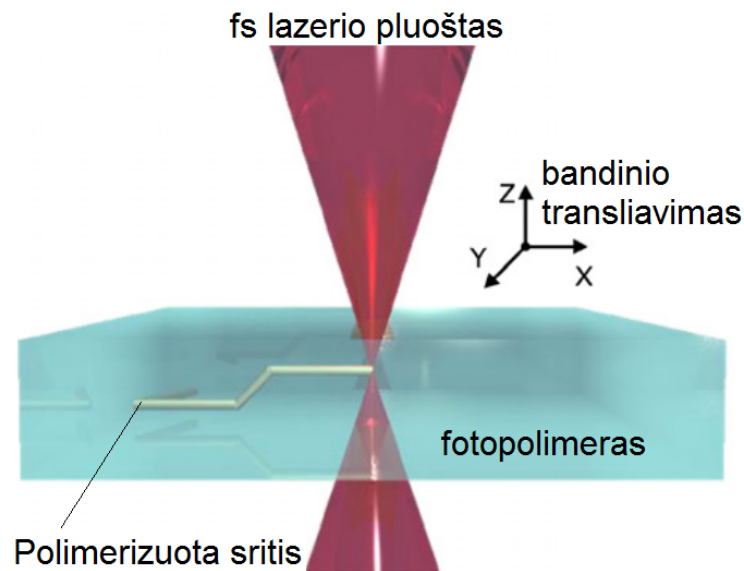


Lyginant su kitais polimerizacijos inicijavimo mechanizmais, pavyzdžiui, terminiu, kurio metu šiluminė energija sukuria aktyvius polimerizacijos centrus, fotopolimerizacija turi keletą svarbių privalumų [1]. Būtent polimerizacijos inicijavimas šviesos šaltiniu įgalina tiksliai valdyti

polimerizacijos procesą tiek laike, tiek ir erdvėje. Priklausomai nuo fotoiniciatoriaus tipo ir koncentracijos, komerciškai prieinami fotopolimerai paprastai pasižymi stipria sugertimi UV bangų ruože bei pralaidumu regimojoje ir NIR srityje. Tai reiškia, kad fotoiniciatoriaus molekulė gali būti žadinama sugeriant UV srities fotoną arba keletą IR srities fotonų. Toks netiesinės optikos reiškinys vadinamas daugiafotone sugertimi, o šiuo reiškiniu pagrįstas 3DLL metodas, įgalinantis 3D darinius formuoti fotopolimero tūryje [17].

1.2 Trimatė lazerinė litografija

Trimatė lazerinė litografija (3DLL) – tai tiesioginio lazerinio rašymo (TLR) metodas, pagrįstas daugiafotone lazerinės spinduliuotės sugertimi fotopolimero tūryje.

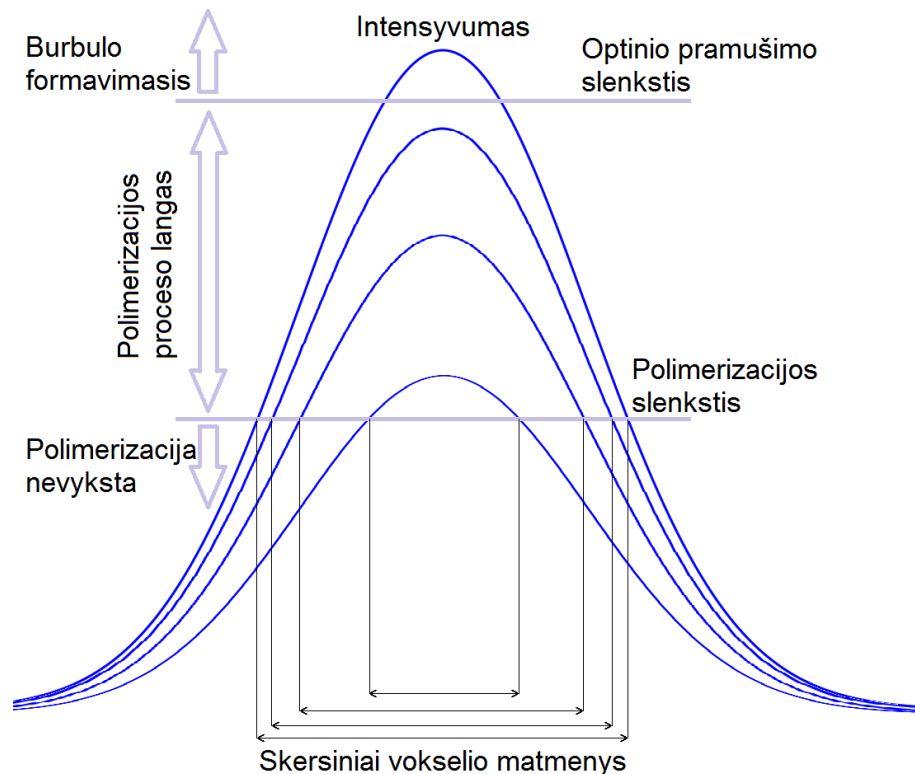


1 pav. Fotojautrios medžiagos struktūravimas 3DLL metodu. Daugiafotonė sugertis ir iš jos sekančios polimerizacijos reakcijos vyksta tik pluošto sąsmaukoje [1].

Dauguma komerciškai prieinamų fotopolimerų yra optimizuoti apdirbimui, veikiant ultravioletinės srities spinduliuote. Tokie polimerai stipriai sugeria UV srities spinduliuotę, bet yra gana skaidrūs regimajai ir NIR spinduliuotei. Vistik, ilgesniųjų bangos ilgių spinduliuotė gali būti sugerama aštriai fokusuojant lazerio pluoštą ir mažame tūryje indukuojant daugiafotonę sugertį, kuri yra netiesinis kvantinis mechaninis procesas [1]. Daugiafotonę sugertį galima suprasti kaip elektrono sužadimą per virtualų energetinį lygmenį, esantį draustinėje energijų juostoje. Iš Heizenbergo neapibrėžtumo principo išplaukia, kad virtualaus lygmens gyvavimo trukmė yra labai trumpa (kelių fs trukmės), o elektrono, esančio virtualiame lygmenyje, viena laikė kelių fotonų sugertis yra tikimybinis vyksmas, todėl daugiafotonė sugertis yra slenkstinis procesas ir reiškiasi tik esant dideliems (nuo GW/cm^2 eilės) spinduliuotės intensyvumams [2].

3D lazerinės litografijos principinė schema pavaizduota 1 pav. Didžioji dalis spinduliuotės, kuri fokusuojama iš viršaus didelės skaitinės apertūros objektyvu, sklinda medžiagoje su ja nesąveikaudama. Eksponuojančios šviesos ir medžiagos sąveika vyksta tik griežtai apribotame tūryje – pluošto sąsmaukoje, kur pasiekiamas šviesos intensyvumas pakankamas daugiafotonės sugerties indukavimui. Jei bandinį transliuosime trimatėje erdvėje lazerio pluošto sąsmaukos atžvilgiu, polimeruosime trimatį objektą, kurio tikslumas priklausys nuo pozicionavimo įrenginio tikslumo ir skyros, o mažiausias struktūrinamas elementas – nuo eksponuojančio pluošto intensyvumo ir fokusavimo sąlygų (skaitinės apertūros) (plačiau aptarta 1.3 skyriuje). Medžiaga, kuri struktūravimo metu nebuvo paveikta fokusuotos lazerio spinduliuotės, ryškinimo metu bus išplaunama atitinkamu tirpikliu, paliekant tik polimerizuotą trimatį darinį [1, 2, 15].

Kiekviena fotojautri medžiaga turi charakteringą parametą I_{sl} , kurį viršijus, inicijuojama polimerizacijos reakcija. Būtent dėl šio polimerizacijos slenksčio, pasiekama struktūravimo erdvinė skyra gali būti aukštesnė už difrakciškai ribotą. Literatūroje aprašomi eksperimentai, kurių metu pademonstruota 3DLL metodu suformuojamų darinių erdvinė skyra aukštesnė nei 100 nm, o tai beveik eile mažiau nei tipinio 3DLL procesui naudojamo femtosekundinio lazerio bangos ilgis [18]. Gausinio pluošto intensyvumo skirstiniai sąsmaukos plokštumoje pavaizduoti 2 pav.



2 pav. Polimerizuoto segmento (vokselio) matmenų priklausomybė nuo eksponuojančio lazerinio pluošto intensyvumo židinio plokštumoje bei polimerizacijos ir polimero optinio pramušimo slenksčiai [2].

Matome, kad mažiausi galimi polimerizuotos medžiagos segmentai (vokseliai) bus formuojami eksponuojant tik nežymiai polimerizacijos slenkstį viršijančiu lazerinės spinduliuotės intensyvumu, o gebėdami tiksliai valdyti intensyvumą, galime pasirinkti tikslius formuojamo vokselio skersinius matmenis [2]. Taip pat galime įvesti polimerizacijos lango sąvoką – tai santykis $\frac{I_{o.p.}}{I_{sl}}$, kur I_{sl} – intensyvumas, kuriam esant inicijuojama polimerizacijos reakcija, $I_{o.p.}$ – intensyvumas, kuriam esant, polimero tūryje formuojasi burbulas, kitaip tariant, polimeras yra optiškai pramušamas [15]. Toks nagrinėjimas yra tikslus, kalbant apie polimerizacijos reakciją, inicijuojamą vienu lazerio impulsu. Realiame 3DLL eksperimente medžiaga yra struktūruojama didelio pasikartojimo dažnio ($10^5 - 10^7$ Hz eilės) lazerio impulsų voromis, todėl būtina įskaityti termoakumuliacinių reiškinų įtaką proceso lango kitimui. Formuojant 3D darinius, fotopolimeras yra transliuojamas erdvėje baigtiniu greičiu. Medžiagos transliavimo greičiui atvirkščias dydis – impulsų persiklojimas, kuris parodo kiek lazerio impulsų paveikia fotopolimero vienetinį tūrio segmentą. Kadangi naudojami lazeriai, kurių impulso pasikartojimo dažniai siekia šimtus kilohercų jau kalbame ne apie pavienius ar dešimtis, bet greičiau dešimtis tūkstančių impulsų, paveikiančių lokalų medžiagos segmentą. Taigi, kitiems parametrams nekintant, polimerizacijos proceso lango ribinės eksponavimo intensyvumo vertės priklausys ir nuo transliavimo greičio.

1.3 Trimačio formavimo lazeriu erdvinė skyra. Teorinis modelis ir empiriniai matavimai

Dauguma praktinių daugiafotonės polimerizacijos pritaikymų atsiranda dėl galimybės formuoti aukštos (iki subdifrakcinės) erdvinės skyros 3D darinius. Norint adaptuoti technologiją naujiems taikymams, ypač svarbu suprasti fundamentinius minimalaus bet kokio darinio segmento (vokselio) dydžio ribojimus [19].

Egzistuoja keletas kriterijų, lemiančių principinius 3DLL metodu formuojamų darinių skyros apribojimus. Visiems daugiafotoniams procesams, aukštesnė erdvinė skyra pasiekama esant aukštesniam proceso netiesiškumo laipsniui. Jei nagrinėsime konkretų netiesiškumo laipsnį turintį procesą, šiuo atveju – dvifotonę polimerizaciją, mažiausios pasiekiamos skyros apribojimas bus nulemtas mažiausios galimos konkrečios medžiagos molekulinės struktūros bei faktoriaus, parodančio kiek arti polimerizacijos slenkščio gali būti dirbama. Galiausiai, fundamentinis skyros apribojimas yra lemiamas intensyvumo skirstinio lazerio pluošto sąsmaukoje, kuris priklauso nuo spinduliuotės bangos ilgio ir fokusuojančiojo objektyvo skaitinės apertūros (NA). Taigi, tiek medžiagos struktūrinės savybės, tiek eksponuojančiojo pluošto savybės lemia daugiafotonės polimerizacijos proceso skyrą [18].

Norint įvertinti polimerizuoto tūrio (tūrinio pikselio (arba vokselio)) dydį, turime įvesti polimerizacijos slenkščio sąvoką. Laikysime, kad fotojautri medžiaga yra polimerizuojama tuomet, kai aktyvuojamas tam tikras charakteringas iniciatoriaus molekulių skaičius – ρ_{sl} . Aktyvuotų

iniciatoriaus molekulių tankis $\rho(r, t)$ gali būti aprašomas 7 lygtimi [19]:

$$\frac{\partial \rho(r, t)}{\partial t} = (\rho_0 - \rho(r, t)) \sigma_2 N^2(r, t); \quad (7)$$

čia σ_2 – efektinis dvifotonės iniciatoriaus molekulės aktyvacijos skerspjūvis, N – fotonų srautas, $\rho_0(r, t)$ – pradinis iniciatoriaus molekulių tankis. Aproximuodami šviesos skirstinį sąsmaukoje ($z = 0$) gausiniu: $N(r, t) = N_0(t) \exp(-2r^2/r_0^2)$, tariant, kad fotonų srautas $N_0(t) = N_0$ yra pastovus per visą lazerio impulso trukmę bei neatsižvelgiant į iniciatoriaus mažėjimą tarp atskirų lazerio impulsų, galime įvertinti vokselio plotį d , suformuotą dvifotonės polimerizacijos režime, kai patenkinama sąlyga $\rho \geq \rho_{sl}$:

$$d(N_0, t) = r_0 \sqrt{\ln\left(\frac{\sigma_2 N_0^2 n \tau_L}{C}\right)}, \quad (8)$$

$$C = \ln\left(\frac{\rho_0}{\rho_0 - \rho_{sl}}\right)$$

čia n – impulsų skaičius, t – bendras ekspozicijos laikas, τ_L – lazerio impulso trukmė.

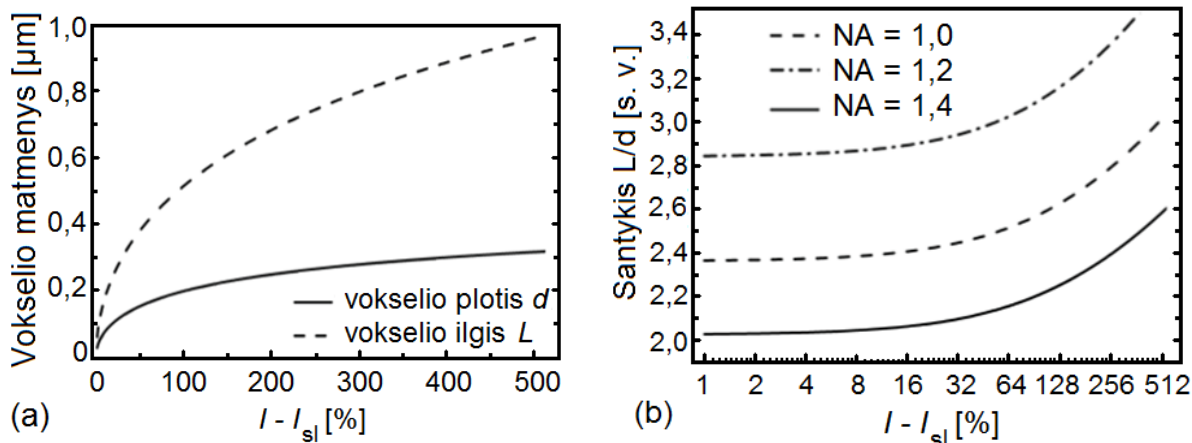
Analogiškai, ašiniam šviesos skirstiniui, kai $r = 0$, gausiniam pluoštui $N(z) = N_0 / (1 + \frac{z^2}{z_R \sqrt{2}})$, vokselio ilgis L gali būti randamas:

$$L(N_0, t) = 2z_R \sqrt{\sqrt{\frac{\sigma_2 N_0^2 n \tau_L}{C}} - 1} \quad (9)$$

kur z_R – Relėjaus ilgis. Norint suformuoti vokselį, kurio forma artima sferinei ($L/d \approx 1$), būtina naudoti mažą lazerio impulso energiją ir trumpą ekspozicijos laiką, t.y. dirbti arti polimerizacijos slenksčio. Toks režimas užtikrina ne tik didžiausią galimą polimerizacijos raišką, bet ir artimiausią sferiniam polimerizuotą segmentą [18].

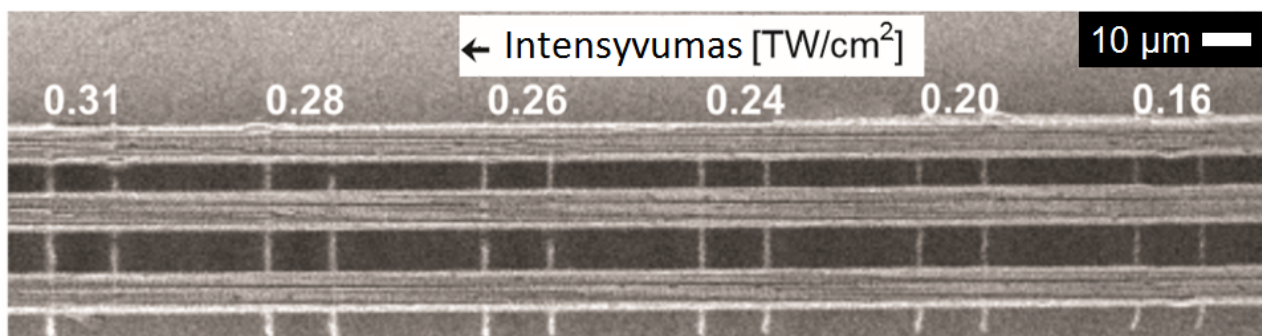
Apskaičiuotos vokselio skersinių ir išilginių matmenų priklausomybės nuo naudojamo lazerinio pluošto intensyvumo (objektyvui, kurio $NA = 1,4$) pavaizduotos grafiškai (3 (a) pav.). Šiame modelyje neįskaitomas joks polimerizuojamos medžiagos atsakas ar polimerizacijos kinetika, tačiau jis tinkamas kokybiniam 3DLL metodu formuojamo vokselio matmenų kitimo įvertinimui [1]. Matome, kad didinant ekspozicijos energiją, išilginis vokselio matmuo didėja sparčiau nei skersiniai matmenys. Vokselio ilgio ir pločio santykio L/d priklausomybė nuo ekspozicijos energijos, naudojant skirtingų skaitinių apertūrų fokusuojančius objektyvus, pavaizduota (3 (b) pav.). Pastebėtina, jog naudojant didesnės skaitinės apertūros objektyvus, pasiekama ne tik aukštesnė skyra skersinėse koordinatėse, bet ir mažesnės vokselio ilgio ir pločio santykių vertės [1].

Vis tik, toks teorinis modelis, nors ir gerai atspindi bendrus formuojamų vokselių raiškos dėsningumus, tačiau apskaičiuojamos vertės skiriasi nuo gaunamų eksperimentiškai. Priešingai



3 pav. Vokselio matmenų priklausomybė nuo eksponuojančio pluošto energijos: (a) vokselio plotis d ir ilgis L , naudojant $NA = 1,4$ skaitinės apertūros objektyvą; (b) vokselio ilgio ir pločio santykis, naudojant skirtingų skaitinių apertūrų objektyvus [1].

nei apdirbant medžiagas lazerinės abliacijos būdu, modeliuojant daugiafotonės polimerizacijos sąveiką, reikia žinoti ne vien dėmės, į kurią yra fokusuojamas lazerio pluoštas, dydį, tačiau tikslų trimatį lazerio pluošto skirstinį židinio plokštumoje [19]. Išvesdami teorinius formuojamo vokselio matmenis nusakančias lygtis, nagrinėjimą supaprastinome energijos skirstinį aproksimuodami gausiniu. Be to, visiškai ignoravome polimerizuojamos medžiagos atsaką į spinduliuotę. Formuojant 3D darinius realia daugiafotonės polimerizacijos sistema, polimerizacija inicijuojama ilgomis impulsų voromis, o dėl bandinio transliavimo 3D erdvėje, impulsų skaičius, veikiantis kiekvieną tūrio vienetą ir jų persiklojimas nėra pastovus. Dėl šios priežasties analitinis energijos įtėkio aprašymas iš esmės neįmanomas. Be to, realiame 3D lazerinės litografijos eksperimente reikia atsižvelgti į baigtinių lazerinių impulsų energijos stabilumą [19].



4 pav. 3D raiškos tiltų SEM nuotrauka. Mikrodariniai įrašyti SZ2080 fotopolimere eksponuojant $\lambda = 532 \text{ nm}$, $\tau = 8 \text{ ps}$ impulsais. $NA = 1,4$ [10].

Eksperimentiniame darbe, optimalių formavimo sąlygų nustatymui, plačiai taikomi empi-

riniai metodai. Tokių metodų pavyzdžiai – raiškos tiltų (4 pav.) formavimas (plačiau aptarta Malinausko ir bendradarbių [10]) ar polimerizacijos / optinio pramušimo slenksčių matavimas (plačiau aptarta 1 priede). Abiejų metodų atvejais, polimerizuojamos tvirtos vientisos atramos, tarp kurių formuojamos pavienės gijos žinomais eksperimentiniais parametrais. Išryškinti 3D dariniai charakterizuojami skenuojančiu elektroniniu mikroskopu. Šiame darbe 3D darinių charakterizavimui naudosime polimerizacijos / optinio pramušimo slenksčio matavimo metodiką.

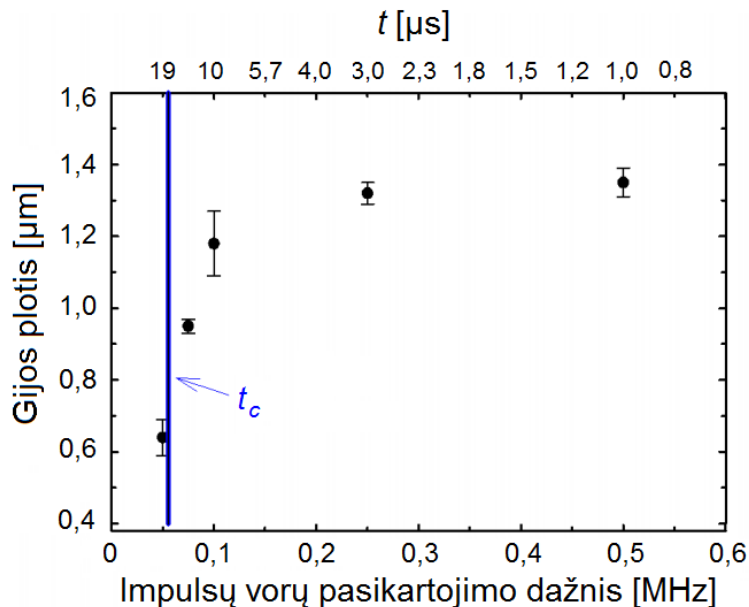
1.4 Terminės akumuliacijos įtaka polimerizacijos reakcijai

2013 m. Wegener su bendradarbiais atliktas lokalaus temperatūros pokyčio tyrimas *in-situ* TLR metu, panaudojant DP nanokristalus, parodė, kad nepriklausomai nuo impulsų pasikartojimo dažnio (1 kHz-80 MHz ribose), stebimas tik < 5 K lokalus temperatūros padidėjimas monomerų mišinio tūryje, o ženklus temperatūros išaugimas stebimas tik polimero pereksponavimo režime [8]. Tačiau toks tyrimas apima tik vieną iš galimų polimerizacijos reakcijos inicijavimo mechanizmų (eksponuojant ultratrumpais ($\tau < 100$ fs) impulsais) ir vieną konkretų polimero pirmtaką.

Baldacchini su bendradarbiais atliko eksperimentą, kurio metu Ti:safyro osciliatoriaus spinduliuotė ($\tau = 100$ fs, $\nu = 80$ MHz) akustooptiniu moduliatoriumi padalinta į 1 ms trukmės impulsų voras. Keičiant vėlinimą tarp bandinių pasiekiančių impulsų vorų, TLR metodu formuotos vieno vokselio dydžio matmenų mikrogijos pentaeritritolio triakrilato (PETA, *Sigma Aldrich*) monomerų mišinyje. Eksperimentas parodė, jog esant ilgesniam vėlinimui tarp impulsų vorų, polimerizacijos metu formuojasi siauresnės polimerinės gijos (5 pav.), net tuo atveju, kai lazerio vidutinė galia parenkama taip, kad bendras energijos įtėkis (*angl. fluence*) išliktų vienodas [11].

