



POLITECNICO DI TORINO

SCUDO – Scuola di Dottorato

Dottorato di Ricerca in Meccanica

TESI DI LAUREA

*Progettazione di un microgripper attuato termicamente
per analisi reologiche cellulari*

Relatore: Prof. Ing. Aurelio Somà

Candidata: Sonia Iamoni (Matr. 178821)

Marzo 2014

Indice degli argomenti trattati

Guida alla lettura della tesi	3
Sommario	4
Introduzione	5
Capitolo 1	
I bio-MEMS: analisi dei principali parametri tecnologici considerati nella loro progettazione	8
1.1 Cinematica	9
1.2 Forma della zona di presa	10
1.3 Controllo della forza applicata	10
1.4 Strategie di rilascio	10
Capitolo 2	
2.1 Sistemi di attuazione e relativo stato dell'arte	12
2.1.1 Attuazione interna	12
2.1.2 Attuazione esterna	19
2.1.3 Dettagli sui principali sistemi di attuazione trovati in letteratura	26
2.2 Principali materiali utilizzati nella fabbricazione dei microdispositivi	28
Capitolo 3	
Progettazione di dettaglio di un micromanipolatore cellulare attuato termicamente	29
3.1 Considerazioni generali	29
3.2 Analisi fisico-matematica del microdispositivo	30
3.3 Simulazione FEM del micromanipolatore	35
3.3.1 Calcolo della freccia di inflessione del microsistema per effetto del peso proprio	35
3.3.2 Analisi termo-strutturale del micromanipolatore	36

Capitolo 4

Studio del problema del contatto cellula-indentatore AFM per l'analisi reologica cellulare 41

Capitolo 5

Realizzazione del micromanipolatore esaminato 47

5.1 Realizzazione virtuale del micromanipolatore 47

5.2 Realizzazione in laboratorio del micromanipolatore 51

Conclusioni 54

Riferimenti bibliografici 55

Riferimenti sitografici 57

Lista delle figure 59

Lista delle tabelle 69

Appendice 70

Guida alla lettura della tesi

Lo scopo di questa guida è quello di fornire alcune informazioni circa la strutturazione della tesi indipendentemente dall'argomento in essa trattato.

Dopo un breve sommario atto ad esporre concisamente l'argomento trattato, un'introduzione e i capitoli costituenti il corpo della tesi, si trovano i riferimenti bibliografici e sitografici e le liste delle figure e delle tabelle riportate nel testo. La bibliografia e la sitografia contengono tutte le fonti (libri, seminari, articoli, riviste, pagine web) da cui sono state attinte le nozioni esposte. Le pagine in rete sono indicate con il proprio indirizzo e la data di ultima consultazione; i libri, gli articoli e le riviste sono classificati con il titolo, i nomi degli autori, la data di pubblicazione e la casa editrice; i seminari sono designati dall'anno e dal luogo dello svolgimento. I richiami bibliografici e sitografici vengono fatti nel corpo della tesi mettendo in corrispondenza di una determinata citazione un numero tra parentesi quadre che è lo stesso che si trova anche nella bibliografia/sitografia seguito dalla corrispondente fonte; questo numero è seguito dalla lettera "b" se il richiamo è bibliografico e dalla lettera "s" se il richiamo è sitografico. La lista delle figure e delle tabelle riporta tutte le immagini e le tabelle della trattazione; per ognuna di esse è presente la fonte da cui è stata presa nonché la relativa didascalia che permette di comprenderne il significato anche senza leggere il contenuto del testo.

Infine è presente un'appendice in cui sono riportate informazioni utili per meglio comprendere quanto esposto e rendere più agevole la lettura senza pesanti digressioni. I concetti che necessitano di una spiegazione in appendice sono affiancati nel corpo della tesi da una lettera in stampatello maiuscolo tra parentesi quadre posta come apice.

Sommario

La tesi proposta riguarda la progettazione di un micromanipolatore cellulare attuato termicamente; il dispositivo è stato progettato attraverso l'analisi di modelli analitici fisico-matematici e il suo funzionamento è stato simulato in ambiente FEM (Finite Element Method) mediante l'utilizzo del programma Ansys Multiphysics (v11.0).

Il microdispositivo è stato realizzato in collaborazione con il centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) di Bucharest (Romania).

Segue un elenco schematico circa il contenuto dei vari capitoli costituenti il corpo principale della tesi:

- *Capitolo 1*: descrizione dei dispositivi bio-MEMS in termini di funzionamento, applicazioni principali e relativo stato dell'arte;
- *Capitolo 2*: analisi dei parametri tecnologici coinvolti nella progettazione MEMS;
- *Capitolo 3*: progettazione di un micromanipolatore cellulare attuato termicamente;
- *Capitolo 4*: studio del problema del contatto cellula-indentatore AFM;
- *Capitolo 5*: fasi della realizzazione virtuale e in laboratorio del micromanipolatore.

Infine si trovano la conclusione, i riferimenti bibliografici e sitografici, la lista delle figure e delle tabelle e l'appendice.

Introduzione

“Long ago it became evident that the key to every biological problem must finally be sought in the cell; for every living organism is, or at some time has been, a cell.”

E.B. Wilson (1856-1939), famoso biologo cellulare

Ogni essere vivente è, o a suo tempo è stato, una cellula ed è per questo motivo che la soluzione ad ogni problema biologico deve essere ricercata nelle cellule [1b]; lo studio delle proprietà meccaniche cellulari è di grande interesse sia in ambito medico che biologico per riconoscere e prevenire alcune malattie che causano l'alterazione del comportamento e della resistenza delle cellule coinvolte.

I bio-MEMS (biological Micro Electro-Mechanical Systems) consentono l'applicazione di forze estremamente piccole e precise che aumentano, di conseguenza, il numero di risultati possibili per esperimento e il numero di esperimenti che possono essere condotti simultaneamente. Le specifiche impongono parecchie limitazioni e difficoltà nella progettazione di micromanipolatori e questi ostacoli sono ancora più evidenti nel caso di micromanipolazione di elementi biologici (ad esempio le cellule); i principali parametri che devono essere presi in considerazione sono l'attuazione del microdispositivo, la sua cinematica, la forma della sua zona di presa, la sua strategia di rilascio dell'oggetto manipolato e la biocompatibilità dei materiali da cui è costituito.

Le cellule sono la più piccola forma di vita (diametro compreso nel range 10÷50 μm) e le unità strutturali e funzionali di tutti gli esseri viventi. Il corpo umano contiene trilioni di cellule^[A] organizzate in più di 200 tipologie (ad esempio le cellule epiteliali, gli osteociti, gli epatociti, i neuroni, gli emociti) diverse per forma, dimensioni e funzione. Le cellule che appartengono alla stessa tipologia lavorano insieme in gruppi chiamati *tessuti*.

Le cellule svolgono migliaia di funzioni essenziali per la vita e alcune di esse producono sostanze di cui il nostro corpo necessita (ad esempio il sudore, la saliva, gli enzimi, gli ormoni e gli anticorpi).

Le cellule all'interno del corpo umano sono soggette a continui stimoli (ad esempio gli osteociti sono soggetti a compressione, le cellule endoteliali (cellule che rivestono i vasi sanguigni) sono

sottoposte sia a trazione che a taglio, le cellule muscolari sono soggette a trazione e quelle cardiache sia a trazione che a compressione).

Alcune malattie, come ad esempio le patologie cardiovascolari e le lesioni intracraniche, causano cambiamenti nel comportamento cellulare e conseguentemente la resistenza cellulare è modificata in caso di sollecitazioni. Al fine di riconoscere e/o prevenire alcune malattie, l'analisi delle proprietà meccaniche cellulari (reologia^[B] cellulare) è fondamentale.

Il problema della meccanica cellulare può essere affrontato in due modi diversi:

- Studio di intere popolazioni cellulari;
- Studio di singole cellule.

La dinamica delle popolazioni cellulari può essere analizzata utilizzando bioreattori; un aspetto critico concernente lo studio di colonie di cellule è che l'eterogeneità delle risposte delle cellule è ampiamente ignorata e di conseguenza la risposta di una singola cellula agli stimoli meccanici non può essere facilmente disaccoppiata dalla risposta data dall'intera popolazione di cellule.

Per quanto concerne l'approccio con le singole cellule [15], le tecniche esistenti possono essere suddivise in due categorie separate:

- Sonde locali (ad esempio il metodo AFM^[C] e il metodo MTC^[D]) usate per stimolare una porzione della membrana cellulare (v. Figura 1 e Figura 2);
- Stimolazione meccanica dell'intera cellula mediante, ad esempio, l'aspirazione con micropipetta (v. Figura 3), le micropiastre o i dispositivi MEMS la cui grande flessibilità, in termini di possibili modalità di sollecitazione e di dimensioni compatibili con le caratteristiche della singola cellula (10÷50 μm), li rende la soluzione migliore per la manipolazione cellulare; altri fondamentali vantaggi dei dispositivi MEMS riguardano la possibilità di applicare forze in un ampio intervallo (pN÷ μN), di condurre studi su singole cellule sia aderenti ad un substrato sia in sospensione sulla superficie di un liquido, di stimolare l'intera cellula e non solo una porzione locale della sua membrana.

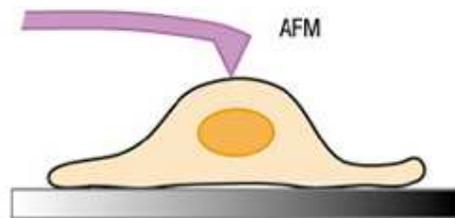


Figura 1: metodo AFM (Atomic Force Microscopy)

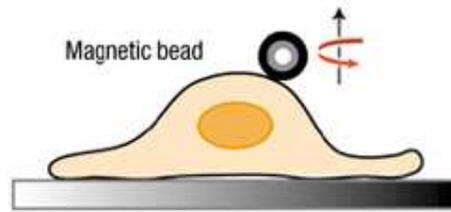


Figura 2: metodo MTC (Magnetic Twisting Cytometry)

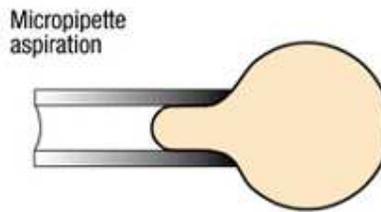


Figura 3: aspirazione con micropipetta

Nel corpo umano le cellule sono sottoposte a differenti sollecitazioni in relazione al loro funzionamento; a questo proposito risulta essere molto utile la versatilità dei dispositivi MEMS in quanto con essi è possibile applicare anche stati di sollecitazione biassiali (questa condizione di carico è molto comune nelle cellule che compongono il pericardio).

Capitolo 1

I bio-MEMS: analisi dei principali parametri tecnologici considerati nella loro progettazione

Negli ultimi anni le cellule sono state oggetto di numerosi studi e di sofisticati esperimenti che non hanno solo coinvolto la medicina e la biologia, ma anche fisici, chimici ed ingegneri. Anche se si sa molto circa la struttura cellulare, ancora poco è noto a proposito della meccanica cellulare e della risposta delle cellule agli stimoli meccanici.

L'aumento delle microtecnologie ha portato allo sviluppo di nuove tecniche di assemblaggio che prevedono la manipolazione di oggetti molto piccoli; il problema legato alla manipolazione di elementi ottici, elettronici e meccanici in scala micrometrica o nanometrica può essere risolto utilizzando speciali micromanipolatori e microposizionatori.

Il meccanismo di attuazione dei micromanipolatori cellulari (bio-MEMS) deve essere adatto a lavorare negli ambienti acquosi elettrolitici in cui si trovano le cellule; questo prerequisito limita l'applicazione degli alti voltaggi nel caso di attuatori piezoelettrici dal momento che la formazione di bolle, causata da fenomeni elettrolitici, si verifica in acqua a $1.5 \div 2$ V. L'esposizione a campi magnetici o a campi elettrici può avere effetti negativi sulle cellule e ciò limita l'utilizzo di micromanipolatori elettromagnetici o elettrostatici. I micromanipolatori realizzati in leghe a memoria di forma (SMA - Shape Memory Alloys) mancano di affidabilità nel caso di utilizzo prolungato e continuo nel tempo. La massima temperatura a cui si può trovare una cellula senza modificare le sue caratteristiche meccanico-fisiche è intorno ai 37 °C e per questo motivo l'attuazione elettro-termica mostra numerose difficoltà durante la progettazione di micromanipolatori aventi questo tipo di attuazione.

Anche la biocompatibilità dei materiali utilizzati nella realizzazione di questi microdispositivi pone molti limiti nel caso di manipolazione di elementi biologici; questo aspetto verrà approfondito nel secondo paragrafo del prossimo capitolo.

La letteratura [2b] riguardante la progettazione di micromanipolatori cellulari evidenzia che i parametri tecnologici da tenere in considerazione sono i seguenti:

- Principio di attuazione;
- Cinematica;
- Forma della zona di presa;
- Controllo della forza applicata;
- Strategia di rilascio.

La strategia di attuazione del microdispositivo può essere interna o esterna e sarà trattata nel primo paragrafo del prossimo capitolo.

1.1 Cinematica

Le soluzioni cinematiche adottate in letteratura sono molto numerose e legate al campo di applicazione del gripper e alla sua strategia di attuazione; la Figura 1.1.1 riassume le principali strategie cinematiche:

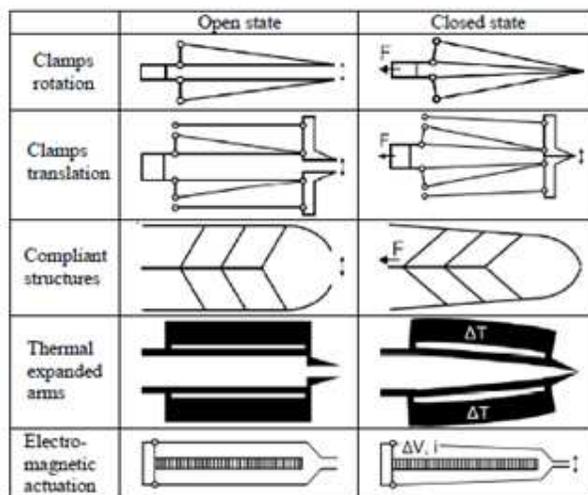


Figura 1.1.1: soluzioni cinematiche

In Figura 1.1.1 la soluzione centrale è relativa ad una classe di manipolatori nei quali l'elasticità del materiale è usata per trasferire la forza dall'attuatore alla cellula amplificando la sua intensità attraverso le caratteristiche geometriche del dispositivo. Questa soluzione è molto interessante grazie alla sua semplicità e alla possibilità di aumentare la superficie di afferraggio limitando la pressione sulla membrana cellulare.

La maggior parte dei micromanipolatori [3b] prevede solo un movimento rotatorio dei bracci di afferraggio. Durante il processo di presa, le forze di reazione agiscono nei punti di contatto tra i bracci e l'oggetto manipolato; nel caso di micro-parti aventi superficie curva, ad esempio cilindrica come alcune cellule, le forze di reazione agiscono perpendicolarmente all'oggetto: la componente rispetto alla direzione "x" mantiene l'oggetto nella zona di presa, ma la componente rispetto alla direzione "y" agisce parallelamente all'asse longitudinale del micromanipolatore e spinge l'oggetto al di fuori della zona di contatto (v. Figura 1.1.2a).

Questo effetto negativo può essere evitato se l'afferraggio si verifica senza la componente "y" della forza di reazione (movimento traslatorio dei bracci); in questo caso il movimento dei bracci è parallelo e la presa dell'oggetto è garantita (v. Figura 1.1.2b).

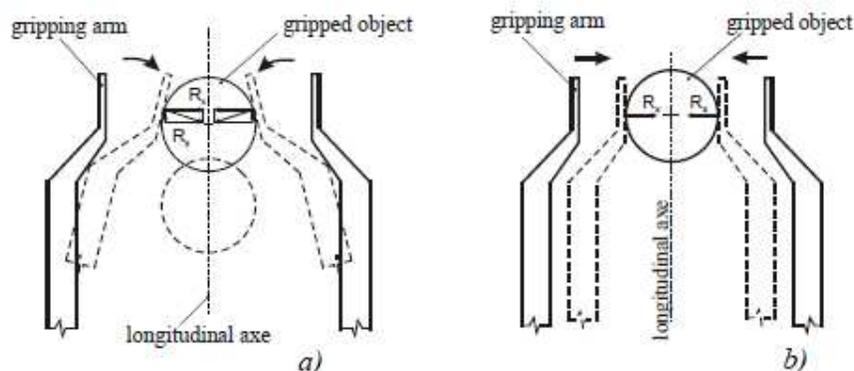


Figura 1.1.2: rotazione dei bracci (a) vs traslazione dei bracci (b)

1.2 Forma della zona di presa

Le forme meno elaborate della zona di presa consentono l'afferraggio solo in due punti (estremità piatte); in questo caso le elevate pressioni di contatto potrebbero danneggiare l'integrità della cellula e per questo motivo questa soluzione non è solitamente adottata nella manipolazione di particelle biologiche. La superficie di contatto aumenta, con la conseguente diminuzione della pressione esercitata sulla membrana cellulare, nel caso di estremità angolari o cilindriche (v. Figura 1.2.1).

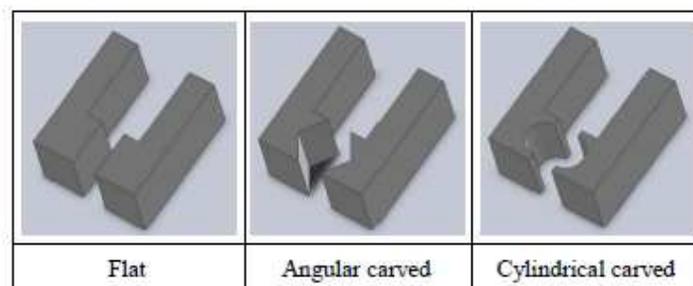


Figura 1.2.1: forma della zona di presa

1.3 Controllo della forza applicata

Il controllo della forza applicata è cruciale nella biomanipolazione a causa della piccola resistenza meccanica delle cellule. La strategia di controllo più adatta è la rivelazione ottica che è senza contatto e molto accurata. Tra gli altri metodi possibili si annoverano i trasduttori piezoresistivi integrati e i sensori microcapacitivi che sono di solito limitati dalla bassa biocompatibilità dei materiali e dalla possibilità di indurre l'elettrolisi dell'acqua con la relativa formazione di bolle.

1.4 Strategie di rilascio

A causa del piccolo effetto della forza di gravità in confronto a quello delle forze di adesione e capillari^[E], nei micromanipolatori cellulari il rilascio è generalmente problematico. Le principali

strategie di rilascio possono essere divise in passive e in attive; le prime sfruttano le caratteristiche della superficie di afferraggio (ad esempio la forma, il materiale, il rivestimento), mentre le seconde fanno uso di azioni esterne (ad esempio forze, pressioni, vibrazioni). Lo schema seguente riassume i più comuni sistemi di rilascio discussi in letteratura:

Rilascio passivo:	Superfici ruvide: l'area di contatto e la forza di adesione elettrostatica sono ridotte
	Rivestimento idrofobico: l'effetto della tensione superficiale è ridotto
	Rivestimento conduttore: le forze elettrostatiche sono ridotte
	Ambiente in cui è stato creato il vuoto: l'effetto della tensione superficiale è ridotto
	Ambiente fluido: l'effetto della tensione superficiale è eliminato e le forze elettrostatiche sono ridotte
	Aria ionizzata: le forze elettrostatiche sono ridotte
Rilascio attivo:	Vibrazioni: il rilascio dell'oggetto è dovuto a forze inerziali
	Pressione dell'aria: le forze di adesione sono vinte da un flusso d'aria pressurizzato
	Riscaldamento: le forze capillari sono ridotte dall'aumento della temperatura
	Controllo elettrostatico: la forza elettrostatica è controllata cortocircuitando gli elettrodi del gripper o invertendo la polarità
	Adesione al substrato: l'adesione dell'oggetto è dovuta ad elevate forze di adesione
	Strumenti addizionali: sono usati per staccare l'oggetto

Capitolo 2

2.1 Sistemi di attuazione e relativo stato dell'arte

2.1.1 Attuazione interna

È possibile costruire alcune parti specifiche del manipolatore utilizzando materiale piezoelettrico (PZT) per generare una forza localizzata quando viene fornito un voltaggio.

La forza elettrostatica può essere usata come attuazione applicando una differenza di potenziale su un condensatore avente armatura mobile.

L'attuazione termica si basa sull'espansione dei bracci dovuta all'effetto Joule in presenza di corrente elettrica.

Una risposta più rapida può essere ottenuta utilizzando le leghe a memoria di forma (Shape Memory Alloys); questi materiali sono in grado di recuperare la forma memorizzata quando la temperatura di soglia viene superata.

L'attuazione elettromagnetica si basa su micro-bobine ed è in grado di generare deboli e confinati campi magnetici.

L'attuazione idraulica e quella pneumatica possono essere utilizzate per manipolare cellule mediante micro-tubazioni integrate in circuiti muniti di pompe e di valvole in scala micrometrica.

Ci sono alcune limitazioni da non sottovalutare nel caso in cui si progetti un micromanipolatore cellulare con attuazione interna. Gli attuatori PZT hanno un output fortemente non lineare, un'elevata tensione di alimentazione, piccoli range di movimento e problemi legati al creep, alla fatica meccanica, all'isteresi e alla biocompatibilità dei materiali; conseguentemente richiedono un sistema di controllo integrato. Gli attuatori elettrostatici presentano come svantaggio le piccole dimensioni del condensatore e per aumentare la forza di attuazione sono necessarie delle forme del dispositivo molto complesse e munite di un'armatura a pettine (*comb drives*); la piccola distanza tra i denti riduce il range di movimento e la tensione applicata causa l'elettrolisi negli ambienti umidi da cui vengono prelevate le cellule.

Gli attuatori termici devono essere in grado di dissipare il calore per evitare il surriscaldamento della cellula manipolata.

Le leghe a memoria di forma presentano piccole deformazioni, una marcata non linearità, isteresi e il loro processo di fabbricazione è molto complicato in scala micrometrica.

Gli attuatori elettromagnetici sono limitati dal fatto che le loro piccole dimensioni implicano un elevato riscaldamento della bobina dovuto all'effetto Joule e basse correnti; il campo magnetico

risultante è basso e soggetto a rilevanti perdite con conseguente piccola potenza sviluppata per unità di volume.

Gli attuatori idraulici e pneumatici non sono adatti per operazioni di precisione che coinvolgono più di una singola cellula; l'attuazione idraulica può essere applicata solo ad ambienti umidi.

Attuazione piezoelettrica

La Figura 2.1.1.1 mostra una struttura monolitica [4b] in grado di manipolare componenti le cui dimensioni oscillano tra pochi micron e alcune centinaia di micron; i bracci della zona di presa risultano sempre allineati in quanto si muovono parallelamente sfruttando la deformabilità elastica di cerniere flessionali al posto di cuscinetti, giunti e/o ingranaggi. Quest'ultimo aspetto consente di utilizzare il dispositivo in ambienti puliti privi di lubrificanti o di altri contaminanti.

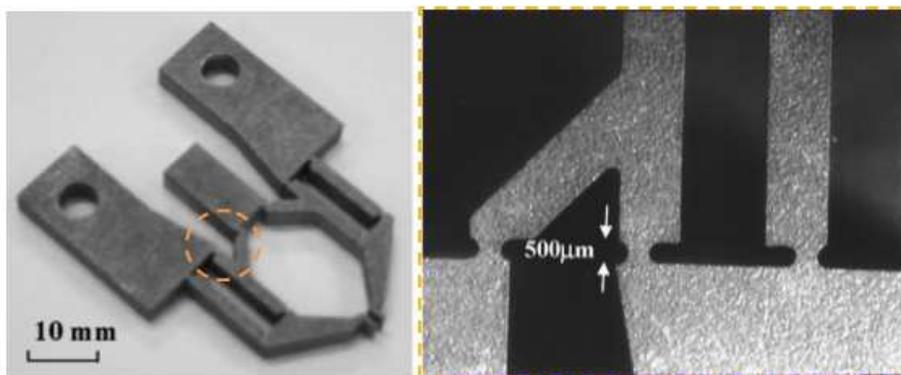


Figura 2.1.1.1: micromanipolatore con attuazione PZT e particolare delle sue cerniere flessionali

Questo microdispositivo è stato realizzato da un singolo pezzo in acciaio per molle utilizzando l'elettroerosione a micro-filo (EDM – micro-wire Electrical Discharge Machine^[F]); un altro materiale utilizzato per la sua fabbricazione è l'alluminio.