Šis efektas aiškinamas tuo, kad šilumos difuzijos laikas iš polimerizacijos reakcijos zonos, kuri apribota didelės skaitinės apertūros objektyvu fokusuojamos lazerio spinduliuotės sąmauka, tipiškai naudojamiems fotopolimerams, yra apie 15 μ s. Taigi, tuo atveju, kai impulsų voras pasikartoja greičiau, šiluma kaupiasi, tuo tarpu esant mažesniems impulsų vorų pasikartojimo dažniams (< 70 kHz), šiluma spėja išsisklaidyti. Šilumos akumuliacija lemia greitesnę polimerizacijos reakciją, ir dėl to stebimą gijų išplitimą [20]. Juodkasis su bendradarbiais atliko panašų tyrimą, kurio metu pikosekundiniais lazerio impulsais eksponuotas hibridinis organinis-neorganinis fotopolimeras SZ8020. Eksperimentui naudotas derinamos impulso trukmės ($\tau = 8 - 25$ ps) lazeris, kurio maksimalus impulsų pasikartojimo dažnis – 1 MHz. Eksperimento rezultatai parodė, kad eksponuojant polimerų pirmtakus žemais impulsų pasikartojimo dažniais, suformuojamos siauresnės gijos, nei naudojant didesnius impulsų pasikartojimo dažnius [10].

Wegener su bendradarbiais publikuotas eksperimentas [8] rodo priešingus rezultatus – nustatyta, jog pentaeritritolio triakrilato monomerų mišinio fotojautrinto 2 mol% Irgacure 819 fotoiniciatoriumi, polimerizacijos slenkstis išauga $1,4\% K^{-1}$, kai monomerų mišinys išoriškai



5 pav. Polimerizuotos gijos pločio priklausomybė nuo impulsų vorų pasikartojimo dažnio, esant pastoviam energijos įtekui ($7,5 \text{ J/cm}^2$). Vertikalia linija pažymėtas eksperimentiškai nustatyta šilumos difuzijos iš pluošto sąsmaukos zonos trukmė [11].

šildomas temperatūros diapazone nuo 10°C iki 80°C . Publikacijoje teigiama, jog stebėtas polimerizacijos slenksčio augimas (nuo 1% iki $3\% \text{ K}^{-1}$) ir kitiems naudotiems fotoiniciatoriams (Irgacure 369, izopropiltioksantonas, Malachito žaluma). Autoriai tokius rezultatus aiškina padidėjusios sugerties fotopolimero tūryje, bet ne pačios polimerizacijos reakcijos priklausomybe nuo temperatūros [8].

Šiuos rezultatus iš dalies patvirtina ir kitos mokslinės grupės atlikti eksperimentai, kurių metu, keičiant kameros, kurioje patalpintas tiriamasis monomerų mišinys, temperatūrą plačiose ribose, išmatuota struktūravimo skyros priklausomybė nuo mišinio temperatūros ($-60 - +300^\circ\text{C}$ ribose) [21]. Nustatyta, jog polimerizacijos reakcijos erdvinė skyra (suprantama kaip vienu praėjimu suformuotos gijos skersiniai matmenys) šiek tiek pagerėja žemesnėse nei kambario temperatūrose dėl sumažėjusios radikalų difuzijos. Nors buvo tikimasi registruoti tolydžiai prastėjančią polimerizacijos skyrą didinant monomerų mišinių temperatūrą, eksperimento rezultatai buvo priešingi – padidinus mišinio temperatūrą iki 80°C stebėtas vokselio skersinių matmenų sumažėjimas (iki 27%) [21]. Toks stebimas rezultatas aiškinamas aukštoje temperatūroje išaugusia polimero grandinės nutrūkimo reakcijos sparta.

1.5 Medžiagos, naudojamos daugiafotonės polimerizacijos taikymams

Bendriausiu atveju fotojautrios medžiagos, kurios gali būti struktūruojamos daugiafotonės polimerizacijos metodu, yra skirstomos į du pogrupius: tai teigiami ir neigiami fotorezistai. Pagrindinis skirtumas tarp šių medžiagų struktūravimo mechanizmo yra toks, kad neigiamų

fotorezistų atveju, šviesa eksponuotuose srityse inicijuojamas polimerinių grandinių jungimasis, o šviesa nepaveiktose srityse esantys monomerai ryškinimo metu yra pašalinami. Tuo tarpu teigiamų fotorezistų atveju viskas vyksta priešingai – eksponavimas šviesa lemia polimerinių grandinių dalijimąsi į smulkesnius struktūrinius vienetus, kurie yra išplaunami ryškinimo proceso metu [18]. Funkcinių 3D darinių gamybai tiesioginio lazerinio rašymo būdu dažniausiai yra naudojami neigiami fotorezistai [2]. Iš neigiamų fotorezistų adityvios gamybos būdu galima pagaminti įvairesnių ir sudėtingesnių formų darinius. Kita vertus, teigiami fotorezistai yra nepakeičiami gaminant mikrokanalų lustus mikrofluidikos taikymams [22].

Kaip jau buvo aptarta 1.1 skyriuje, šiuolaikiniai fotopolimerai yra sudaryti iš monomerinių / oligomerinių molekulių mišinio jas legiuojant fotoiniciatoriumi. Toliau šiame skyriuje aptarsime plačiausiai naudojamas medžiagas fotojautrių polimerų pirmtakų gamybai.

1.5.1 Monomerai, naudojami fotojautrių medžiagų sintezei

Rinkoje prieinama nemažai skirtingų tipų medžiagų, kurios plačiai tyrinėjamos ir taikomos įvairios paskirties 3D nanodarinių gamybai. Viena tokių medžiagų grupių – kietos, epoksidinės medžiagos SU8 [23] bei CAR44 [18]. Abi šios medžiagos plačiai taikomos fotolitografinių kaukių gamybai dvifotonės polimerizacijos metodu. Kitas svarbus neigiamų fotorezistų poklasis yra skystieji fotopolimerai – įvairūs akrilatai bei hibridiniai organiniai-neorganiniai fotopolimerai [18].

Pastarųjų metų pasiekimai tobulinant fotopolimerizacijos TLR metodą, tokie kaip aukšta, submikrometrinė erdvinė stuktūravimo skyra bei galimybė tiksliai valdyti fotopolimerizacijos inicijavimo reakciją, sudaro prielaidas plačiam šio metodo pritaikymui bioinžinerijos ir biomedicinos srityse. Klasikiniai tokio pritaikymo pavyzdžiai – karkasų, skirtų audinių inžinerijai, nanodarinių, gebančių transportuoti vaistus gyvame organizme [2] bei chirurginių implantų [18] gamyba. Vistik, atkreiptinas dėmesys, jog absoliuti dauguma komerciškai prieinamų fotojautrių medžiagų pasižymi prastu bio-sutaikomumu dėl dirginančių ar citotoksinių savybių [24]. Taigi, naujų, bio-sutaikomų medžiagų, tinkančių struktūrinimui dvifotonės polimerizacijos metodu, paieškos ir tyrimai yra ypač aktualus uždavinys.

Hidrogeliai

Kaip galima alternatyva iš komerciškai prieinamų fotopolimerų struktūruojamiems dariniams mokslinėje literatūroje plačiai nagrinėjami įvairūs hidrogeliai. Hidrogeliais vadinami trimatniai polimerų grandinių tinklai, brinkstantys vandenyje, tačiau išlaikantys savo formą [25]. Nustatyta, kad hidrogeliai turi ypač aukštą bio-sutaikomumą su gyvais organizmais, be to, pasižymi hidratacinėmis savybėmis ir lankstumu, primenančiu natūralius organinius audinius [4,26].

Viena plačiausiai tyrinjamų hidrogelius formuojančių medžiagų – poli (etilen glikolis) (PEG). Įrodyta, kad PEG pasižymi ypač mažu citotoksiškumu [1] ir dėl šios priežasties plačiai

naudojamas kaip dispersantas daugelio higienos priemonių (dantų pasta, kremai, šampūnai) sudėtyje [15]. Be to, poli (etilen glikolio) molekulės gali būti funkcionalizuojamos akrilatų grupėmis, taip padidinant monomerų fotojautrumą ir sukuriant organinį fotopolimerą, tinkamą struktūravimui daugiafotonės polimerizacijos metodu [15]. Poli (etilen glikol) diakrilato pagrindu pagamintos medžiagos dėl labai mažo toksiškumo ir imunogeniškumo laikomos ypač tinkamomis implantacijai bei injekcijoms į gyvuosius organizmus [3].

Mokslinėje literatūroje galima rasti duomenų apie ankstesnius poli (etilen glikol) diakrilato struktūravimo dvifotonės polimerizacijos būdu eksperimentus. Ovsianikov su bendradarbiais aprašo PEG-DA-742, fotojautrinto 2 wt% Irgacure 369 fotoiniciatoriumi polimerizaciją ekspozuojant Ti:safyro osciliatoriumi (120 fs, 80 MHz, 780 nm). Darbe aptarti suformuoti 3D dariniai (karkasai bioaudinių auginimui) pasiekiant submikrometrinę erdvinę formavimo skyrą [27].

Hibridiniai organiniai-neorganiniai polimerai

Dar viena 3DLL taikymams svarbi medžiagų grupė - „Ormosil” (*angl. organically modified silica*). Šiai medžiagų grupei priklausantis polimero pirmtakas SZ2080 vis plačiau naudojamas darinių mikrooptikai, medicinai, optoelektronikai ir nanofotonikai gamybai [1, 27, 28]. Polimero pirmtako neorganinis karkasas sudarytas iš –Si–O–Zr–O tinklo, prie kurio prisijungusios metakrilatinės polimerizuojamos atšakos. Polimero pirmtakas yra patrauklus dėl galimybės derinti lūžio rodiklį keičiant organinės / neorganinės dalių santykį, optinio skaidrumo 400-2700 nm bangos ilgių ruože, gero biosuderinamumo bei mažo traukimosi [29].

Dėl pusiau kietos, stikliškos agregatinės būsenos išgarinus tirpiklį, SZ2080 polimero pirmtakas yra patogus eksperimentavimui tiek dėl laisvo lazerinio rašymo algoritmo, tiek dėl paprastesnio bandinių transportavimo, saugojimo ir pakartotinio charakterizavimo galimybės. Šio darbo apimtyje, funkcinių nanokompozitų iš vandenyje netirpių nanodalelių gamybai pasirinktas būtent šis polimero pirmtakas.

1.5.2 Iniciatoriai, naudojami mišinių fotojautrinimui

Pastarąjį dešimtmetį buvo atliekami tyrimai su daugeliu molekulinį junginių, kurie potencialiai galėtų būti panaudoti kaip bio-sutaikomi fotoiniciatoriai. Nustatyta, jog dauguma plačiai naudojamų fotoiniciatorių, ypač radikalus formuojantys skilimo būdu (I tipo), tokie kaip 1-hidroksi-cikloheksilfenonas (komercinis pavadinimas - Irgacure 184), 2,2-dimetoksi-1,2-difeniletan-1-onas (Irgacure 651), ar 2-metil-1-[4-(metiltio)fenil]-2-morfolinpropan-1-onas (Irgacure 907) yra ypatingai citotoksiški [5–7]. Be to, I tipo fotoiniciatoriai, ypač turintys sugerties maksimumą regimojoje spektro srityje yra beveik netirpūs vandenyje [5]. Akivaizdu, jog bioskaidžių darinių gamybai, kurie potencialiai galėtų būti naudojami vaistų pernešimui gyvuose organizmuose ar implantacijos tikslais, reikėtų vengti naudoti minėtus radikalinius fotoiniciatorius.

B. Fairbanks su bendradarbiais 2009 m. atliko PEG-DA, fotojautrinto ličio fenil-2,4,6-trimetilbenzolfosfatinato (ličio acil fosfato druska - LAP) molekūlėmis polimerizacijos tyrimus žmogaus fibroblastų enkapsuliavimui. Nustatyta, kad per 24 val. nuo ląstelių enkapsuliavimo, jų išgyvenimo tikimybė siekė 95%. Tai leidžia daryti prielaidą, kad tokia fotoiniciatoriaus sistema gali būti laikoma bio-sutaikoma [5]. Be to, LAP iniciatorius yra gerai tirpus vandenyje. Tokio fotoiniciatoriaus sugerties maksimumas yra stebimas UV srityje, kai eksponuojančios spinduliuotės bangos ilgis $\lambda = 375$ nm. Kita vertus, šis fotoiniciatorius nėra komerciškai priimanamas, o jo sintezė yra sudėtingas daugiapakopis procesas [5].

Ankstesni Vilniaus Universiteto, Lazerinių tyrimų centro Nanofotonikos grupės vykdyti tyrimai parodė, kad legiravimas aukso nanodalelėmis teigiamai veikia hibridinio organinio-neorganinio fotopolimero SZ2080 fotojautrumą. Eksponuojant šį fotopolimerą femtosekundiniais $\lambda = 515$ nm impulsais, nustatyta, kad kai aukso nanodalelių koncentracija $3,9 \cdot 10^{-3}$ wt%, fotopolimero jautrumas tampa ekvivalentus pasiekiamam SZ2080 legiruojant 0,1 wt% komerciškai prieinamu 2-benzil-2(dimetilamino)-4'-morfolinobutirofenono (Irgacure 369) fotoiniciatoriumi. Be to, nepastebėta, kad legiravimas Au ND lemtų mechaninio stabilumo pokyčius ar kitus nepageidaujamus 3D nanodarinių struktūrinius pakitimus lyginant su fotopolimerais jautrintais IRG fotoiniciatoriais [30].

Empiriniai duomenys apie Au ND poveikį gyvoms ląstelėms yra negausūs ir nevienareikšmiški. Simon, Jahnen-Dechent ir bendradarbių atlikti tyrimai parodė, kad Au ND poveikis biologiniams audiniams priklauso nuo ND dydžio. Eksperimentiškai tirta nuo 0,8 iki 15 nm dydžio nanodalelių įtaka biologiniams audiniams. Tyrėjai nustatė, jog 1,4 nm skersmens Au ND sukelia audinių nekrozę, bet 1,2 ir 1,8 nm dalelėms toks reiškinys nestebimas [31]. Halas, West ir bendradarbiai aprašo navikų operacijas, atliktas pelėms į auglį injektuojant Au ND PEG apvalkale. Gyvūnai išliko gyvybingi daugiau nei 90 dienų po Au ND injekcijos. Tai leidžia daryti prielaidas apie nežymų Au ND citotoksiškumą *in vivo* [31].

1.5.3 Nanodalelės

Nanodalelės, dėl savo fundamentinių fizikinių savybių skirtumų, lyginant tiek su tos pačios medžiagos atomais ar molekūlėmis, tiek su makroskopinėmis struktūromis, yra ypač įdomus tyrimų objektas įvairiose gamtos mokslų srityse pastaruosius dvidešimt metų [32].

Nanodalelėmis laikomi maži medžiagos dalelių junginiai ar dariniai, kurių dydis 1-100 nm (10-1000 Å) [32]. Bendriausiu atveju, nanodalelėmis laikomi ir klasteriai ar didelės molekūlės (sudarytos iš bent 50-100 atomų ir siekiančios 1 nm dydį) ir dalelės, sudarytos iš dešimčių ar šimtų tūkstančių atomų, esančios dešimčių ar šimtų nanometrų dydžio. Tokios dalelės ilgą laiką buvo vadinamos koloidais [33]. Unikalioms ND fizikinėms savybėms ypač domina mokslininkus dirbančius tokiose mokslo šakose kaip nanoelektronika, nanofotonika, biomedicina [32].

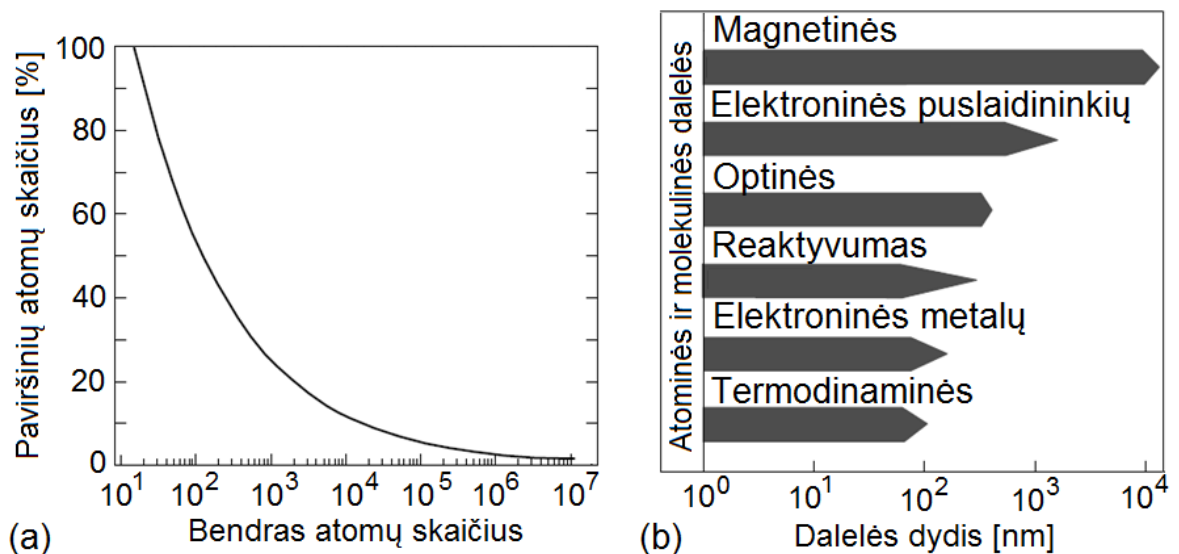
Nanodalelių savybės

Dydis ir forma dažnai nemažiau svarbūs faktoriai ND fizikinėms savybėms, nei jų cheminė sudėtis. Dėl ypač mažų nanodalelės matmenų, dauguma jos atomų yra išsidėstę paviršiuje [34]. Nanodalelės paviršiuje esančių atomų procentinė dalis P_s gali būti apskaičiuojama [35] naudojant nesudėtingą sąryšį:

$$P_s = 4N^{-1/3} \times 100; \quad (10)$$

kur N – bendras nanodalelę sudarančių atomų skaičius. Paviršinių nanodalelės atomų skaičiaus priklausomybė nuo visų nanodalelę sudarančių atomų skaičiaus grafiškai pavaizduota 6 (a) pav. Akivaizdu, jog paviršinių atomų proporcija sumažėja iki 1% tik tuomet, kai bendras atomų skaičius viršija 10^7 . Tipinėms metalų nanodalelėms, toks atomų skaičius atitinka ~ 150 nm nanodalelės diametrą. Verta akcentuoti, jog šis modelis ypač gerai atinka metalų ND atomų pasiskirstymą [34].

Dauguma nanodalelių turi daugiasienę struktūrą [34]. Gali susiformuoti įvairių tipų briaunainių (tokių kaip tetraedrai, oktaedrai ar kuboktaedrai) formos nanodalelės turinčios centruotų paviršių kubinės gardelės struktūrą [36]. Maži klasteriai neretai turi amorfinę ikosaedrinę struktūrą [37].



6 pav. (a) Nanodalelės paviršiuje esančių atomų skaičiaus priklausomybė nuo visų nanodalelę sudarančių atomų skaičiaus; (b) ND savybių, besikeičiančių priklausomai nuo nanodalelių dydžio, schematinis atvaizdavimas [34].

Ypač mažos, keleto nanometrų diametro nanodalelės yra palyginamos su molekulėmis. Tai reiškia, kad tokių nanodalelių atominės ir elektroninės struktūros pasižymi savybėmis, stipriai besiskiriančiomis nuo makroskopinių medžiagų savybių. Tuo tarpu, didesnių nanodalelių, kurių diametras $\geq 20 - 50$ nm, savybės daug panašesnės į atitinkamų makroskopinių darinių [34].

Ypač mažoms nanodalelėms fizikinių savybių pokyčiai kintant dalelės dydžiui yra šuoliški ir būdingi tik tiems konkrečioms matmenims [38]. Didesnėms nanodalelėms, šios priklausomybės dažnai yra tolydžios, tad egzistuoja galimybė aprašyti dėsnius, pagal kuriuos tam tikrose ribose kinta šių medžiagų charakteristikos. Skiriamos elektroninės, optinės, magnetinės, cheminės, ir kitos nanodalelių charakteristikos, priklausančios nuo ND matmenų (6 (b) pav.).

Pavyzdžiui, metalų nanodalelės pasižymi akivaizdžia optinės sugerties priklausomybe nuo ND dydžio [39]. Tai reiškia, kad specifiniam taikymui reikalingos nanodalelių optinės savybės gali būti parenkamos keičiant nanodalelių dydį ir formą.

Metalų nanodalelių optinės savybės

Tiek nanodalelių forma, tiek tarpdalelinė sąveika bei aplinka, kurioje yra nanodalelės, yra svarbūs faktoriai, lemiantys nanodalelių optines savybes [40]. Metalų nanodalelių elektroniniame spektre dominuoja paviršinių plazmonų sugerties juostos, atsirandančios dėl koherentinių osciliacijų sužadavimo laisvuosiuose elektronuose [34]. Krintančios šviesos bangos elektrinis laukas indukuoja laisvųjų elektronų poliarizaciją, kuri atsakinga už spinduliuotės sugertį dalelėse, daug mažesnė už krintančios bangos ilgį. Aukštesniųjų eilių sužadiniai yra taip pat tikėtini ir tampa svarbūs kalbant apie keliasdešimt nanometrų dydžio nanokristalus.

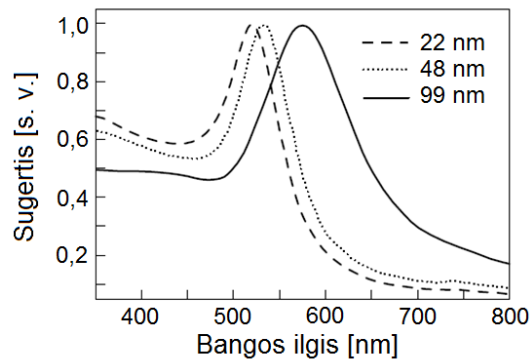
Vokiečių fizikas G. Mie 1908 m. papildė elektromagnetinės spinduliuotės sugerties teoriją [41] ir pritaikė ją ypač mažoms dalelėms [42]. Ši teorija, remiantis klasikine elektrodinamikos lygtimis, pateikia Maksvelo lygčių sprendinį su tinkamomis kraštinėmis sąlygomis. G. Mie parodė, jog mažos dalelės ($R \ll \lambda$, čia R – nanodalelės spindulys, λ – spinduliuotės bangos ilgis) elektromagnetinės spinduliuotės sugerties skerspjūvis gali būti randamas [34]:

$$\sigma_{ext} = \frac{24\pi^2 R^3 \epsilon_m^{3/2}}{\lambda} \frac{\epsilon_2(\omega)}{(\epsilon_1(\omega) + 2\epsilon_m)^2 + \epsilon_2^2(\omega)} \quad (11)$$

čia σ_{ext} – elektromagnetinės spinduliuotės sugerties skerspjūvis, ϵ_m – medžiagos, supančios nanodalelę, dielektrinė konstanta, ϵ_1 , ϵ_2 – reali ir menama nanodalelės medžiagos dielektrinės konstantos dalys. Dielektrinės konstantos gali būti išvedamos iš Drudės modelio laisviesiems elektronams [34] arba nustatomos empiriškai [43]. Iš sąryšio (11) seka, kad nanodalelių EM spinduliuotės sugerties maksimumas pasiekiamas kai:

$$\epsilon_1 = -2\epsilon_m \quad (12)$$

Nanodalelių (nanokristalų) tirpalai, priklausomai nuo dalelių matmenų ir jas supančios medžiagos dielektrinės konstantos ϵ_m , yra skirtingų charakteringų spalvų. Tipiniai optinio sugerties spektro pokyčiai, esant skirtingiems nanodalelių matmenims, pavaizduoti 7 pav.



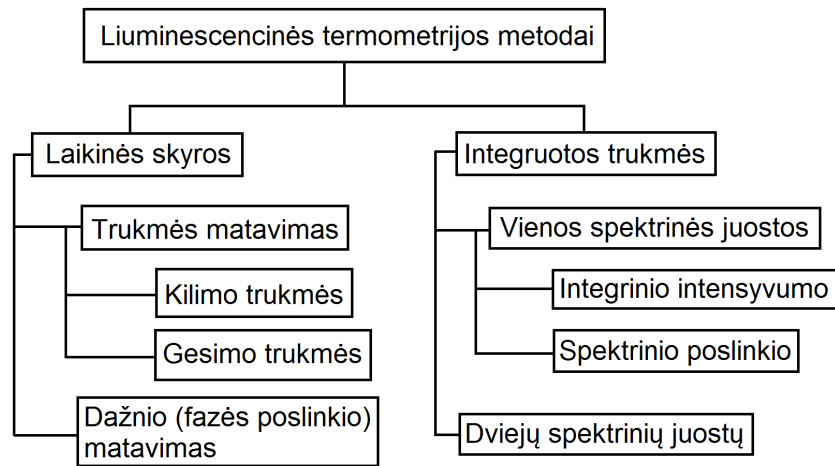
7 pav. Aukso nanodalelių, kurių diametrai 22, 48 ir 99 nm, optinės sugerties spektrai [44].