In Figura 2.1.1.2 è possibile vedere un modello agli elementi finiti del micromanipolatore; la concentrazione delle tensioni (immagine a destra) si ha in corrispondenza dei punti di arresto delle cerniere.

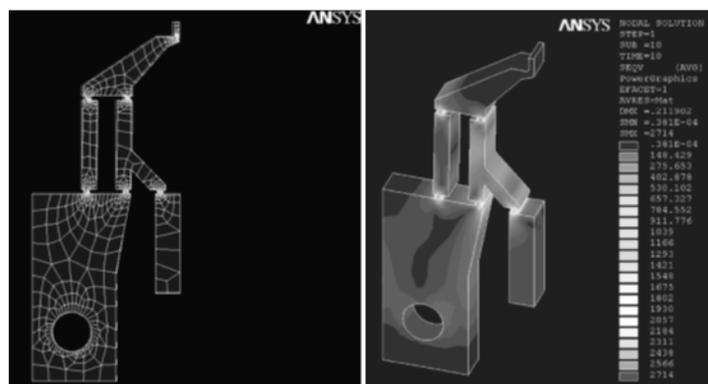


Figura 2.1.1.2: modello FEM (sinistra) e modello FEA (destra) di mezzo micromanipolatore (i valori sono in kPa)

Il dispositivo non è di per sé funzionante; è stato necessario collegarlo ad un sistema di attuazione piezoelettrica, come mostrato anche in Figura 2.1.1.3.

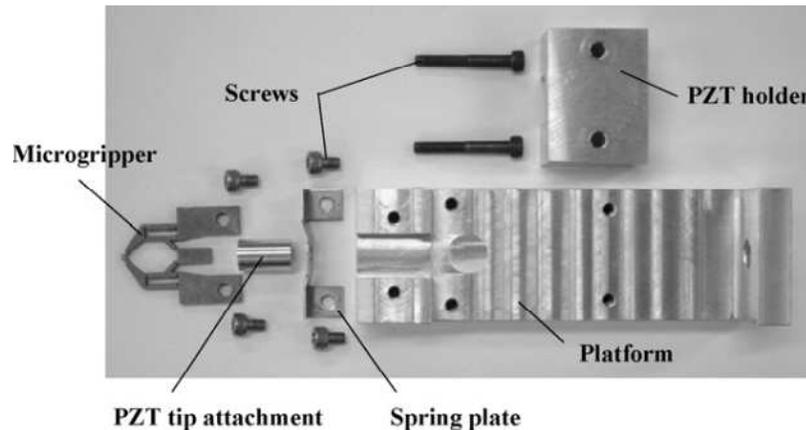


Figura 2.1.1.3: componenti del microdispositivo

Attuazione elettrostatica

Il micromanipolatore in Figura 2.1.1.4 [5b] consiste in un microattuatore attuato elettrostaticamente il cui movimento lineare è convertito nel moto rotazionale dei bracci di presa mediante un sistema di cerniere. Questo microattuatore consiste in una navetta mobile dotata di elettrodi a pettine che è supportata da un sistema flessibile di molle a trave e in un sistema di controelettrodi statici ancorati alla piastra di terra. La navetta mobile e gli elettrodi statici sono isolati elettricamente. Applicando una tensione tra gli elettrodi statici e la navetta viene generata una forza motrice. Il sistema di afferraggio è connesso alla navetta mobile del microdispositivo mediante due travi di tiro; quando la navetta si sposta verso il basso, la zona di afferraggio del micromanipolatore si chiude.

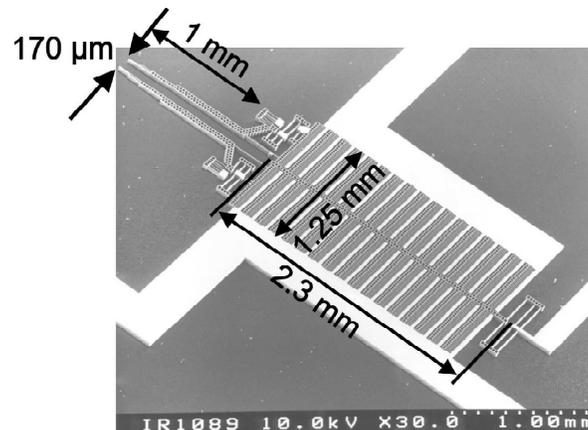


Figura 2.1.1.4: dimensioni di massima del micromanipolatore

Le forze motrici elettrostatiche sono generate negli elettrodi a pettine (v. parte sinistra della Figura 2.1.1.5) che sono considerati dei condensatori a piastre parallele.

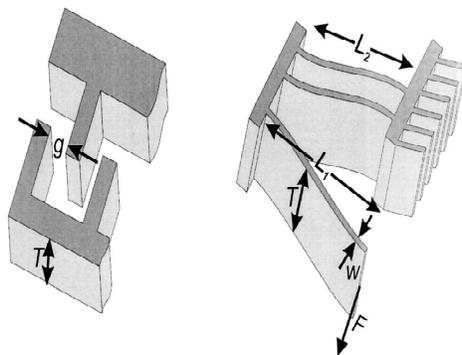


Figura 2.1.1.5: elettrodi a pettine (sinistra) e sistema di sospensione a trave (destra)

Le forze di ripristino sono create da un sistema flessibile di sospensioni a trave (v. parte destra della Figura 2.1.1.5). Per facilitare il movimento di afferraggio, il moto longitudinale (azione di tiro) del microattuatore è convertito in un moto di presa rotazionale grazie ad un sistema di travi flessibili addizionali come è mostrato in Figura 2.1.1.6.

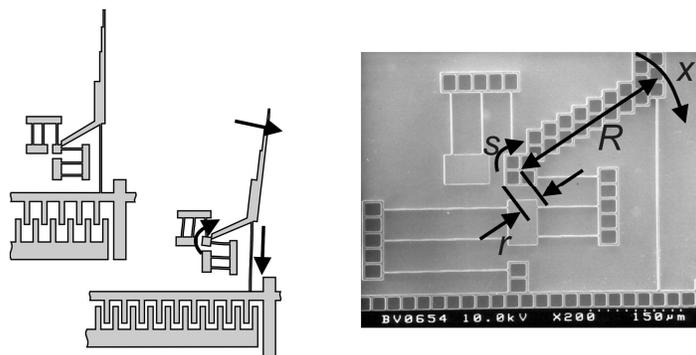


Figura 2.1.1.6: sistema di afferraggio del microattuatore

Poiché la conversione del moto longitudinale in un moto rotazionale dipende dall'inflessione del sistema di travi, una parte della forza motrice è consumata dallo spostamento del sistema di conversione.

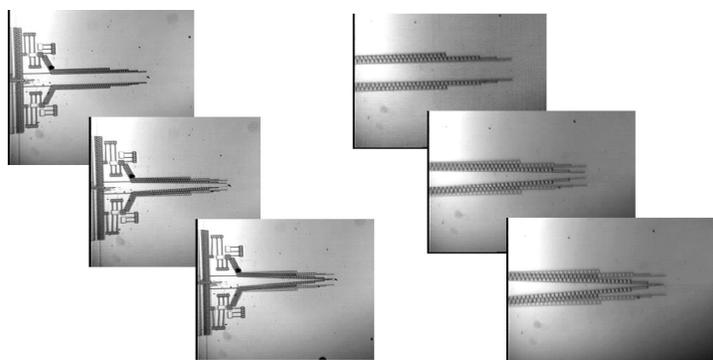


Figura 2.1.1.7: microgripper in funzione

Attuazione termica

Gli attuatori termici si basano sull'espansione termica di un cosiddetto "braccio caldo" riscaldato elettricamente e collegato ad un meccanismo di leve.

Sono solitamente fatti in SU-8 con sottili strati metallici che fungono da conduttori di corrente elettrica.

Possono operare in atmosfera, nel vuoto, così come in ambienti polverosi.

La figura 2.1.1.8 mostra un esempio [6b] di micromanipolatore attuato termicamente:

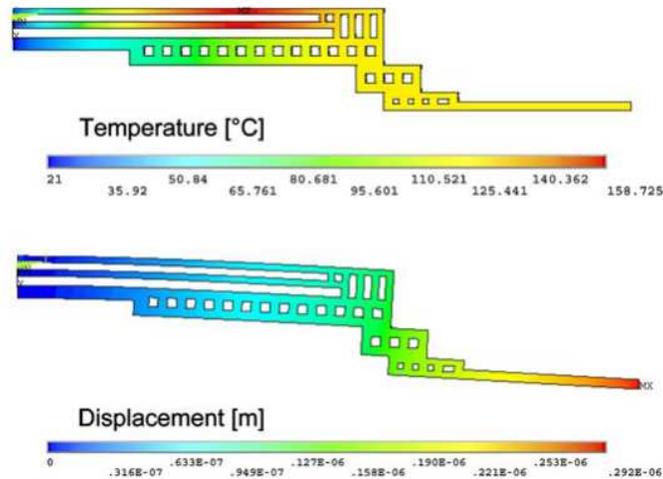


Figura 2.1.1.8: simulazione FEM del micromanipolatore attuato termicamente

Il microdispositivo consiste in una coppia di attuatori elettrotermici che movimentano un paio di pinzette lunghe $20\ \mu\text{m}$ e distanti tra loro $5\ \mu\text{m}$.

La corrente elettrica viene fatta passare attraverso due bracci riscaldati lunghi $275\ \mu\text{m}$ che si scaldano per effetto Joule e conseguentemente si espandono. Un braccio non riscaldato, non soggetto quindi ad espansione termica, è attaccato in parallelo a quelli caldi. La dilatazione termica dei bracci caldi connessi al braccio non in espansione genera una coppia che porta alla chiusura della zona di presa del dispositivo.

In presenza di un singolo braccio caldo, la corrente passa attraverso il braccio caldo e quello freddo; per evitare il riscaldamento del braccio freddo, la sua resistenza elettrica deve essere bassa e per questo il braccio freddo deve essere corto e largo anche se questa sua geometria interferisce con l'elasticità meccanica dell'attuatore.

In presenza di due bracci caldi, la corrente elettrica passa attraverso di essi senza provocare il riscaldamento del braccio freddo.

Il materiale di base è il silicio monocristallino che è rivestito da ossido di silicio utilizzato come strato isolante. La corrente elettrica passa attraverso uno strato metallico (Cr/Au) depositato al di sopra dell'ossido. L'effetto Joule dello strato metallico riscalda l'ossido e il silicio sottostanti.

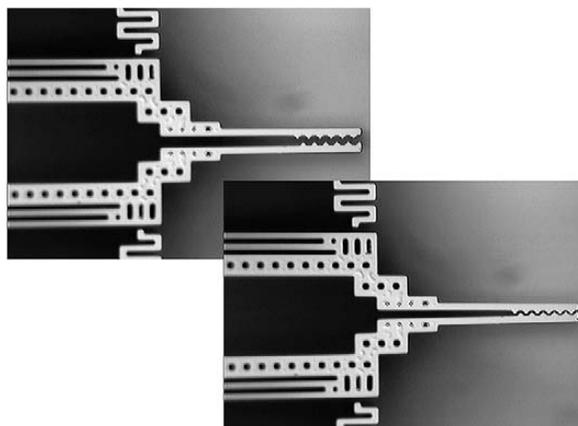


Figura 2.1.1.9: analisi al microscopio ottico del microattuatore termico in configurazione aperta e chiusa

Attuazione mediante SMA

La Figura 2.1.1.10 mostra un'analisi agli elementi finiti [7b] di un microattuatore realizzato in leghe a memoria di forma. (a) è la configurazione iniziale, (b) è lo step di memorizzazione dell'attuatore lineare, (c) è la fase di riscaldamento dell'attuatore lineare con la conseguente attuazione del dispositivo (presa dell'oggetto), (d) è la fase di riscaldamento della zona di presa con conseguente riapertura del microdispositivo.

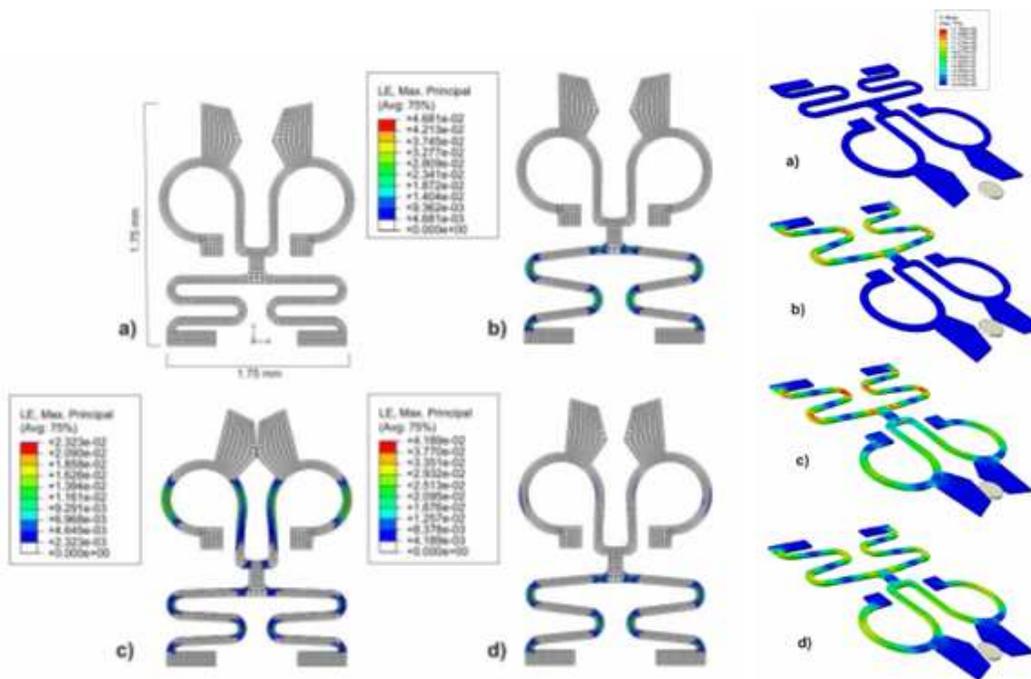


Figura 2.1.1.10: analisi FEM del microdispositivo in leghe a memoria di forma

Il micromanipolatore è composto da due parti: una parte superiore (zona di presa) e una parte inferiore (attuatore lineare); una deformazione iniziale di 2 mm è applicata all'attuatore lineare mentre viene scaldata la zona di presa e per questo motivo un attuatore è in stato martensitico,

mentre l'altro (quello riscaldato) è in fase austenitica. Se l'attuatore lineare è riscaldato fino ad una temperatura di 30 °C e la zona di presa è raffreddata fino ad una temperatura pari a -25 °C, il microdispositivo si chiude attorno al micro-campione manipolato. Se la zona di presa viene scaldata e l'attuatore viene raffreddato, il manipolatore si apre e il micro-campione viene rilasciato.

Attuazione elettromagnetica

La struttura [8b] in Figura 2.1.1.11 è relativa ad un microdispositivo avente attuazione elettromagnetica posizionato su un supporto in acciaio inossidabile montato a sua volta su un sistema di posizionamento x, y, z in controllo automatico.

Gli oggetti da manipolare (ad esempio fibre ottiche o particelle in gomma) sono posizionate su una piattaforma mobile.

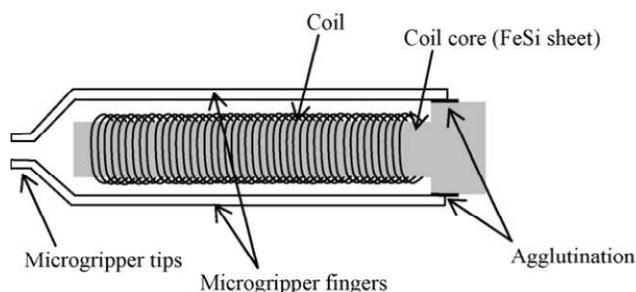


Figura 2.1.1.11: micromanipolatore con attuazione elettromagnetica

La forma delle estremità del dispositivo è mostrata in Figura 2.1.1.12; questa conformazione consente di catturare un singolo oggetto anche se quest'ultimo si trova in stretto contatto con altri.

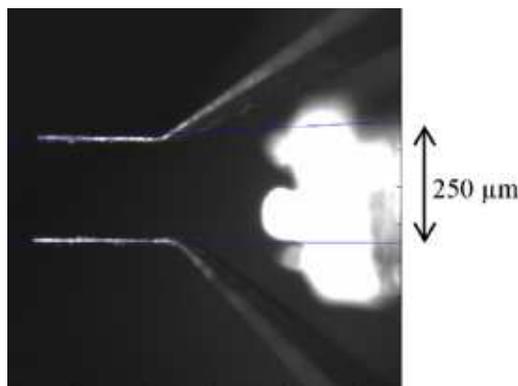


Figura 2.1.1.12: immagine al microscopio delle punte del micromanipolatore

L'attuatore consiste in una bobina a doppio strato (120 spire aventi un diametro pari a 70 μm) posizionata attorno ad un sottile strato di FeSi cristallino. Il nucleo della bobina è stato ottenuto mediante la tecnologia EDM. L'apertura e la chiusura del dispositivo sono controllate dall'applicazione di una corrente elettrica.

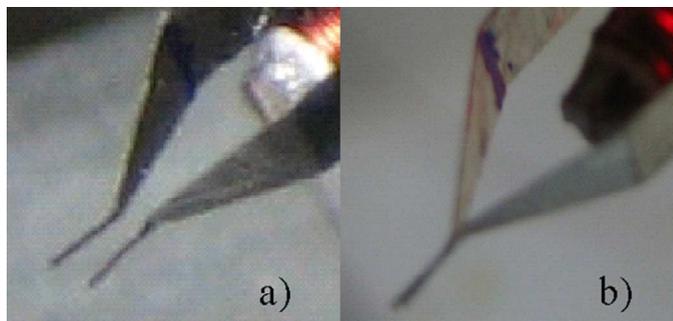


Figura 2.1.1.13: apertura (a) e chiusura (b) delle punte del microdispositivo

La lunghezza complessiva del sistema è di 15 mm; la zona di presa è lunga 8 mm, larga 2 mm e spessa 22 μm . La temperatura dell'attuatore e del microdispositivo viene misurata mediante termocoppie^[9] di tipo K (Ni/CrNi).

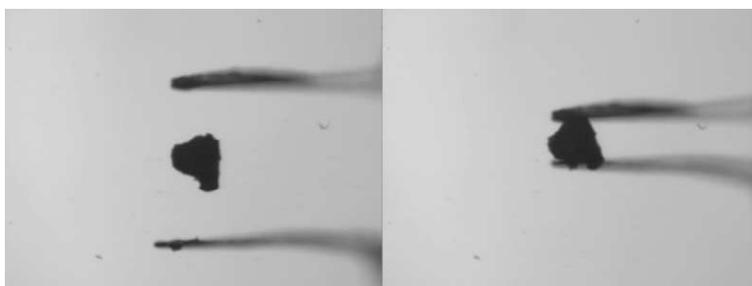


Figura 2.1.1.14: manipolazione di micro-particelle di gomma

2.1.2 Attuazione esterna

L'attuazione esterna prevede un sistema di attuazione completamente separato dal microdispositivo; grazie a questa strategia di attuazione il processo di fabbricazione risulta considerevolmente semplificato in quanto la scelta dell'attuatore non influenza gli effetti che esso può avere sulla cellula manipolata (viene garantito l'isolamento termico della zona di presa, vengono evitati problemi di contaminazione e di biocompatibilità).

Le soluzioni più adatte sono i motori elettrici (motori in corrente continua e motori passo-passo) e i motori piezoelettrici. Gli unici problemi sono legati all'interfaccia tra il motore e il microdispositivo, alle interferenze e agli attriti.

Altre strategie [9b] meno analizzate anche in letteratura riguardanti l'attuazione interna ed esterna includono i motori a ultrasuoni, i picomotori, gli attuatori "stick-slip" e "inchworm".

I motori a ultrasuoni (USM) possono essere classificati in base alla loro modalità di funzionamento (statica o in risonanza), al loro tipo di moto (rotatorio o lineare) e alla tipologia di attuazione. La Figura 2.1.2.1 mostra una vista esplosa dei componenti principali di un motore a ultrasuoni rotativo; il principio di funzionamento di questa tipologia di motori si basa sulla generazione di un

movimento meccanico attraverso l'amplificazione e la ripetizione di micro-deformazioni del materiale attivo. Il materiale attivo, di natura piezoelettrica, induce un moto orbitale dello statore nei punti di contatto del rotore e l'interfaccia di attrito tra il rotore e lo statore rettifica il micro-movimento per produrre un macro-movimento dello statore.

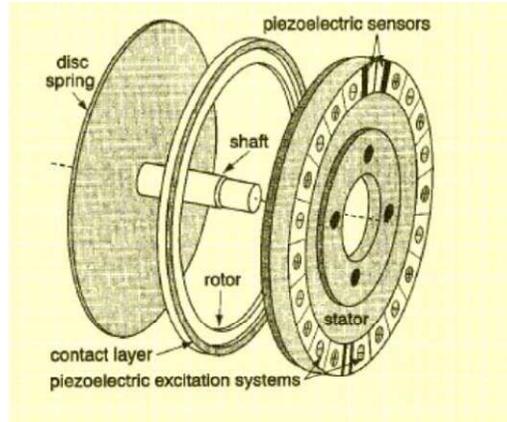


Figura 2.1.2.1: motore a ultrasuoni rotativo

La Figura 2.1.2.2 mostra il funzionamento di un picomotore: due ganasce afferrano una vite e un trasduttore piezoelettrico (Piezo) fa scorrere le ganasce in direzioni opposte. Poiché il componente piezoelettrico è usato solo per girare la vite e non per tenere la posizione corretta, il picomotore non presenta i problemi tipici di isteresi e di scorrimento viscoso e può mantenere la sua posizione senza una tensione applicata. Tuttavia, un problema che un convenzionale attuatore piezoelettrico e i picomotori condividono è la ripetibilità; anche se il picomotore non presenta isteresi, piccole variazioni della rotazione della vite possono portare ad errori di ripetibilità. Questi errori sono accentuati se la forza che agisce contro il moto del picomotore cambia durante la sua corsa, come se si muovesse contro una molla. Inoltre, l'attrito è un fattore limitante per la velocità e il carico utile del picomotore.

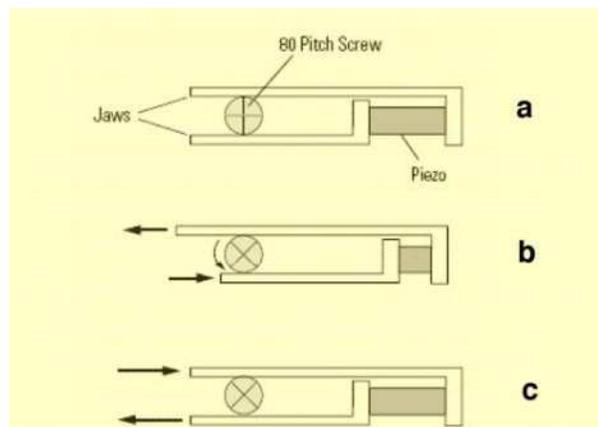


Figura 2.1.2.2: principio di funzionamento di un picomotore

Il principio denominato “stick-slip” è mostrato in Figura 2.1.2.3:

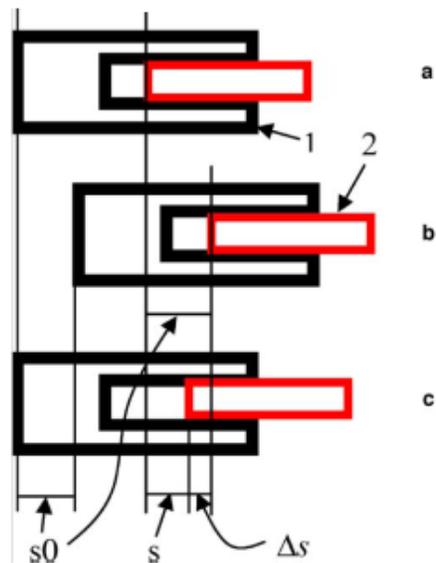


Figura 2.1.2.3: principio “stick-slip”

Un attuttore “stick-slip” genera il movimento sfruttando l’attrito o l’inerzia dei suoi componenti. Ci sono due oggetti tra cui è presente l’attrito; in (a) entrambi gli oggetti stanno nella loro posizione iniziale. In (b) l’oggetto 1 si muove verso destra di una quantità pari a “ s_0 ” verso destra e durante questo periodo di tempo l’oggetto 2 si muove quasi della stessa quantità a causa dell’attrito statico (si suppone che la forza di attrito sia sufficientemente grande per superare l’inerzia dell’oggetto 2). In (c) l’oggetto 1 ritorna nella sua posizione iniziale e durante questo arco di tempo l’inerzia dell’oggetto 2 è maggiore dell’attrito statico e per questo motivo si genera un moto di scorrimento tra i due oggetti e conseguentemente l’oggetto 2 raggiunge la sua posizione finale “ s ” (essendo Δs la parte di spostamento dissipata). Il termine “stick- slip” in questo tipo di attuttore si riferisce a due fasi del movimento generato chiamate “fase di mantenimento” e “fase di scorrimento”.

L’azionamento stick-slip è tuttavia limitato in velocità e carico a causa dell’attrito facente parte del suo principio di funzionamento.

L’attuttore “inchworm” ha il seguente principio di funzionamento: due elementi esterni (1 e 3 nella Figura 2.1.2.4) agiscono come morsetti. L’elemento piezoelettrico centrale (2) si espande e si contrae lungo l’albero motore quando viene applicata una tensione. Anche se tutti e tre gli elementi funzionano in modo indipendente, operano in modo controllato in termini di tempistica delle operazioni. Quando viene applicata una tensione all’elemento piezoelettrico 1, esso blocca l’albero. Applicando successivamente una tensione all’elemento 2, esso cambia la sua lunghezza. Applicando una tensione all’elemento 3, esso afferra l’albero. Togliendo la tensione di

alimentazione all'elemento 1, esso si stacca dall'albero. Successivamente l'elemento 2 si contrae e il processo di funzionamento riprende dall'inizio.

Il fattore limitante del motore con attuazione "inchworm" è il suo principio di funzionamento basato sull'attrito; questo genera un relativamente piccolo carico utile.

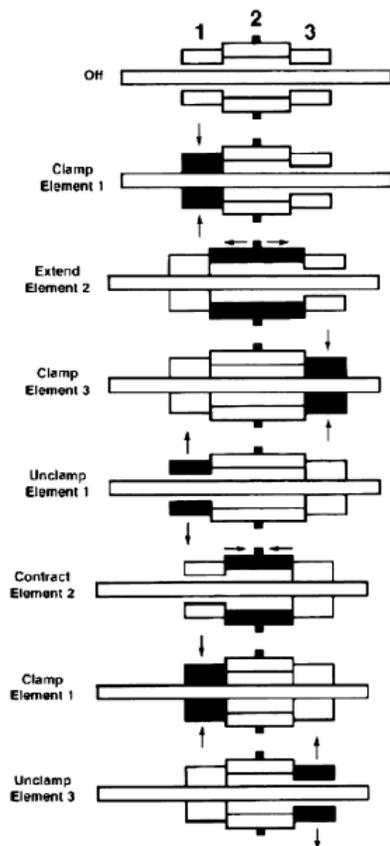


Figura 2.1.2.4: attuatore "inchworm"

Attuazione meccanica mediante un motore piezoelettrico

La Figura 2.1.2.5 mostra un micromanipolatore meccanico [10b] composto da tre parti principali: un segmento di supporto, un segmento di contatto e un segmento azionato. Il segmento di supporto contiene "il supporto bulk" che si collega ad un motore piezoelettrico e ai "bracci di supporto". Il segmento di contatto comprende "l'area di contatto" e quattro "ponti" che impediscono il movimento fuori piano (*out-of-plane motion*) durante il funzionamento del manipolatore. Il segmento azionato è composto da due "braccia sottili a forma di parallelepipedo" e da sottili "estrattori".

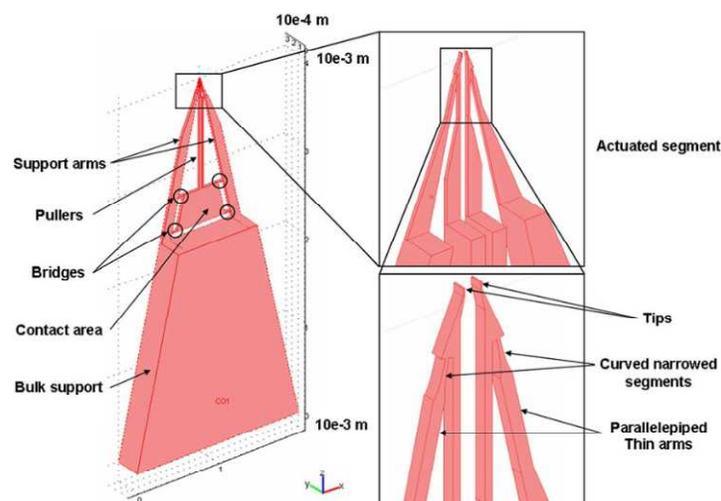


Figura 2.1.2.5: parti principali del micromanipolatore meccanico

Un motore piezoelettrico è attaccato alla struttura attraverso un filo metallico che è incollato all'area di contatto e che fornisce la forza necessaria per chiudere lo spazio tra le punte della zona di presa. La Figura 2.1.2.6 mostra una simulazione FEM di questo micromanipolatore; è interessante osservare il comportamento delle punte e dei ponti in seguito all'applicazione di una forza esterna.

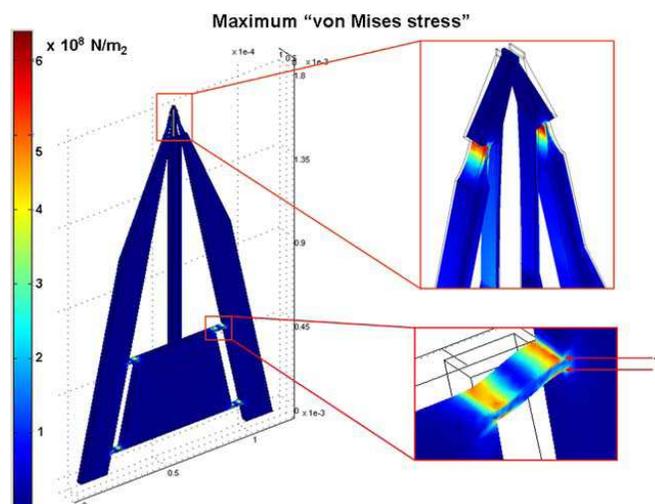


Figura 2.1.2.6: calcolo della tensione equivalente di Von Mises mediante analisi FEM

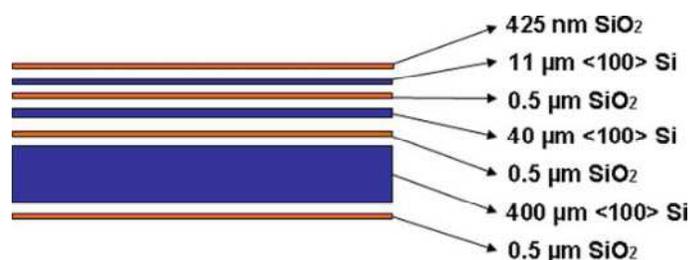


Figura 2.1.2.7: wafer di partenza per la fabbricazione del microdispositivo

Un wafer di silicio (100)^[H] avente due strati di ossido di silicio intermedi ed entrambe le facce ossidate è stato utilizzato per la fabbricazione del microdispositivo come mostrato in Figura 2.1.2.7.

Attuazione manuale

Il dispositivo in Figura 2.1.2.8 è composto da una micro-struttura in silicio [11b] che funge da pinzetta, da una testina micrometrica e da un'interfaccia in grafite che collega queste due parti consentendo la connessione al perno della testina micrometrica per l'azionamento manuale del micromanipolatore ruotando il tamburo.

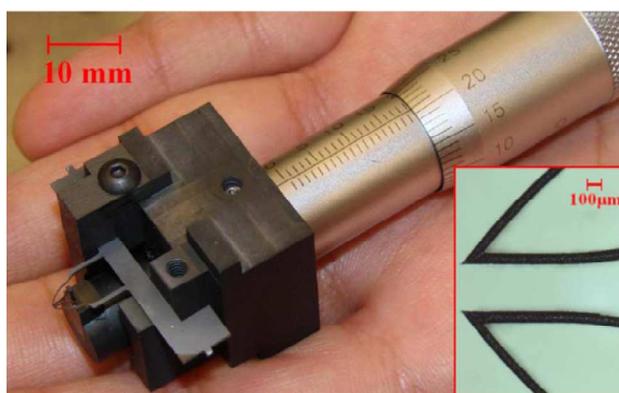


Figura 2.1.2.8: micromanipolatore attuato manualmente

Le punte della pinzetta del microdispositivo si chiudono per deformazione elastica.

La Figura 2.1.2.9 mostra schematicamente il funzionamento del sistema; il “cono” è collegato direttamente al mandrino del micrometro e può essere spostato avanti e indietro ruotando manualmente il tamburo del micrometro. La punta del cono è appoggiata contro il ponte (o “sella”) che collega le due punte del micromanipolatore.

Spostando il cono all'indietro si esercita una forza sulla sella che deforma elasticamente la pinzetta e chiude le punte; allo stesso modo, spostando la punta del cono in avanti si apre la pinzetta.

L'intera struttura di silicio viene azionata elasticamente e per questo motivo non sono presenti evidenti fenomeni di isteresi e nessuna deformazione permanente.

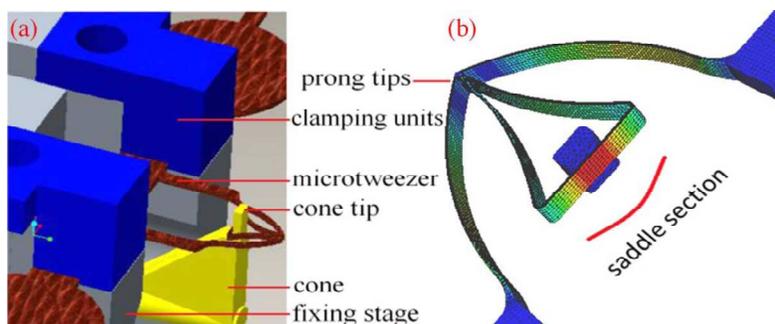


Figura 2.1.2.9: schematizzazione del funzionamento del microdispositivo

In Figure 2.1.2.10 è possibile vedere una microsfera in polistirene (Spherotech⁽¹⁾) avente un diametro pari a 20 μm manipolata dal dispositivo.

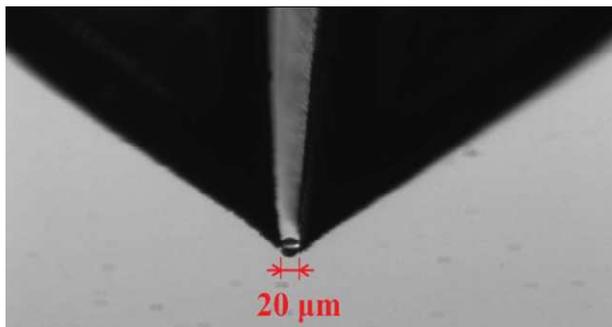


Figure 2.1.2.10: microsfera in polistirene catturata dal micromanipolatore

La deformazione elastica della struttura di silicio genera una forza di richiamo che tende ad aprire la pinzetta. Tuttavia, poiché l'effettiva rigidezza della testina micrometrica azionata manualmente è molto maggiore di quella della struttura di silicio, l'azionamento manuale blocca la distanza tra le due punte; per questo motivo una data distanza tra le punte della pinzetta può essere mantenuta praticamente all'infinito senza fornire nessun tipo di azionamento.

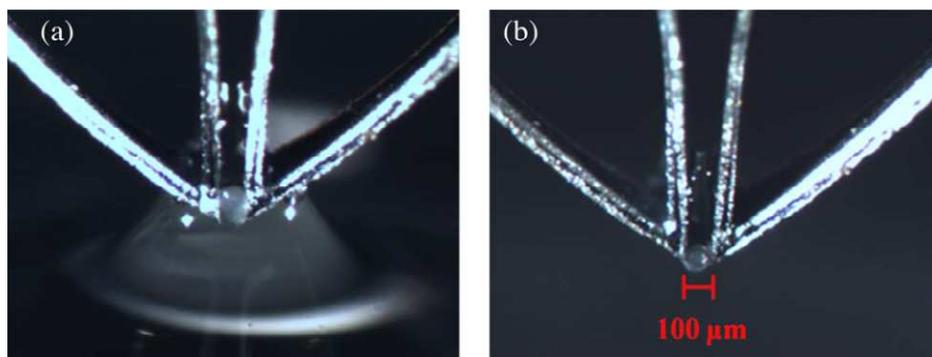


Figura 2.1.2.11: manipolazione di una singola cellula

Una possibile applicazione di questo dispositivo è la manipolazione in vivo di singole cellule; la capacità di distinguere e spostare singoli gruppi di cellule vive all'interno o al di fuori di mezzi liquidi è molto importante in quanto può portare alla disposizione delle cellule in specifiche configurazioni o al prelievo di singole cellule come mostrato in Figura 2.1.2.11 in cui una singola cellula è presa da un mezzo viscoso (a) e tenuta in aria dal microdispositivo (b).

La forza esercitata sulla cellula è sufficiente per vincere la tensione superficiale del gel viscoso, ma non troppo elevata per danneggiare la cellula che infatti rimane integra durante la manipolazione.

2.1.3 Dettagli sui principali sistemi di attuazione trovati in letteratura

La tabella seguente riassume schematicamente i vantaggi e gli svantaggi relativi a tutte le tipologie di micromanipolatori cellulari analizzati nei due sottoparagrafi precedenti:

<i>Strategia di attuazione</i>		<i>Vantaggi</i>	<i>Svantaggi</i>
<i>INTERNA</i>	<i>Piezoelettrica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Stabilità termica <input checked="" type="checkbox"/> Elevata accuratezza <input checked="" type="checkbox"/> Elevata risposta 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Non linearità <input checked="" type="checkbox"/> Elevata tensione di alimentazione <input checked="" type="checkbox"/> Piccoli range di movimento <input checked="" type="checkbox"/> Creep, fatica, isteresi, bassa biocompatibilità
	<i>Elettrostatica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Consolidato processo di fabbricazione <input checked="" type="checkbox"/> Risposta diretta del moto 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Geometria complessa <input checked="" type="checkbox"/> Piccoli range di movimento <input checked="" type="checkbox"/> Elettrolisi e formazione di bolle
	<i>Termica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Consolidato processo di fabbricazione 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Temperatura elevata <input checked="" type="checkbox"/> Bassa risposta
	<i>SMA (Leghe a memoria di forma)</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Risposta più rapida rispetto all'attuazione termica <input checked="" type="checkbox"/> Largo range di movimento 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Fatica, isteresi <input checked="" type="checkbox"/> Non linearità <input checked="" type="checkbox"/> Complesso processo di fabbricazione <input checked="" type="checkbox"/> Piccoli range di movimento <input checked="" type="checkbox"/> Costo elevato
	<i>Elettromagnetica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Mantenimento dell'integrità cellulare 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Riscaldamento della bobina <input checked="" type="checkbox"/> Debolezza del campo magnetico <input checked="" type="checkbox"/> Perdite di campo
	<i>Idraulica e pneumatica</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Affidabilità <input checked="" type="checkbox"/> Mantenimento dell'integrità cellulare 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Applicabilità limitata
<i>ESTERNA</i>	<i>Motori in corrente continua</i>	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Isolamento termico <input checked="" type="checkbox"/> Elevata 	<ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Generazione di calore <input checked="" type="checkbox"/> Isteresi <input checked="" type="checkbox"/> Connessione

		velocità <input checked="" type="checkbox"/> Elevata accuratezza	all'interfaccia <input checked="" type="checkbox"/> Necessario un controllo di feedback
	<i>Motori passo-passo</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Isolamento termico <input checked="" type="checkbox"/> Range di movimento molto ampio	<input checked="" type="checkbox"/> Generazione di calore <input checked="" type="checkbox"/> Bassa precisione <input checked="" type="checkbox"/> Dimensioni <input checked="" type="checkbox"/> Movimento irregolare <input checked="" type="checkbox"/> Connessione all'interfaccia <input checked="" type="checkbox"/> Rumorosità
	<i>Motori piezoelettrici</i>	<input checked="" type="checkbox"/> Forze elevate <input checked="" type="checkbox"/> Elevata accuratezza <input checked="" type="checkbox"/> Elevata risposta <input checked="" type="checkbox"/> Isolamento termico <input checked="" type="checkbox"/> Piccole dimensioni <input checked="" type="checkbox"/> Mancata usura <input checked="" type="checkbox"/> Basso consumo energetico	<input checked="" type="checkbox"/> Connessione all'interfaccia

Tabella 2.1.3.1: riassunto delle principali caratteristiche dei micromanipolatori cellulari trovati in letteratura

2.2 Principali materiali utilizzati nella fabbricazione dei microdispositivi

La fabbricazione dei dispositivi MEMS [12b, 3s, 4s, 5s] parte da un substrato denominato *wafers* che viene lavorato sulla base di processi^[1] differenti che aggiungono, modificano o rimuovono materiale (v. Capitolo 5).

I materiali più diffusi sono il silicio monocristallino e policristallino (mono-Si e poli-Si) e i suoi composti quali l'ossido di silicio (SiO_2) e i nitruri di silicio (Si_3N_4); altri materiali molto utilizzati per alcune loro caratteristiche sono il quarzo monocristallino di cui viene sfruttata la piezoelettricità, il vetro (forma fusioni stabili con il silicio ed è biocompatibile), i polimeri termoplastici (sono biodegradabili e particolarmente versatili), alcuni metalli (ad esempio oro e/o cromo che presentano una buona conducibilità e possono generare film sottili) e il quarzo amorfo.

Un materiale molto utilizzato per la realizzazione di bio-MEMS è la resina epossidica denominata SU-8 (v. Capitolo 5) che presenta buone proprietà meccaniche (v. Tabella 2.2.1), buone proprietà chimiche, biocompatibilità, facilità e basso costo di fabbricazione.

Modulo elastico longitudinale (E_s) [GPa]	2
Coefficiente di Poisson (ν_s) [/]	0.22
Resistenza a trazione (σ_{ms}) [MPa]	70
Densità (d_s) [kg/m^3]	1190
Coeff. di espansione termica (α_s) [$1/^\circ\text{C}$]	52×10^{-6}
Conducibilità termica (k_s) [$\text{W}/(\text{m}^\circ\text{C})$]	0.3
Calore specifico (c_s) [$\text{J}/(\text{kg}^\circ\text{C})$]	1600
Temperatura di rammollimento (T_{\max_s}) [$^\circ\text{C}$]	210

Tabella 2.2.1: proprietà meccaniche e termiche dell'SU-8

Capitolo 3**Progettazione di dettaglio di un micromanipolatore cellulare attuato termicamente****3.1 Considerazioni generali**

Questa tesi vuole presentare in modo dettagliato la progettazione di un micromanipolatore cellulare attuato elettro-termicamente per catturare una singola cellula creando attorno ad essa una micro-camera di isolamento in cui svolgere analisi reologiche cellulari.

Il polimero usato come materiale di base del microdispositivo è l'SU-8 le cui proprietà sono state elencate nella Tabella 2.2.1 e verranno approfondite nel Capitolo 5 e in Appendice.

In Figura 3.1.1 è possibile vedere una rappresentazione CAD (Computer Aided Drafting) del microdispositivo in esame con le sue dimensioni principali (la vista è in pianta; lo spessore della struttura è pari a $20\ \mu\text{m}$):

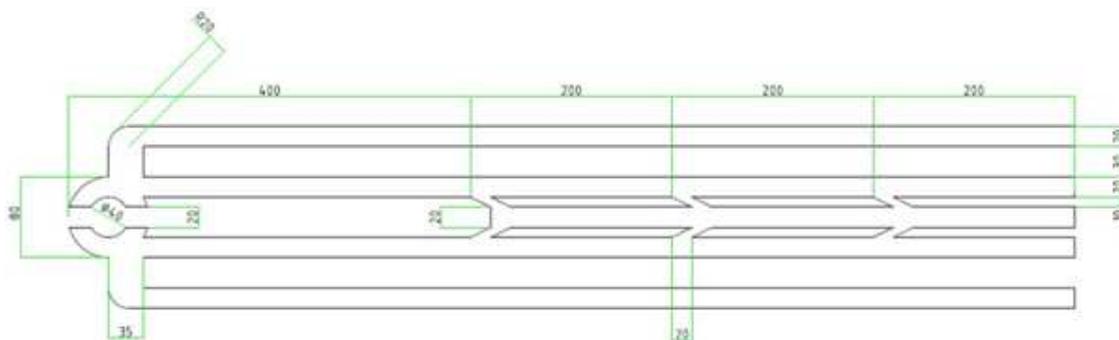


Figura 3.1.1: dimensioni di massima del microdispositivo

La Figura 3.1.2 mostra uno strato sottile di oro depositato sulla parte superiore del substrato in SU-8 per l'azionamento termico. Uno strato di cromo molto sottile è interposto tra il substrato e i contatti in oro per facilitare l'adesione del metallo al substrato polimerico. Le parti rosse in figura sono i contatti elettrici per l'applicazione della differenza di potenziale.