1.6 Optinės termometrijos principai

Temperatūra – neabejotinai vienas svarbiausių fundamentinių fizikinių parametru, dažnai matuojamas daugelyje mokslo sričių. Nuo seno žinomų konvencinių termometrijos įrankių (skysčių termometrai ar metalų termoporos) panaudojimas tampa ribotas, kai kalbame apie aukštos laikinės arba erdvinės skyros matavimus. Tokiais atvejais pranašesni tampa nekontaktiniai, optiniai termometrijos metodai: Relėjaus sklaidos, Ramano sklaidos ar magnetinio rezonanso vaizdinimo termometrija – tai tik keletas pavyzdžių. Visi optinės termometrijos metodai yra skirstomi į pasyvius, kuomet naudojama tik pačių bandinių spinduliuotė (pvz. IR vaizdinimas), ir aktyvius, kai naudojamas papildomas šviesos šaltinis, dažniausiai lazeris, bandinių sužadimui [45].

Didelio mokslinės bendruomenės susidomėjimo sulaukė liuminescenciniai (fluorescencijos, fosforescencijos ir kt.) temperatūros vaizdinimo metodai. Šių metodų esmė – liuminescuojančių molekulinų junginių, nanodalelių ar nanoklasterių, įterptų į tiriamąją terpę, optinio atsako registravimas. Bendriausiu atveju liuminescencinės termometrijos metodai gali būti suskirstyti į 8 pav. pateiktoje diagramoje pavaizduotus poklasius.

Literatūroje randama informacijos apie eksperimentinius bandymus pritaikyti dešimtis skirtingų medžiagų, kiekvienam iš galimų liuminescencinės termometrijos metodų. Per kelis dešimtmečius išstirtų liuminoforų savybės susistemintos ir detalios pateikiamos apžvalgiuose straipsniuose [45,47,48]. Liuminescencinei termometrijai tinkamos medžiagos apima organinius molekulinus junginius, lantanoidų kompleksus, kvantinius taškus, liuminescuojančius metalų nanoklasterius, dažais legiruotas nanodaleles, DP nanodaleles, organinius nano-gelius ir kt. [45]. Kiekviena šių medžiagų grupių, pasižymi savitais privalumais ir trūkumais. Pavyzdžiui organiniai molekuliniai junginiai pasižymi aukštu kvantiniu našumu, bet veiksmingi tik siaurame temperatūrų intervale, priešingai nei įvairios nanodalelės, kurios gali detektuoti ir aukštas temperatūras, tačiau tipiška jų kvantinis našumas neviršija kelių procentų. Detalus šių metodų palyginimas neabejotinai yra atskiro darbo objektas, tad šiame skyriuje plačiau apžvelgsime tik



8 pav. Analizės metodai liuminescencinėje termometrijoje [46].

dvi medžiagas, kurios bus naudojamos šio tiriamojo darbo apimtyje. Svarbu akcentuoti tik tai, kad pasirenkant eksperimentui tinkamą temperatūrai jautrų legirantą, be jau paminėtų apribojimų, labai svarbu atsižvelgti ir į tirpiklių suderinamumą, dalelių geometrinius matmenis (tai apsprendžia maksimalią įmanomą matavimo erdvinę skyrą), žadinimo ir emisijos bangos ilgį (ypač aktualu kai legiruojamoms sugeriančios ar fluorescuojančios medžiagos) ir kitas savybes.

1.6.1 Jaučio serumo albuminu stabilizuoti aukso nanoklasteriai

Pirmieji bandymai panaudoti jaučio serumo albuminą (JSA) kaip stabilizuojantį agentą, apsaugantį aukso nanoklasterius (Au NK) nuo agregacijos vandeniniuose tirpaluose, atlikti prieš keletą metų [49]. Pastaruoju metu plačiai tyrinėjamos jaučio serumo albuminu stabilizuotų aukso nanoklasterių (JSA-Au NK) optinės savybės dėl potencialaus šių nanodalelių taikymo biomedicinoje. Šio tipo nanodalelės gali būti panaudojamos kaip fluorescenciniai ar daugiafunkciai žymenys, jutikliai ar terapiniai agentai [50].

JSA-Au NK tai 25-ių aukso atomų dariniai, apsupti JSA baltymo molekule [49]. Hidrodinaminis JSA-Au NK dalelių dydžio pasiskirstymas yra 8-11 nm, o tikėtiniausias dalelės dydis – 9,4 nm. Paties aukso nanoklasterio, sudaryto iš 25 atomų, diametras apytiksliai lygus 1,3 nm [50].

Šviežiai susintetinti JSA-Au NK tirpalai turi dvi fluorescencijos juostas regimajame diapazone: šių juostų fluorescencijos maksimumai stebimi ties 468 nm ir 660 nm bangos ilgiais. Fluorescencija raudonoje spektro srityje stebima dėl aukso nanoklasterių, tuo tarpu fluorescencija trumpabangėje srityje siejama tik su albumino molekule – atlikti gryno JSA vandeninio tirpalo spektriniai matavimai rodo silpną fluorescenciją ties 470 nm [50]. Literatūroje pateikiama optimaliai susintetinto JSA-Au NK tirpalo fluorescencijos kvantinio našumo vertė ~ 6% [51], tačiau kvantinis našumas labai priklauso nuo sintezei naudojamų medžiagų koncentracijų pa-

rinkimo ir temperatūros, vykdamas sintezės reakciją. Optimali JSA-Au Nksintezės temperatūra – 37°C, o tiek mažesnėje, tiek didesnėje temperatūroje sintetinami nanoklasteriai pasižymi tik < 1% fluorescencijos kvantiniu našumu [49].

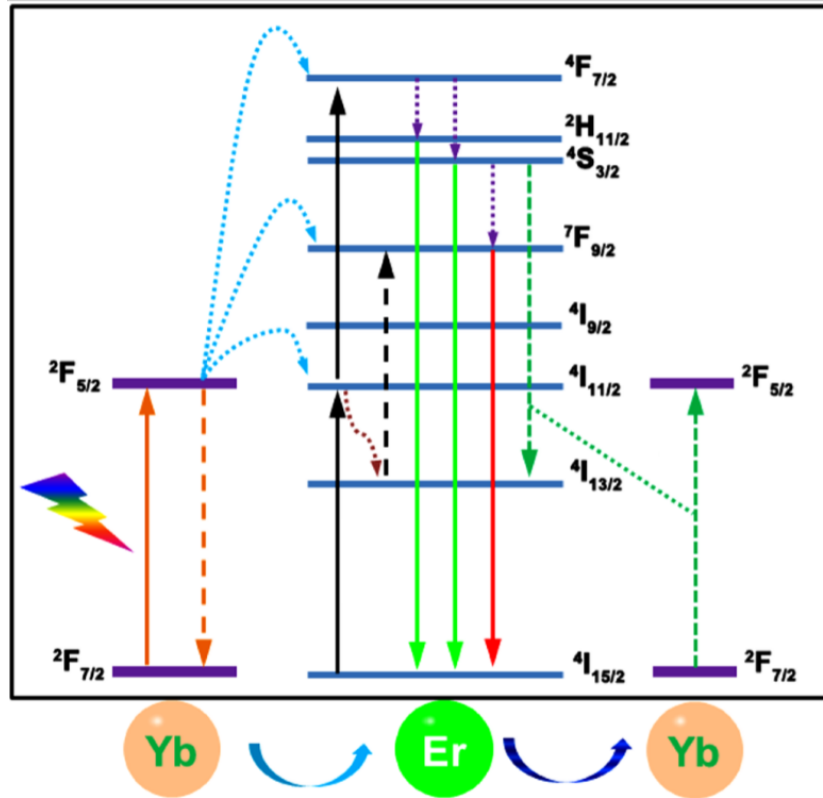
Eksperimentiškai nustatyta, jog JSA-Au NK nedegraduoja kaitinant bent iki 65°C, tačiau baltymas patiria tam tikrus struktūrinius pokyčius, kurie ir lemia šių darinių fluorescencinio atsako kitimą (fluorescencijos maksimumo spektrinis poslinkis) didėjant baltymo aplinkos temperatūrai. Be to, šie pokyčiai yra grįžtamieji, todėl galimas tokių nanoklasterių panaudojimas temperatūros indikavimo taikymams [50]. Pagal 8 pav. pateiktą klasifikaciją, šie legirantai leidžia vaizdinti temperatūros pokyčius apjungiant abu integruotos trukmės, vienos spektrinės juostos metodus – tiek integrinio intensyvumo, tiek ir spektrinio poslinkio.

1.6.2 Retųjų žemių jonais legiruotos dvipakopio perspinduliavimo nanodalelės

Dvipakopis perspinduliavimas – tai daugiafotonis procesas, kurio metu dviejų (dažnai) Yb^{3+} jonų sugerta mažos fotonų energijos (NIR spektro) spinduliuotė sužadina vieną retųjų žemių trivalentį joną (Er^{3+} , Tm^{3+} , Ho^{3+}), kuris išspinduliuoja didesnės energijos fotoną. Supaprastinta Er^{3+} ir Yb^{3+} jonų energijos lygmenų diagrama ir dvipakopio perspinduliavimo procese dalyvaujantys energijos perėjimai pavaizduoti 9 pav. [52]. DP ND liuminescencijos spektras visuomet turi bent dvi termiškai surištas emisijos juostas, kurių intensyvumų santykis priklauso nuo temperatūros ir gali būti aprašomas Bolcmano tipo skirstiniu [52–55]. Prisimenant ankstesniame skyriuje pateiktą optinės termometrijos metodų skirstymą, akivaizdu, kad DP ND panaudojimas priskirtinas prie integruotos trukmės, dviejų spektrinių juostų metodų grupės.

Dvipakopiškai perspinduliuojančios nanodalelės gali būti sintetintos įvairių matmenų: nuo kelių nm iki $\sim\mu\text{m}$ eilės. Atlikti eksperimentai rodo, kad charakteringas DP nanodalelių liuminescencijos spektras mažai kinta, keičiantis ND dydžiui 1-10 μm intervale [54]. Tačiau dėl paviršiaus defekto, mažos nanodalelės turi žemesnį kvantinį našumą. Todėl tinkamo ND dydžio pasirinkimas – kompromisas tarp aukojamos erdvinės matavimo skyros ir registruojamo signalo stiprio.

2016 m. pasirodė mokslinės publikacijos apie Er^{3+} legiruotos NaYbF_4 matricos panaudojimą DP nanodalelių gamybai. Ši matrica pasižymi maža gardelės fononų energija, todėl apribojama nespindulinių šuolių tikimybė ir taip padidinamas DP ND kvantinis našumas. Didelė Yb^{3+} jonų, kaip DP reakcijos jautriklis, koncentracija, taip pat teigiamai veikia nanodalelių spektines savybes [52]. Būtent NaYbF_4 matricos pagrindu susintetintos DP ND bus naudojamos šio darbo eksperimentuose.

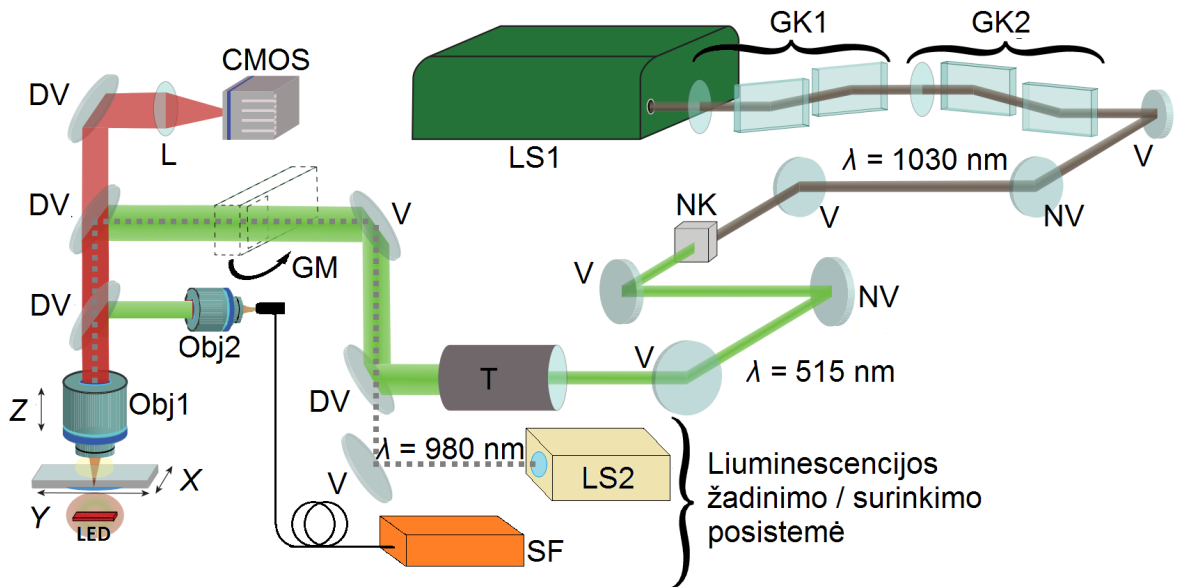


9 pav. Supaprastinta Er^{3+} ir Yb^{3+} jonų energijos lygmenų diagrama, vaizduojanti dvipakopiame perspinduliavime dalyvaujančius perėjimus [52].

2 Eksperimentų metodika

2.1 Modifikuota tiesioginio lazerinio rašymo sistema

Šiame darbe aprašomi polimerinių mikrodarinių formavimo eksperimentai atlikti naudojant Vilniaus Universiteto Lazerinių tyrimų centro Lazerinės nanofotonikos laboratorijoje esančią TLR sistemą. Temperatūrai jautrių nanokompozitų liuminescencinio atsako *in-situ* polimerizacijos metu tyrimams atlikti, sistema papildyta liuminescencijos žadinimo / surinkimo posisteme. Tokia optinė schema įgalino registruoti optinį polimerizuojamos medžiagos atsaką iš fokusuojančio objektyvo židinio zonos lazerinio struktūravimo metu, bendraaiškai lazerio pluoštui. Principinė modifikuotos tiesioginio lazerinio rašymo sistemos optinė schema pavaizduota 10 pav.



10 pav. Principinė modifikuotos TLR sistemos optinė schema. Schemoje panaudoti sutrumpinimai: $LS1$, $LS2$ – lazeriniai šaltiniai, $GK1$, $GK2$ – spinduliuotės galios keitikliai, V – veidrodžiai, NV – nuimami veidrodžiai, NK – netiesinis II harmonikos kristalas, T – teleskopas, GM – galios matuoklio sensorius, DV – dichroiniai veidrodžiai, L – fokusuojantis lęšis, $CMOS$ – kamera, $Obj1$ – imersinis objektyvas, $Obj2$ – objektyvas, LED – diodinis šviesos šaltinis, XYZ žymi bandinio transliavimo koordinačių ašis.

Pagrindinis TLR sistemos elementas yra femtosekundinis, sinchronizuotų modų režime veikiantis, diodais kaupinamas kieto kūno lazeris "Pharos" (*Šviesos konversija, Lietuva*). Šio lazerio aktyvusis elementas yra Yb:KGW kristalas, o centrinis fundamentinės spinduliuotės bangos ilgis $\lambda_f = 1030$ nm. Lazeris generuoja $\tau_{imp} < 300$ fs trukmės impulsus, kurių pasikartojimo dažnis gali būti reguliuojamas 1-200 kHz ribose [56]. Šiame darbe aprašomi eksperimentai buvo atliekami naudojant tiek fundamentinę, tiek antrosios harmonikos spinduliuotę ($\lambda_{IIh} = 515$ nm),

kuri generuojama II harmonikos netiesiniame kristale, esančiame atskiroje optinės sistemos šakoje. Spinduliuotė į šią atšaką atvedama nuimamais NV veidrodžiais.

Lazerio vidutinė galia, naudojama fotopolimerų eksponavimui, nustatoma dviejų pakopų galios keitikliais. Pirmoji galios keitiklio pakopa $GK1$, sudaryta iš rankiniu būdu sukamos $\lambda/2$ fazinės plokštelės ir Briusterio kampo poliarizatoriaus, naudojama apytiksliam į optinę sistemą patenkančio pluošto vidutinės galios nustatymui. Antroji galios keitiklio pakopa $GK2$, sudaryta iš $\lambda/2$ fazinės plokštelės, patalpintos kompiuteriu valdomame rotatoriuje, ir Briusterio kampo poliarizatoriaus, skirta tiksliam vidutinės galios paderinimui lazerinio formavimo metu. Automatinis galios kalibravimas yra atliekamas į lazerio pluošto kelią patalpinant galios matuoklio sensorių GM, o struktūravimo metu vidutinė galia nėra registruojama. Pluošto fokusavimui tiriamojo polimero tūryje naudoti $NA = 1,4$ imersinis ir $NA = 0,8$ objektyvai. Siekiant užtikrinti, kad pluoštas maksimaliai užpildytų fokusuojančio objektyvo apertūrą, pluošto kelyje taip pat sumontuotas 2x didinantis teleskopas T . Po stiklinio padėklo su bandiniu tvirtinimo vieta įrengtas diodinis šviesos šaltinis (LED), o bendraašis apdirbimo proceso vaizdinimas atliekamas $CMOS$ kamera.

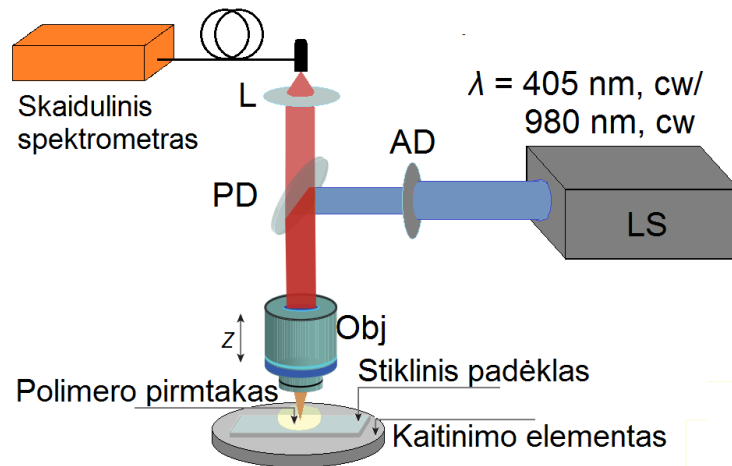
Struktūrinamo bandinio transliavimui atžvilgiu lazerio pluošto sąsmaukos XY plokštumoje naudojami submikrometrinio tikslumo pozicionavimo stalai ANT130-110 (*Aerotech, JAV*) su tiesinių variklių pavaromis. Transliavimas Z ašyje atliekamas pozicionuojant fokusuojantį objektyvą. Tam naudojamas ANT130-60 pozicionavimo stalas. Tokia pozicionavimo sistema užtikrina $+/-75$ nm pozicijos atsikartojamumą kiekvienoje ašyje ir leidžia transliuoti bandinius maksimaliu 300 mm/s greičiu [57]. Ši TLR sistema yra automatizuota, valdoma komerciškai prieinamu programinės įrangos paketu "3DPoli" (*Femtika, Lietuva*).

Bendraašio liuminescencijos žadinimo / surinkimo sistema susideda iš skaidulinio spektrometro *Avantes AvaSpec-3648*, į kurią optinis signalas atvedamas 200 μm diametro šviesolaidžiu. Signalas iš polimerizacijos zonos surenkamas tuo pačiu didelės skaitinės apertūros objektyvu. Žadinančio lazerio spinduliuotės filtravimui naudoti spalvotų stiklų atkirtos filtrai, o pluošto įvedimui į šviesolaidį panaudotas 10x mikroskopo objektyvas. Bandiniai su JSA-Au žadinti TLR naudojamo Pharos lazerio spinduliuote ($\lambda_{lth} = 515$ nm), o DP nanodalelių žadinimui naudotas LS2 lazerinis šaltinis (CW, $\lambda = 980$ nm).

2.2 Liuminescencijos žadinimo / matavimo sistema su išorinio kaitinimo elementu

Kalibraciniai optinio atsako registravimo eksperimentai buvo atlikti naudojant išorinį polimerų pirmtakų kaitinimą. Tam tikslui buvo sukonstruota liuminescencijos žadinimo / surinkimo sistema su bandinių kaitinimo elementu. Bendraašio žadinančio pluošto įvedimo ir liuminescencijos signalo surinkimo optinė schema įgyvendinta analogiškai kaip ir modifikuotoje TLR sistemoje. Tačiau šiuo atveju, stiklinis bandinio padėklas yra glaudžiamas prie kaitinimo

elemento, o liuminescencijos žadinimas ir registravimas atliekamas iš skysto bandinio pusės, todėl nėra galimybės naudoti imersinį fokusavimo objektyvą. Šioje schemoje panaudotas 20x $NA = 0,8$ apochromatinis mikroskopo objektyvas. Bandinių žadinimui naudojami $\lambda_1 = 405$ nm arba $\lambda_2 = 980$ nm CW lazeriai. Bandinių kaitinimui panaudotas *ROTH TCR 100* termostatas, veikiantis iki 100°C temperatūros.



11 pav. Principinė liuminescencijos žadinimo / matavimo sistemos su kaitinimo elementu optinė schema. Schemoje panaudoti sutrumpinimai: *LS* – lazerinis šaltinis, *AD* – diafragma, *PD* – pluošto daliklis, *L* – fokusuojantis lęšis, *Obj* – didelės skaitinės apertūros objektyvas.

Kai kur tekste TLR sistema sutrumpintai vadinama *S1*, o liuminescencinio atsako matavimo sistema su bandinių pakaitinimo elementu – *S2*. Dalis matavimų atlikta šviesolaidinį spektrometrą *Avantes AvaSpec-3648* pakeitus į *Ocean Optics QE65000*. Dėl didesnio spektrometro jautrumo ir > 3 kartus geresnio signalo / triukšmo santykio, sistema leido registruoti liuminescencinio atsako dinamiką iki 10 kartų aukštesne laikine skyra.

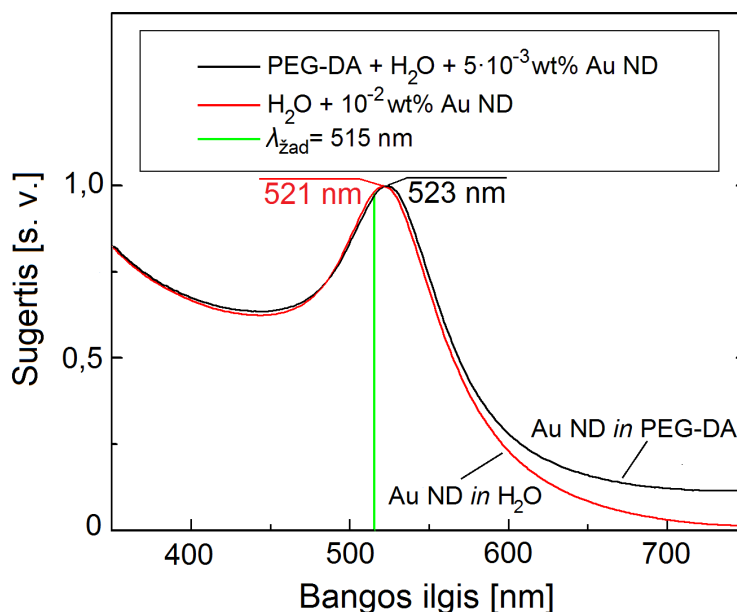
2.3 Panaudotos medžiagos

Au ND fotojautrinti polimerų pirtakai

Eksperimentuose tirtų hidrogelių pirtakų gamybai buvo naudojamas PEG-DA (*Sigma Aldrich, GmbH, Vokietija*) monomerų mišinys, kurio vidutinė molekulinė masė $M_n = 700$. Kaip fotojautrinantis komponentas naudojamas vandeninis Au ND koloidas, stabilizuotas nedideliu kiekiu PEG. Tiriamosios Au ND pagamintos naudojant impulsinės lazerinės abliacijos skystuose (ILAS) technologiją, o jų matmenys svyruoja 5-10 nm ribose. Au ND gamyba ir dydžio charakterizavimas atliktas Eseno technikos universitete (*Vokietija*). Nanodalelių, esančių tirpiklyje bei hidrogelio pirtake, optinės sugerties spektrai pavaizduoti 12 pav. PEG-DA hidrogelio pirtako pagrindu paruošti 5 skirtingomis Au ND koncentracijomis legiruoti fotopolimero

mišiniai (koncentracijos keičiamos $8,5 \cdot 10^{-4} - 5 \cdot 10^{-3}$ wt% ribose). Taip pat pagaminti tokie atraminiai mišiniai:

1. gryno PEG-DA hidrogelio pirmtako vandeninis tirpalas (1:1);
2. PEG-DA, legiruotas 1 wt% Irgacure 369 fotoiniciatoriumi;
3. PEG-DA vandeninis tirpalas (1:1), legiruotas 0,5 wt% Irgacure 369 fotoiniciatoriumi.