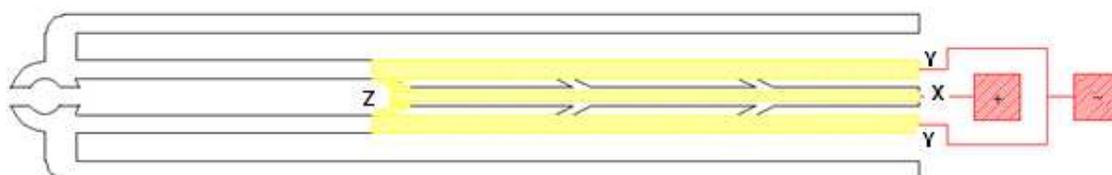


Figura 3.1.2: vista in pianta dell'attuazione elettro-termica-strutturale del microdispositivo

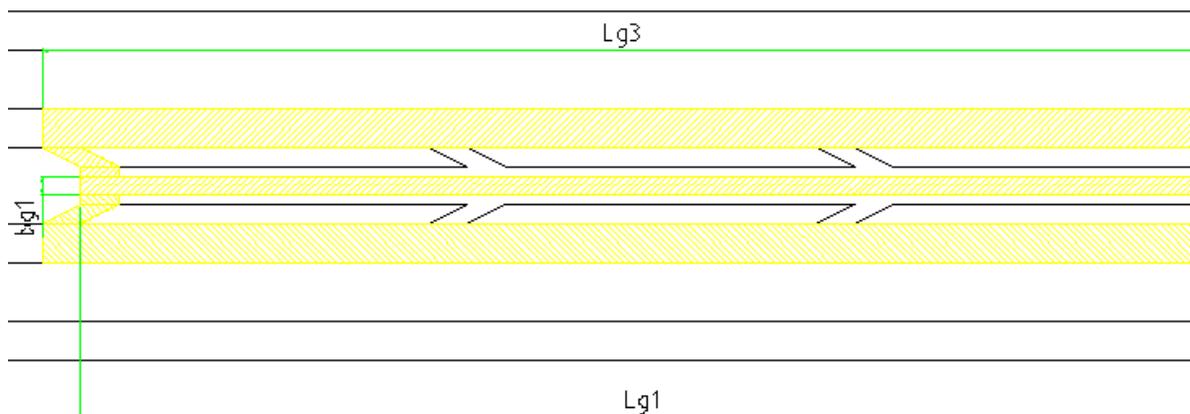
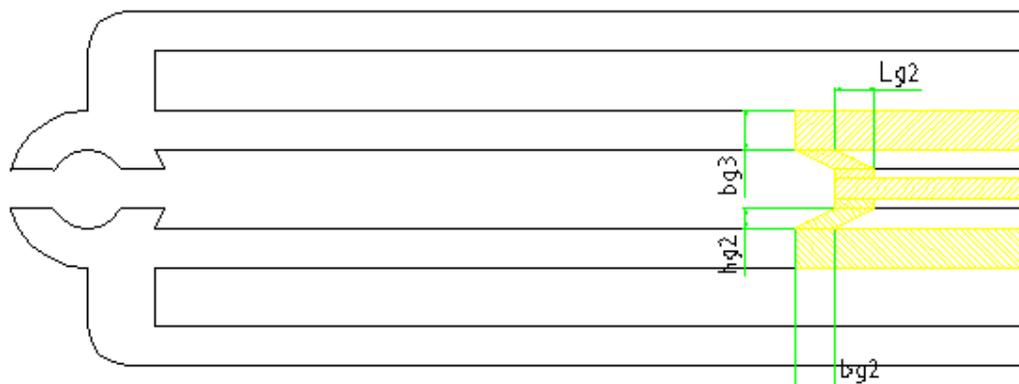
La Tabella 3.1.1 riassume alcune proprietà fisiche dell'oro utilizzate sia nelle simulazioni FEM (v. Paragrafo 3.3) sia nell'analisi fisico-matematica del problema affrontato (v. Paragrafo 3.2).

Resistività elettrica a 20 °C (ρ_{g20}) [Ωm]	2.4×10^{-8}
Densità (d_g) [kg/m^3]	19320
Calore specifico (c_g) [$\text{J}/(\text{kg}^\circ\text{C})$]	128
Conducibilità termica (k_g) [$\text{W}/(\text{m}^\circ\text{C})$]	300
Punto di fusione (T_{max_g}) [$^\circ\text{C}$]	1000

Tabella 3.1.1: proprietà fisiche dell'oro

3.2 Analisi fisico-matematica del microdispositivo

Un filo percorso da corrente si riscalda a causa dell'effetto Joule e la sua temperatura varia dal valore di riferimento iniziale e quello di regime. Lo strato in oro depositato sul substrato polimerico è stato studiato come un insieme di resistenze elettriche la cui disposizione è mostrata nelle Figure 3.2.1 e 3.2.2.


Figura 3.2.1: parametri geometrici delle resistenze elettro-termiche in oro (dettagli)

Figura 3.2.2: parametri geometrici delle resistenze elettro-termiche in oro (ulteriori dettagli)

I parametri geometrici relativi alla lamina in oro e al substrato in SU-8 (*g*:gold; *s*:substrate) sono riportati nella Tabella 3.2.1:

Spessore della lamina in oro (thk_g) [μm]		2
h_{g2} [μm]		10
Larghezza della lamina in oro (b_g)	b_{g1} [μm]	10
	b_{g2} [μm]	20
	b_{g3} [μm]	20
Lunghezza della lamina in oro (L_g)	L_{g1} [μm]	580
	L_{g2} [μm]	20
	L_{g3} [μm]	600
Spessore del substrato (thk_s) [μm]		20
Larghezza del substrato (b_s)	b_{s1} [μm]	20
	b_{s2} [μm]	20
	b_{s3} [μm]	20
Lunghezza del substrato (L_s)	L_{s1} [μm]	580
	L_{s2} [μm]	20
	L_{s3} [μm]	600

Tabella 3.2.1: parametri geometrici della lamina in oro e del substrato in SU-8

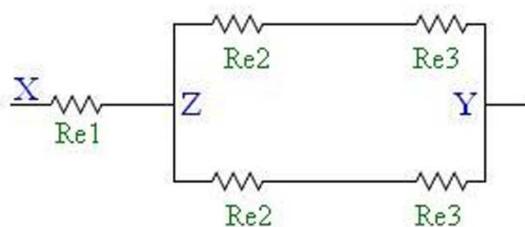


Figura 3.2.3: modello del circuito elettro-termico equivalente

Come mostrato in Figura 3.2.3 il braccio riscaldante centrale (XZ) è in serie con il parallelo della serie delle resistenze (ZY) formate dai bracci riscaldanti laterali. Le resistenze elettriche hanno una configurazione simmetrica e la resistenza equivalente (R_e) può essere calcolata nel seguente modo:

$$R_e = R_{e_XZ} + R_{e_ZY}/2 \quad (3.2-1)$$

dove

$$R_{e_XZ} = R_{e1} = \frac{\rho_g \cdot L_{g1}}{b_{g1} \cdot thk_g} \quad (3.2-1a)$$

$$R_{e_ZY} = R_{e2} + R_{e3} = \frac{\rho_g \cdot \sqrt{h_{g2}^2 + L_{g2}^2}}{b_{g2} \cdot thk_g} + \frac{\rho_g \cdot L_{g3}}{b_{g3} \cdot thk_g} \quad (3.2-1b)$$

ρ_g è la resistività elettrica dell'oro legata alla temperatura di riferimento ($T_{ref} = 20 \text{ }^\circ\text{C}$) e alla temperatura massima che l'oro può sopportare senza raggiungere il punto di fusione:

$$\rho_{g20} \cdot \frac{234.5 + T_{max,g}}{234.5 + T_{ref}} \quad (3.2-2)$$

Analizzando le equazioni (3.2-1a) e (3.2-1b), è importante notare che ciascun braccio in oro è stato modellato come un filo conduttore la cui resistenza elettrica^[5] è direttamente proporzionale alla sua lunghezza e inversamente proporzionale alla sua sezione trasversale.

L'effetto Joule può essere valutato tenendo conto del bilancio energetico tra il calore prodotto dal passaggio della corrente (I) a causa della tensione applicata (V), il calore immagazzinato nel cavo e il calore ceduto all'ambiente circostante.

La lamina in oro trasferisce il calore sia al substrato che all'aria. Le superfici di scambio termico tra l'oro e l'aria (S_{air}) e tra l'oro e il substrato (S_{int}) sono state ottenute utilizzando le seguenti formule:

$$S_{air1} = b_{g1} \cdot L_{g1} + 2 \cdot thk_g \cdot L_{g1} + 2 \cdot thk_g \cdot b_{g1}$$

$$S_{air2} = b_{g2} \cdot h_{g2} + 2 \cdot thk_g \cdot \sqrt{h_{g2}^2 + L_{g2}^2}$$

$$S_{air3} = b_{g3} \cdot L_{g3} + 2 \cdot thk_g \cdot L_{g3} + 2 \cdot thk_g \cdot b_{g3}$$

$$S_{int1} = b_{g1} \cdot L_{g1}$$

$$S_{int2} = b_{g2} \cdot h_{g2}$$

$$S_{int3} = b_{g3} \cdot L_{g3}$$

La superficie totale di scambio termico (S_{tot}) è stata calcolata come segue:

$$S_1 = S_{air1} + S_{int1}$$

$$S_2 = S_{air2} + S_{int2}$$

$$S_3 = S_{air3} + S_{int3}$$

$$S_{tot} = S_1 + 2 \cdot S_2 + 2 \cdot S_3 \quad (3.2-3)$$

Le correnti elettriche (I) che attraversano il dispositivo sono pari a:

$$I_{XZ} = V/R_e = I$$

$$I_{ZY} = I_{XZ}/2 = I/2$$

Il flusso elettro-termico totale generato (Φ) può essere scritto come:

$$\Phi_{XZtot} = R_{e1} \cdot I^2 \text{ (flusso termico che percorre il braccio riscaldante centrale)}$$

$$\Phi_{ZYtot} = (R_{e2} + R_{e3}) \cdot \frac{I^2}{4} \text{ (flusso termico che percorre una delle due serie di bracci riscaldanti laterali)}$$

I flussi elettro-termici all'interfaccia tra la lamina metallica e il substrato polimerico che fanno scaldare i bracci dell'attuatore sono dati dalle seguenti equazioni:

$$\Phi_{XZ} = \Phi_{XZtot} \cdot \frac{S_{int1}}{S_1} \quad (3.2-4)$$

$$\Phi_{ZY} = \Phi_{ZYtot} \cdot \frac{S_{int2} + S_{int3}}{S_2 + S_3} \quad (3.2-5)$$

La variazione di temperatura della lamina in oro (ΔT) dipende dai flussi termici scambiati e dalle resistenze termiche dei contatti in oro:

$$\Delta T_{XZ} = \Phi_{XZ} \cdot R_{t1}$$

$$\Delta T_{ZY} = \Phi_{ZY} \cdot (R_{t2} + R_{t3})$$

Anche per il calcolo delle resistenze termiche^[5], i contatti in oro sono stati modellati come fili conduttori il cui diametro esterno (D), ottenuto facendo l'ipotesi che i fili conduttori avessero la stessa massa di ciascun braccio in oro (m_g - v. equazioni 3.2-13), è qui di seguito riportato^[7]:

$$D_{g1} = \sqrt{\frac{4 \cdot thk_g \cdot b_{g1}}{\pi}}$$

$$D_{g2} = \sqrt{\frac{4 \cdot thk_g \cdot b_{g2}}{\pi}}$$

$$D_{g3} = \sqrt{\frac{4 \cdot thk_g \cdot b_{g3}}{\pi}}$$

Le resistenze termiche (R_t) risultano essere^[7]:

$$R_{t1} = \frac{\ln(D_{g1}/thk_g)}{2 \cdot \pi \cdot L_{g1} \cdot k_g} \quad (3.2-6)$$

$$R_{t2} = \frac{\ln(D_{g2}/thk_g)}{2 \cdot \pi \cdot L_{g2} \cdot k_g} \quad (3.2-7)$$

$$R_{t3} = \frac{\ln(D_{g3}/thk_g)}{2 \cdot \Pi \cdot L_{g3} \cdot k_g} \quad (3.2-8)$$

Seguono le formule utilizzate per il calcolo della temperatura (T) dei bracci in oro:

$$T_{XZ} = \Delta T_{XZ} + T_{ref} \quad (3.2-9)$$

$$T_{ZY} = \Delta T_{ZY} + T_{ref} \quad (3.2-10)$$

Per calcolare la temperatura dei bracci in SU-8 dovuta all'effetto Joule finora descritto, è stata scritta la condizione di equilibrio termico^[U] tale per cui tutto il calore uscente dalla lamina in oro e passante attraverso l'interfaccia tra l'oro e l'SU-8 viene assorbito dal substrato polimerico aumentando la sua temperatura da quella di riferimento a quella di equilibrio (T_m):

$$T_{mXZ} = \frac{c_g \cdot m_g \cdot T_{XZ} + c_s \cdot m_s \cdot T_{ref}}{c_g \cdot m_g + c_s \cdot m_s} \quad (3.2-11)$$

$$T_{mZY} = \frac{c_g \cdot m_g \cdot T_{ZY} + c_s \cdot m_s \cdot T_{ref}}{c_g \cdot m_g + c_s \cdot m_s} \quad (3.2-12)$$

Le masse (parziali e quella totale) della lamina in oro (m_g) e del substrato in SU-8 (m_s) sono riportate qui di seguito:

$$m_{g1} = d_g \cdot thk_g \cdot S_{int1}$$

$$m_{g2} = d_g \cdot thk_g \cdot S_{int2}$$

$$m_{g3} = d_g \cdot thk_g \cdot S_{int3}$$

$$m_{gtot} = m_{g1} + 2 \cdot m_{g2} + 2 \cdot m_{g3} \quad (3.2-13)$$

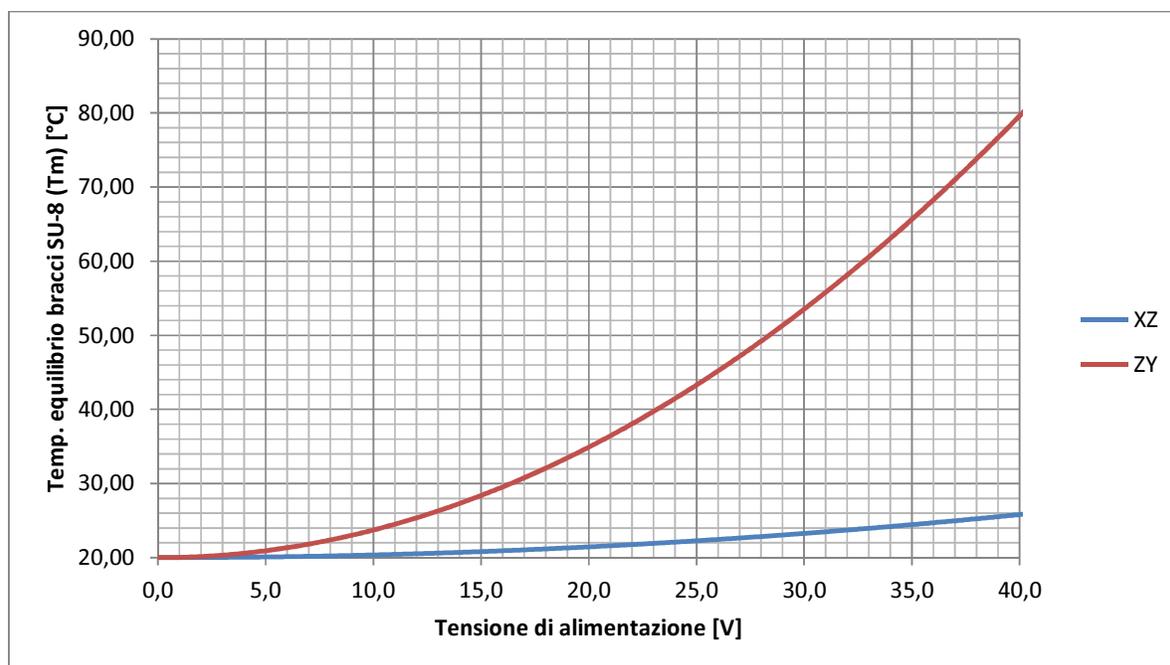
$$m_{s1} = d_s \cdot thk_s \cdot S_{int1}$$

$$m_{s2} = d_s \cdot thk_s \cdot S_{int2}$$

$$m_{s3} = d_s \cdot thk_s \cdot S_{int3}$$

$$m_{stot} = m_{s1} + 2 \cdot m_{s2} + 2 \cdot m_{s3} \quad (3.2-14)$$

L'andamento della temperatura di equilibrio, a cui viene portato il substrato polimerico per effetto Joule in funzione della tensione di alimentazione, è mostrato nel seguente grafico (in assenza di tensione applicata, la temperatura del dispositivo è uguale a quella ambiente assunta pari a T_{ref} = 20 °C):



3.3 Simulazione FEM del micromanipolatore

3.3.1 Calcolo della freccia di inflessione del microsistema per effetto del peso proprio

Il funzionamento del micromanipolatore è stato studiato mediante una simulazione agli elementi finiti^[M]; la struttura è stata studiata come una trave a sbalzo incastrata ad una sola estremità (v. Figura 3.3.1.1); questo vincolo riproduce l'interfaccia tra il micromanipolatore e il blocco di attuazione elettro-termica contenente i contatti elettrici (v. Capitolo 5).

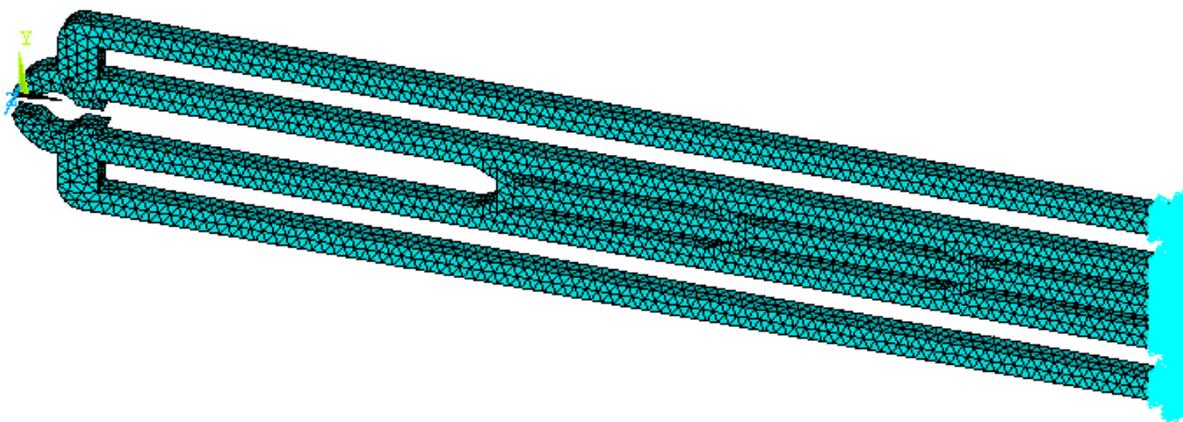


Figura 3.3.1.1: vista in pianta del micromanipolatore vincolato ad un'estremità

Prima di procedere con l'analisi in ambiente elettro-termico-strutturale, è stato necessario calcolare la freccia di inflessione del microsistema per effetto del suo peso proprio; la Figura 3.3.1.2 riporta

una schematizzazione della struttura; si tratta di una trave a sbalzo caricata in mezzeria da una forza pari al suo peso proprio:

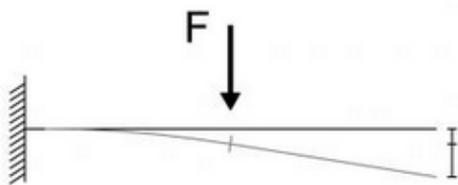


Figura 3.3.1.2: trave a sbalzo con carico concentrato in mezzeria

Il calcolo della freccia del microdispositivo è stato fatto sia analiticamente^[K], approssimando il sistema ad una trave a sezione rettangolare avente le dimensioni pari a quelle di massimo ingombro della micro-struttura, sia mediante una simulazione agli elementi finiti^[L], ottenendo un'inflessione pari a circa 19 nm. Il valore ottenuto è molto basso e quindi il peso proprio del micromanipolatore non influenza e/o modifica il suo funzionamento anche in fase di attuazione elettro-termica.

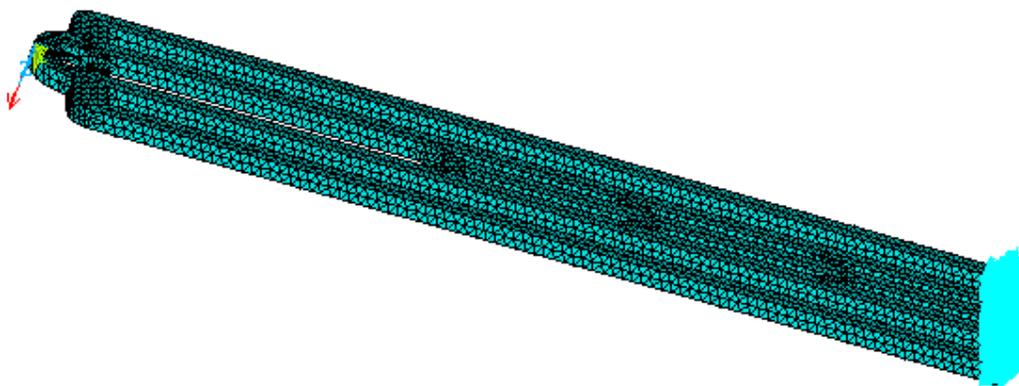


Figura 3.3.1.3: struttura a sbalzo soggetta al suo peso proprio

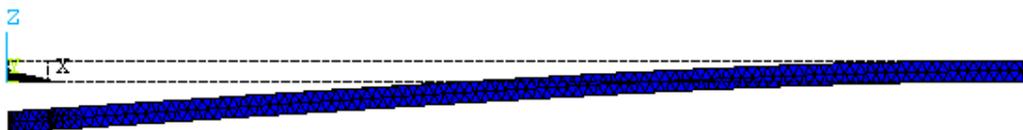


Figura 3.3.1.4: inflessione della struttura soggetta al suo peso proprio

3.3.2 Analisi termo-strutturale del micromanipolatore

Per eseguire la simulazione in ambiente termo-strutturale del microdispositivo è stato necessario mettere sulla struttura, oltre al vincolo meccanico discusso nel precedente paragrafo, anche vincoli termici come mostrato in Figura 3.3.2.1: i bracci estremi del micromanipolatore (*cold arms*) sono a temperatura ambiente mentre i bracci riscaldati centrali (*hot arms*) sono sottoposti a diversi valori di temperatura a seconda della tensione applicata; questi valori di temperatura sono quelli di equilibrio (T_m) analizzati nel paragrafo 3.2.

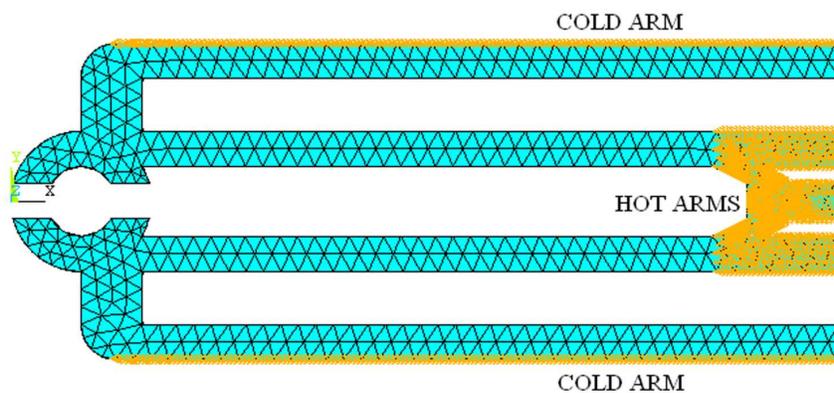


Figura 3.3.2.1: analisi FEM termo-strutturale del microdispositivo

La Figura 3.3.2.2 mostra quattro zone di apertura individuate nella zona di presa del dispositivo; come si può vedere dall'immagine, le aperture "CD" e "GH" sono quelle di riferimento perché una cellula può entrare senza uscire dal microdispositivo solo se ha un diametro inferiore a "CD" e maggiore di "GH".

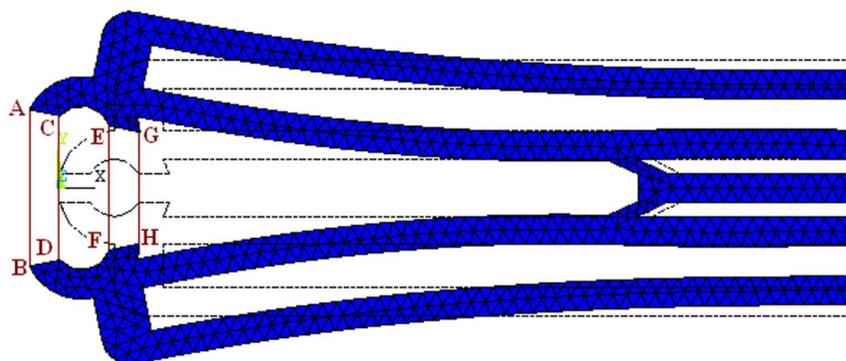
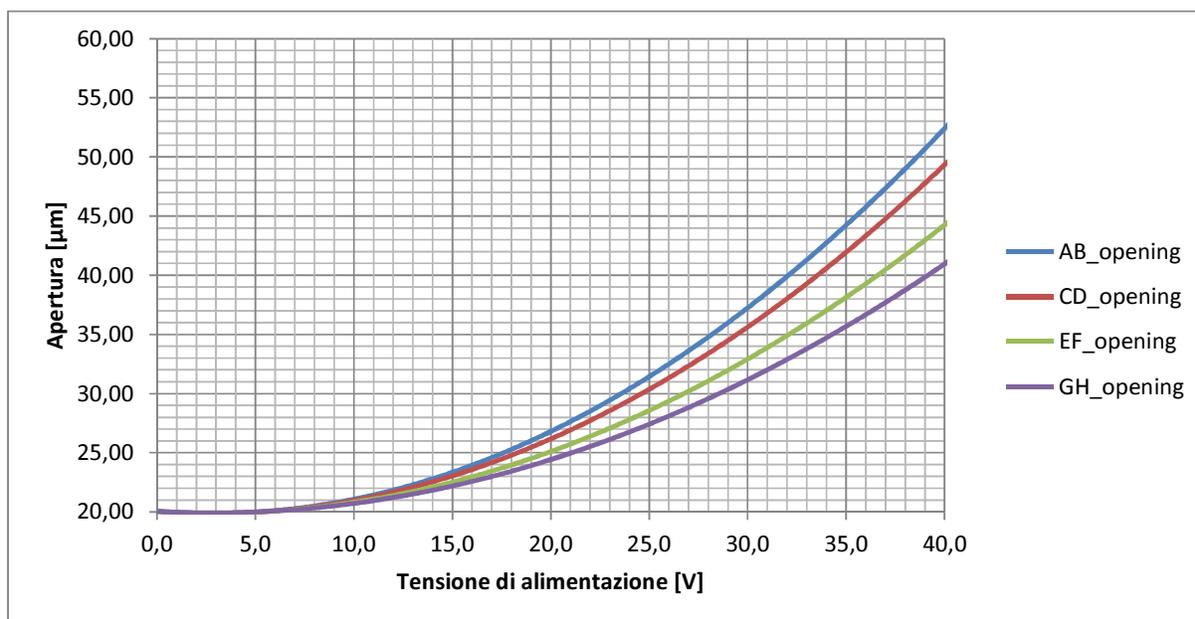


Figura 3.3.2.2: aperture di riferimento nella zona di presa



Il grafico della pagina precedente illustra la relazione parabolica tra le quattro aperture considerate per la zona di presa e la tensione applicata. Variando la tensione applicata, singole cellule di diversi diametri possono essere incorporate nella zona di presa e successivamente testate. Applicando, a titolo d'esempio (v. Figura 3.3.2.3), una tensione pari a 35 V, una cellula avente un diametro compreso tra 36 μm e 42 μm può essere manipolata. In corrispondenza di una tensione di 40 V possono essere inglobate nella zona di presa cellule aventi un diametro maggiore di 40 μm fino a circa 50 μm ; questo voltaggio di alimentazione, considerando che mediamente il diametro massimo di una cellula non supera i 50 μm , può essere usato anche in fase di testing sperimentale del dispositivo come tensione massima applicata.

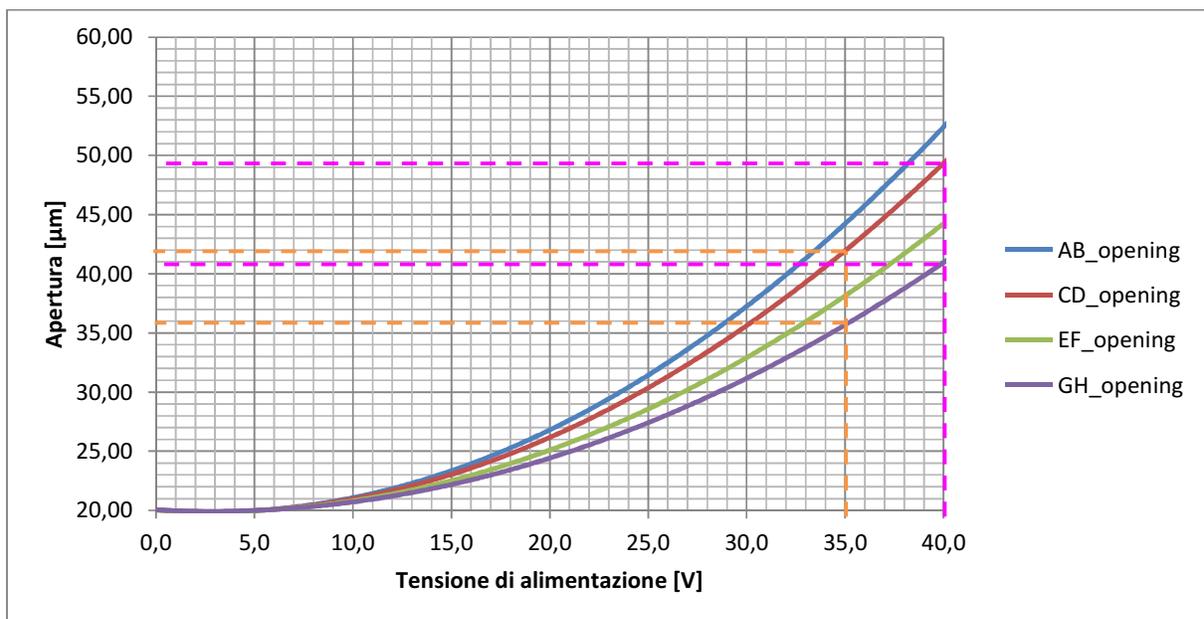


Figura 3.3.2.3: apertura della zona di presa in funzione della tensione di alimentazione (esempi)

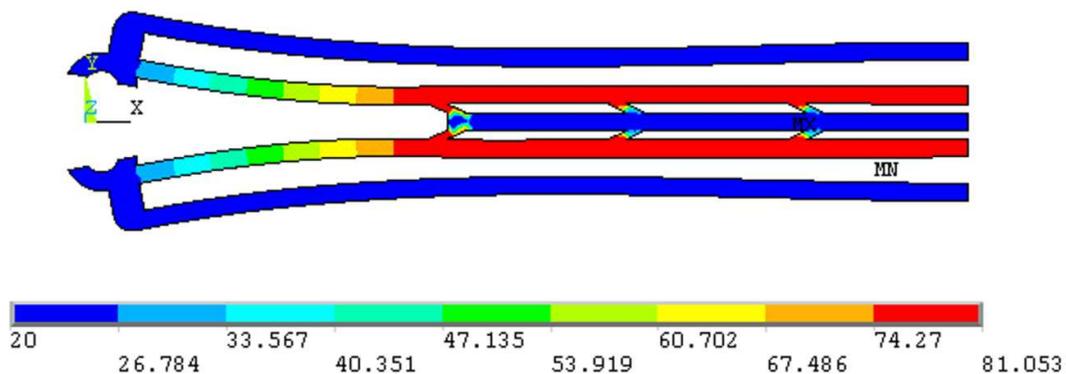


Figura 3.3.2.4: distribuzione della temperatura nel micromanipolatore (i valori sono in $^{\circ}\text{C}$)

Il problema principale legato all'attuazione termica di particelle biologiche è l'alta temperatura di riscaldamento della struttura in corrispondenza della zona di presa che potrebbe distruggere o danneggiare la cellula; per questo motivo è stato necessario studiare la distribuzione della temperatura (v. Figura 3.3.2.4) lungo il microdispositivo dando ad esso una particolare geometria affinché la temperatura della zona di presa non fosse superiore alla temperatura massima (intorno ai 37 °C) che una cellula può sopportare senza alterare le sue proprietà biologiche e meccaniche e il suo comportamento. Questo andamento della temperatura nel microdispositivo è stato ottenuto mediante una simulazione agli elementi finiti ipotizzando di applicare una tensione di alimentazione pari a 40 V con conseguenti temperature di equilibrio dei bracci riscaldati rispettivamente pari a circa 26 °C e 80 °C (v. Figura 3.3.2.5).

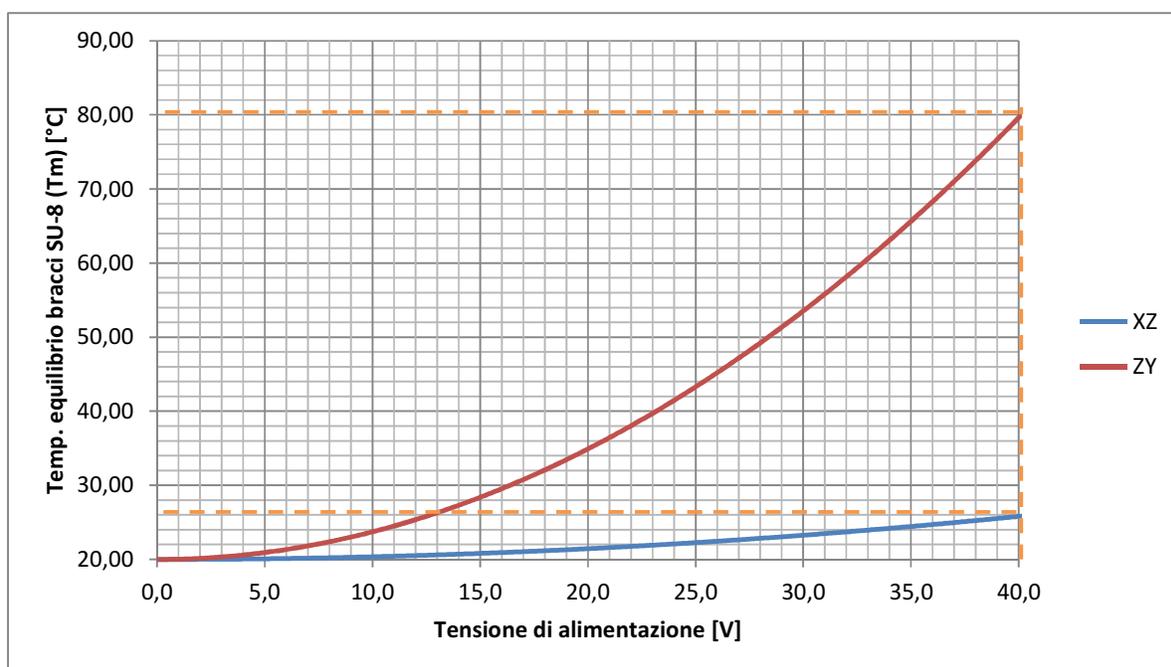
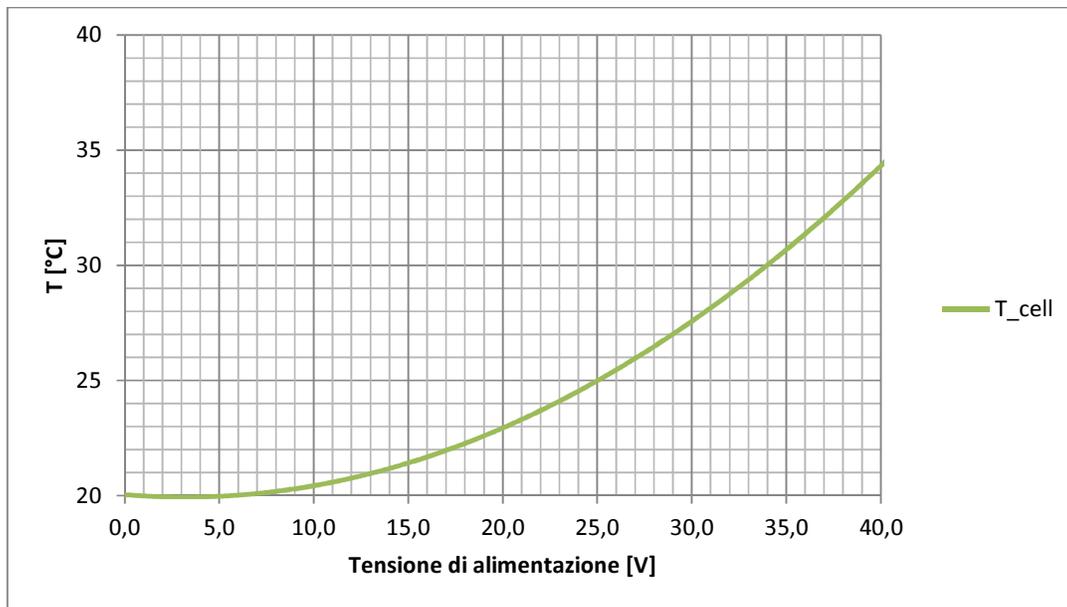


Figura 3.3.2.5: carichi termici utilizzati nella simulazione FEM (esempio)

L'andamento della temperatura nella zona di presa (T_{cell}) in funzione del voltaggio applicato è riportato nel seguente grafico; anche questa temperatura ha un andamento parabolico che assume un valore di circa 34 °C in corrispondenza della massima tensione applicata (40 V); questo risultato ottenuto è sicuro per l'integrità della cellula e dimostra la validità della progettazione del micromanipolatore in esame.



Capitolo 4

Studio del problema del contatto cellula-indentatore AFM per l'analisi reologica cellulare

Il metodo [2s, 19s, 15b] AFM (*Atomic Force Microscopy*), noto anche come tecnica SFM (*Scanning Force Microscopy*), è nato nel 1986 e consiste nel raccogliere informazioni circa un oggetto in esame tastandone la superficie mediante una sonda meccanica; questa sonda è solitamente una trave a sbalzo in silicio o in nitruro di silicio e presenta una punta (*indentatore*) avente un raggio di curvatura nell'ordine dei nanometri. Quando la punta è portata in prossimità della superficie del campione, le forze scambiate tra la punta e il campione portano ad un'inflexione della trave sulla base della legge di Hooke. Le principali forze coinvolte in un processo AFM sono di questa natura:

- Forze meccaniche di contatto;
- Forze di van der Waals (forze attrattive o repulsive tra le molecole);
- Forze capillari;
- Legami chimici;
- Forze elettrostatiche;
- Forze magnetiche

L'inflexione della trave è misurata utilizzando un punto laser riflesso dalla superficie superiore della trave a sbalzo in una matrice di fotodiodi. Altri metodi che vengono utilizzati includono l'interferometria ottica, il rilevamento capacitivo o quello piezoresistivo; in quest'ultimo caso le travi sono fabbricate con elementi piezoresistivi che fungono da estensimetri. Utilizzando un ponte di Wheatstone^[P] può essere misurata la deformazione della sonda AFM dovuta alla sua inflessione, ma questo metodo non è così sensibile come quello laser o quello interferometrico.

Se la punta eseguisse una scansione della superficie ad altezza costante, ci potrebbero essere danni causati dallo scontro tra la punta e la superficie; per questo motivo, nella maggior parte dei casi, un meccanismo di retroazione è impiegato per regolare la distanza tra la punta e il campione mantenendo costante la forza tra di essi.

L'analisi AFM può essere condotta in vari modi a seconda dell'applicazione:

- a contatto statico (*contact mode*): la forza agente tra la punta e la superficie campione viene mantenuta costante durante la scansione, ottenendo una deflessione costante;

- ad assenza di contatto dinamico (*non-contact mode*): la microleva viene fatta oscillare dall'esterno ad una frequenza prossima o uguale alla sua frequenza di risonanza. L'oscillazione viene modificata dalle forze di interazione tra la punta e la superficie campione e le variazioni dell'oscillazione, in rapporto all'oscillazione esterna di riferimento, forniscono informazioni riguardo alle caratteristiche del campione;
- a contatto dinamico (*dynamic mode*): in condizioni ambientali la maggior parte dei campioni sviluppa uno strato di menisco liquido e, per questo motivo, mantenere la punta della sonda abbastanza vicina al campione, per poter rilevare le forze interatomiche a breve raggio e per evitare che la punta si blocchi sulla superficie, rappresenta un ostacolo non irrilevante per la modalità dinamica ad assenza di contatto. La modalità a contatto dinamico (detta anche a *contatto intermittente*) è stata sviluppata per far fronte a questo problema; nel funzionamento a contatto dinamico, la microleva viene fatta oscillare affinché possa venire a contatto con il campione e, successivamente, viene applicata la forza necessaria per staccare la punta dal campione.

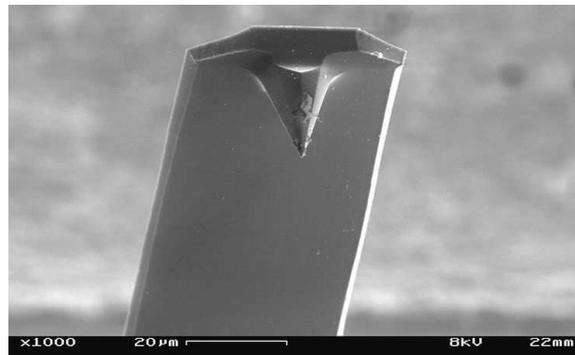


Figura 4.1: microleva impiegata nel metodo AFM

Una sonda AFM (v. Figura 4.1) è costituita da una microleva avente una punta conica o sferica (*tip*) il cui raggio è in scala micrometrica/nanometrica e la piastra di supporto (*chip di supporto*), avente dimensioni di massima comprese tra 1.6 mm e 3.4 mm, consente all'operatore di fissare la sonda AFM sulla testa di scansione del microscopio a forza atomica. Queste sonde sono realizzate attraverso la tecnologia MEMS; i materiali più utilizzati a riguardo sono il silicio, il vetro borosilicato e il nitrato di silicio.

L'inflessione della trave dipende dall'interazione tra la punta e la superficie esaminata e se questa inflessione è misurata in molti punti di una superficie bidimensionale, l'interazione può essere mappata spazialmente. Possono essere rilevati diversi tipi di interazione e, sulla base di questi, la superficie della punta della sonda deve essere modificata con un rivestimento; tra i rivestimenti più utilizzati si ha l'oro, per il legame covalente delle molecole biologiche e per l'individuazione della

loro interazione con una superficie, il diamante, per una maggiore resistenza all'usura e i rivestimenti magnetici per rilevare le proprietà magnetiche della superficie in esame.

Per stimare le proprietà meccaniche delle cellule mediante il metodo AFM, possono essere usati vari modelli analitici di contatto per individuarne il modulo elastico longitudinale e confrontarlo con quello ottenuto sperimentalmente; il modello hertziano [21b] descrive il semplice caso relativo alla deformazione elastica di due superfici lisce perfettamente omogenee che si toccano sotto carico e, per piccole deformazioni, descrive molto bene l'interazione meccanica tra un indentatore sferico e una cellula di uguale forma.

Applicando questo modello all'analisi AFM del contatto tra una cellula e un indentatore sferico, si assume che:

- i materiali della cellula e della punta siano isotropi e omogenei;
- il contatto tra i due corpi sia privo di adesione e di attrito;
- la zona di contatto sia assialsimmetrica, liscia e continua.

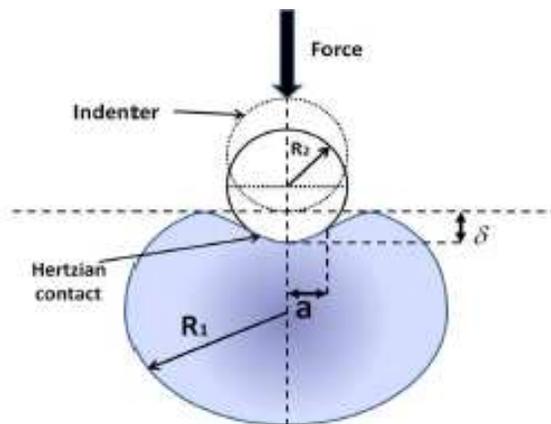


Figura 4.2: contatto hertziano con indentatore sferico

La relazione tra la forza (F) esercitata dalla micro-sonda sul campione e la profondità di indentazione (δ) in esso prodotta è pari a (v. anche Figura 4.2):

$$F = \frac{4}{3} \cdot E^* \sqrt{R} \cdot \delta^{1.5} \quad (4-1)$$

dove

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1-\nu_1^2}{E_1} + \frac{1-\nu_2^2}{E_2} \quad (4-1a)$$

$$R = \frac{R_1 \cdot R_2}{R_1 + R_2} \quad (4-1b)$$

Il raggio della zona di contatto (a) può essere calcolato nel seguente modo:

$$a = \sqrt[3]{\frac{3}{4} \cdot F \cdot \frac{R}{E^*}} \quad (4-2)$$

La tabella 4.1 riassume i parametri inseriti nelle equazioni appena riportate, facendo l'ipotesi che l'indentatore sia in silicio e che la cellula sia una mESC^[9] (mouse Embryonic Stem Cell):

Modulo di Young della cellula (E_1) [kPa]	25
Modulo di Young dell'indentatore (E_2) [GPa]	168
Coefficiente di Poisson della cellula (ν_1)	0.49
Coefficiente di Poisson dell'indentatore (ν_2)	0.28
Raggio della cellula (R_1) [μm]	6
Raggio dell'indentatore (R_2) [μm]	2.5

Tabella 4.1: parametri utilizzati nello studio analitico hertziano

La cellula considerata è omogenea, isotropa, iperelastica e quindi quasi incompressibile; quest'ultima proprietà può essere evitata dal valore del suo coefficiente di Poisson (coefficiente di contrazione trasversale) molto prossimo a 0.5, valore che porta alla totale incompressibilità del materiale che si deforma senza variare il volume (deformazione in campo plastico).

L'omogeneità della cellula porta a considerarne un modulo elastico (modulo di Young) globale equivalente analogamente a quanto avviene nel metodo AFM in cui la rigidità della cellula viene calcolata mediando il contributo delle singole fibre del citoscheletro.

La Figura 4.3 e la Figura 4.4 mostrano il problema del contatto cellula-indentatore sferico studiato agli elementi finiti per valutare la posizione reciproca tra la cellula e la punta della sonda AFM.

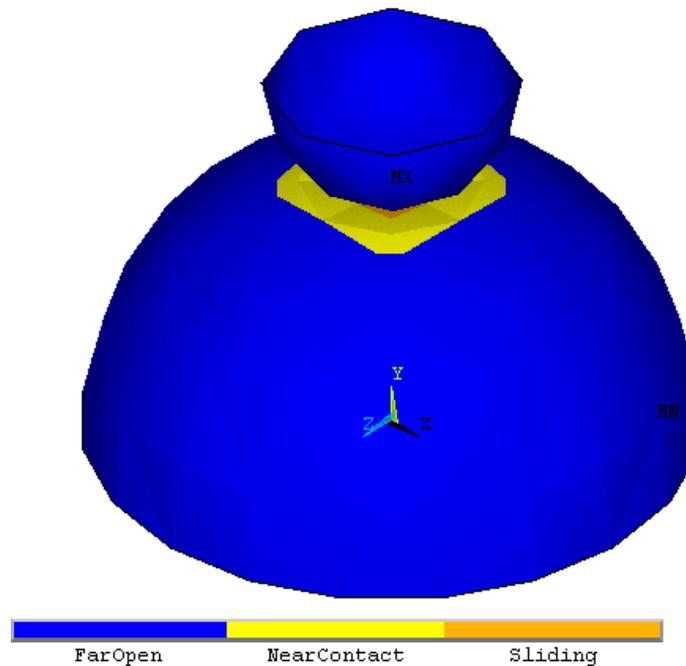


Figura 4.3: problema del contatto cellula-indentatore AFM sferico (FEM Contact Analysis)

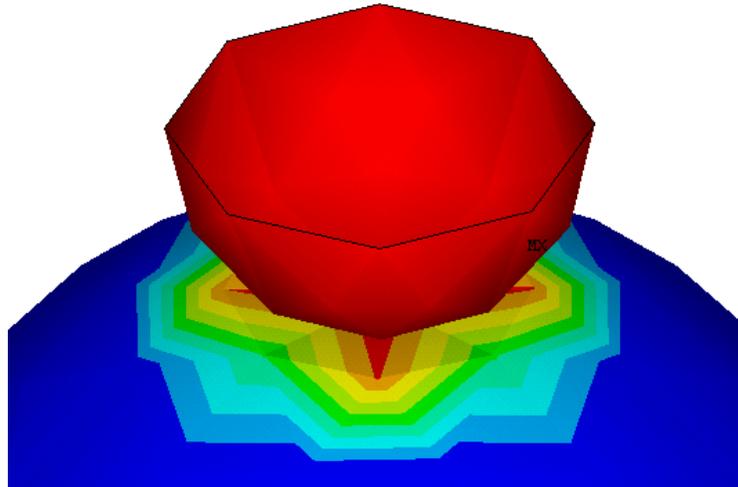


Figura 4.4: ingrandimento della zona di contatto cellula-indentatore (FEM Contact Analysis)

Anche dall'analisi agli elementi finiti si nota che la particolare geometria dei due corpi a contatto porta ad una zona di contatto circolare.