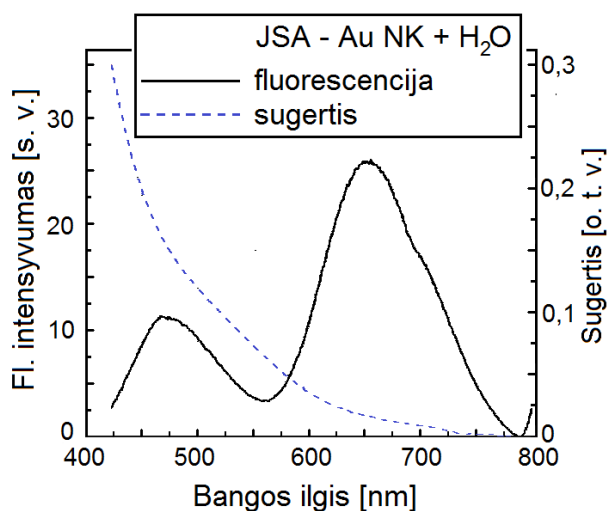
12 pav. Au ND, esančių vandenyje ir PEG-DA-700 hidrogelio pirmtake, sugerties spektrai. Vertikali linija žymi žadinimui naudojamos spinduliuotės bangos ilgį.

Atraminų mišinių analizės prasmė yra tokia: lygindami Au ND legiruotų mišinių polimerizacijos parametrus su atitinkamais parametrais polimerizuojant gryno hidrogelio pirmtako mišinį, galime empiriškai nustatyti medžiagos fotojautrumo kitimą, nulemtą būtent didėjančios tiriamųjų nanodalelių koncentracijos. Kita vertus, turime įvertinti ar mūsų tiriamųjų ND, kaip fotojautrinančiojo priedo, įtaka yra pakankamai didelė, lyginant su žinomais fotoiniciatoriais. Tokiam palyginimui naudosime fotoiniciatorių Irgacure 369, kurio panaudojimas fotopolimerų jautrinimui aptartas ankstesniuose darbuose [30]. Au ND naudojamos mišinių fotojautrinimui yra ištirpintos vandenyje. Taigi, norėdami į monomerų mišinį įterpti tam tikrą kiekį Au ND, neišvengiamai hidrogelio pirmtaką atskiedžiame vandeniui, o legiravimo laipsniui esant $5 \cdot 10^{-3}$ wt% ir didesniai, vandens dalis mišinyje tampa didesnė nei PEG-DA monomerų, o tai neabejotinai keičia eksperimento sąlygas. Dėl šios priežasties, gautus rezultatus mes lyginsime ir su atraminų mišinių vandeniniais tirpalais. Pasirinktas atraminio mišinio ir vandens santykis (1:1) atitinka situaciją, analogišką monomerus legiruojant didžiausia tirta $5 \cdot 10^{-3}$ wt% Au ND koncentracija.

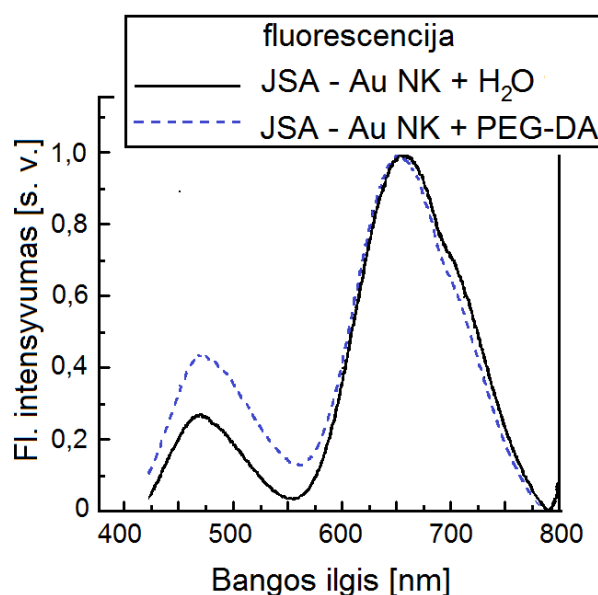
Temperatūrai jautrūs nanokompozitai

Hidrogelio pirmtako funkcionalizavimui, kaip temperatūrai jautrūs legirantai, panaudoti JSA-Au nanoklasteriai. Šių nanoklasterių sintetintinimo ir pirminio charakterizavimo darbai (sugerties ir fluorescencijos spektrų matavimas, ilgalaikio stabilumo matavimas) atlikti Nacionalinio vėžio centro Biomedicininės fizikos laboratorijoje (*Vilnius, Lietuva*). JSA-Au nanoklasterių sintezės procedūra detalai aptarta [49] straipsnyje. Tiriamieji preparatai pagaminti į PEG-DA-700 monomerų mišinį įmaišant vandeninio JSA-Au NK koloido (tikslī nanoklasterių koncentracija nėra žinoma) santykiais 1:1, 1:3 ir 1:10.

Išmatuoti vandeninio JSA-Au NK koloido ir mišinio su PEG-DA fluorescencijos spektrai. Preparato sugerties ir fluorescencijos spektrai pavaizduoti 13 pav. Sugerties spektrams matuoti naudotas *Varian Cary 50* sugerties spektrofotometras. Fluorescencijos spektrų bei stabilumo matavimams naudotas *Varian Cary Eclipse* fluorimetras. Kambario temperatūroje vandeninio JSA-Au NK koloido fluorescencijos intensyvumo maksimumas stebimas ties 657 nm. JSA-Au NK įmaišius į PEG-DA-700 mišinį stebimas nedidelis (1-2 nm) fluorescencijos spektro maksimumo poslinkis į trumpabangę pusę (14 pav.).

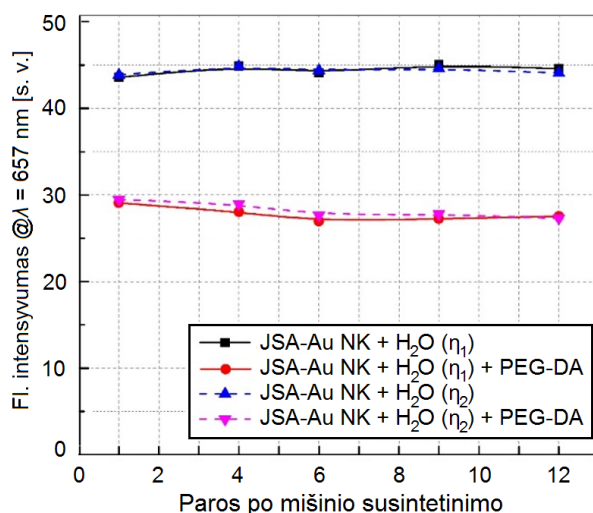


13 pav. Tyrimams naudoto preparato PEG-DA-700 + JSA-Au NK sugerties ir fluorescencijos spektrai (fluorescencija žadinama 405 nm bangos ilgio spinduliuote).



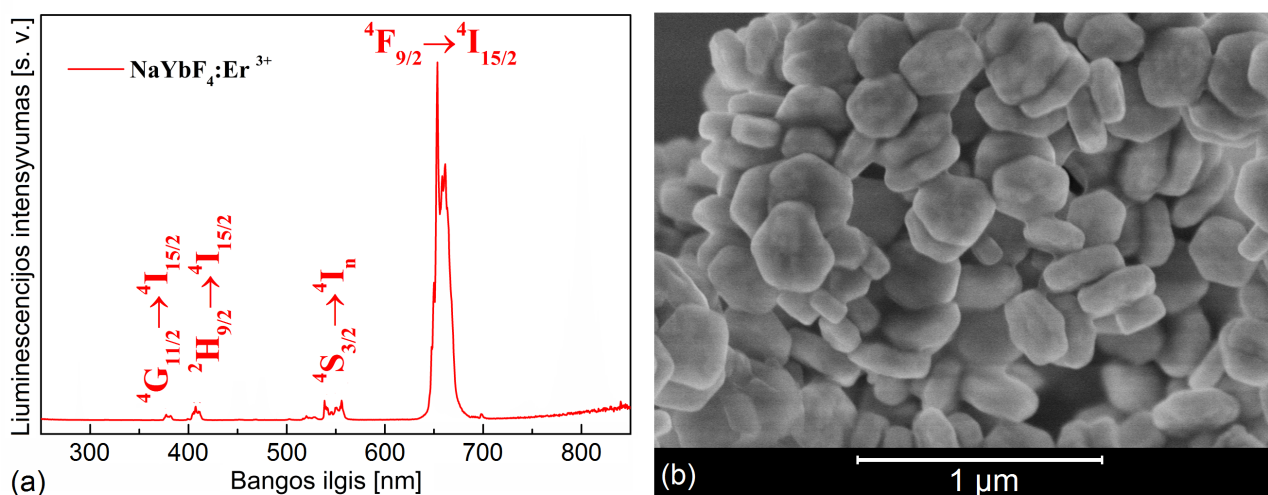
14 pav. Normuotų fluorescencijos spektrų palyginimas JSA-Au NK vandiniame koloido ir mišinyje su PEG-DA-700.

Biomedicininės fizikos laboratorijoje taip pat ištirtas JSA-Au NK koloidų ir jų mišinių su PEG-DA fluorescencijos stabilumas per 12 dienų. 2-4 parų laiko intervalais užregistruotas santykinis fluorescencijos intensyvumo kitimas ties maksimalia ($\lambda = 657$ nm) fluorescencijos intensyvumo verte. Rezultatai pavaizduoti 15 pav. Nustatyta, kad tirtuoju laikotarpiu abiejų preparatų fluorescencijos spektro intensyvumas išlieka pastovus.



15 pav. Tyrimams naudotų preparatų fluorescencijos stabilumas per 12 dienų (Registruotas fluorescencijos intensyvumas ties 657 nm).

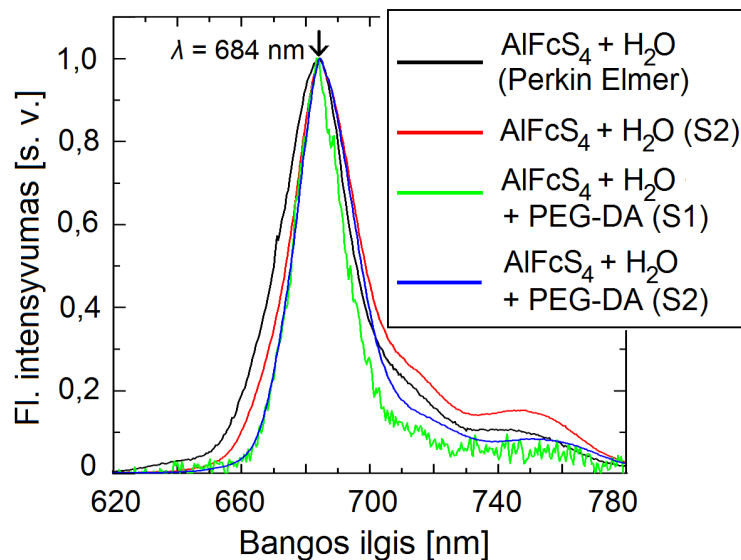
Hibridiniai temperatūrai jautrūs nanokompozitai pagaminti organinį - neorganinį polimero pirmtaką SZ2080 (*FORTH, Graikija*) funkcionalizuojant Chemijos instituto Taikomosios chemijos katedroje (*Vilnius, Lietuva*) susintetintomis ir charakterizuotomis (liuminescencijos registravimas, SEM analizė) monodispersinėmis DP NaYbF₄:Er³⁺ 1% nanodalelėmis. Nanodalelių charakterizavimo miltelių fazėje rezultatai pavaizduoti 16 pav. Nanodalelės, kurių vidutinis dydis 300 x 100 nm, disperguotos tolueno tirpiklyje (koncentracija: 40 mg/ml). Tiriamasis nanokompozitas pagamintas maišant SZ2080 su DP ND koloidu santykiu 3:1, taip užtikrinant, kad išgarinus tirpiklius, vidutinis ND pasiskirstymas bus $\geq 2 \mu\text{m}^{-3}$.



16 pav. Dvipakopiškai perspinduliuojančių NaYbF₄:Er³⁺ nanodalelių charakterizavimas miltelių fazėje: (a) liuminescencijos spektras ($\lambda_{ex} = 980 \text{ nm}$); (b) SEM atvaizdas.

Liuminescencijos žadinimo / surinkimo optinių sistemų, naudotų *in-situ* temperatūros polimerizacijos metu matavimams, kalibravimui susintetinti atraminiai preparatai. Tam panaudotas fluorescencinėje navikų terapijoje plačiai naudojamo fotosensibilizatoriaus aliuminio ftalocianino tetrasulfonato (AlFcs_4) vandeninis tirpalas (koncentracija $\sim 10^{-5}$ mol L^{-1}), bei šio vandeninio tirpalo ir monomerų PEG-DA-700 mišinys. AlFcs_4 fotosensibilizatorius pasižymi dideliu energijos pernašos į tripletinę būseną kvantiniu našumu, bei aukštu fluorescencijos stabilumu [58].

Sistemų kalibravimui naudoto preparato fluorescencijos spektras užregistruotas Lazerinių tyrimo centro biofotonikos laboratorijoje esančiu fluorimetru *Perkin Elmer LS55* ir lygintas su tyrimams naudotose S1 ir S2 sistemose integruota liuminescencijos registravimo sistema skaidulinio spektrofotometro pagrindu. Tipiniai šiomis sistemomis registruoti aliuminio ftalocianino tetrasulfonato fluorescencijos spektrai, sunormuoti į fluorescencijos intensyvumo maksimumą, pavaizduoti 17 pav. Visais atvejais užregistruotų fluorescencijos spektrų maksimumai stebėti ties 684 nm bangos ilgiu.



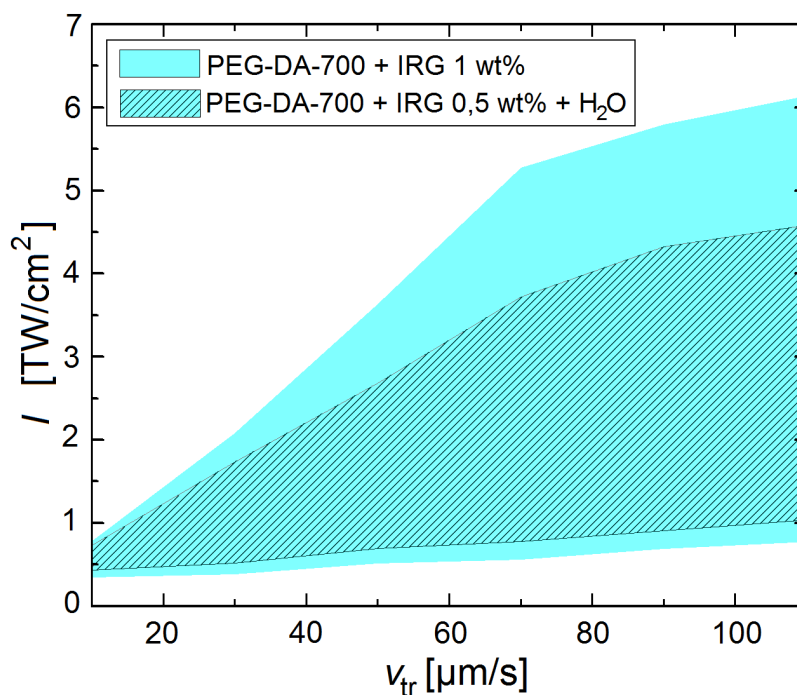
17 pav. Tyrimams naudojamomis sistemomis S1 ir S2 užregistruoti AlFcs_4 vandeninių tirpalų ir mišinių su PEG-DA fluorescencijos spektrai, sunormuoti į fluorescencijos intensyvumo maksimumą.

Fotopolimerų bandiniai 3DLL tyrimams paruošiami mišinį užlašinant ant 150 μm storio stiklinio padėklo, kuris vakuuminio būdu tvirtinamas prie TLR sistemos pozicionavimo stalo. Hidrogeliniais bandiniais jokios tarpinės paruošimo procedūros nebuvo atliekamos. SZ2080 pagrindu pagaminti nanokompozitai buvo kaitinami nemažiau 120 min kaitinimo temperatūrą didinant iki 110°C. Po 3DLL formavimo, dariniai ryškinti iki 30 min Petri lėkštutėse kaip tirpiklius naudojant distiliuotą vandenį (PEG-DA) ir izopropanolį (SZ2080).

3 Eksperimentų rezultatai

3.1 Vandens įtaka hidrogelių polimerizavimui

Kaip buvo minėta 2.3 skyriuje, tiriamieji hidrogelių pirmtakai buvo sintetinami į monomerų mišinius įmaišant tam tikrą kiekį Au ND vandeninio koloido. Vanduo yra naudojamas ir kaip tirpiklis suformuotų darinių ryškinimui, todėl prieš pradėdant Au ND legiruoto PEG-DA polimerizacijos tyrimus, siekta išsiaiškinti ar vanduo hidrogelių pirmtakų sudėtyje neturi kritinės įtakos polimerizacijos inicijavimo vyksmui ir ar tokiam fotopolimere 3DLL metodu suformuoti dariniai yra mechaniškai stabilūs po ryškinimo proceso. Šiam tyrimui buvo naudojami du fotopolimero mišiniai: PEG-DA fotoautrintas 1 wt% IRG 369 fotoiniciatoriumi bei tas pats mišinys atskiestas vandeniu santykiu 1:1. Abiejų fotopolimerų mišinių tūryje buvo struktūrinami 1 priede aprašyti raiškos tiltai, keičiant ekspozuojančio lazerio vidutinę galią ir linijinį transliavimo greitį. Apskaičiuotos polimerizacijos bei perekspozavimo intensyvumo slenkstinės vertės. Apibendrinti rezultatai pavaizduoti grafiškai 18 pav.

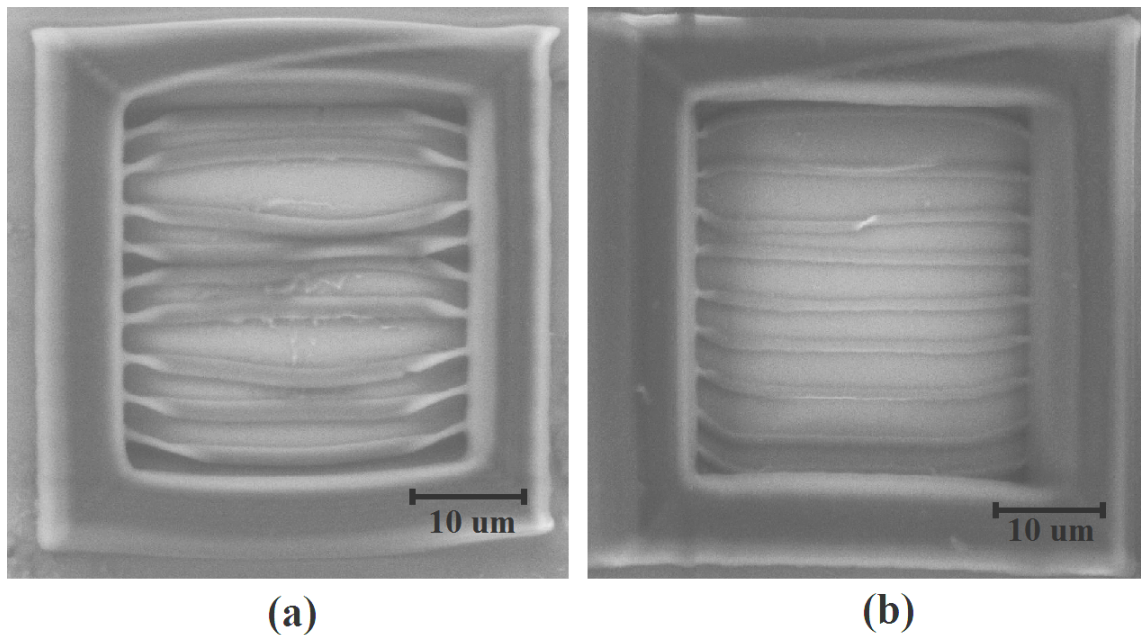


18 pav. PEG-DA, legiruoto IRG 369 fotoiniciatoriumi, bei šio mišinio vandeninio tirpalo (1:1) polimerizacijos proceso langas.

Matome, kad PEG-DA + 1 wt% IRG + H $_2$ O mišinyje polimerizacijos reakcija inicijuojama esant didesniai (iki 25%) ekspozavimo intensyvumui. Tokį rezultatą galima paaiškinti taip: vandeninio tirpalo atveju lazeriu ekspozuojamame erdvės segmente yra mažiau monomerų galinčių jungtis į polimerinę grandinę, dėl to kritinis jungčių skaičius, reikalingas suformuoti mechaniškai stabilų polimerą, pasiekiamas arba ekspozuojant didesnio intensyvumo spindu-

liuote arba ilgesnį laiką. Esant mažiems bandinio transliavimo grečiams, ribinės polimerizacijos lango vertės skiriasi nežymiai. Didinant transliavimo greitį, mikro burbulų formavimasis mišinyje, turinčiame vandens, prasideda esant mažesniai eksponavimo intensyvumui, nei gryno PEG-DA monomerų fotojautrinto mišinio atveju. Toks efektas gali būti nulėmtas spinduliuotės daugiafotonės sugerties vandenyje ir lokaliu vandens išgarinimu dar nepasiekus polimero optinio pramušimo slenksčio.

Gautuosius rezultatus patvirtina ir išryškintų 3D darinių SEM analizė. Suformuotų naudojant tapačius eksponavimo parametrus ($I = 0,7 \text{ TW/cm}^2$, $v_{tr} = 50 \text{ } \mu\text{m/s}$) darinių SEM atvaizdai pavaizduoti 19 pav.



19 pav. 3DLL būdu suformuotų darinių skirtinguose fotopolimero mišiniuose SEM atvaizdai: (a) PEG-DA-700 + 1 wt% IRG 369; (b) PEG-DA-700 + H₂O + 0,5 wt% IRG 369. Eksponavimo parametrai: $I = 0,7 \text{ TW/cm}^2$; $v_{tr} = 50 \text{ } \mu\text{m/s}$.

Matome, kad dėl aukštesnio slenkstinio polimerizacijos intensyvumo vandeniniame monomerų mišinyje, formuojamų gijų vokseliai yra mažesnių tiek skersinių tiek išilginių matmenų. Išanalizavus > 20 skirtingais eksponavimo parametrais suformuotų darinių abiejuose fotopolimeroose, nepastebėta jokių esminių struktūrinių defektų (mikro įtrūkimų ar kt.), kurių atsiradimas leistų daryti prielaidą apie nepakankamą šių darinių mechaninį stabilumą.

Nustatyta, kad fotopolimero, kurio sudėtyje yra vandens, polimerizacijos proceso langas yra siauresnis lyginant su analogiškos cheminės sudėties fotopolimero, bet be vandens. Taip pat eksperimento metu pastebėta, kad iš vandeninių fotopolimerų tirpalų formuojant 3D darinius, tokių darinių sukibimas su padėklu yra silpnesnis kitoms eksperimento sąlygoms nekintant. Vandenyje ryškinant tiriamuosius bandinius, vandeninio fotopolimero atveju buvo nuplaunama iki 40% suformuotų darinių, tuo tarpu visi dariniai suformuoti gryname fotopolimere, ryškini-

mo metu išsilaikė ant stiklinio padėklo. Nepaisant šių, polimerizacijos procesą apsunkinančių veiksnių, galime padaryti išvadą, kad 3D darinių įrašymas fotopolimeruose, kurių sudėtyje yra iki 50% vandens ir tokių darinių išryškėjimas yra techniškai įmanomas.

3.2 Polimerizacijos ir optinio pramušimo slenksčių nustatymas Au ND legiruotuose fotopolimeruose

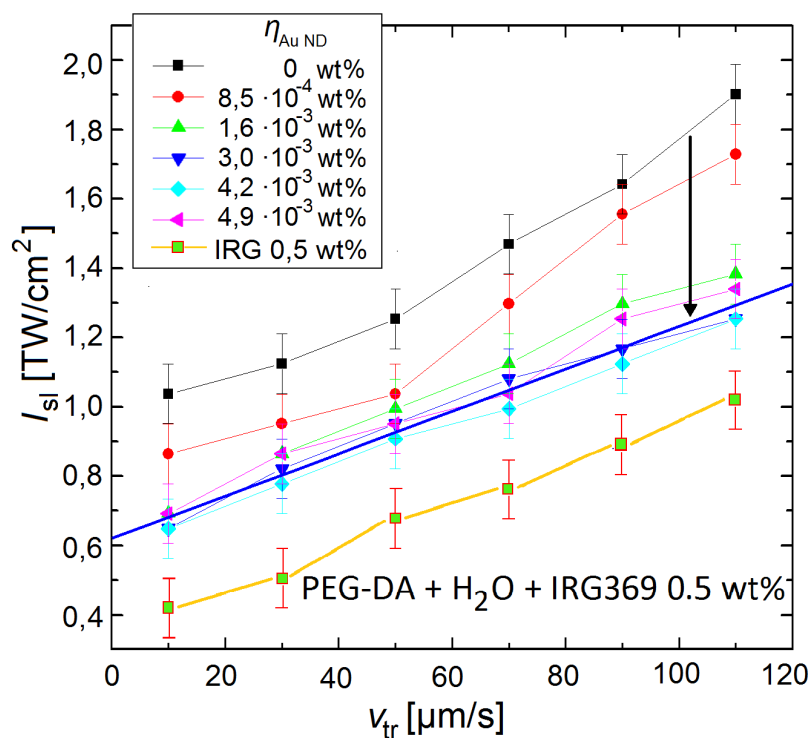
Atlikti eksperimentai siekiant nustatyti polimerizacijos bei optinio pramušimo slenkstines intensyvumo vertes Au ND fotojautrintiems fotopolimerams. Prepolimero tūryje tarp standžių atramų, skirtingais transliavimo greičiais, buvo įrašomos lygiagrečios gijos. Formavimas pradėdamas nustatant žemą lazerio vidutinę galią, kuri didinama ($\Delta P = 5 \mu\text{W}$ žingsniu) formuojant kiekvieną kitą darinį. Užregistruojamos charakteringos vidutinės eksponavimo galios: P_{sl} , kuriai esant stebimos kontrastingos polimerizuotos sritys ir $P_{o.p.}$, kurią pasiekus, stebimas burbulo formavimasis. Visais atvejais gijų įrašymas atliekamas vienu eksponuojančio pluošto praėjimu, taip minimizuojant termoakumuliacinių reiškinių įtaką slenkstiniams parametrų.