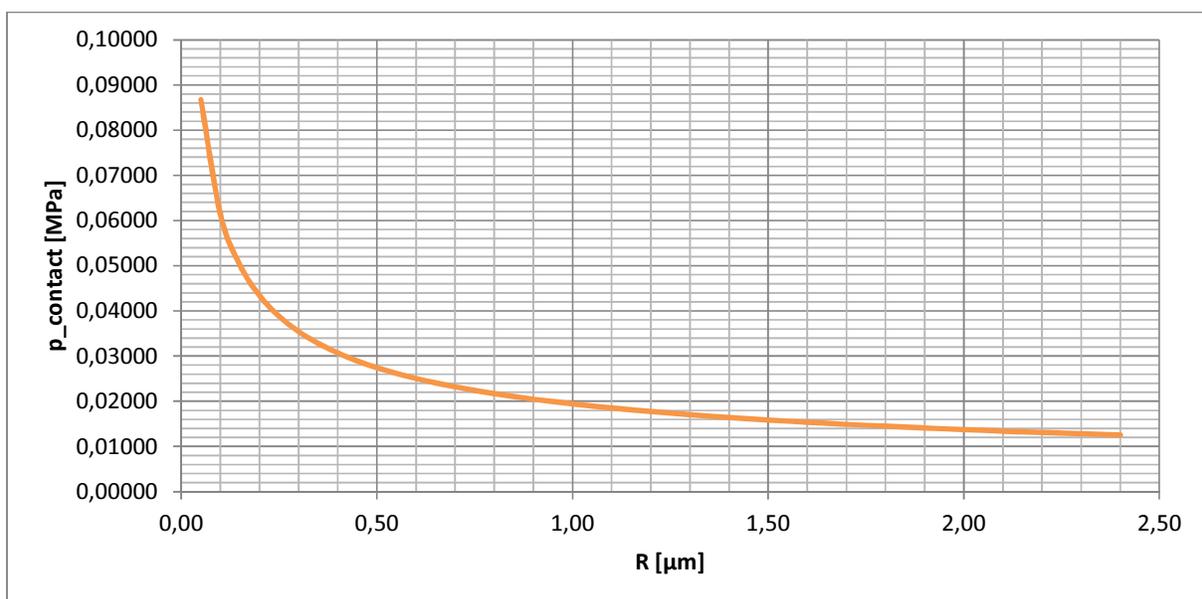
La pressione di contatto cellula-indentatore è data dalla seguente relazione:

$$p_c = \frac{3}{2} \cdot \alpha \cdot \frac{F}{\pi \cdot a^2} \quad (4-3)$$

dove $\alpha = 0.655$ (coefficiente correttivo^[R] nel caso di zona di contatto circolare).

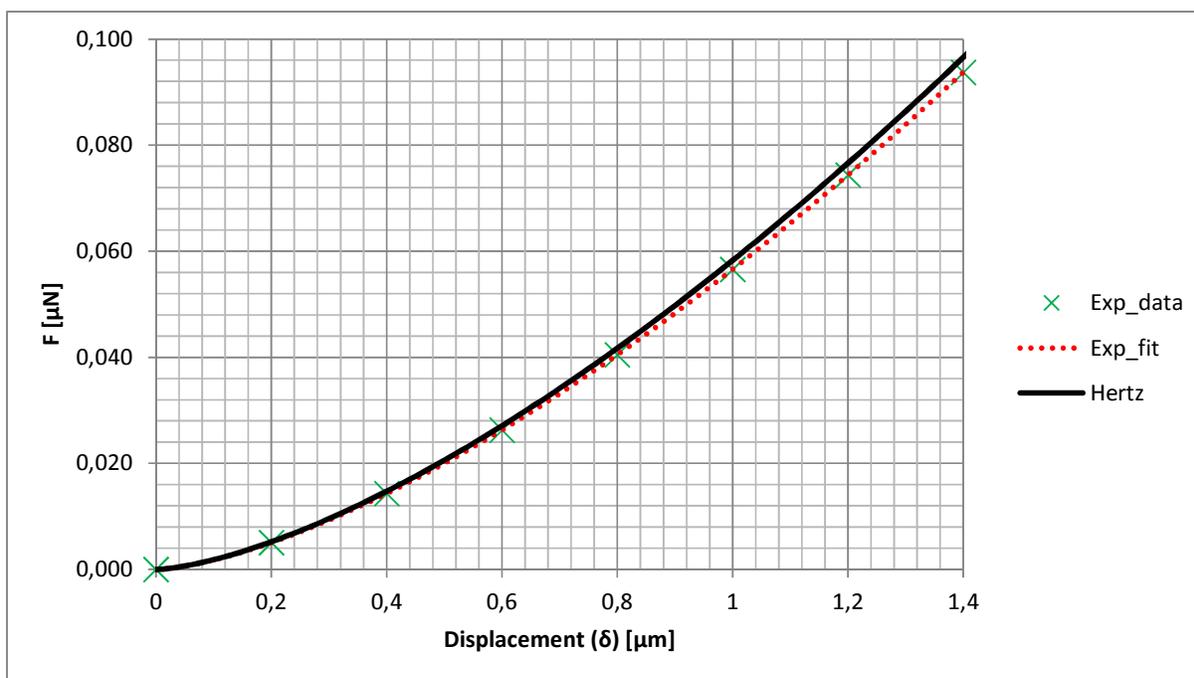
Sostituendo nell'Equazione (4-3), le relazioni (4-1) e (4-2) si ottiene la formula (4-3a) il cui andamento è rappresentato nel grafico sottostante:

$$p_c = \frac{2 \cdot \alpha \cdot E^*}{\pi} \cdot \sqrt{\frac{\delta}{R}} \quad (4-3a)$$



Dal grafico si evince che, fissate le proprietà dei materiali a contatto (E^*) e la profondità di indentazione (δ), la pressione di contatto aumenta riducendo il raggio equivalente (R) che tiene conto dei raggi dei due corpi a contatto; conseguentemente, ipotizzando che i corpi a contatto siano la cellula e le pinze del micromanipolatore, le zone di presa meno elaborate (ad esempio quelle aventi estremità piatte) hanno una cinematica tale da bloccare la cellula in presa solo in due punti generando pressioni di contatto molto elevate e pericolose per la sua integrità. L'utilizzo di estremità cilindriche del microdispositivo e lo sfruttamento dell'elasticità del suo materiale consentono di distribuire uniformemente le forze sulla superficie della cellula.

Il seguente grafico mostra il confronto tra i risultati sperimentali ottenuti mediante un'analisi AFM di una cellula mESC [15b] e quelli analitici ottenuti, sulla base del modello hertziano (cfr. Equazione 4-1), sempre sulla stessa cellula; le curve riportate mostrano una quasi perfetta corrispondenza tra le due serie di risultati a prova del fatto che il modello di Hertz descrive molto accuratamente il problema del contatto tra un indentatore sferico e una cellula studiata come un componente meccanico in scala micrometrica sottoposto ad un carico esterno.



Capitolo 5***Realizzazione del micromanipolatore esaminato******5.1 Realizzazione virtuale del micromanipolatore***

La Tabella 5.1.1 riassume le fasi di realizzazione^[J] del micromanipolatore in esame eseguite presso la camera bianca^[V] del centro di ricerca IMT di Bucharest (National Institute for Research and Development in Microtechnologies).

Partendo da un substrato (v. Figura 5.1.1) in SU-8 (resist negativo^[J]), avente dimensioni pari a quelle di ingombro del micromanipolatore (v. Capitolo 3), è stata posizionata al di sopra di esso una maschera (v. Figura 5.1.2) *dark-field*^[J] per l'esecuzione della fotolitografia con conseguente realizzazione del pattern del microdispositivo (v. Figura 5.1.3); uno strato di ossido (SiO₂) è stato depositato sulla superficie superiore del micromanipolatore (v. Figura 5.1.4) e al di sopra dell'ossido è stato depositato uno strato di resist negativo (v. Figura 5.1.5). Una maschera (v. Figura 5.1.6) *light-field*^[J] è stata posizionata al di sopra della struttura a tre strati per l'esecuzione di un secondo processo di fotolitografia (v. Figura 5.1.7) atto a rimuovere la parte del resist (negativo) coperto dalla porzione annerita della maschera.

<i>STEP</i>	<i>Operazione eseguita</i>
1	Substrato in SU-8 (resist negativo)
2	Posizionamento della maschera 1 (M1) al di sopra del substrato (maschera dark-field)
3	Fotolitografia per la realizzazione del pattern del microdispositivo
4	Deposizione dell'ossido sulla superficie superiore del micromanipolatore
5	Deposizione di uno strato di resist negativo
6	Posizionamento della maschera 2 (M2) al di sopra della struttura a tre strati (SU-8/ossido/resist) (maschera light-field)
7a	Fotolitografia
7b	Etching dell'ossido
8	Rimozione del resist depositato al di sopra dell'ossido
9	Deposizione dello strato di contatto (Cr+Au)
10	Rimozione dell'ossido (tecnica lift-off)

Tabella 5.1.1: fasi di realizzazione del micromanipolatore

Successivamente sono stati eseguiti l'etching dell'ossido (v. Figura 5.1.8) mediante acido fluoridrico e la rimozione del resist (v. Figura 5.1.9) posto al di sopra di esso per la deposizione dello strato metallico dei contatti in oro e cromo (v. Figura 5.1.10) mediante evaporazione

(*sputtering*); attraverso la tecnica denominata lift-off^[1] sono stati rimossi l'ossido e lo strato metallico eccedente ottenendo la struttura definitiva (v. Figura 5.1.11).

È bene precisare che i colori dei vari strati utilizzati nel processo di fabbricazione virtuale del microdispositivo descritto finora e mostrati nelle figure sottostanti (da Figura 5.1.1 a Figura 5.1.11) sono puramente indicativi; i colori reali sono mostrati nelle fotografie riportate nel secondo sottocapitolo.

Il substrato di partenza in SU-8 è stato ottenuto mediante la tecnica dello *spin coating*: una soluzione molto diluita del polimero è stata depositata al di sopra di un substrato in silicio precedentemente pulito in una soluzione piranha (acido solforico diluito con perossido di idrogeno); la soluzione contenente il polimero è stata successivamente messa in rotazione (3000 rpm) per depositare l'SU-8 sfruttando sia la forza centrifuga sia l'elevata volatilità dei suoi solventi.

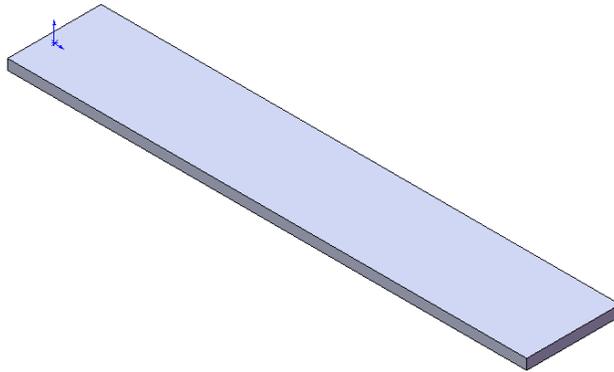


Figura 5.1.1: substrato in SU-8



Figura 5.1.2: maschera M1

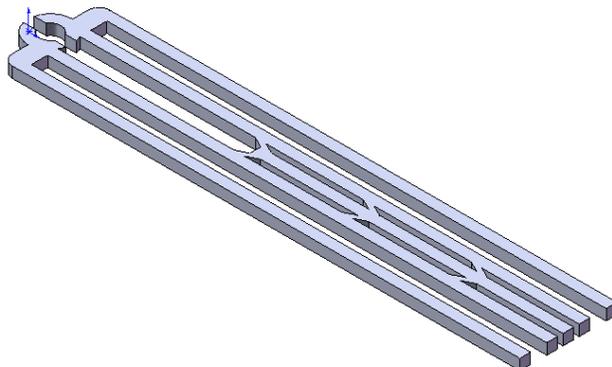


Figura 5.1.3: micromanipolatore

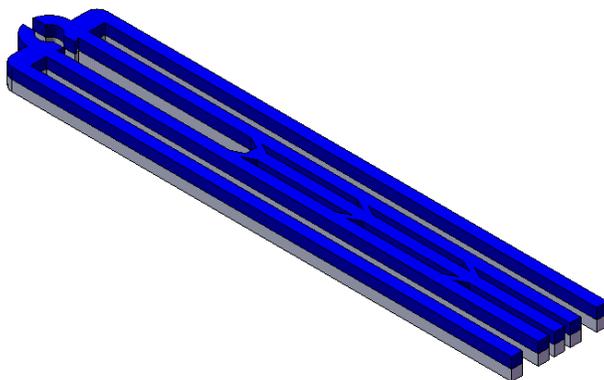


Figura 5.1.4: deposizione dell'ossido

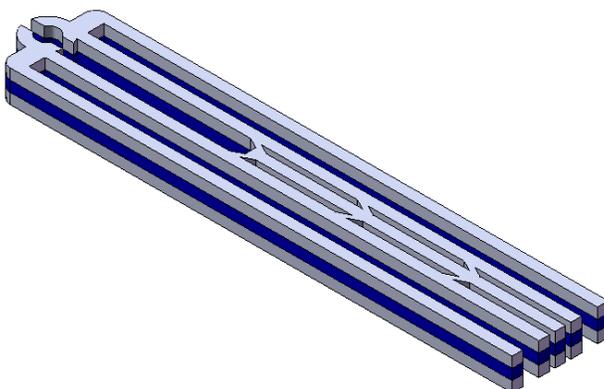


Figura 5.1.5: deposizione di uno strato di resist negativo



Figura 5.1.6: maschera M2

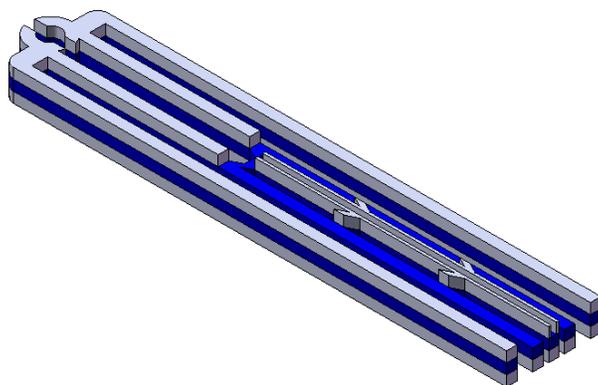


Figura 5.1.7: fotolitografia

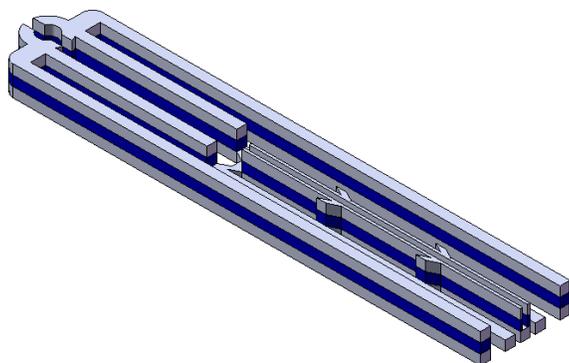


Figura 5.1.8: etching dell'ossido

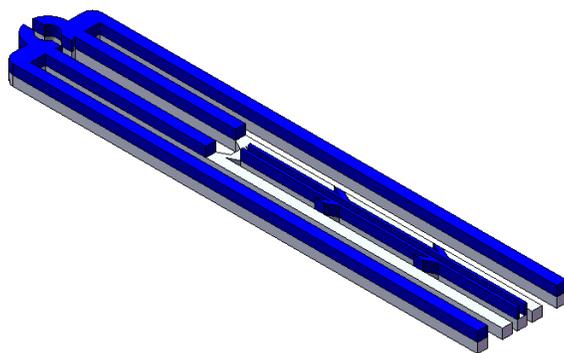


Figura 5.1.9: rimozione del resist negativo

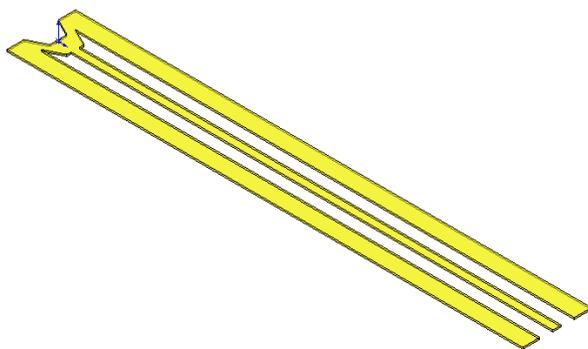


Figura 5.1.10: deposizione dello strato metallico dei contatti

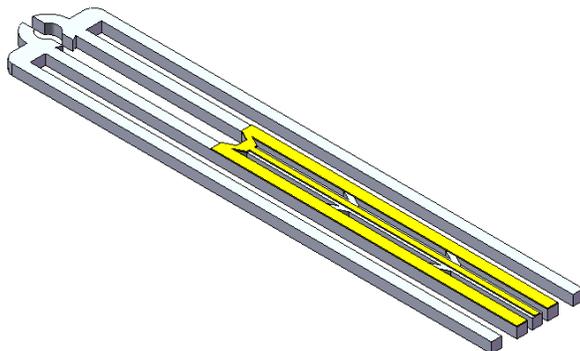


Figura 5.1.11: rimozione dell'ossido

5.2 Realizzazione in laboratorio del micromanipolatore

Le immagini seguenti riguardano alcune fasi della realizzazione del micromanipolatore presso il suddetto laboratorio di microtecnologie.

È stato realizzato un chip contenente sei microdispositivi uguali a quello progettato e analizzato in questa tesi. Sono presenti sia foto realizzate al microscopio ottico^[N], sia foto realizzate al microscopio elettronico^[O].



Figura 5.2.1: maschera M1 fotografata al microscopio ottico



Figura 5.2.2: maschera M2 fotografata al microscopio ottico

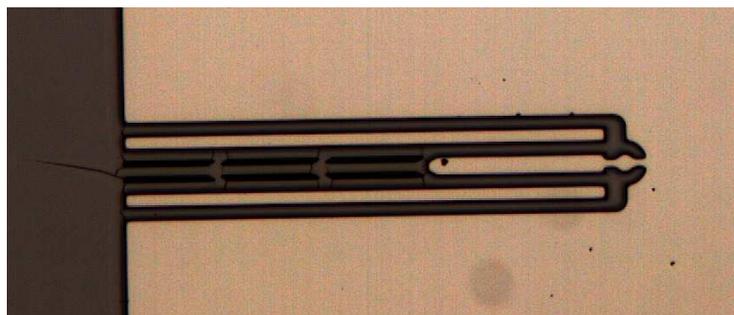


Figura 5.2.3: micromanipolatore in SU-8 fotografato al microscopio ottico

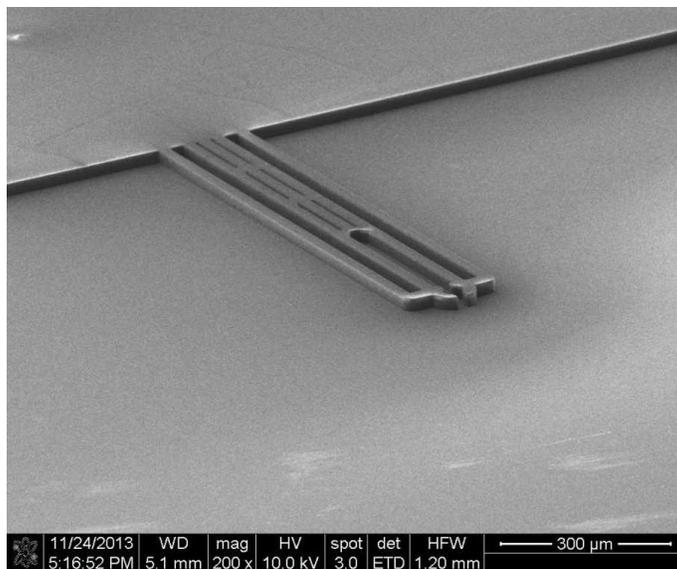


Figura 5.2.4: micromanipolatore in SU-8 fotografato al microscopio elettronico (SEM)

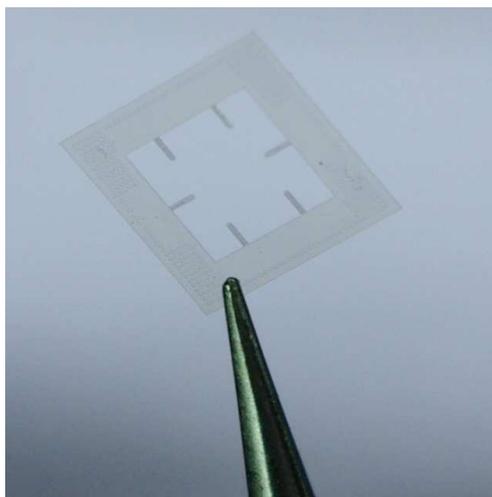


Figura 5.2.5: chip con sei strutture in SU-8

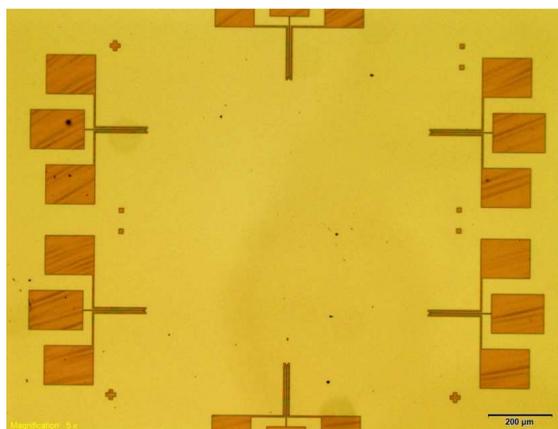


Figura 5.2.6: contatti in oro prima della deposizione sul chip

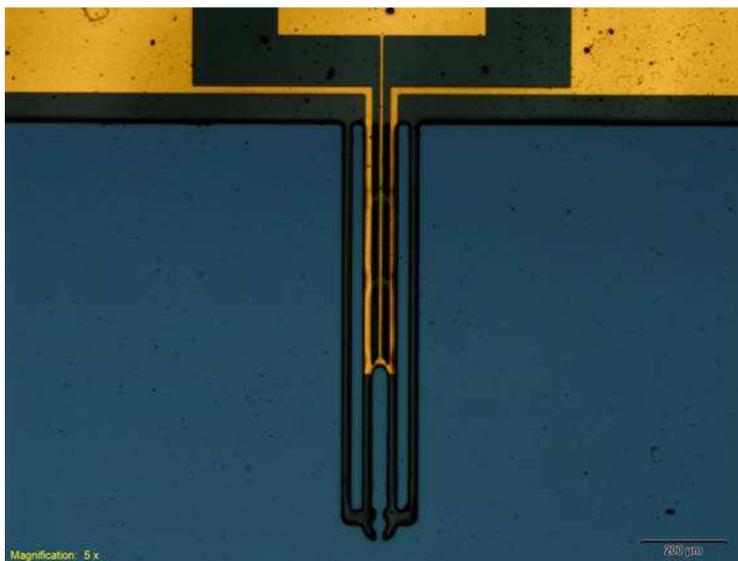


Figura 5.2.7: immagine al microscopio ottico del substrato in SU-8 e dei contatti in oro

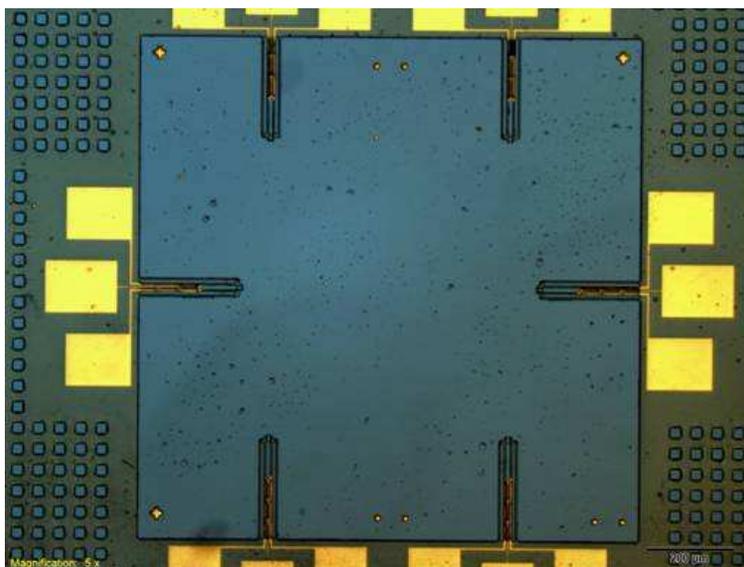


Figura 5.2.8: immagine al microscopio ottico del chip con sei strutture nella fase finale di fabbricazione

Conclusioni

Questa tesi ha riguardato lo studio e la progettazione di un micromanipolatore cellulare attuato termicamente, il cui comportamento è stato studiato ed ottimizzato mediante l'utilizzo del metodo degli elementi finiti; la forma cilindrica degli afferraggi, per non avere pressioni di contatto troppo elevate sulla superficie esterna della cellula, e l'analisi elettro-termica-strutturale, allo scopo di avere temperature basse in corrispondenza della zona di presa, sono punti di forza che rendono questo microdispositivo adatto anche ad applicazioni in campo biologico e non solamente meccanico.

Alcune cellule hanno un diametro che raggiunge i 50 μm e di conseguenza l'utilizzo di un dispositivo avente un diametro di 40 μm per la loro manipolazione genera interferenza e forze di compressione tra la singola cellula e gli afferraggi; la creazione di un modello FEM atto a valutare la pressione agente sulla superficie esterna della cellula, variando la forma della zona di presa e/o la forma della cellula stessa, può essere interessante per lo studio del problema del contatto tra la zona di presa e la cellula vista come un micro-componente meccanico soggetto ad una forza distribuita esterna.

Altri obiettivi futuri e successivi alla discussione di questa tesi sono l'analisi sperimentale del comportamento meccanico cellulare e il testing del microdispositivo per confrontare l'apertura effettiva della sua zona di presa con i valori restituiti dalla simulazione elettro-termica-strutturale realizzata in ambiente FEM.

Riferimenti bibliografici

- [1] Documentazione presentata per la partecipazione al progetto FIRB (Fondo per gli Investimenti della Ricerca di Base) relativa allo studio di un micromanipolatore cellulare – G. De Pasquale, A. Somà, S. Iamoni – 2012
- [2] M. Mehdi S. Mousavi, Giorgio De Pasquale, Aurelio Somà, Eugenio Brusa – “*A Novel SU-8 Microgripper with External Actuator for Biological Cells Manipulation*” – proc. of DTIP – Aix-en-Provence, Francia – 2011
- [3] R. Keoschkerjan, H. Wurmus – “*A novel microgripper with parallel movement of gripping arms*” – proc. of 8th International Conference on New Actuators – Bremen, Germania – 2002 – pp. 321-324
- [4] S. K. Nah, Z. W. Zhong – “*A microgripper using piezoelectric actuation for micro-object manipulation*” – © 2006 Elsevier B.V.
- [5] B.E. Volland, H. Heerlein, I.W. Rangelow – “*Electrostatically driven microgripper*” – © 2002 Elsevier Science B.V.
- [6] Katerina Ivanova, Tzvetan Ivanov, Ali Badar, Burkhard E. Volland, Ivo W. Rangelow, Daniela Andrijasevic, Franz Sümeecz, Stephanie Fischer, Manfred Spitzbart, Werner Brenner, Ivan Kostic – “*Thermally driven microgripper as a tool for micro assembly*” – © 2006 Elsevier B.V.
- [7] F. Auricchio, J. Arghavani, M. Conti, S. Morganti, A. Reali, U. Stefanelli – “*Shape-Memory Alloys: Effective 3D Modeling, Computational Aspects, Analysis of Actuator and Biomedical Devices*” – 2010
- [8] I. Giouroudi, H. Hötendorfer, J. Kosel, D. Andrijasevic, W. Brenner – “*Development of a microgripping system for handling of microcomponents*” – © 2007 Elsevier
- [9] P. R. Ouyang, R. C. Tjptoprodjo, W. J. Zhang, G. S. Yang – “*Micro-motion devices technology: The state of arts review*” – original article published online, © Springer-Verlag London Limited 2007
- [10] Marius M. Blideran, Günter Bertsche, Wolfgang Henschel, Dieter P. Kern – “*A mechanically actuated silicon microgripper for handling micro- and nanoparticles*” – © 2006 Elsevier B.V.
- [11] Bin-Da Chan, Farrukh Mateen, Chun-Li Chang, Kutay Icoz, Cagri A. Savran – “*A Compact Manually Actuated Micromanipulator*” – Journal of microelectromechanical systems, vol. 21, no. 1 – 2012
- [12] Microsystem Design – Stephen D. Senturia, Massachusetts Institute of Technology – Kluwer Academic Publishers

-
- [13] Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- [14] Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of cell microgripper and actuation strategy*” – In: Proc. of SPIE, Vol. 8765 – 2013
- [15] Hamid Ladjal, Jean-Luc Hanus, Anand Pillarisetti, Carol Keefer, Antoine Ferreira, Jaydev P. Desai – “*Atomic Force Microscopy-Based Single-Cell Indentation: Experimentation and Finite Element Simulation*” – IEEE/RSJ (International Conference on Intelligent Robots and Systems) – 2009 – DOI : 10.1109/IROS.2009.5354351
- [16] Darnell, Lodish, Baltimore, “*Molecular Cell Biology*” – Scientific American Books, Distributed by W. H. Freeman and Company – New York – pp. 681-951 – 1990
- [17] Enciclopedia Treccani
- [18] William D. Callister, Jr. – *Scienza e ingegneria dei materiali - una introduzione* – Copyright © 2000, John Wiley & Sons, Inc. – 2006
- [19] Demarchi D. – Dispense relative al corso “Bio-Micro&Nano Systems” – Politecnico di Torino – 2012
- [20] Kaushik D. Deb, Satish M. Totey – *Stem Cells: Basics And Applications* – Tata McGraw Hill – Copyright © 2009
- [21] Gugliotta A. – Dispense relative al corso “Elementi costruttivi delle macchine” – Politecnico di Torino – 2007

Riferimenti sitografici

[1] http://www.nature.com/nmat/journal/v2/n11/fig_tab/nmat1001_F2.html

(data di ultima consultazione: 28/12/2013)

[2] http://en.wikipedia.org/wiki/Atomic_force_microscopy

(data di ultima consultazione: 28/12/2013)

[3] http://archimedes.ing.unibs.it/dida/LabMisVib2013/lucidi/08_MEMS_TEDS.pdf

(data di ultima consultazione: 03/01/2014)

[4] <http://www.microchem.com/> (SU-8 Data Sheet)

(data di ultima consultazione: 03/01/2014)

[5] <http://www.microchem.com/pdf/SU-8-table-of-properties.pdf>

(data di ultima consultazione: 03/01/2014)

[6] <http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>

(data di ultima consultazione: 07/01/2014)

[7] <http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plantcell.html>

(data di ultima consultazione: 07/01/2014)

[8] http://www.uniroma2.it/didattica/esercitazioniisto/deposito/Dispense_Microscopio.pdf

(data di ultima consultazione: 09/01/2014)

[9] http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_ottico

(data di ultima consultazione: 09/01/2014)

[10] http://www.giottoulivi.it/studioinrete/scienze_Santoro/dimensioni_20cellulari.pdf

(data di ultima consultazione: 10/01/2014)

[11] http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_elettronico_a_scansione

(data di ultima consultazione: 09/01/2014)

[12] http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_elettronico_a_trasmissione

(data di ultima consultazione: 09/01/2014)

[13] <http://www.ba.infn.it/~depalma/lezioni/capillarita.pdf>

(data di ultima consultazione: 10/01/2014)

[14] <http://it.wikipedia.org/wiki/Elettroerosione>

(data di ultima consultazione: 10/01/2014)

[15] [http://www.ing.unitn.it/~colombo/Termocoppie/3\)Funzionamento.htm](http://www.ing.unitn.it/~colombo/Termocoppie/3)Funzionamento.htm)

(data di ultima consultazione: 10/01/2014)

[16] <http://www.spherotech.com/>

(data di ultima consultazione: 10/01/2014)

- [17] <https://www.mems-exchange.org/users/masks/guidelines.html>
(data di ultima consultazione: 11/01/2014)
- [18] http://it.wikipedia.org/wiki/Ponte_di_Wheatstone
(data di ultima consultazione: 14/01/2014)
- [19] http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_a_forza_atmica
(data di ultima consultazione: 14/01/2014)
- [20] <http://www.lifetechnologies.com>
(data di ultima consultazione: 16/01/2014)
- [21] <http://www.nature.com/nprot/journal/v6/n7/covers/index.html>
(data di ultima consultazione: 17/01/2014)
- [22] <http://www.nature.com/nprot/journal/v6/n7/full/nprot.2011.348.html>
(data di ultima consultazione: 17/01/2014)
- [23] <http://digilander.libero.it/materiali.scuola/MATERIALI/RESISTORI.pdf>
(data di ultima consultazione: 19/01/2014)
- [24] <http://elettrotecnica.altervista.org/Pubblicazioni/cavo1.pdf>
(data di ultima consultazione: 19/01/2014)
- [25] http://www.unisalento.it/c/document_library/get_file?folderId=6566673&name=DLFE-51368.pdf
(data di ultima consultazione: 20/01/2014)
- [26] <http://www.fisica.uniud.it/irdis/Termologia/Equilibrio2Corpi/Didattica.htm>
(data di ultima consultazione: 20/01/2014)
- [27] http://ft.unich.it/laboratorio-fisica-tecnica/images/pdf/lezioni/trasmissione%20del%20calore_1.pdf
(data di ultima consultazione: 21/01/2014)
- [28] http://it.wikipedia.org/wiki/Laboratorio_pulito
(data di ultima consultazione: 02/02/2014)

Lista delle figure

- Figura 1: metodo AFM (Atomic Force Microscopy) →
http://www.nature.com/nmat/journal/v2/n11/fig_tab/nmat1001_F2.html
- Figura 2: metodo MTC (Magnetic Twisting Cytometry) →
http://www.nature.com/nmat/journal/v2/n11/fig_tab/nmat1001_F2.html
- Figura 3: aspirazione con micropipetta →
http://www.nature.com/nmat/journal/v2/n11/fig_tab/nmat1001_F2.html
- Figura 1.1.1: soluzioni cinematiche →
M. Mehdi S. Mousavi, Giorgio De Pasquale, Aurelio Somà, Eugenio Brusa – “*A Novel SU-8 Microgripper with External Actuator for Biological Cells Manipulation*” – proc. of DTIP – Aix-en-Provence, Francia – 2011
- Figura 1.1.2: rotazione dei bracci (a) vs traslazione dei bracci (b) →
R. Keoschkerjan, H. Wurmus – “*A novel microgripper with parallel movement of gripping arms*” – proc. of 8th International Conference on New Actuators – Bremen, Germania – 2002 – pp. 321-324
- Figura 1.2.1: forma della zona di presa →
M. Mehdi S. Mousavi, Giorgio De Pasquale, Aurelio Somà, Eugenio Brusa – “*A Novel SU-8 Microgripper with External Actuator for Biological Cells Manipulation*” – proc. of DTIP – Aix-en-Provence, Francia – 2011
- Figura 2.1.1.1: micromanipolatore con attuazione PZT e particolare delle sue cerniere flessionali →
S. K. Nah, Z. W. Zhong – “*A microgripper using piezoelectric actuation for micro-object manipulation*” – © 2006 Elsevier B.V.
- Figura 2.1.1.2: modello FEM (sinistra) e modello FEA (destra) di mezzo micromanipolatore (i valori sono in kPa) →
S. K. Nah, Z. W. Zhong – “*A microgripper using piezoelectric actuation for micro-object manipulation*” – © 2006 Elsevier B.V.
- Figura 2.1.1.3: componenti del microdispositivo →
S. K. Nah, Z. W. Zhong – “*A microgripper using piezoelectric actuation for micro-object manipulation*” – © 2006 Elsevier B.V.
- Figura 2.1.1.4: dimensioni di massima del micromanipolatore →

- B.E. Volland, H. Heerlein, I.W. Rangelow – “*Electrostatically driven microgripper*” – © 2002 Elsevier Science B.V.
- Figura 2.1.1.5: elettrodi a pettine (sinistra) e sistema di sospensione a trave (destra) →
B.E. Volland, H. Heerlein, I.W. Rangelow – “*Electrostatically driven microgripper*” – © 2002 Elsevier Science B.V.
 - Figura 2.1.1.6: sistema di afferraggio del microattuatore →
B.E. Volland, H. Heerlein, I.W. Rangelow – “*Electrostatically driven microgripper*” – © 2002 Elsevier Science B.V.
 - Figura 2.1.1.7: microgripper in funzione →
B.E. Volland, H. Heerlein, I.W. Rangelow – “*Electrostatically driven microgripper*” – © 2002 Elsevier Science B.V.
 - Figura 2.1.1.8: simulazione FEM del micromanipolatore attuato termicamente →
Katerina Ivanova, Tzvetan Ivanov, Ali Badar, Burkhard E. Volland, Ivo W. Rangelow, Daniela Andrijasevic, Franz Sümecz, Stephanie Fischer, Manfred Spitzbart, Werner Brenner, Ivan Kostic – “*Thermally driven microgripper as a tool for micro assembly*” – © 2006 Elsevier B.V.
 - Figura 2.1.1.9: analisi al microscopio ottico del microattuatore termico in configurazione aperta e chiusa →
Katerina Ivanova, Tzvetan Ivanov, Ali Badar, Burkhard E. Volland, Ivo W. Rangelow, Daniela Andrijasevic, Franz Sümecz, Stephanie Fischer, Manfred Spitzbart, Werner Brenner, Ivan Kostic – “*Thermally driven microgripper as a tool for micro assembly*” – © 2006 Elsevier B.V.
 - Figura 2.1.1.10: analisi FEM del microdispositivo in leghe a memoria di forma →
F. Auricchio, J. Arghavani, M. Conti, S. Morganti, A. Reali, U. Stefanelli – “*Shape-Memory Alloys: Effective 3D Modeling, Computational Aspects, Analysis of Actuator and Biomedical Devices*” – 2010
 - Figura 2.1.1.11: micromanipolatore con attuazione elettromagnetica →
I. Giouroudi, H. Hötendorfer, J. Kosel, D. Andrijasevic, W. Brenner – “*Development of a microgripping system for handling of microcomponents*” – © 2007 Elsevier
 - Figura 2.1.1.12: immagine al microscopio delle punte del micromanipolatore →
I. Giouroudi, H. Hötendorfer, J. Kosel, D. Andrijasevic, W. Brenner – “*Development of a microgripping system for handling of microcomponents*” – © 2007 Elsevier
 - Figura 2.1.1.13: apertura (a) e chiusura (b) delle punte del microdispositivo →

- I. Giouroudi, H. Hötendorfer, J. Kosel, D. Andrijasevic, W. Brenner – “*Development of a microgripping system for handling of microcomponents*” – © 2007 Elsevier
- Figura 2.1.1.14: manipolazione di micro-particelle di gomma →
- I. Giouroudi, H. Hötendorfer, J. Kosel, D. Andrijasevic, W. Brenner – “*Development of a microgripping system for handling of microcomponents*” – © 2007 Elsevier
- Figura 2.1.2.1: motore a ultrasuoni rotativo →
- P. R. Ouyang, R. C. Tjiptoprodjo, W. J. Zhang, G. S. Yang – “*Micro-motion devices technology: The state of arts review*” – original article published online, © Springer-Verlag London Limited 2007
- Figura 2.1.2.2: principio di funzionamento di un picomotore →
- P. R. Ouyang, R. C. Tjiptoprodjo, W. J. Zhang, G. S. Yang – “*Micro-motion devices technology: The state of arts review*” – original article published online, © Springer-Verlag London Limited 2007
- Figura 2.1.2.3: principio “stick-slip” →
- P. R. Ouyang, R. C. Tjiptoprodjo, W. J. Zhang, G. S. Yang – “*Micro-motion devices technology: The state of arts review*” – original article published online, © Springer-Verlag London Limited 2007
- Figura 2.1.2.4: attuatore “inchworm” →
- P. R. Ouyang, R. C. Tjiptoprodjo, W. J. Zhang, G. S. Yang – “*Micro-motion devices technology: The state of arts review*” – original article published online, © Springer-Verlag London Limited 2007
- Figura 2.1.2.5: parti principali del micromanipolatore meccanico →
- Marius M. Blideran, Günter Bertsche, Wolfgang Henschel, Dieter P. Kern – “*A mechanically actuated silicon microgripper for handling micro- and nanoparticles*” – © 2006 Elsevier B.V.
- Figura 2.1.2.6: calcolo della tensione equivalente di Von Mises mediante analisi FEM →
- Marius M. Blideran, Günter Bertsche, Wolfgang Henschel, Dieter P. Kern – “*A mechanically actuated silicon microgripper for handling micro- and nanoparticles*” – © 2006 Elsevier B.V.
- Figura 2.1.2.7: wafer di partenza per la fabbricazione del microdispositivo →
- Marius M. Blideran, Günter Bertsche, Wolfgang Henschel, Dieter P. Kern – “*A mechanically actuated silicon microgripper for handling micro- and nanoparticles*” – © 2006 Elsevier B.V.

- Figura 2.1.2.8: micromanipolatore attuato manualmente →
Bin-Da Chan, Farrukh Mateen, Chun-Li Chang, Kutay Icoz, Cagri A. Savran – “*A Compact Manually Actuated Micromanipulator*” – Journal of microelectromechanical systems, vol. 21, no. 1 – 2012
- Figura 2.1.2.9: schematizzazione del funzionamento del microdispositivo →
Bin-Da Chan, Farrukh Mateen, Chun-Li Chang, Kutay Icoz, Cagri A. Savran – “*A Compact Manually Actuated Micromanipulator*” – Journal of microelectromechanical systems, vol. 21, no. 1 – 2012
- Figura 2.1.2.10: microsfera in polistirene catturata dal micromanipolatore →
Bin-Da Chan, Farrukh Mateen, Chun-Li Chang, Kutay Icoz, Cagri A. Savran – “*A Compact Manually Actuated Micromanipulator*” – Journal of microelectromechanical systems, vol. 21, no. 1 – 2012
- Figura 2.1.2.11: manipolazione di una singola cellula →
Bin-Da Chan, Farrukh Mateen, Chun-Li Chang, Kutay Icoz, Cagri A. Savran – “*A Compact Manually Actuated Micromanipulator*” – Journal of microelectromechanical systems, vol. 21, no. 1 – 2012
- Figura 3.1.1: dimensioni di massima del microdispositivo →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Figura 3.1.2: vista in pianta dell’attuazione elettro-termica-strutturale del microdispositivo →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Figura 3.2.1: parametri geometrici delle resistenze elettro-termiche in oro (dettagli) →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Figura 3.2.2: parametri geometrici delle resistenze elettro-termiche in oro (ulteriori dettagli) →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Figura 3.2.3: modello del circuito elettro-termico equivalente →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013

- Figura 3.3.1.1: vista in pianta del micromanipolatore vincolato ad un'estremità →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.1.2: trave a sbalzo con carico concentrato in mezzzeria →
<http://design.rootiers.it/strutture/node/564>
- Figura 3.3.1.3: struttura a sbalzo soggetta al suo peso proprio →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.1.4: inflessione della struttura soggetta al suo peso proprio →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.2.1: analisi FEM termo-strutturale del microdispositivo →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.2.2: aperture di riferimento nella zona di presa →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.2.3: apertura della zona di presa in funzione della tensione di alimentazione (esempi) →
Grafico excel
- Figura 3.3.2.4: distribuzione della temperatura nel micromanipolatore (i valori sono in °C) →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 3.3.2.5: carichi termici utilizzati nella simulazione FEM (esempio) →
Grafico excel
- Figura 4.1: microleva impiegata nel metodo AFM →
http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_a_forza_atmica
- Figura 4.2: contatto hertziano con indentatore sferico →
Hamid Ladjal, Jean-Luc Hanus, Anand Pillarisetti, Carol Keefer, Antoine Ferreira, Jaydev P. Desai – “*Atomic Force Microscopy-Based Single-Cell Indentation: Experimentation and Finite Element Simulation*” – IEEE/RSJ (International Conference on Intelligent Robots and Systems) – 2009 – DOI : 10.1109/IROS.2009.5354351
- Figura 4.3: problema del contatto cellula-indentatore AFM sferico (FEM Contact Analysis) →
Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 4.4: ingrandimento della zona di contatto cellula-indentatore AFM (FEM Contact Analysis) →

- Simulazione FEM (Ansys Multiphysics v11.0)
- Figura 5.1.1: substrato in SU-8 →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.2: maschera M1 →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.3: micromanipolatore →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.4: deposizione dell'ossido →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.5: deposizione di uno strato di resist negativo →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.6: maschera M2 →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.7: fotolitografia →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.8: etching dell'ossido →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.9: rimozione del resist negativo →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.10: deposizione dello strato metallico dei contatti →
Disegno CAD
 - Figura 5.1.11: rimozione dell'ossido →
Disegno CAD
 - Figura 5.2.1: maschera M1 fotografata al microscopio ottico →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in
Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
 - Figura 5.2.2: maschera M2 fotografata al microscopio ottico →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in
Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
 - Figura 5.2.3: micromanipolatore in SU-8 fotografato al microscopio ottico →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in
Microtechnologies) – Bucharest (Romania)

- Figura 5.2.4: micromanipolatore in SU-8 fotografato al microscopio elettronico (SEM) →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
- Figura 5.2.5: chip con sei strutture in SU-8 →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
- Figura 5.2.6: contatti in oro prima della deposizione sul chip →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
- Figura 5.2.7: immagine al microscopio ottico del substrato in SU-8 e dei contatti in oro →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
- Figura 5.2.8: immagine al microscopio ottico del chip con sei strutture nella fase finale di fabbricazione →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)
- Figura 4: esempi di cellule altamente specializzate (da sinistra a destra e dall'alto verso il basso: cellule del sangue, cellule cerebrali, cellule cardiache, cellule dell'intestino tenue, cellule epiteliali, cellule ossee, cellule epatiche, cellule del grasso) →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 5: una tipica cellula animale (sezionata per vedere gli organuli interni) →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 6: nucleo della cellula →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 7: fotografia del nucleo della cellula →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 8: membrana cellulare →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 9: reticolo endoplasmatico ruvido →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 10: fotografia del reticolo endoplasmatico ruvido →
<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 11: reticolo endoplasmatico liscio →

- <http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 12: apparato del Golgi →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 13: lisosomi →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 14: mitocondri →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 15: fotografia dei mitocondri →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 16: citoscheletro →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 17: anatomia di una cellula vegetale →

<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plantcell.html>
- Figura 18: cellule cerebrali →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 19: cellule del sangue →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 20: cellule epiteliali →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 21: cellule ossee →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 22: cellule del fegato →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 23: cellule del grasso →