Apibendrinti polimerizacijos ir optinio pramušimo slenksčių matavimo rezultatai pavaizduoti grafiškai 20 ir 21 pav. Slenkstinės eksponavimui naudojamo lazerio intensyvumo vertės perskaiciuotos naudojant 13 formulę:

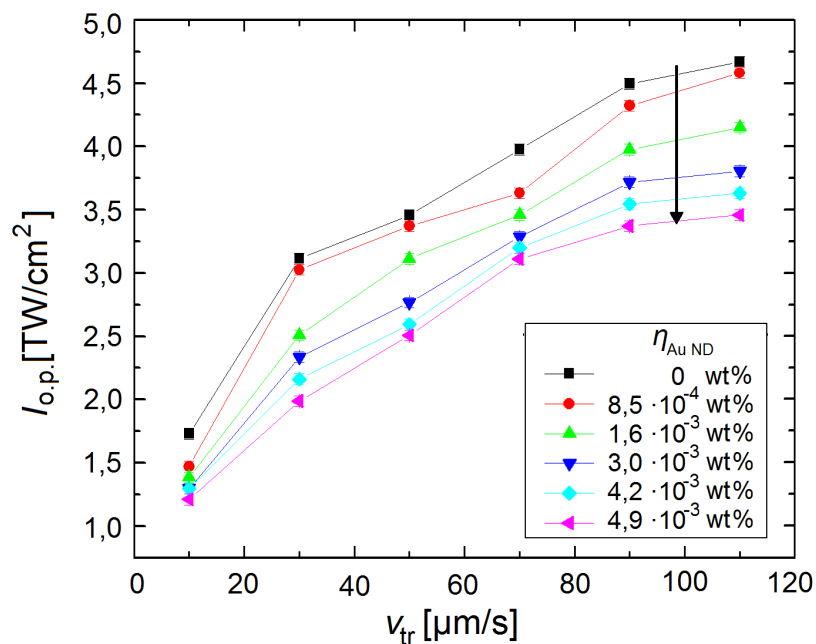
$$I = \frac{2PT}{fw^2\pi\tau}; \quad (13)$$

čia P – vidutinė lazerio galia, T – objektyvo pralaidumas, f – impulsų pasikartojimo dažnis, w – pluošto radiusas sąsmaukoje, τ – lazerio impulso trukmė. Pluošto radiusas sąsmaukoje randamas iš sąryšio $w = 0,61M^2\lambda/NA$, eksperimentams naudoto objektyvo $NA = 1,4$.

Laikome, kad tokio charakterizavimo metodo paklaida nustatant I_{sl} lygi $4 \cdot \Delta P$, o tai atitinka $\delta I = \pm 0,09 \text{ TW/cm}^2$. Optinio pramušimo slenksčio matavimo atveju polimero tūryje formuojasi burbulas, todėl nustatyti kada įvyksta optinis polimero pramušimas galima daug objektyviau. Be to, eksponavimo intensyvumo vertės, kurioms esant stebimas burbulo formavimasis, gerai atkartojamos formuojant gijas skirtingose fotopolimero vietose. Dėl šių priežasčių laikysime, kad $I_{o.p.}$ registruojame dviejų galios didinimo intervalų ($\delta I = \pm 0,045 \text{ TW/cm}^2$) tikslumu. Iš 20 pav. pateikto grafiko matome, kad PEG-DA legiravimas Au ND keičia mišinio fotojautrumą. Legiravimo Au ND koncentracijai pasiekus $\eta_{AuND} = 3 \cdot 10^{-3} \text{ wt\%}$, fotojautrumo kitimas tampa nebeišskiriamas paklaidų ribose. Šiuo atveju kiekybiškai galime kalbėti tik apie vidutinę polimerizacijos slenksčio vertę ištirtame legiravimo Au ND koncentracijų intervale $\eta_{AuND} [3 \cdot 10^{-3}; 5 \cdot 10^{-3}] \text{ wt\%}$ (grafike pavaizduota stora mėlyna linija), kuri yra 25-35% (priklausomai nuo transliavimo greičio) žemesnė lyginant su polimerizacijos slenksčiu grynam PEG-DA monomerų mišiniui.



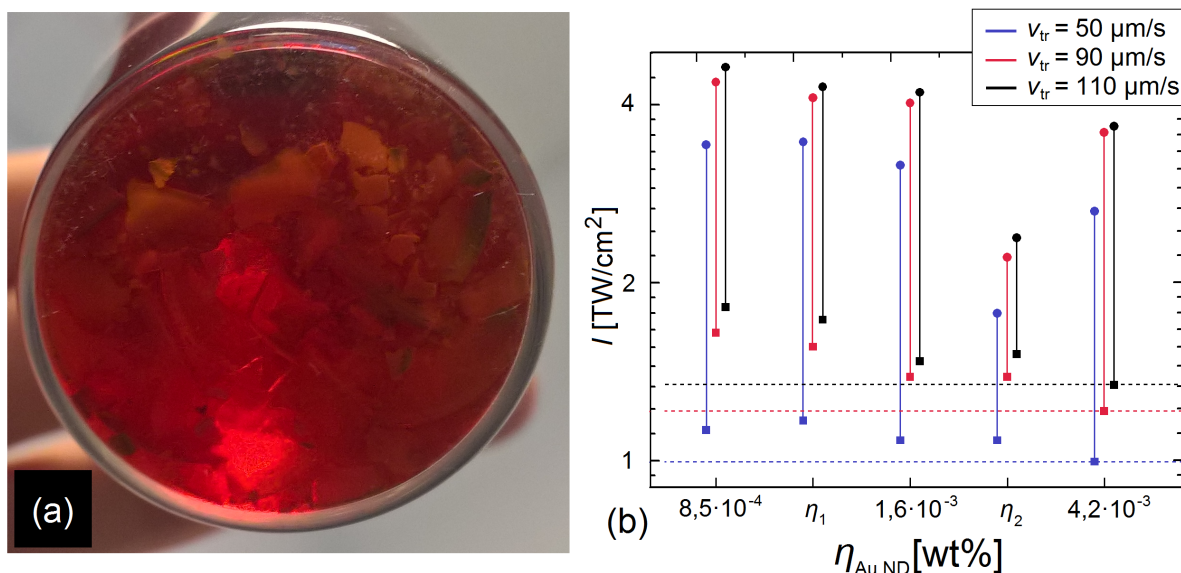
20 pav. PEG-DA-700 monomerų mišinių, legiruočių skirtingomis Au ND koncentracijomis, polimerizacijos slenksčiai.



21 pav. PEG-DA-700 monomerų mišinių, legiruočių skirtingomis Au ND koncentracijomis, optinio pramušimo slenksčiai.

3.3 Koloidinio Au ND stabilumo įvertinimas

Tiriamąjį darbo eigoje pastebėta, jog fotojautrių mišinių sintezei nepanaudotame Au ND vandeniniame tirpale susiformavo kietos, vandenyje netirpios nuosėdos (22 (a) pav.). Tai paskatino atlikti papildomus fotojautrintų mišinių polimerizacijos slenksčių matavimus, siekiant iširti Au ND koloidinį stabilumą mišiniams senstant.



22 pav. (a) Kietos, vandenyje netirpios nuosėdos vandeniniame Au ND koloide; (b) Au ND fotojautrintų PEG-DA monomerų mišinių slenkstinės formavimo lango vertės priklausomai nuo lazerinio rašymo greičio.

Eksperimentui pasirinktas fotopolimero mišinys pagamintas prieš 60 dienų, kuriame pradinė Au ND koncentracija buvo $4,2 \cdot 10^{-3}$ wt%. Ankstesnių tyrimų, aprašytų 3.2 skyriuje, metu nustatyta, kad būtent šio mišinio fotojautrumas buvo didžiausias praėjus 5 dienoms po sumaišymo, o išmatuotas slenkstinis polimerizacijos intensyvumas $0,5 \text{ TW/cm}^2$ žemesnis, lyginant su nefotojautrinto atraminio mišinio polimerizacijos slenksčiu, kai $v_{tr} = 50 \mu\text{m/s}$. Kadangi eksperimento atlikimo metu Au ND koncentracija nėra žinoma, žymėsime ją η_1 . Palyginimui paruoštas dar vienas fotopolimero mišinys PEG-DA-700 sumaišant su Au ND vandeniniu koloide, ekvivalenčiomis komponentų proporcijomis, panaudotomis ruošiant pirmąjį mišinį. Šis Au ND vandeninis koloidas buvo laikomas kambario temperatūroje > 60 dienų po nanodalelių pagaminimo ILAS būdu. Kadangi Au ND koncentracija vandeniniame koloide taip pat tapo nežinoma, naujo fotopolimero legiravimo laipsnį žymėsime η_2 .

Išmatuotos abiejų mišinių polimerizacijos ir optinio pramušimo slenksčių vertės esant skirtingiems lazerinio rašymo greičiams pavaizduotos grafiškai 22 (b) pav. Palyginimui, grafike pateikiamos ir kitų žinomų koncentracijų fotopolimerų slenkstinės formavimo lango vertės. Punktyrinės linijos rodo šiame kontekste laikomo etaloniniu $4,2 \cdot 10^{-3}$ wt% Au ND legiruoto

PEG-DA mišinio polimerizacijos slenksčius.

Nustatyta, kad abiejų tiriamųjų mišinių polimerizacijos lango slenkstinės vertės išaugo: tiriamajam mišiniui η_1 : $\delta I_1 = 0,17 \text{ TW/cm}^2$ ir $\delta I_2 = 0,09 \text{ TW/cm}^2$ mišiniui η_2 . Iš 22 (b) pav. matome, kad šios slenkstinių eksponavimo intensyvumų vertės gerai sutampa su anksčiau ištirtų fotopolimerų, legiruotų $8,5 \cdot 10^{-4} \text{ wt\%}$ bei $1,6 \cdot 10^{-3} \text{ wt\%}$ Au ND slenkstinių polimerizacijos intensyvumų vertėmis. Tokie rezultatai leidžia įvertinti, kad Au ND koncentracija vandeniniame tirpiklyje sumažėjo apie 2,5 karto, o PEG-DA monomerų mišinyje – net 5 kartus.

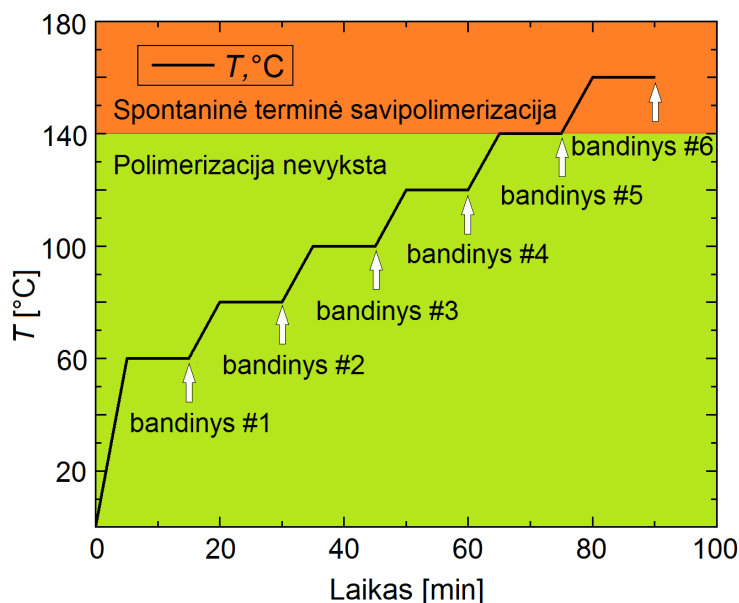
Surinktų eksperimentinių duomenų nepakanka, kad būtų galima pagrįstai įvertinti koks tiksliai yra Au ND koncentracijos kitimo vandeniniame tirpiklyje bei PEG-DA monomerų mišinyje mechanizmas. Tikėtina, kad pirmiausia nuosėdas formuoja didžiausios masės nanodalelės, o lengviausios išlaiko homogeninį pasiskirstymą mišinio tūryje ilgesnį laiką. Vistik, gautieji rezultatai aiškiai parodo, kad Au ND legiruoto hidrogelio pirmtako fotojautrumas pastebimai mažėja priklausomai nuo laiko, praėjusio po mišinių susintetinimo. Atliekant tolimesnius tyrimus, didelis dėmesys turi būti skiriamas optimalių nanodalelių laikymo sąlygų nustatymui arba kitų ND stabilizavimo būdų paieškai.

3.4 Polimero pirmtako spontaninės polimerizacijos tyrimas

Atliktas eksperimentas, siekiant nustatyti ar PEG-DA-700 monomerų mišinys gali būti polimerizuojamas veikiant tik išoriniam temperatūros šaltiniui. Eksperimentui buvo paruošti 6 gryno PEG-DA-700 monomerų mišinio bandiniai, užlašinant po 15 μl mišinio ant skirtingų dengiamųjų stikliukų. Visi bandiniai buvo patalpinti į kaitinimo krosnį, kuri užprogramuota 23 pav. pavaizduotu temperatūriniu režimu.

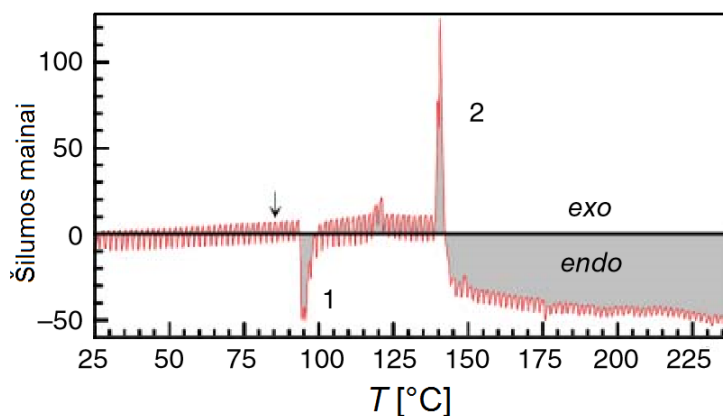
Kiekvienas bandinys buvo įkaitintas iki vis aukštesnės temperatūros intervale nuo 60°C iki 160°C , žingsniais po 20°C . Kiekvienoje iš tirtųjų temperatūrų, krosnis buvo palaikoma stabiliai po 10 min. Kaskart, prieš pakeliant temperatūrą, iš krosnies buvo išimamas vienas bandinys. Galiausiai, visi iškaitinti bandiniai buvo ryškinami distiliuotame vandenyje. Temperatūrų intervale $60\text{-}120^\circ\text{C}$ iškaitinti monomerų mišinio bandiniai išliko skysti ir buvo nuplauti nuo stiklinio padėklo ryškinimo metu. Tuo tarpu mišinius iškaitinus $\geq 140^\circ\text{C}$ temperatūroje ant stiklo susiformavo vandenyje netirpūs polimeriniai dariniai. Pastebėta, jog JSA-Au NK vandeninio tirpalo įmaišymas į monomerų mišinį neturi įtakos spontaninei terminei PEG-DA savipolimerizacijai.

Gautieji rezultatai gerai sutampa su kitų akrilatų polimerizacijos rezultatais aprašomais literatūroje. Srinivasan publikacijoje plačiai aprašomi eksperimentai, kurių metu stebėta metil-, etil-, ir n-butil-, akrilatų terminė polimerizacija nenaudojant jokių polimerizacijos iniciatorių, temperatūrų diapazone nuo 120°C iki 140°C [59]. Juodkasis su bendradarbiais publikavo šilumos mainų SZ2080 polimero pirmtake, išmatuotų diferencinės skenuojančios kalorimetrijos metodu vykstant polimerizacijos reakcijai, rezultatus (24 pav.) [60]. Kalorimetrinio matavimo eksperimento metu, vienalaikiškai buvo atliekamas Ramano sklaidos spektrų registravimas, iš kurių



23 pav. Kaitinimo krosnies temperatūros dinamika eksperimento metu. Rodyklės vaizduoja laiko momentus, kai buvo išimtas kiekvienas bandinys.

nustatyta, kad $\sim 140^\circ\text{C}$ temperatūroje metil-metakrilato monomerai ($\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOCH}_3$) tinklinami į poli-metil-metakrilato polimerą [60].



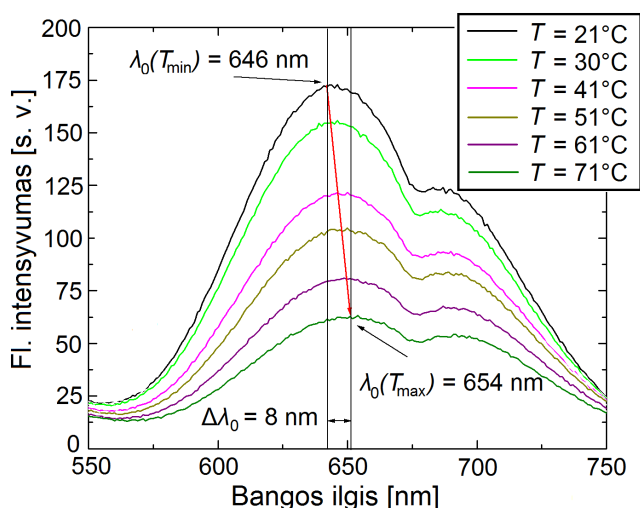
24 pav. Kalorimetriškai išmatuoti šilumos mainai polimerizuojantis SZ2080 polimero pirmtake. Smailė (1) atitinka temperatūrą, kurioje išgaruoja polimero pirmtake esantis vanduo, o egzoterminė smailė (2) stebima ties $\sim 140^\circ\text{C}$ - dėl polimerizacijos reakcijos [60].

Eksperimento rezultatai leidžia daryti išvadą, jog atliekant tolimesnius tyrimus su temperatūrai jautriais nanokompozitais, juos kaitinant $20\text{-}70^\circ\text{C}$ intervale, terminė spontaninė monomerų mišinių savipolimerizacijos reakcija neturės įtakos tiriamiesiems liuminescencijos spektrams.

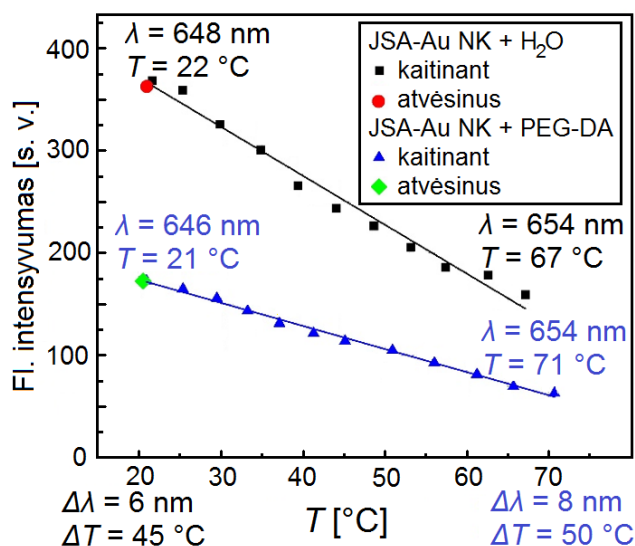
3.5 Kalibraciniai temperatūrai jautrių nanokompozitų optinio atsako matavimai

Siekiant panaudoti temperatūrai jautrias nanodaleles temperatūros pokyčių polimeracijos metu vaizdinimui, būtina ištirti kaip priklauso tokiomis dalelėmis funkcionalizuotų nanokompozitų optinis atsakas esant žinomoms temperatūroms. Apskaičiavus normavimo konstantas ar tinkinimo funkcijas, iš nanodalelių liuminescencijos galima nustatyti absoliučias temperatūros pokyčių vertes.

Užregistruotos JSA-Au NK vandeninio tirpalo ir mišinio su PEG-DA monomerais fluorescencijos spektrų priklausomybės nuo mišinių temperatūros. Mišiniai eksperimento metu buvo išoriškai šildomi kaitinimo krosnele, o fluorescencijos spektrai žadinami $\lambda = 405$ nm CW lazerio spinduliuote. Fluorescencijos spektrų registravimui panaudotas fluorimetras *Edinburgh Instruments FLS920*. Fluorescencijos spektrai užregistruoti keliant mišinių temperatūrą 5°C intervalais JSA baltymo stabilumo ribose ($\sim 20 - 70^\circ\text{C}$) (dėl duomenų vaizdumo grafiškai paraizduoti spektrai registruoti 10°C intervalais) (25 pav.).



25 pav. PEG-DA-700 legiruoto JSA-Au NK fluorescencijos spektrai užregistruoti išoriškai keičiant mišinio temperatūrą.



26 pav. Fluorescencijos intensyvumo temperatūrinės priklausomybės JSA-Au NK vandeniniame tirpale (juoda tiesė) ir PEG-DA legiruotame JSA-Au NK mišinyje (mėlyna tiesė).

Iš pateiktų spektrų matyti, kad didėjant supančios terpės temperatūrai, JSA-Au NK fluorescencijos spektro maksimumas slenkasi į ilgabangę pusę. Tirtuoju JSA-Au NK vandeninio tirpalo ir PEG-DA-700 monomerų mišinio atveju, tarp mažiausios ir didžiausios tirtų mišinio temperatūrų išmatuotas $\Delta\lambda = 8$ nm spektrinis poslinkis. Taigi, 5°C aukso nanoklasterio aplinkos temperatūros pokytis lemia $\sim 0,8$ nm fluorescencijos maksimumo spektrinį poslinkį. Taip pat reikšmingas JSA-Au NK fluorescencinio atsako į aplinkos temperatūros kitimą dėsningumas – fluorescencijos spektro santykinio intensyvumo mažėjimas. Ištirtame temperatūrų intervale už-

registruotų spektrų intensyvumas kito tiesiškai, ir sumažėjo ~ 3 kartus. Nors ši savybė sunkiai pritaikoma absoliutinės terpės temperatūros nustatymui, gali būti labai naudinga kokybiniam terminių reakcijų vyksmo indikavimui. Verta pastebėti, kad tiek fluorescencijos maksimumo spektriniai poslinkiai, tiek intensyvumo kitimas, yra grįžtamieji procesai – mišinius ataušinus iki kambario temperatūros, užregistruotos tapačios fluorescencijos spektro maksimumo ir santykinio intensyvumo vertės, kaip ir prieš kaitinant mišinius (26 pav.).

Polimerų pirmtakų, funkcionalizuotų DP nanodalelėmis, temperatūrinė optinio atsako kalibracija atlikta naudojant metodiką, aptartą daugelio autorių ankstesniuose darbuose [52–55]. Tiriamųjų fotopolimerų bandiniai patalpinami ant kaitinamo bandinių padėklo ir didinant temperatūrą registruojami liuminescencijos spektrai ($\lambda_{ex} = 980$ nm). Tipiniai tyrimui naudojamų DP ND liuminescencijos spektrai skirtingose temperatūrose pavaizduoti 27 pav. Ankstesniuose darbuose yra parodyta, kad Er^{3+} jonų liuminescencijos juostos aplink $\lambda_1 = 525$ nm ir $\lambda_2 = 549$ nm, atitinkančios spindulinius perėjimus iš sužadintųjų lygmenų ${}^2H_{11/2}$ ir ${}^4S_{3/2}$ į pagrindinį lygmenį ${}^4I_{15/2}$ yra termiškai surištosios. Tai reiškia, kad šių juostų užpilda gali būti aprašoma pagal Bolcmano tipo skirstinį [52, 55]:

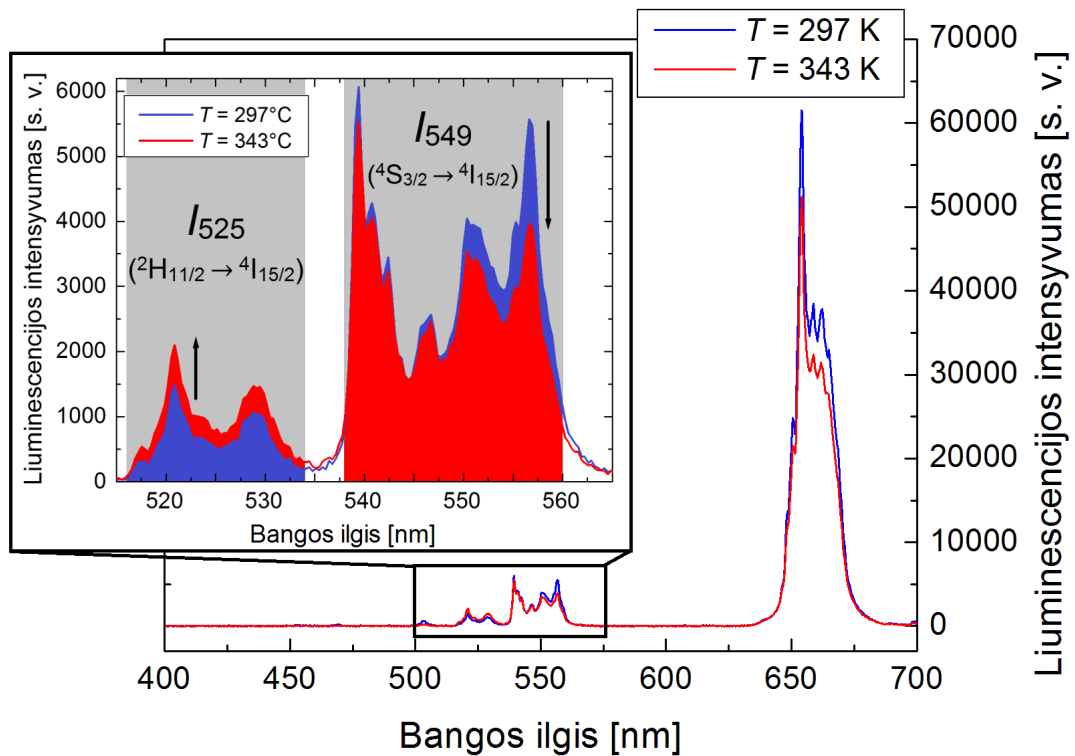
$$R(T) = \frac{I_{525}}{I_{549}} = A \exp \frac{-\Delta E}{k_B T}; \quad (14)$$

kur R – faktorius, aprašantis termiškai surištų juostų integrinių intensyvumų santykį, I_{525} , I_{549} – integriniai spektrinių juostų intensyvumai, A – konstanta, priklausanti nuo sužadintų lygmenų gyvavimo trukmės ir registruojančio detektoriaus jautrumo [61], ΔE – energijos tarpas tarp surištųjų lygmenų, k_B – Bolcmano konstanta, T – absoliutinė temperatūra.

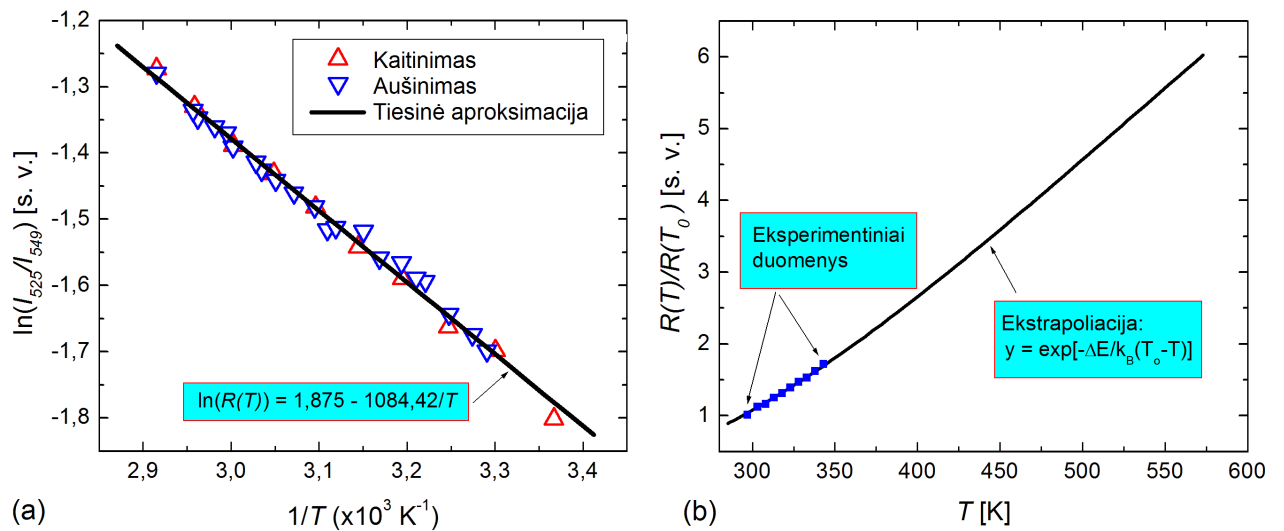
Eksperimento metu užregistruoti liuminescencijos spektrai temperatūrų intervale 24–70°C. Iš 28 (a) pav. matyti, kad užregistruotų spektrų spektrinių juostų intensyvumų santykiai gerai atitinka 14 sąryšį tiek kaitinant medžiagą, tiek jai atvėsus. Iš logaritmuotų $R(T)$ verčių priklausomybės nuo atvirkštinės temperatūros tiesinės aproksimacijos, randamas termiškai surištųjų lygmenų energijų tarpas $\Delta E = 0,094$ eV yra labai artimas literatūroje pateiktai vertei $\Delta E = 0,096$ eV [61].

Tolimesniam kalibracinių rezultatų naudojimui patogiu turėti $R(T)$ vertes, sunormuotas į kambario temperatūrą, nuo kurios ir atskaitysime temperatūros pokyčius. Eksperimentiniai rezultatai, ekstrapoliuoti pagal 15 lygtį plačiame temperatūrų intervale, pavaizduoti grafiškai 28 (b) pav.

$$\frac{R(T)}{R(T_0)} = \exp \frac{-\Delta E}{k_B (T_0 - T)}; \quad (15)$$



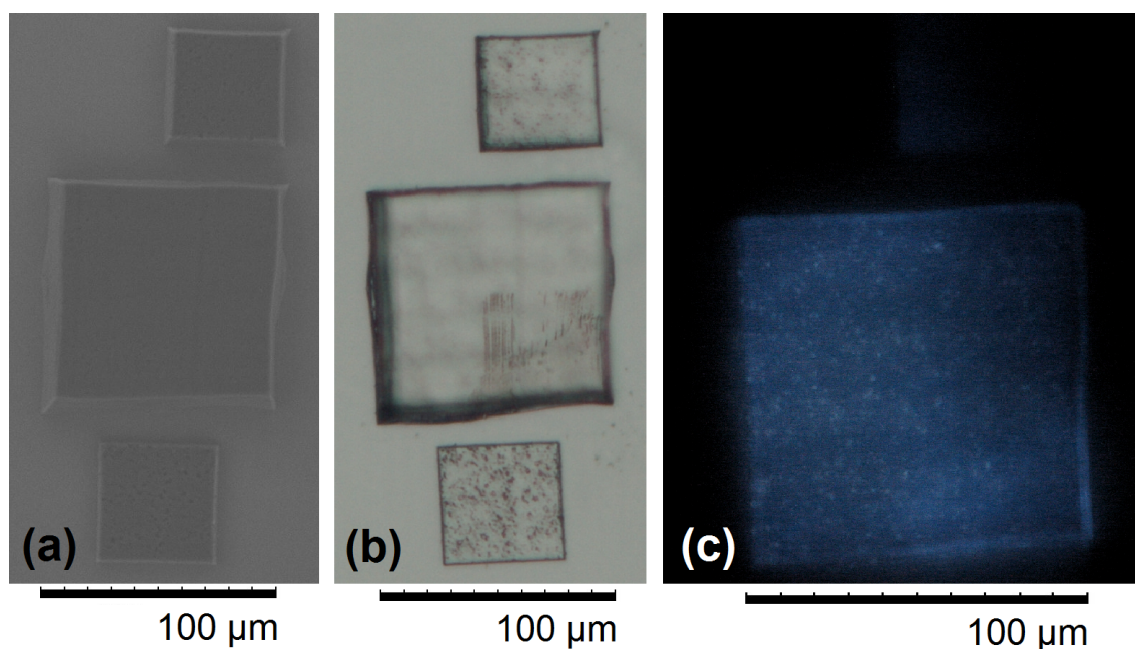
27 pav. NaYbF₄:Er³⁺ dvipakopiškai perspinduliuojančių ND liuminescencijos spektras ir juostų aplink $\lambda_1 = 525$ nm ir $\lambda_2 = 549$ nm detalizacija, esant skirtingoms terpės temperatūroms.



28 pav. Er³⁺ liuminescencijos temperatūrinė kalibracija: (a) logaritmuotų $R(T)$ verčių priklausomybė nuo atvirkštinės temperatūros; (b) $R(T)$, normuotų kambario temperatūrai, ekstrapoliacija pagal Bolcmano tipo skirstinį.

3.6 *Ex-situ* JSA-Au NK fluorescencijos polimerinėse terpėse tyrimas

Tyrimams naudojamo PEG-DA-700 funkcionalizuoto JSA-Au NK monomerų mišinyje TLR metodu skirtingais režimais suformuoti 3D dariniai ir išryškinti distiliuotame vandenyje. Tipinis charakterizavimui panaudoto stačiakampio gretasienio formos darinio vaizdas pateiktas (29 (a, b) pav.). Iš pateiktų nuotraukų matyti, kad PEG-DA monomerų mišinyje, kurio sudėtyje yra iki 50% vandens, nenaudojant jokių žinomų fotoiniciatorių įmanoma įrašyti ir išryškinti mechaniškai stabilius, geometrinę formą išlaikančius darinius. Siekiant įvertinti JSA-Au nanoklasterių tinkamumą temperatūros kitimo polimero tūryje registravimui polimerizacijos reakcijos metu, atlikta jau suformuotų polimerinių darinių fluorescencijos vaizdinimas Nikon Eclipse 80i fluorescenciniu mikroskopu (29 (c) pav.).

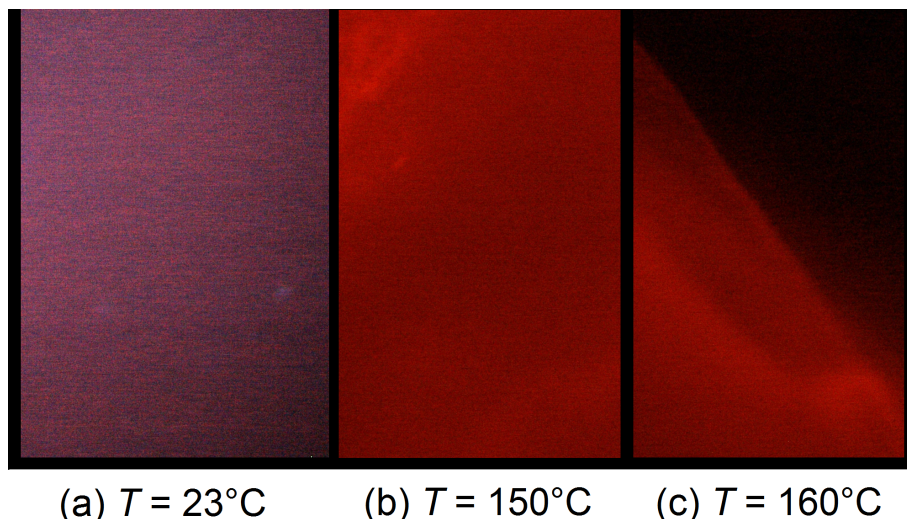


29 pav. TLR metodu suformuotų polimerinių darinių charakterizavimo būdai: (a) SEM atvaizdas; (b) fazinio kontrasto mikroskopo nuotrauka; (c) fluorescencinio mikroskopo nuotrauka ($\lambda_{ex} = 340$ nm).

Keičiant fluorescencijos žadinimui naudojamos spinduliuotės bangos ilgį, registruoti darinių fluorescenciniai vaizdai. Įdomu tai, kad TLR metodu suformuotame darinyje neužfiksuota JSA-Au NK būdinga fluorescencija raudonoje ($\lambda = 650$ nm) spektrinėje srityje, tačiau stebimas intensyvus fluorescencijos signalas mėlynoje spektro srityje. Neatmestina tikimybė, jog fluorescencija mėlynoje srityje stebima dėl polimerizacijos metu denatūravusio JSA suformuotų naujų cheminių ryšių su PEG-DA monomerais, o už fluorescenciją raudonoje srityje atsakingi Au nanokristalai, likę be JSA apvalkalo, buvo išplauti iš darinio tūrio ryškinimo metu, tačiau tokios hipotezės patvirtinimui arba paneigimui reikalinga daug išsamesnė darinių cheminės sudėties

analizė.

Analogiška fluorescencinės mikroskopijos analizė atlikta su kambario temperatūros tiriamojo PEG-DA monomerų mišinio, funkcionalizuoto JSA-Au NK, bandiniu (30 (a) pav.) bei spontaninės polimerizacijos būdu aukštesiose temperatūrose ($T > 150^{\circ}\text{C}$) suformuotais dariniais. Matyti, kad kambario temperatūros mišinys fluorescuoja JSA-Au NK būdinga purpurine spalva, kuri gali būti suprantama kaip Au nanokristalų fluorescencijos ties $\lambda = 650$ nm ir fluorescencijos ties $\lambda = 470$ nm (žr. 14 pav.) visuma. Priešingai nei TLR metodu suformuotuose dariniuose, spontaninės terminės polimerizacijos būdu susiformavusiuose polimeruose, viršijus literatūroje pateikiamą JSA denatūracijos temperatūrą ($\sim 75^{\circ}\text{C}$) [62], stebimas intensyvus fluorescencijos signalas raudonoje spektro srityje (30 (b, c) pav.). Šie rezultatai patvirtina prielaidą, kad aukštoje temperatūroje JSA-Au NK struktūra yra suardoma ir fluorescencijos spektre nelieka mėlynojo sando, už kurį atsakingas JSA baltymas. Pabrėžtina tai, kad grynas PEG-DA monomerų mišinys regimojoje srityje ne fluorescuoja.



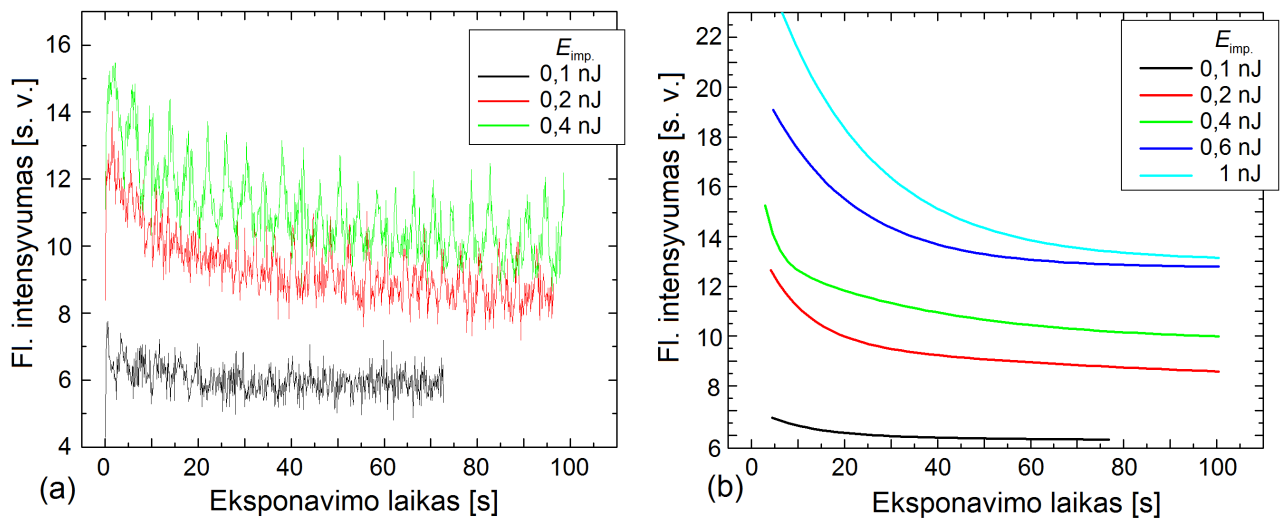
30 pav. PEG-DA monomerų mišinio, funkcionalizuoto JSA-Au NK, fluorescenciniai vaizdai ($\lambda_{ex} = 340$ nm): (a) kambario temperatūroje; soformavus polimerinius darinius spontaninės polimerizacijos būdu $T > 150^{\circ}\text{C}$ (b) ir $T > 160^{\circ}\text{C}$ (c).

3.7 Temperatūrai jautrių nanokompozitų optinio atsako matavimai *in-situ*

3.7.1 Fluorescencinio JSA-Au NK atsako matavimas PEG-DA hidrogelio pirmta- ke

Atlikti JSA-Au NK fluorescencinio atsako matavimai polimerizuojant periodinę gijų seką PEG-DA monomerų mišinyje. Eksperimento metu palaipsniui didinant eksponuojančio pluošto impulsų energiją, buvo įrašomos 100 μm ilgio gijos, periodas tarp gretimų gijų – 1 μm , o rašymo

greitis fiksuotas – $v_{tr} = 50 \mu\text{m/s}$. Gardelės formavimo metu, realiu laiku registruoti fluorescencijos spektrai. Pasirinkta minimali spektro integravimo trukmė ($\delta t = 100 \text{ ms}$), siekiant registruoti fluorescencinį atsaką kuo aukštesne laikine skyra (registruota 20 spektrų kiekvienai gijai). Kita vertus, tai minimalus integravimo laikas, užtikrinantis pakankamą signalo / triukšmo santykį ($\sim 1:4$, kai $E_{imp} = 0,1 \text{ nJ}$). Šiuose eksperimentuose operuosime eksponuojančio lazerio impulso energijos (E_{imp}), o ne intensyvumo parametru. Dėl naudojamų optinių schemų gausos, intensyvumų vertės būtų sunkiai palyginamos tarpusavyje, o mūsų tiriamų dėsningumų atvaizdavimui tai ir nėra būtina. Spektrų duomenys apdoroti apskaičiuojant vidutinę fluorescencijos intensyvumo vertę $\lambda = 640 - 660 \text{ nm}$ spektriniame ruože ir grafiškai pavaizduoti 31 (a) pav.

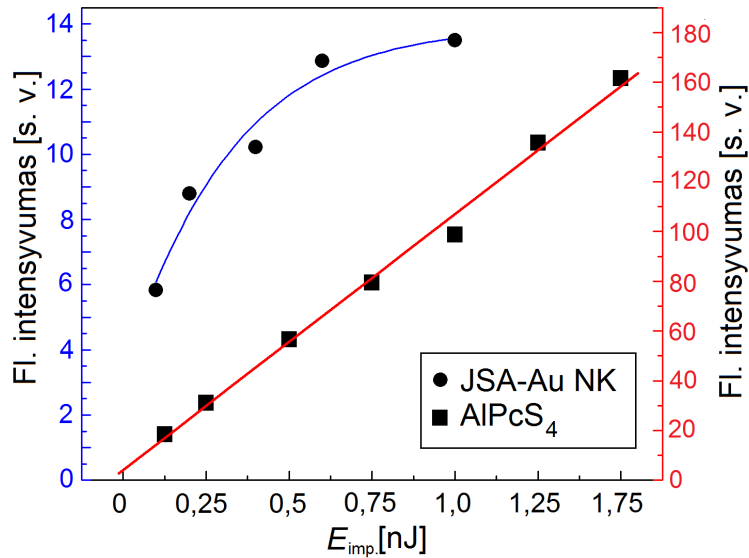


31 pav. Fluorescencinio JSA-Au NK atsako, formuojant periodines gijas PEG-DA monomerų mišinyje, dinamika, esant skirtingoms eksponuojančių impulsų energijoms: (a) eksperimentiniai duomenys; (b) moduluoto atsako signalo gaubtinės eksponentinio gesimo aproksimacija.

Iš 31 (a) pav. matyti, kad visais registruotais atvejais fluorescencinis atsakas turi būdingą 0,25 Hz dažnio periodinę intensyvumo amplitudės moduliaciją. Šis moduliacijos dažnis tiksliai atitinka trukmę, per kurią skirtingomis kryptimis įrašomos dvi gretimos gijos. Taigi, visais atvejais, fluorescencinio atsako minimumai ir maksimumai stebimi skirtingose struktūrinamo darinio pusėse. Šis dėsningumas gali būti paaiškinamas tuo, kad transliuojant bandinį TLR sistemoje, dėl nevisiškai statmenai objektyvo optinei ašiai įtvirtinto bandinio padėklo, stebimos pluošto sąsmaukos padėties z ašyje fliktuacijos bandinio / padėklo ribos atžvilgiu [15]. Kadangi eksperimento metu dariniai formuojami prie pat bandinio ir stiklinio padėklo ribos, minėtos sąsmaukos fliktuacijos gali lemti tai, kad vienoje darinio pusėje dalis vokselio pasislenka į padėklo pusę ir fluorescencija žadinama mažesniame bandinio tūryje.

Taip pat, iš fluorescencinio atsako intensyvumo kitimo grafiko matyti, jog šių moduluotų signalų gaubtinės – eksponentiškai slopstančios. Eksperimentinių matavimų rezultatai aproksimuoti antro laipsnio eksponentinio gesimo funkcija ir pavaizduoti grafiškai 31 (b) pav. Verta

atkreipti dėmesį, kad kai eksponuojančio pluošto impulsų energija artima ar viršija polimerizacijos slenkstį ($E_{imp} > 0,5$ nJ), stebimo fluorescencinio atsako intensyvumas beveik nebedidėja. Tuo tarpu analogišką eksperimentą atliekant su atraminiu monomerų mišiniu, legiruotu AlFcS₄ fotosensibilizatoriumi, stebėta tiesinė fluorescencinio atsako intensyvumo priklausomybė nuo eksponuojančio pluošto impulsų energijos (32 pav.). Šie rezultatai rodo, kad JSA-Au NK monomerų mišinio aplinkoje fluorescencija yra gesinama, didėjant eksponuojančio impulso energijai.

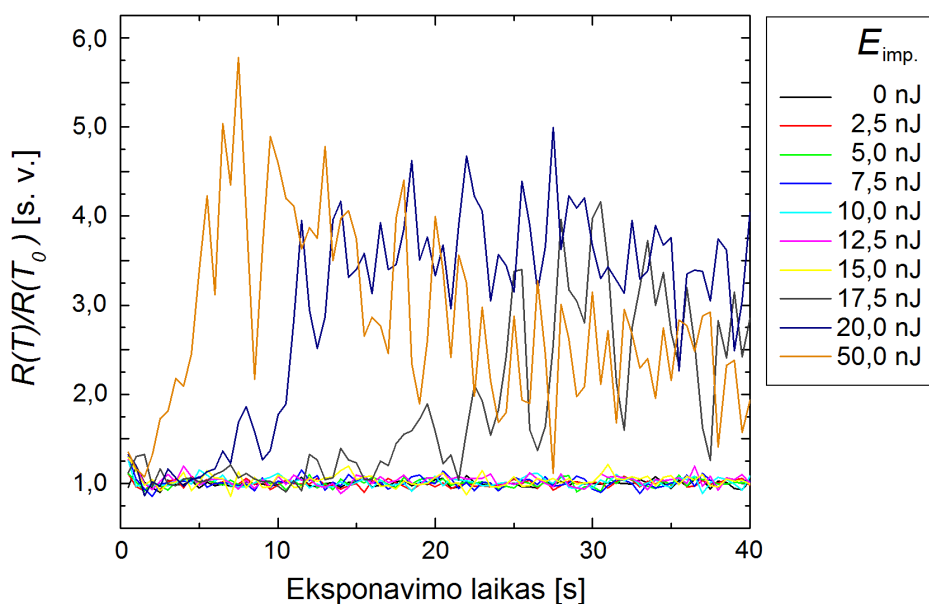


32 pav. Fluorescencinio atsako intensyvumo priklausomybės nuo eksponuojančio lazerio galios palyginimas JSA-Au NK (mėlyna spalva) ir AlFcS₄ (raudona spalva) legiruotuose monomerų mišiniuose.

3.7.2 Liuminescencinio DP ND atsako matavimas SZ2080 polimero pirmtake

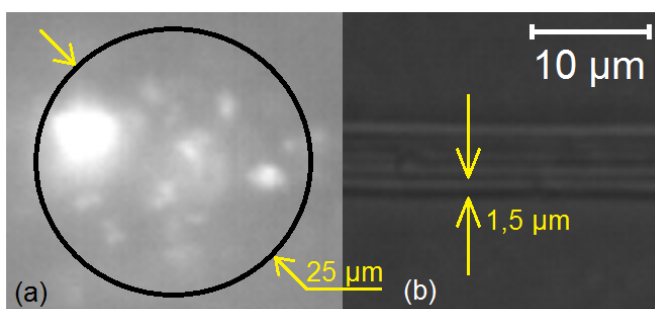
Taikant panašią metodiką, kaip aprašyta ankstesniame poskyryje, atlikti liuminescencinio DP ND atsako matavimai įrašant periodines gijas SZ2080 monomerų mišinyje. Skirtingomis eksponuojančio pluošto impulsų energijomis įrašytos 200 μ m ilgio gijos, periodas tarp gretimų gijų – 1 μ m, o rašymo greitis fiksuotas – $v_{tr} = 50$ μ m/s. Eksperimentams naudotas tiek grynas, tiek fotojautrintas 1 wt% IRG 369 fotoiniciatoriumi, fotopolimerai. Abiem atvejais užregistruoti tapatūs liuminescencinio atsako dėšningumai, todėl toliau bus aptartas tik fotojautrinto fotopolimero, turinčio platesnį apdirbimo langą, atvejis. Spektrų duomenys apdoroti apskaičiuojant termiškai surišųjų spektrinių juostų intensyvumų santykį $R(T)$, kurie sunormuojami į kambario temperatūrą (21°C) ir pavaizduoti grafiškai 33 pav.

Matyti, kad kol eksponuojančio pluošto $E_{imp} \leq 15$ nJ, registruojamos $R(T)/R(T_0)$ vertės fluktuoja apie 1, o tai rodo, tik nežymius temperatūros pokyčius. Svarbu pastebėti, kad toks



33 pav. Liuminescencinio DP ND atsako, formuojant periodines gijas SZ2080 monomerų mišinyje, dinamika, esant skirtingoms eksponuojančių impulsų energijoms.

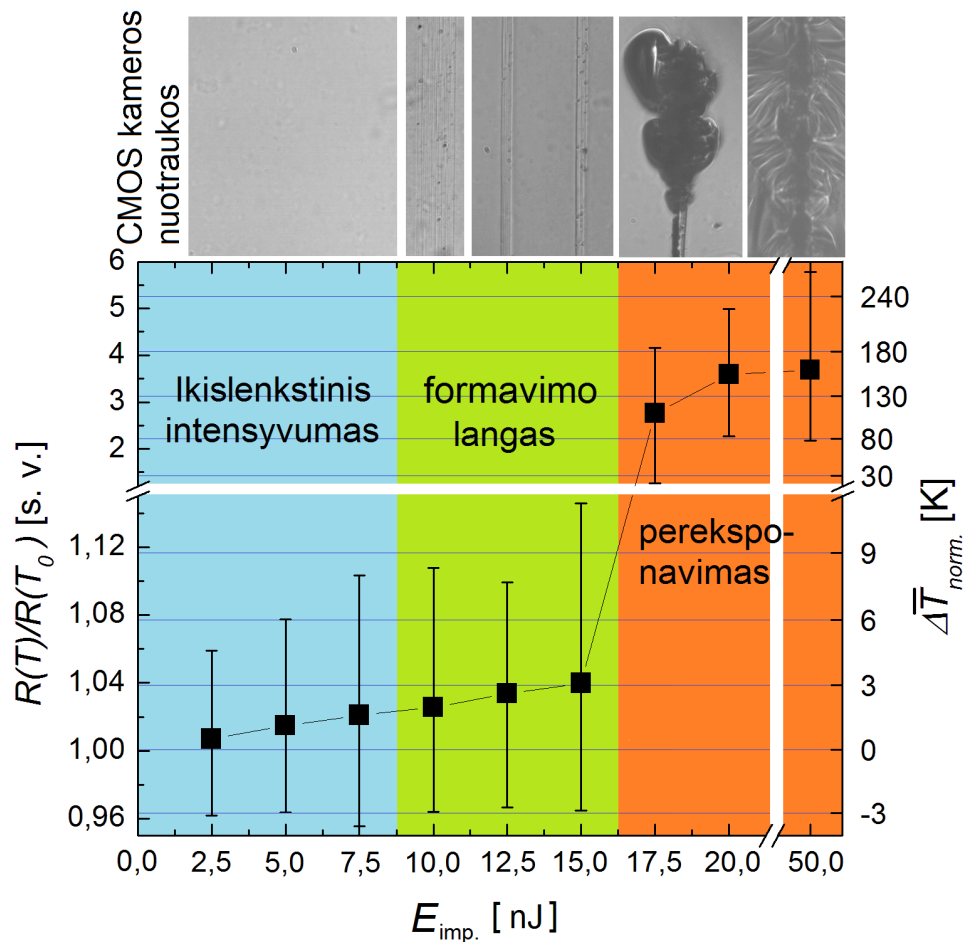
DP ND optinis atsakas registruotas tiek eksponuojant impulsais, kurių energija žemesnė už polimerizacijos slenkstį (0–7,5 nJ), tiek ir visoje apdirbimo lango srityje (10–15 nJ). Tuo tarpu, kai parenkama impulso energija didesnė už fotopolimero optinio pramušimo slenkstį, registruojamas šuoliškas $R(T)/R(T_0)$ išaugimas ir TLR sistemos CMOS kamera stebimas mikro burbulų formavimasis. Be to, kuo didesnės energijos impulsai naudojami fotopolimero eksponavimui, tuo greičiau įvyksta optinis medžiagos pramušimas. Dėl statistinės mikro burbulų formavimosi prigimties, registruojamas spektras pasižymi didelėmis amplitudės fluktuacijomis.



34 pav. Temperatūrai jautrių nanodalelių liuminescencijos žadinimo (a) ir tiesioginio lazerinio rašymo (b) erdvinės skyros palyginimas.

Analizuojant liuminescencinio atsako dinamiką, svarbu atkreipti dėmesį, kad registruojamas ne momentinis, o integrinis (250 ms trukmės) signalas. Per šį laiką, pluošto sąsmaukos

padėtis pasislenka $\sim 12,5 \mu\text{m}$. Be to, fotopolimero peregsponavimo režime, dėl vykstančių mikroprogimų, temperatūrai jautrios nanodalelės gali būti išstumiamos iš reakcijos zonos, ar net fotopolimero tūryje susiformuoti mikro-ertmės, apsuptos sutankėjusios medžiagos sluoksnių. Kaip matyti iš 34 pav., dėl aparatūrinės eksperimento įrangos specifikos, DP ND sužadina mos ženkliai disesniame tūryje nei inicijuojama polimerizacijos reakcija (atitinkamai $25 \mu\text{m}$ ir $1,5 \mu\text{m}$). Nors liuminescencijos spinduliuotė surenkama į šviesolaidį, kuris veikia kaip apertūrinė diafragma nanodalelių, nutolusių nuo optinės ašies, signalui, tačiau negalime tvirtai teigti, kad liuminescencija surenkama tik iš tūrio, kuriame vyksta polimerizacija. Apibendrinant šiuos metodo apribojimus, akivaizdu, kad galime kalbėti apie vidutinės integrinės temperatūros polimerizuojamo darinio aplinkoje, bet ne maksimalios momentinės temperatūros polimerizuojamame vokselyje, matavimą.



35 pav. Temperatūriškai surišėtų spektrinių juostų I_{525} ir I_{549} intensyvumų santykių, normuotų į kambario temperatūrą ir juos atitinkančių vidutinės temperatūros pokyčių priklausomybė nuo rašymui naudojamos lazerio impulsų energijos. Iliustracijos virš grafiko atitinka charakteringus darinių vaizdus, suformuotus skirtingais režimais.

Apibendrinti lokalių temperatūros pokyčių matavimo rezultatai, esant skirtingiems lazerinio

rašymo režimams, pavaizduoti grafiškai 35 pav. Iliustracijoje pateiktose optinėse nuotraukose parodyta tipinė įrašytų gijų kokybė skirtingais lazerinio rašymo režimais. Grafiko taškai žymi apskaičiuotas vidutines $R(T)$ parametro vertes, o paklaidos stulpeliais pavaizduoti intervalai tarp ekstremalių verčių, užregistruotų per 40 s trukmės ekspoziciją. Santykinų temperatūros pokyčių skalė sunormuota pasinaudojant 28 (b) pav. pavaizduotu sąryšiu. Matome, kad polimerizacijos režime, kol fotopolimeras nėra pereksponuojamas, stebimas vidutinės temperatūros prieaugis neviršija 3 K. Polimero pereksponavimo režime stebėtos 380-430 K vidutinės temperatūros vertės, o ekstremalios vertės siekė iki 540 K. Tikėtina, kad tokiaime režime lokali momentinė temperatūra gali siekti ir 650-750 K, atitinkančią akrilatinių monomerų garavimo temperatūrą.

3.8 Rezultatų aptarimas

Polimerų pirmtakų fotojautrinimas

Ekspirimentiškai parodėme, kad funkcionalizavimas Au ND didina hidrogelio pirmtako fotojautrumą, kurį kiekybiškai įvertinome, kaip minimalų eksponuojančio pluošto intensyvumą, reikalingą polimerizacijos reakcijai inicijuoti. Esant optimaliai Au ND koncentracijai, reikalingas $\sim 30\%$ mažesnis intensyvumas, lyginant su nefunkcionalizuotu monomerų mišiniu. Toliau didinant ND koncentraciją, stebimas fotojautrinimo sotinimas. Toks dėsniumas gali būti pagrįstas tuo, kad, didėjant Au ND tankiui, vis didesnė eksponuojančio pluošto energijos dalis tiesiškai sugerama mišinyje dar nepasiekus sąsmaukos zonos. Dėl šios priežasties nepavyko padidinti fotojautrumo vertės iki stebimos naudojant komercinį fotoiniciatorių IRG 369 ($\sim 50\%$ mažesnis intensyvumas, lyginant su nefunkcionalizuotu monomerų mišiniu). Tačiau verta įskaičiuoti tai, kad optimali legiravimo Au ND koncentracija ($\sim 0,005$ wt%) yra dviem eilėmis mažesnė nei tipiškai naudojama radikalinio fotoiniciatoriaus (0,5-2 wt%), atinkamai tai lemia reikšmingai didesnę polimero grynumą po 3DLL formavimo. Sėkmingam praktiniam Au ND fotojautrintų polimerų pirmtakų taikymui būtina užtikrinti aukštesnę koloidinę nanokompozito stabilumą. Tai galėtų būti pasiekta parenkant optimalias preparatų saugojimo sąlygas ar optimizuojant ND stabilizuojantį apvaskalą.

Temperatūros pokyčių vaizdinimas

Apibendrinant termojautrių nanokompozitų liuminescencijos atsako *in-situ* polimerizacijos metu tyrimo rezultatus, galime teigti, jog legiravimas JSA-Au NK yra tinkamas tik kokybiškai pademonstruoti fluorescencijos gesinimą monomerų mišinį eksponuojant femtosekundinių impulsų ($\tau < 300$ fs) pluoštu, tiek ikislenkstiniu intensyvumu, tiek ir viršijus polimerizacijos slenkstį. Tai yra vienos spektrinės juostos tipo termometrijos metodas, todėl, iš gautųjų fluorescencijos intensyvumo kitimo rezultatų negalime nustatyti absoliutinių temperatūros kitimo verčių. Vienos spektrinės juostos intensyvumo signalas negali būti patikimai sukalibruotas,

o dėl nedidelio fluorescencijos kvantinio našumo, iš mikro-tūrio vokselio, kuriame inicijuojama polimerizacijos reakcija, surenkamas silpnas ir triukšmingas fluorescencinio atsako signalas. Tai reiškia, kad negalime patikimai išskirti mažų, kelių nanometrų eilės spektrinių poslinkių. Metodas galėtų būti tobulinamas tik tuo atveju, jei pavyktų ženkliai pagerinti optinio signalo registravimo jautrumą, tačiau dėl sudėtingos ir brangios matavimo įrangos, metodas gali tapti nepatrauklus praktiniam taikymui.

Tuo tarpu polimero pirmtakų legiruotų DP nanodalelėmis, dėl termiškai surišųjų juostų liuminescencijos spektre egzistavimo, yra lengvai kalibruojamas ir leidžia bekontakčiu būdu kiekybiškai įvertinti temperatūros kitimo vertes terpės tūryje. Tačiau šiuo atveju polimerizacijos iniciavimui ir liuminescencijos žadinimui turi būti naudojami skirtingi lazeriniai šaltiniai, o tai sukelia techninių sunkumų užtikrinant tikslių erdvinį pluoštų persiklojimą židinio zonoje. Nors mūsų užregistruotos temperatūros pokyčių vertės ($\overline{\Delta T}_{norm} < 3$ K formavimo lango režime ir $\overline{\Delta T}_{norm} < 170$ K perekspozuojant) gerai sutampa su ankstesnių darbų rezultatais (atitinkamai $\overline{\Delta T}_{fit} < 5$ K ir $\overline{\Delta T}_{fit} < 200$ K) [8], rezultatai turi būti traktuojami kaip vidutiniai tiek laiko, tiek erdvės atžvilgiu. Dėl šios priežasties, negalime tvirtai atmesti galimybių, kad lokalus temperatūros didėjimas sąsmaukos apribotoje zonoje yra gerokai didesnis ekspozuojant net mažos impulsų energijos pluoštais. Geras matavimo rezultatų atsikartojamumas taikant šį metodą suponuoja tai, kad matavimo rezultatai galėtų būti tikslinami didinant aparatinės matavimo įrangos jautrumą ir užtikrinant tikslesnį naudojamų lazerių pluoštų erdvinį persiklojimą (pavyzdžiui suvienodinant polimerizacijai ir zondavimui naudojamų lazerių M^2 parametraž).

Pagrindiniai rezultatai ir išvados

1. PEG-DA-700 monomerų vandeninis tirpalas yra tinkamas hidrogelio pirmtakas mikrodarinių gamybai TLR metodu – monomerų koncentracijai esant ≥ 50 wt% suformuojami mechaniškai stabilūs dariniai; vandens įmaišymas į hidrogelio pirmtaką lemia siauresnį formavimo parametrų langą, kitoms eksponavimo sąlygoms nekintant.
2. Legiravimas Au ND veikia PEG-DA-700 hidrogelio pirmtako fotojautrumą – Au ND koncentracijai esant $3 \cdot 10^{-3} - 4,8 \cdot 10^{-3}$ wt%, polimerizacijos slenkstis yra 25-35% (priklausomai nuo transliavimo greičio 10-110 $\mu\text{m/s}$ ribose) žemesnis lyginant su mišinio be nanodalelių polimerizacijos slenksčiu.
3. 5-10 nm diametro Au ND nėra stabilios PEG-DA-700 monomerų aplinkoje: dėl netirpių Au ND nuosėdų formavimosi, stebimas fotojautrinto polimero pirmtako polimerizacijos slenksčio augimas.
4. Termoautrių nanokompozitų liuminescencijos atsakas priklauso nuo monomerų mišinio temperatūros – keičiant mišinio temperatūrą 50°C intervale užregistruota:
 - (a) $\Delta\lambda_0 = 8$ nm fluorescencijos maksimumo spektrinis poslinkis ir iki 3x fluorescencijos intensyvumo mažėjimas PEG-DA-700 + JSA-Au nanokompozite;
 - (b) iki $R(T_{max})/R(T_{min}) = 1,7$ karto termiškai surišųjų spektrinių juostų integrinį intensyvumų santykio didėjimas SZ2080 + NaYbF₄:Er³⁺ nanokompozite.
5. Dvipakopiškai perspinduliuojančių NaYbF₄:Er³⁺ nanodalelių SZ2080 polimero pirmtake liuminescencinis atsakas kinta, mišinį eksponuojant $\tau < 300$ fs impulsų pluoštu – išmatuotos termiškai surišųjų spektrinių juostų normuotų intensyvumų santykių ir juos atitinkančių temperatūros pokyčių vertės:
 - (a) $R(T_1)/R(T_0) < 1,04$ ir $\overline{\Delta T}_1 < 3$ K formavimo lango ribose;
 - (b) $R(T_2)/R(T_0) < 3,8$ ir $\overline{\Delta T}_2 < 170$ K pereksponavimo režime.

Literatūros sąrašas

- [1] A. Ovsianikov, M. Farsari, B. N. Chichkov, Photonic and biomedical applications of the two-photon polymerization technique, in *Stereolithography* (Springer Science Business Media, 2011), pp. 257–297.
- [2] O. Swenson, V. Marinov, Laser processing of direct-write nano-sized materials, in *Advances in Laser Materials Processing* (Woodhead Publishing, 2010), pp. 671–694.
- [3] N. A. Peppas, K. B. Keys, M. Torres-Lugo, A. M. Lowman, Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery, *J. Controlled Release* **62**(1-2), 81 (1999).
- [4] N. A. Peppas, Y. Huang, M. Torres-Lugo, J. H. Ward, J. Zhang, Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology, *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **2**(1), 9 (2000).
- [5] B. D. Fairbanks, M. P. Schwartz, C. N. Bowman, K. S. Anseth, Photoinitiated polymerization of PEG-diacrylate with lithium phenyl-2,4,6-trimethylbenzoylphosphinate: polymerization rate and cytocompatibility, *Biomaterials* **30**(35), 6702 (2009).
- [6] S. J. Bryant, C. R. Nuttelman, K. S. Anseth, Cytocompatibility of UV and visible light photoinitiating systems on cultured NIH/3T3 fibroblasts in vitro, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* **11**(5), 439 (2000).
- [7] C. G. Williams, A. N. Malik, T. K. Kim, P. N. Manson, J. H. Elisseeff, Variable cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation, *Biomaterials* **26**(11), 1211 (2005).
- [8] J. B. Mueller, J. Fischer, Y. J. Mange, T. Nann, M. Wegener, In-situ local temperature measurement during three-dimensional direct laser writing, *Appl. Phys. Lett.* **103**(12), 123107 (2013).
- [9] N. Uppal, Modeling of temperature-dependent diffusion and polymerization kinetics and their effects on two-photon polymerization dynamics, *J Micro Nanolithogr MEMS MOEMS* **7**(4), 043002 (2008).
- [10] M. Malinauskas, P. Danilevicius, S. Juodkazis, Three-dimensional micro-/nano-structuring via direct write polymerization with picosecond laser pulses, *Opt. Express* **19**(6), 5602 (2011).
- [11] T. Baldacchini, S. Snider, R. Zadoyan, Two-photon polymerization with variable repetition rate bursts of femtosecond laser pulses, *Opt. Express* **20**(28), 29890 (2012).

- [12] S. Rekštytė, T. Jonavičius, D. Gailevičius, M. Malinauskas, V. Mizeikis, E. G. Gamaly, S. Juodkazis, Nanoscale precision of 3D polymerization via polarization control, *Adv. Opt. Mater.* **4**(8), 1209 (2016).
- [13] M. Malinauskas, A. Žukauskas, G. Bičkauskaitė, R. Gadonas, S. Juodkazis, Mechanisms of three-dimensional structuring of photo-polymers by tightly focussed femtosecond laser pulses, *Opt. Express* **18**(10), 10209 (2010).
- [14] L. Jonušauskas, D. Gailevičius, L. Mikoliūnaitė, D. Sakalauskas, S. Šakirzanovas, S. Juodkazis, M. Malinauskas, Optically clear and resilient free-form μ -optics 3D-printed via ultrafast laser lithography, *Materials* **10**(1), 12 (2017).
- [15] M. Malinauskas, *Fabrication of Functional 3D Micro/Nanostructures by Laser Multiphoton Polymerization Technique*, Ph.D. thesis, Vilniaus Universitetas (2010).
- [16] G. Odian, *Principles of Polymerization* (Wiley-Blackwell, 2004).
- [17] F. Jipa, M. Zamfirescu, A. Velea, M. Popescu, R. Dabu, Femtosecond laser lithography in organic and non-organic materials, in *Updates in Advanced Lithography* (InTech, 2013).
- [18] A. Ovsianikov, S. Passinger, R. Houbertz, B. N. Chichkov, *Three Dimensional Material Processing with Femtosecond Lasers* (Springer US, 2007), pp. 121–157.
- [19] J. Serbin, A. Egbert, A. Ostendorf, B. N. Chichkov, R. Houbertz, G. Domann, J. Schulz, C. Cronauer, L. Fröhlich, M. Popall, Femtosecond laser-induced two-photon polymerization of inorganic–organic hybrid materials for applications in photonics, *Opt. Lett.* **28**(5), 301 (2003).
- [20] C. N. LaFratta, L. Li, *Making Two-Photon Polymerization Faster* (Elsevier BV, 2016), pp. 221–241.
- [21] K. Takada, K. Kaneko, Y.-D. Li, S. Kawata, Q.-D. Chen, H.-B. Sun, Temperature effects on pinpoint photopolymerization and polymerized micronanostructures, *Appl. Phys. Lett.* **92**(4), 041902 (2008).
- [22] B. N. Chichkov, E. Fadeeva, J. Koch, A. Ostendorf, A. Ovsianikov, S. Passinger, C. Reinhardt, Femtosecond laser lithography and applications, in *Photon Processing in Microelectronics and Photonics V* (SPIE, 2006).
- [23] S. Juodkazis, V. Mizeikis, K. K. Seet, M. Miwa, H. Misawa, Two-photon lithography of nanorods in SU-8 photoresist, *Nanotechnology* **16**(6), 846 (2005).

- [24] B. Dhariwala, E. Hunt, T. Boland, Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography, *Tissue Eng.* **10**(9-10), 1316 (2004).
- [25] M. Bae, R. A. Gemeinhart, R. Divan, K. J. Suthar, D. C. Mancini, Fabrication of poly(ethylene glycol) hydrogel structures for pharmaceutical applications using electron beam and optical lithography, *J. Vac. Sci. Technol. B* **28**(6), 24 (2010).
- [26] N. Peppas, Hydrogels in pharmaceutical formulations, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **50**(1), 27 (2000).
- [27] A. Ovsianikov, M. Gruene, M. Pflaum, L. Koch, F. Maiorana, M. Wilhelmi, A. Haverich, B. Chichkov, Laser printing of cells into 3D scaffolds, *Biofabrication* **2**(1), 014104 (2010).
- [28] A. Žukauskas, *Optinių elementų šviesos valdymui mikrometriniame mastelyje formavimas tiesioginio lazerinio rašymo būdu*, Ph.D. thesis, Vilniaus Universitetas (2015).
- [29] A. Ovsianikov, J. Viertl, B. Chichkov, M. Oubaha, B. MacCraith, I. Sakellari, A. Giakoumaki, D. Gray, M. Vamvakaki, M. Farsari, C. Fotakis, Ultra-low shrinkage hybrid photosensitive material for two-photon polymerization microfabrication, *ACS Nano* **2**(11), 2257 (2008).
- [30] L. Jonusauskas, M. Lau, P. Gruber, B. Gökce, S. Barcikowski, M. Malinauskas, A. Ovsianikov, Plasmon assisted 3D microstructuring of gold nanoparticle-doped polymers, *Nanotechnology* **27**(15), 154001 (2016).
- [31] D. A. Giljohann, D. S. Seferos, W. L. Daniel, M. D. Massich, P. C. Patel, C. A. Mirkin, Gold nanoparticles for biology and medicine, *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**(19), 3280 (2010).
- [32] G. N. Makarov, Laser applications in nanotechnology: nanofabrication using laser ablation and laser nanolithography, *Phys. Usp.* **56**(7), 643 (2013).
- [33] P. Mulvaney, Surface plasmon spectroscopy of nanosized metal particles, *Langmuir* **12**(3), 788 (1996).
- [34] C. Rao, P. J. Thomas, G. Kulkarni, *Nanocrystals: Synthesis, Properties and Applications* (Springer Science Business Media, 2007).
- [35] P. P. Edwards, R. L. Johnston, C. Rao, On the size-induced metal-insulator transition in clusters and small particles, in *Metal Clusters in Chemistry* (Wiley-Blackwell, 1999), pp. 1454–1481.

- [36] A. I. Kirkland, D. A. Jefferson, D. G. Duff, P. P. Edwards, I. Gameson, B. F. G. Johnson, D. J. Smith, Structural studies of trigonal lamellar particles of gold and silver, *Proc Math Phys Eng Sci* **440**(1910), 589 (1993).
- [37] G. N. Makarov, Cluster temperature. methods for its measurement and stabilization, *Phys. Usp.* **51**(4), 319 (2008).
- [38] W. A. de Heer, The physics of simple metal clusters: experimental aspects and simple models, *Rev. Mod. Phys.* **65**(3), 611 (1993).
- [39] J. Z. Zhang, C. D. Grant, Optical and dynamic properties of undoped and doped semiconductor nanostructures, in *Annual Review of Nano Research* (World Scientific Pub Co Pte Lt, 2008), pp. 1–61.
- [40] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M. A. El-Sayed, Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes, *Chem. Rev.* **105**(4), 1025 (2005).
- [41] G. Mie, Beiträge zur optik trüber medien, speziell kolloidaler metallösungen, *Ann. Phys.* **330**(3), 377 (1908).
- [42] R. Gans, Über die form ultramikroskopischer goldteilchen, *Ann. Phys.* **342**(5), 881 (1912).
- [43] P. B. Johnson, R. W. Christy, Optical constants of the noble metals, *Phys. Rev. B* **6**(12), 4370 (1972).
- [44] S. Link, M. A. El-Sayed, Shape and size dependence of radiative, non-radiative and photothermal properties of gold nanocrystals, *Int. Rev. Phys. Chem.* **19**(3), 409 (2000).
- [45] X. dong Wang, O. S. Wolfbeis, R. J. Meier, Luminescent probes and sensors for temperature, *Chem. Soc. Rev.* **42**(19), 7834 (2013).
- [46] N. Fuhrmann, J. Brübach, A. Dreizler, Phosphor thermometry: A comparison of the luminescence lifetime and the intensity ratio approach, *Proc. Combust. Inst.* **34**(2), 3611 (2013).
- [47] E. J. McLaurin, L. R. Bradshaw, D. R. Gamelin, Dual-emitting nanoscale temperature sensors, *Chem. Mater.* **25**(8), 1283 (2013).
- [48] X. Wang, Q. Liu, Y. Bu, C.-S. Liu, T. Liu, X. Yan, Optical temperature sensing of rare-earth ion doped phosphors, *RSC Adv.* **5**(105), 86219 (2015).
- [49] J. Xie, Y. Zheng, J. Y. Ying, Protein-directed synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters, *J. Am. Chem. Soc.* **131**(3), 888 (2009).

- [50] V. Poderys, M. Matulionytė-Safinė, D. Rupšys, R. Rotomskis, Protein stabilized au nanoclusters: spectral properties and photostability, *Lith. J. Phys.* **56**(1), 55 (2016).
- [51] S. Raut, R. Rich, R. Fudala, S. Butler, R. Kokate, Z. Gryczynski, R. Luchowski, I. Gryczynski, Resonance energy transfer between fluorescent BSA protected au nanoclusters and organic fluorophores, *Nanoscale* **6**(1), 385 (2014).
- [52] P. Du, L. Luo, J. S. Yu, Upconversion emission and cathodoluminescence of Er³⁺-doped NaYbF₄ nanoparticles for low-temperature thermometry and field emission displays, *Appl. Phys. A* **123**(3), 157 (2017).
- [53] S. K. Singh, K. Kumar, S. Rai, Er³⁺/Yb³⁺ codoped Gd₂O₃ nano-phosphor for optical thermometry, *Sens. Actuators, A* **149**(1), 16 (2009).
- [54] L. Aigouy, G. Tessier, M. Mortier, B. Charlot, Scanning thermal imaging of microelectronic circuits with a fluorescent nanoprobe, *Appl. Phys. Lett.* **87**(18), 184105 (2005).
- [55] X. Xu, Z. Wang, P. Lei, Y. Yu, S. Yao, S. Song, X. Liu, Y. Su, L. Dong, J. Feng, H. Zhang, α -NaYb(Mn)F₄:Er³⁺/Tm³⁺@NaYF₄ UCNPs as “band-shape” luminescent nanothermometers over a wide temperature range, *ACS Applied Materials & Interfaces* **7**(37), 20813 (2015).
- [56] <http://www.lightcon.com/products/product.php?id=28> (2016 06 17).
- [57] <https://www.aerotech.com/product-catalog/stages/linear-x-y-stages/ant130-xy.aspx> (2016 06 17).
- [58] B. H. Vilsinski, A. P. Gerola, É. O. Lemos, P. M. Barbosa, K. S. S. Campanholi, G. B. César, A. L. Tessaro, N. Hioka, W. Caetano, Spectroscopic study of aluminum phthalocyanine chloride (AlPcCl) in homogeneous and micro-heterogeneous media consisting of p-123 and p-127 polymeric micelles, *Quím. Nova* **38**(5), 631 (2015).
- [59] S. Srinivasan, M. W. Lee, M. C. Grady, M. Soroush, A. M. Rappe, Computational study of the self-initiation mechanism in thermal polymerization of methyl acrylate, *J. Phys. Chem. A* **113**(40), 10787 (2009).
- [60] A. Žukauskas, M. Malinauskas, G. Seniutinas, S. Juodkazis, *Rapid Laser Optical Printing in 3D at a Nanoscale* (Wiley-Blackwell, 2016), pp. 1–23.
- [61] H. Berthou, C. K. Jörgensen, Optical-fiber temperature sensor based on upconversion-excited fluorescence, *Opt. Lett.* **15**(19), 1100 (1990).
- [62] K. Shimada, S. Matsushita, Thermal coagulation of bovine serum albumin, *Agric. Biol. Chem.* **45**(9), 1945 (1981).

Summary

Investigation of femtosecond pulse induced polymerization properties of photosensitive nano-composites

Simonas Varapnickas

High cytotoxicity of virtually all commercially available photoinitiators prevents 3D microstructures fabricated by direct laser writing (DLW) from wide application in emerging biomedical applications as manufacturing of drug delivery agents or bio-degradable implants. Thus the research of new materials as bio-compatible polymerization enhancers is of high importance. Also, there is no agreement between research groups regarding temperature kinetics while polymerization reaction takes place as experimental attempts to evaluate local temperature changes concludes to completely contrary results so far.

In this work we investigate the influence of gold nanoparticles (Au NP) (as potentially bio-compatible polymerization enhancer) to photosensitivity of PEG-DA-700 photopolymer. We found PEG-DA-700 monomers / water solution to be a suitable prepolymer for hydrogels fabrication even when monomers concentration was reduced to as low as 50 wt%. The research shows that doping PEG-DA-700 monomer with Au NP (doping concentrations varying between $3 \cdot 10^{-3}$ and $4.8 \cdot 10^{-3}$ wt%), enhances photopolymer sensitivity as measured polymerization threshold values were 25-35% lower compared to pure PEG-DA monomers mixture.

In this work we also test bovine serum albumin stabilized gold (BSA-Au) nanoclusters in PEG-DA and NaYbF₄:Er³⁺ upconverting nanoparticles (UCNPs) in SZ2080 as thermosensitive agents for *in-situ* local temperature change detection due to polymerization reaction in DLW process. Luminescence imaging experiments show that BSA-Au fluorescence intensity is being quenched as exposing pulse energy increases. However, due to low quantum yield of nanoclusters, temperature dependent spectral shifts were not clearly observed and calibration of local temperature changes was not implemented. In high contrast to this, luminescence of Er³⁺ -doped UCNPs exhibited obvious changes of thermally-coupled spectral bands intensity ratios while prepolymer being processed in different DLW regimes. We calculated average fitted temperature changes around polymerized voxel to be $\overline{\Delta T}_1 < 3$ K when writing within process window and goes up to $\overline{\Delta T}_2 < 170$ K in overexposing regime.

The obtained results suggests Au doped nanocomposite to be a perspective material for 3DLL applications as it consists of completely bio-compatible components. Our suggested *T*-sensitive nano-composites might be found interesting for further investigation towards contactless thermo-sensing applications in nanoscale.

Santrauka

Fotojautrių nanokompozitų polimerizacijos, inicijuotos femtosekundiniais impulsais, savybių tyrimas

Simonas Varapnickas

Dėl fotoiniciatorių, naudojamų fotopolimerų sintezei, citotoksiškumo, TLR būdu gaminami 3D mikrodariniai ne visuomet gali būti panaudojami bio-medicinos taikymams, kaip vaisių pristatymo agentų ar bio-suderinamų, bio-skaidžių implantų gamybai. Todėl naujų, bio-suderinamų medžiagų, skatinančių polimerizacijos reakciją paieška – svarbus šių dienų uždavinys. Be to, mokslinėje bendruomenėje nėra vieningai sutariama dėl terminių reiškinių kinetikos inicijuojant polimerizacijos reakciją ultratrumpais impulsais. Skirtingų grupių eksperimentiniai rezultatai yra prieštaringi net kai bandymai atlikti su vienodomis medžiagomis ir naudojant panašius eksponavimo paramterus.

Šiame darbe tiriama aukso nanodalelių (Au ND), kaip biologiškai suderinamų potencialiai polimerizaciją stiprinančių agentų, įtaka PEG-DA-700 fotopolimerų fotojautrumui. Nustatyta, kad PEG-DA-700 monomerų / vandens tirpalas yra tinkamas prepolimeras mechaniškai stabilų hidrogelinių darinių formavimui, kai monomerų mišinio koncentracija ≥ 50 wt%. Rezultatai rodo, kad PEG-DA-700 monomero legiraviamas Au NP (legirantų koncentracijai esant tarp $3 \cdot 10^{-3}$ ir $4,8 \cdot 10^{-3}$ wt%), didina polimero pirmtako fotojautrumą – išmatuotos polimerizacijos slenksčio vertės buvo 25-35% mažesnės, lyginant su gryno PEG-DA monomerų / vandens mišinio.

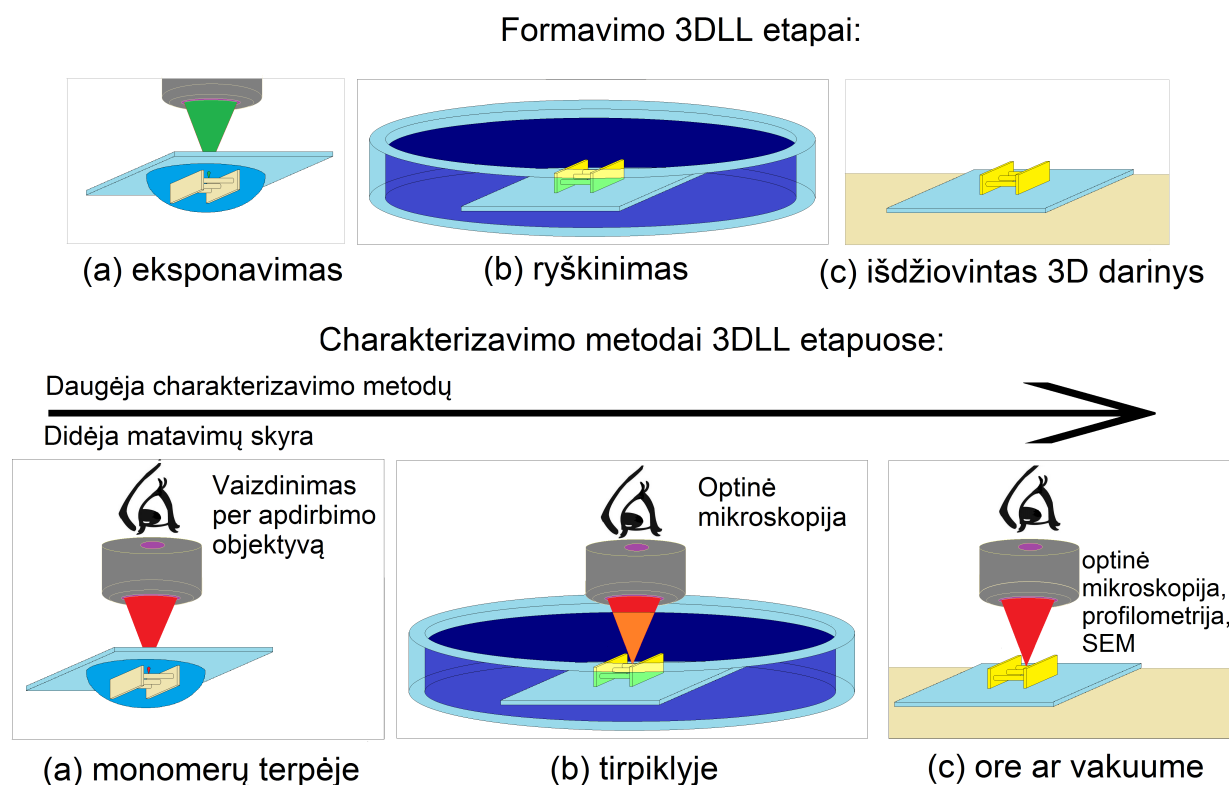
Darbe taip pat aprašomi JSA-Au nanoklasterių PEG-DA hidrogelio pirmtake ir $\text{NaYbF}_4:\text{Er}^{3+}$ dvipakopiškai perspinduliuojančių nanodalelių SZ2080 polimero pirmtake kaip termojautrių agentų fluorescencinio atsako matavimų *in-situ* polimerizacijos metu rezultatai. Liuminescencinio atsako registravimo eksperimentai parodė, kad JSA-Au fluorescencija yra gesinama didėjant eksponuojančio lazerio pluošto impulsų energijai. Tačiau dėl žemo nanoklasterių kvantinio našumo, temperatūros pokyčių nulemti fluorescencijos spektro poslinkiai nebuvo patikimai užregistruoti. Priešingai, iš Er^{3+} legiruotų DP ND liuminescencinio atsako, užregistruotas aiškus termiškai surištųjų spektrinių juostų intensyvumo santykių kitimas, kai polimero pirmtakas apdirbamas skirtingais TLR režimais. Apskaičiuotos vidutinės temperatūros kitimo polimerizacijos zonos aplinkoje vertės: $\overline{\Delta T}_1 < 3$ K, kai rašoma apdirbimo lango viduje; $\overline{\Delta T}_2 < 170$ K perekspnuojant polimero pirmtaką.

Gautieji rezultatai rodo, jog Au junginiais funkcionalizuoti nanokompozitai, dėl gero biosutaikomumo, yra perspektyvios medžiagos 3DLL taikymams. Tolimesni polimerų pirmtakų termojautrių nanokompozitų tyrimai gali būti naudingi kuriant naujus bekontaktus termojautiklius, veikiančius nanometrinėje skalėje.

Priedai

1. Hidrogelinių mikro darinių charakterizavimo metodai

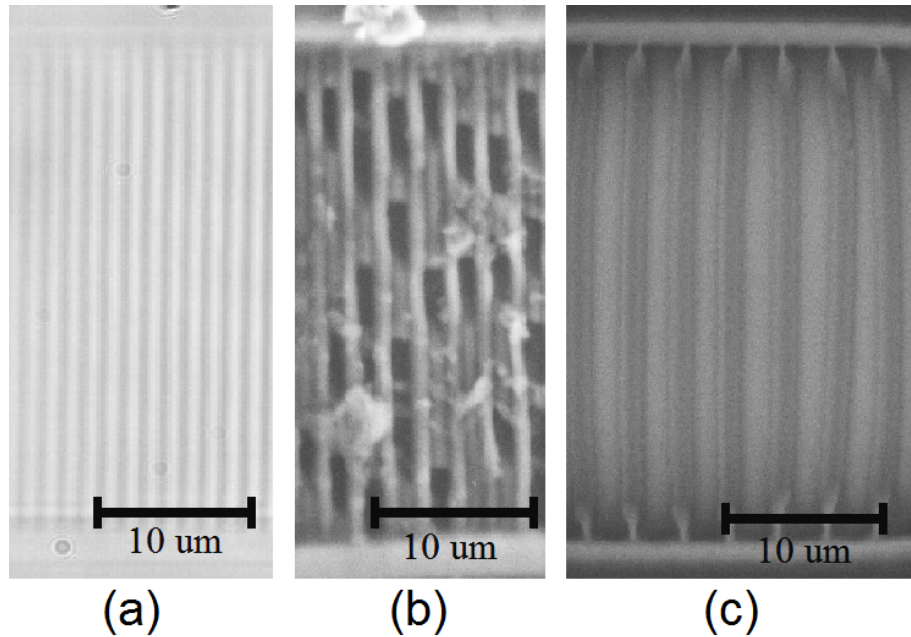
Eksperimentinei 3DLL gamybos parametrų analizei naudojamas raiškos tiltų formavimo metodas: fotopolimero tūryje formuojamos stabilios atraminės sienos tarp kurių norimais eksponavimo parametrais įrašomos pavienės gijos. Bandiniai išryškunami tirpiklyje ir išdžiovinami, o jų charakterizavimas atliekamas optinės mikroskopijos, profilometrijos ar SEM metodais (36 pav.).



36 pav. 3DLL metodu formuojamų hidrogelinių darinių gamybos etapų schematinis atvaizdavimas. Pažymėti kiekviename etape pritaikomi darinio charakterizavimo metodai.

Šiame darbe tiriamas hidrogelinių darinių formavimas, o tokie dariniai pasižymi savybe keisti matmenis priklausomai nuo juos supančios terpės. Raiškos tiltų įrašymo PEG-DA fotopolimere ir charakterizavimo SEM metodu tipinė seka pavaizduota 37 pav.

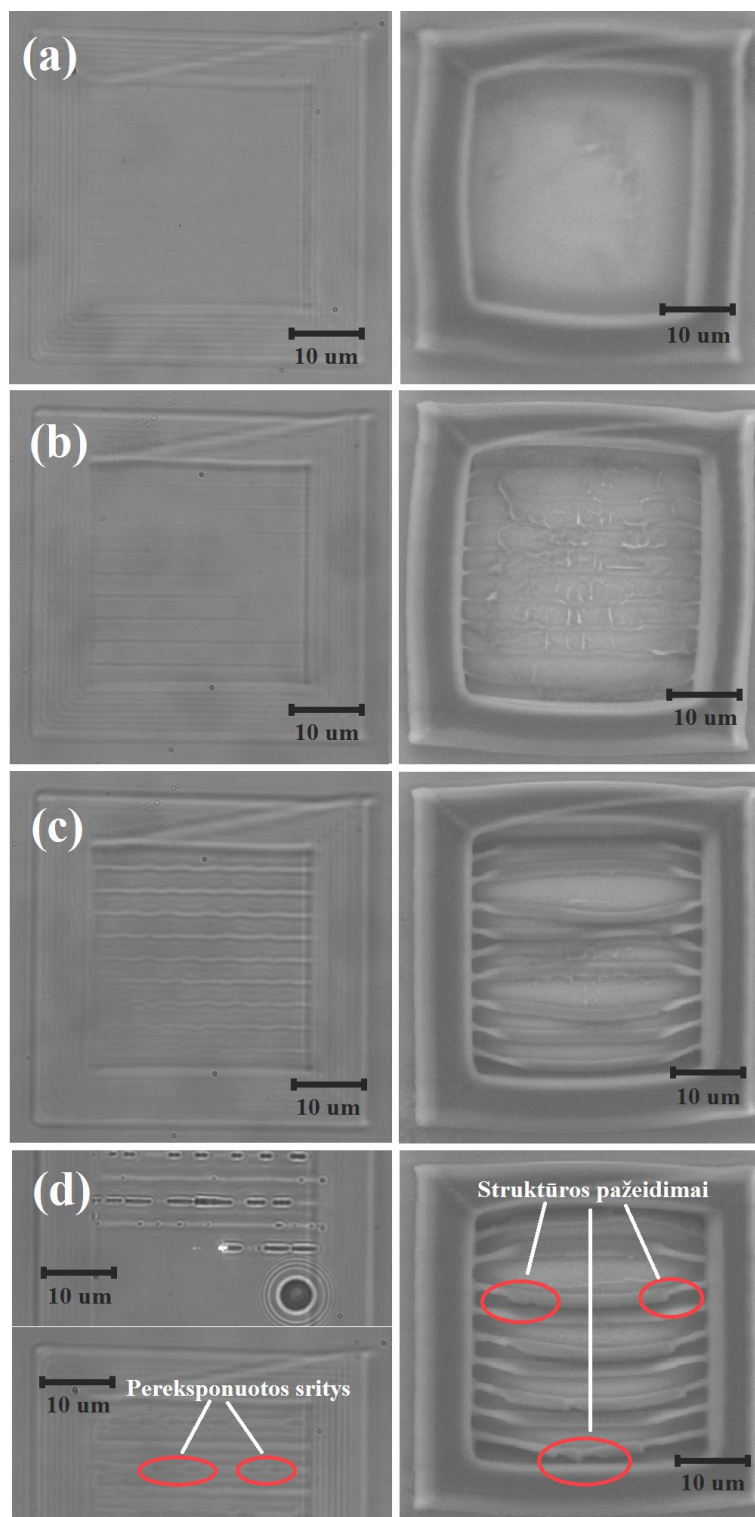
Matome, jog priklausomai nuo bandinio ryškinimo ir džiovinimo laiko, tapačiu režimu suformuotų gijų geometrija skiriasi. Tokia analizė neduoda patikimų rezultatų, nes praktiškai neįmanoma užtikrinti, kad visi tiriamieji bandiniai būtų vienodai dehidratuoti. Be to, dėl atraminių sienų susitraukimo džiovinimo metu, suformuotos gijos subliūkšta ir persisuka, o tai apsunkina vokselių, iš kurių sudarytos gijos, matmenų nustatymą.



37 pav. Polimerizacijos proceso parametų charakterizavimas raiškos tiltų metodu: (a) periodinių gijų įrašytų tarp standžių atramų fotopolimere optinė nuotrauka; (b) dalinai išryškinto ($T_{rysk.} = 5$ min) bandinio SEM atvaizdas; (c) visiškai išryškinto ($T_{rysk.} = 30$ min) ir išdžiovinto bandinio SEM atvaizdas.

Dėl šių priežasčių, šio darbo apimtyje hidrogelinių darinių pirminis charakterizavimas atliekamas jiems esant skystoje monomerų mišinio terpėje, naudojant TLR sistemoje integruotą bendrašę imersiniam apdirbimo objetyvui vaizdinimo sistemą. Charakteringi skirtingais režimais suformuotų gijų vaizdai pateikti 38 pav.: (a) dalyje esantys vaizdai atitinka situaciją, kai stebimas nežymus lūžio rodiklio pokytis prepolimero tūryje, bet neužtikrinamas darinio mechaninis stabilumas po ryškinimo; (b) nežymiai viršijamas polimerizacijos slenkstis – minimalus eksponavimo intensyvumas kai gaunamas mechaniškai stabilus polimeras; (c) apdirbimo režimas proceso lango viduryje; (d) stebimas burbulo formavimas ir pereksponuoti taškai. Aitinkamai, iškraipyta darinio geometrinė forma stebima išryškintus polimerą. Kairėje pusėje pavaizduotos TLR sistemoje esančios CMOS kameros nuotraukos, dešinėje pusėje – tų pačių darinių SEM atvaizdai. Išryškintų hidrogelinių darinių charakterizavimas buvo atliekamas skenuojančiu elektroniniu mikroskopu HitachiTM–1000.

Nors tokia analizė neleidžia tirti hidrogelinių darinių formavimo ypatumų polimerizacijos proceso lango viduje, aukštu rezultatų patikimumu ir atsikartojamumu galime užregistruoti ribines eksponavimo intensyvumo vertes I_{sl} ir $I_{o.p.}$, kurias laikysime skirtingų hidrogelių pirmtakų fotojautrumą charakterizuojančiais parametrais.



38 pav. 3DLL metodu formuojamų hidrogelinių darinių kokybė priklausomai nuo formavimo režimo: (a) eksponavimas ikislenkstiniu intensyvumu; (b) nežymiai viršytas polimerizacijos slenkstis; (c) formavimas proceso lango viduryje; (d) burbulo formavimasis (optinis polimero pramušimas).

2. Parengti pranešimai ir publikacijos

Pranešimai konferencijose:

1) S. Varapnickas, D. Baziulytė, L. Jonušauskas, S. Šakirzanovas and M. Malinauskas „NaYbF₄:Er³⁺ UCNPs as luminescent temperature probes for local temperature change imaging during direct laser writing“, SPIE NanoPhotonics Australasia 2017, Melburnas, Australija, 2017 (pateiktos tezės)

2) S. Varapnickas, L. Jonušauskas and M. Malinauskas „Functionalization of poly (ethylene glycol) diacrylate for nanoparticles enhanced 3D laser lithography and temperature sensing applications“, Open readings 2017, Vilnius, Lietuva, 2017.

3) L. Jonušauskas, M. Lau, S. Varapnickas, P. Gruber, B. Gökce, S. Barcikowski, A. Ovsianikov and M. Malinauskas, „Femtosecond laser 3D microstructuring of plasmonic nanoparticle doped hybrid polymers“, SPIE Photonics West, San Franciskas, JAV, 2017.

4) L. Jonušauskas, E. Skliutas, S. Varapnickas, S. Rekštytė and M. Malinauskas, „Application oriented functional materials for femtosecond laser micro- and nanofabrication“, 16 Baltic polymer symposium 2016, Klaipėda, Lietuva, 2016.

Publikacijos:

1) L. Jonušauskas, S. Varapnickas, G. Rimšelis and M. Malinauskas, „Plasmonically enhanced 3D laser lithography for high-throughput nanoprecision fabrication“, Proc. SPIE **10092**, 1009218 (2017)

2) M. Ryu, V. Mizeikis, J. Morikawa, H. Magallanes, E. Brasselet, S. Varapnickas, M. Malinauskas and S. Juodkasis, „3D laser printing by ultra-short laser pulses for micro-optical applications: towards telecom wavelengths“, Proc. SPIE **10339**, 1033905 (2017) (straipsnis priimtas)