<http://publications.nigms.nih.gov/insidethecell/>
- Figura 24: forze di adesione e di coesione scambiate tra sostanze diverse →

<http://www.ba.infn.it/~depalma/lezioni/capillarita.pdf>
- Figura 25: fenomeni di risalita capillare (a sinistra: innalzamento del liquido lungo la parete (es. acqua-vetro); a destra: allontanamento del liquido dalla parete (es. acqua-teflon)) →

<http://www.ba.infn.it/~depalma/lezioni/capillarita.pdf>
- Figura 26: elettroerosione a filo →

http://www.rodofil.com/rodofil/tecnologie_filo.html

- Figura 27: effetto Seebeck in una termocoppia →
[http://www.ing.unitn.it/~colombo/Termocoppie/3\)Funzionamento.htm](http://www.ing.unitn.it/~colombo/Termocoppie/3)Funzionamento.htm)
- Figura 28: piani cristallini individuati in un reticolo atomico cubico →
Microsystem Design – Stephen D. Senturia, Massachusetts Institute of Technology – Kluwer Academic Publishers
- Figura 29: legami tetraedrici tra gli atomi di silicio in una cella cristallina →
Microsystem Design – Stephen D. Senturia, Massachusetts Institute of Technology – Kluwer Academic Publishers
- Figura 30: fotolitografia →
Demarchi D. – Dispense relative al corso “Bio-Micro&Nano Systems” – Politecnico di Torino – 2012
- Figura 31: struttura di una maschera utilizzata nella fotolitografia →
Demarchi D. – Dispense relative al corso “Bio-Micro&Nano Systems” – Politecnico di Torino – 2012
- Figura 32: fotolitografia eseguita su resist avente polarità positiva e negativa →
Demarchi D. – Dispense relative al corso “Bio-Micro&Nano Systems” – Politecnico di Torino – 2012
- Figura 33: fotolitografia eseguita su resist positivo con maschere di diversa polarità →
<https://www.mems-exchange.org/users/masks/guidelines.html>
- Figura 34: tecnica lift-off →
Microsystem Design – Stephen D. Senturia, Massachusetts Institute of Technology – Kluwer Academic Publishers
- Figura 35: trave a sbalzo con carico concentrato in mezzeria →
<http://design.rootiers.it/strutture/node/564>
- Figura 36: modello base di microscopio ottico composto (1: tubo verticale per la fotografia; 2: oculare; 3: stativo; 4: revolver porta-obiettivi; 5: tavolino porta-oggetti; 6: condensatore; 7: manopole di messa a fuoco; 8: sorgente di luce) →
http://it.wikipedia.org/wiki/Microscopio_ottico
- Figura 37: schematizzazione di un microscopio elettronico a scansione →
http://www.giottoulivi.it/studioinrete/scienze_Santoro/dimensioni_20cellulari.pdf
- Figura 38: dettaglio al microscopio elettronico di un mitocondrio →
http://www.giottoulivi.it/studioinrete/scienze_Santoro/dimensioni_20cellulari.pdf
- Figura 39: schema elettrico di un ponte di Wheatstone →

-
- http://it.wikipedia.org/wiki/Ponte_di_Wheatstone
- Figura 40: morfologia di una colonia di mESC →
Kaushik D. Deb, Satish M. Totey – Stem Cells: Basics And Applications – Tata McGraw Hill – Copyright © 2009
 - Figura 41: stadi di sviluppo di una cellula mESC →
<http://www.nature.com/nprot/journal/v6/n7/full/nprot.2011.348.html>
 - Figura 42: conduzione termica in una geometria cilindrica →
http://ft.unich.it/laboratorio-fisica-tecnica/images/pdf/lezioni/trasmissione%20del%20calore_1.pdf
 - Figura 43: sistema di due corpi separati da una parete adiabatica →
http://www.unisalento.it/c/document_library/get_file?folderId=6566673&name=DLFE-51368.pdf
 - Figura 44: scambio termico tra due corpi a contatto →
http://www.unisalento.it/c/document_library/get_file?folderId=6566673&name=DLFE-51368.pdf
 - Figura 45: esempio di camera bianca
<http://www.imt.kit.edu/english/equipment.php>
 - Figura 46: camera bianca con flusso turbolento (sinistra) e a flusso unidirezionale verticale (destra)
http://it.wikipedia.org/wiki/Laboratorio_pulito

Lista delle tabelle

- Tabella 2.1.3.1: riassunto delle principali caratteristiche dei micromanipolatori cellulari trovati in letteratura →
M. Mehdi S. Mousavi, Giorgio De Pasquale, Aurelio Somà, Eugenio Brusa – “*A Novel SU-8 Microgripper with External Actuator for Biological Cells Manipulation*” – proc. of DTIP – Aix-en-Provence, Francia – 2011
- Tabella 2.2.1: proprietà meccaniche e termiche dell’SU-8 →
<http://www.microchem.com/pdf/SU-8-table-of-properties.pdf>
- Tabella 3.1.1: proprietà fisiche dell’oro →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Tabella 3.2.1: parametri geometrici della lamina in oro e del substrato in SU-8 →
Iamoni Sonia, Somà Aurelio – “*Design of an electro-thermally actuated microgripper*” – Springer – 2013
- Tabella 4.1: parametri utilizzati nello studio analitico hertziano →
Hamid Ladjal, Jean-Luc Hanus, Anand Pillarisetti, Carol Keefer, Antoine Ferreira, Jaydev P. Desai – “*Atomic Force Microscopy-Based Single-Cell Indentation: Experimentation and Finite Element Simulation*” – IEEE/RSJ (International Conference on Intelligent Robots and Systems) – 2009 – DOI : 10.1109/IROS.2009.5354351
- Tabella 5.1.1: fasi di realizzazione del micromanipolatore →
centro di ricerca IMT (National Institute for Research and Development in Microtechnologies) – Bucharest (Romania)

Appendice

[A]

Le cellule [6s, 7s, 16b] sono la più piccola forma di vita e le unità funzionali e strutturali di tutti gli esseri viventi. Il corpo umano contiene migliaia di miliardi di cellule organizzate in più di 200 tipi principali. In ogni istante, ogni cellula svolge centinaia di azioni. Alcuni di questi compiti sono così essenziali per la vita che vengono svolti da tutte le cellule; altri sono svolti solo dalle cellule specializzate in questo particolare compito (ad esempio le cellule epiteliali, le cellule ossee, le cellule del fegato, le cellule cerebrali). Le cellule producono anche sostanze essenziali per l'organismo quali il sudore, la saliva, gli enzimi, gli ormoni e gli anticorpi.

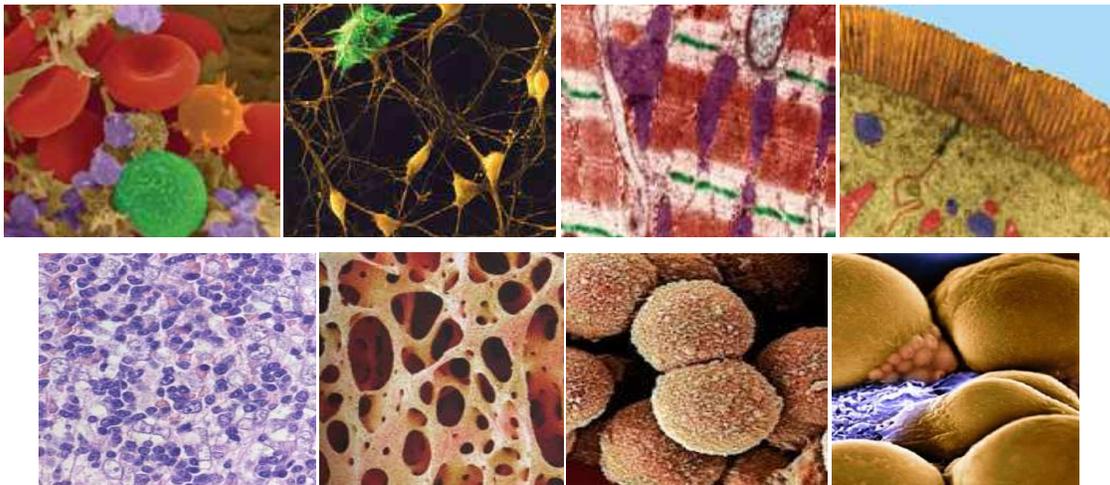


Figura 4: esempi di cellule altamente specializzate (da sinistra a destra e dall'alto verso il basso: cellule del sangue, cellule cerebrali, cellule cardiache, cellule dell'intestino tenue, cellule epiteliali, cellule ossee, cellule epatiche, cellule del grasso)

Cellula animale

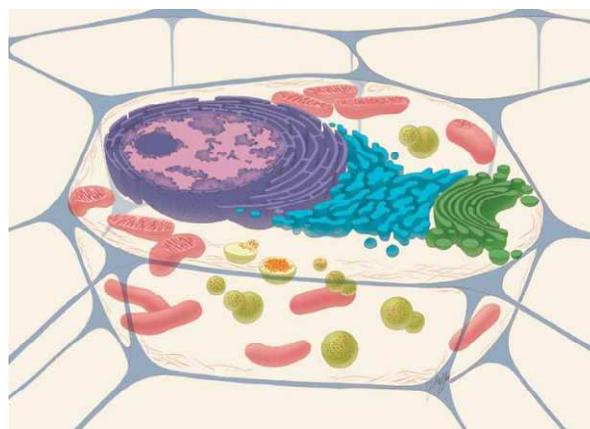


Figura 5: una tipica cellula animale (sezionata per vedere gli organuli interni)

NUCLEO

Il nucleo è fondamentalmente il cervello della cellula. È l'organulo più importante e può occupare fino al 10% dello spazio interno di una cella. Esso contiene l'equivalente della materia grigia della cellula (il suo materiale genetico) chiamato *DNA*. Nella forma di geni, ciascuno con una serie di molecole di supporto, il DNA determina l'identità della cellula ed è il "ricettario" ufficiale delle proteine del corpo (*sintesi proteica*).

Il nucleo è circondato da due membrane flessibili (*membrana nucleare*). I pori nucleari consentono il passaggio dei messaggi chimici attraverso il nucleo. L'insieme degli organuli cellulari immersi in una matrice fluida costituita da sali, nutrienti e proteine (*citosaol*) prende il nome di *citoplasma*.

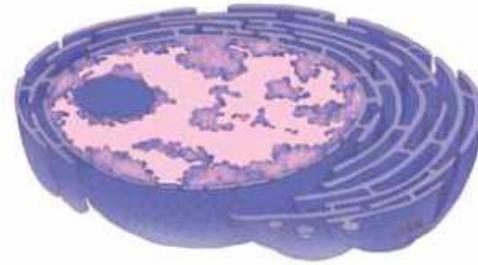


Figura 6: nucleo della cellula

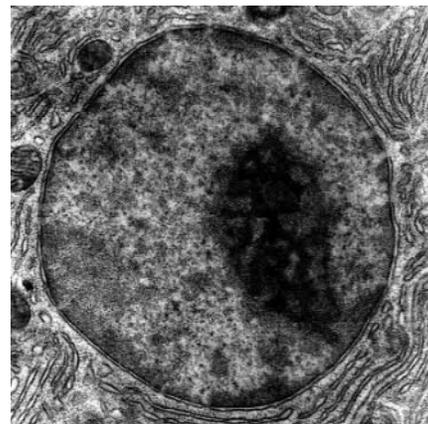


Figura 7: fotografia del nucleo della cellula

MEMBRANA CELLULARE

Ogni cellula è contenuta all'interno di una membrana avente particolari aperture, canali e pompe che consentono l'ingresso o l'uscita di molecole selezionate. La membrana cellulare è costituita da un insieme di proteine e di lipidi; i lipidi conferiscono alla membrana flessibilità mentre le proteine trasmettono messaggi chimici e mantengono la stabilità chimica della cellula. Al di fuori della membrana cellulare, ci sono catene di molecole di zucchero che aiutano ogni singola cellula a svolgere le sue funzioni. Il *colesterolo*, che non è presente nelle cellule vegetali, è un tipo di grasso che aiuta ad irrigidire la membrana cellulare.

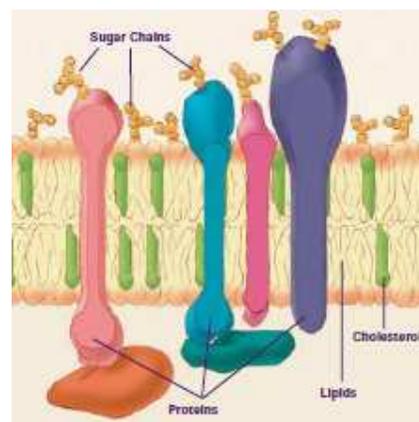


Figura 8: membrana cellulare

RETICOLO ENDOPLASMATICO

Il reticolo endoplasmatico costituisce il 10% del volume totale di una cellula. Il reticolo endoplasmatico *ruvido* è coperto da asperità chiamate *ribosomi* il cui compito è quello di assemblare le proteine della cellula. Il reticolo endoplasmatico *liscio* non ha ribosomi e presenta una forma e una funzione diverse da quelle del reticolo endoplasmatico ruvido: è specializzato nella sintesi dei lipidi e contiene enzimi che eliminano le sostanze pericolose. Molte cellule hanno un reticolo endoplasmatico liscio molto piccolo, ma, ad esempio, le cellule epatiche che neutralizzano le tossine ne contengono molto. Le proteine prodotte dai ribosomi che si muovono liberamente nel citosol rimangono nel citosol; quelle prodotte dai ribosomi del reticolo endoplasmatico ruvido vanno in altri organuli o sono mandate al di fuori delle cellule per avere altre funzioni nel corpo. Alcune proteine che abbandonano la cellula (chiamate *proteine secrete*) sono gli anticorpi, l'insulina, gli enzimi della digestione e molti ormoni.

APPARATO DEL GOLGI

Il complesso del Golgi riceve le proteine e i lipidi prodotti dal reticolo endoplasmatico, apporta su di essi le modifiche finali e li manda alla loro destinazione finale. Uno dei luoghi in cui queste molecole possono andare sono i lisosomi; qui vengono divisi nei loro componenti di base che la cellula ricicla come

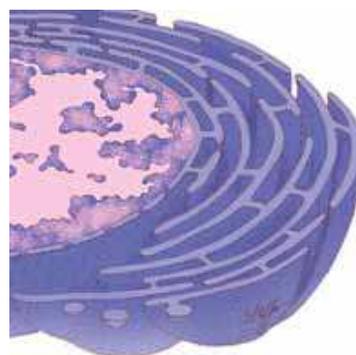


Figura 9: reticolo endoplasmatico ruvido



Figura 10: fotografia del reticolo endoplasmatico ruvido

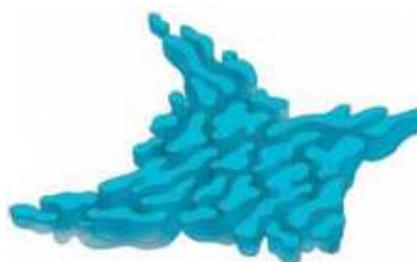


Figura 11: reticolo endoplasmatico liscio



Figura 12: apparato del Golgi

nutrienti o blocchi strutturali. I lisosomi eliminano anche i prodotti di scarto inutili per la cellula.

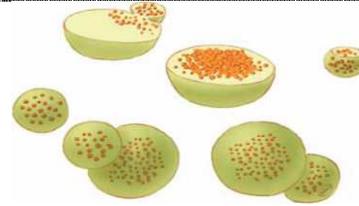


Figura 13: lisosomi

MITOCONDRI

La fonte principale di energia nel corpo umano è una piccola molecola chiamata *ATP* (*adenosina trifosfato*) che è prodotta da organuli chiamati *mitocondri*. I mitocondri convertono l'energia dal cibo in ATP; come tutti gli altri organuli, i mitocondri sono racchiusi in una membrana esterna, ma hanno anche una membrana interna quattro o cinque volte più grande. Lo spazio labirintico all'interno dei mitocondri è riempito da centinaia di enzimi, dal DNA (i mitocondri sono gli unici organuli ad avere il proprio materiale genetico), da speciali ribosomi mitocondriali e da altre molecole necessarie per attivare i geni mitocondriali.



Figura 14: mitocondri

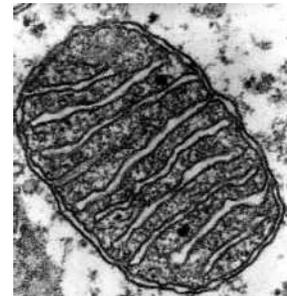


Figura 15: fotografia dei mitocondri

CITOSCHELETRO

Il citoscheletro dà la forma alle nostre cellule, la forza e la capacità di muoversi.

Il citoscheletro è incredibilmente versatile; è costituito da tre tipi di fibre che costantemente si restringono e crescono per soddisfare le esigenze della cellula: *microtubuli*, *filamenti intermedi* e *filamenti di actina*. Ogni tipo di fibra funziona diversamente; i microtubuli sono composti da una proteina chiamata tubulina e sono i "solleventi pesanti" del citoscheletro, i filamenti intermedi sono insoliti

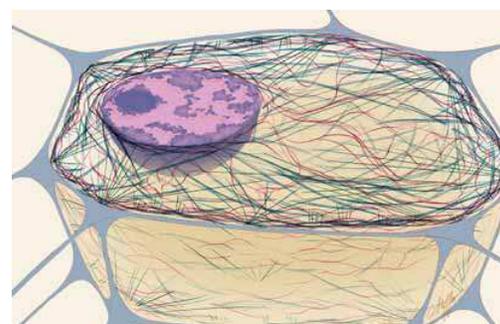


Figura 16: citoscheletro

perché variano notevolmente a seconda della loro posizione e della loro funzione nel corpo e sono costituiti da proteine diverse, i filamenti di actina sono costituiti da due catene della proteina actina intrecciate tra loro e, sebbene siano le fibre più fragili del citoscheletro, sono anche le più versatili in termini di forme che possono assumere (fasci, reti nastriformi) e si accorciano o si allungano per consentire alle cellule di muoversi e cambiare forma. Insieme alla proteina chiamata *miosina*, i filamenti di actina rendono possibili le contrazioni muscolari.

Cellula vegetale

Le piante sono gli unici esseri viventi *eucarioti* in grado di autofabbricarsi il nutrimento; la *clorofilla*, che conferisce alle piante il colore verde, consente alle piante di utilizzare la luce solare per convertire l'acqua e l'anidride carbonica in glucosio e ossigeno (*fotosintesi clorofilliana*: $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{Energia} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$).

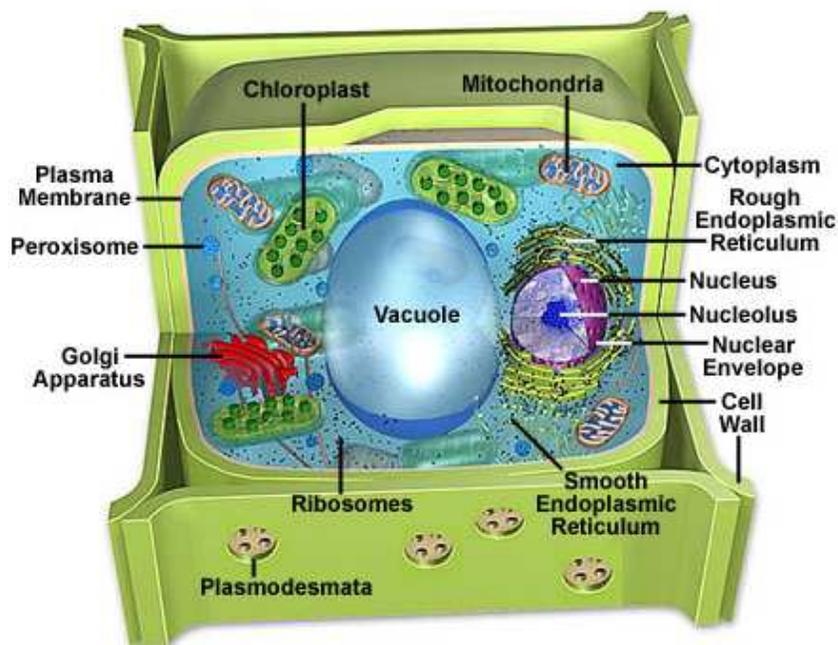


Figura 17: anatomia di una cellula vegetale

Le piante possono essere suddivise in due macro-categorie: *vascolari* e *non vascolari*. Le piante vascolari sono le più avanzate in quanto possiedono speciali tessuti coinvolti nel supporto strutturale della pianta, nel trasporto dei liquidi e del nutrimento al suo interno; queste piante hanno radici, rami e foglie. Le piante non vascolari non presentano un adeguato supporto strutturale e dipendono molto dalle condizioni ambientali; vivono principalmente in luoghi ombrosi e umidi.

Segue un elenco relativo alle parti principali di una cellula vegetale:

Parete cellulare	La parete cellulare circonda la membrana plasmatica e svolge numerose funzioni quali la protezione della cellula e la regolazione del ciclo di vita di una pianta.
Cloroplasti	I cloroplasti sono la sede della fotosintesi clorofilliana.
Reticolo endoplasmatico	Il reticolo endoplasmatico è una rete di sacche che producono, processano e trasportano i composti chimici che vengono usati all'interno e all'esterno della cellula. È collegato alla parete nucleare e unisce il nucleo con il citoplasma.
Apparato del Golgi	L'apparato del Golgi è il laboratorio chimico della cellula; modifica le proteine e i grassi prodotti nel reticolo endoplasmatico e li prepara per fuoriuscire dalla cellula.
Mitocondri	I mitocondri sono organuli dalla forma allungata che nelle cellule vegetali spaccano le molecole di carboidrati per fornire energia specie quando non c'è luce.
Nucleo	Il nucleo contiene il materiale genetico della cellula (DNA) e coordina le attività della cellula (crescita, metabolismo, sintesi proteica, divisione cellulare).
Perossisomi	I perossisomi sono microcorpi che si trovano nel citoplasma, aventi una forma approssimativamente sferica e vincolati da una sola membrana.
Plasmodesmi	I plasmodesmi sono piccoli tubi che collegano tra loro le cellule vegetali attraverso le pareti cellulari.
Membrana plasmatica	Tutte le cellule hanno una membrana plasmatica che racchiude il loro contenuto. Nelle piante questa membrana è lo strato interno di protezione circondato da una rigida parete cellulare e consente l'ingresso e l'uscita delle molecole attraverso le cellule.

Ribosomi	I ribosomi contengono RNA (60%) e proteine (40%).
Vacuoli	Ogni pianta ha un singolo vacuolo che immagazzina i composti, consente la crescita della pianta e il suo sostegno.

Breve descrizione delle principali cellule del corpo umano

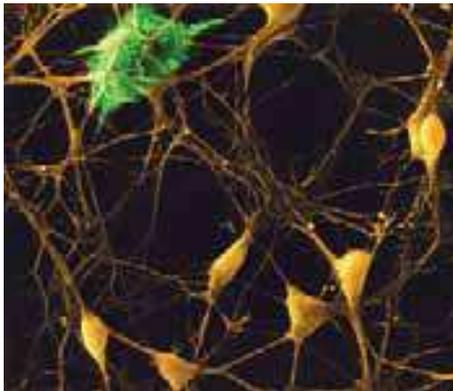


Figura 18: cellule cerebrali

Il tessuto cerebrale degli animali è costituito da due tipi di cellule, i *neuroni* (noti anche come cellule nervose) e le *cellule gliali*, che forniscono il supporto strutturale e metabolico per i neuroni. I vasi sanguigni che alimentano il cervello e le membrane che lo circondano (*dura mater* e *pia mater*), contengono altri tipi di cellule, ma queste non sono normalmente considerate parti del cervello. Le cellule cerebrali sono anche nel midollo spinale e nei nervi e trasmettono e processano gli impulsi nervosi ovvero i segnali elettrici ad alta velocità che coordinano le attività del corpo permettendoci di sentire, pensare e muoverci.

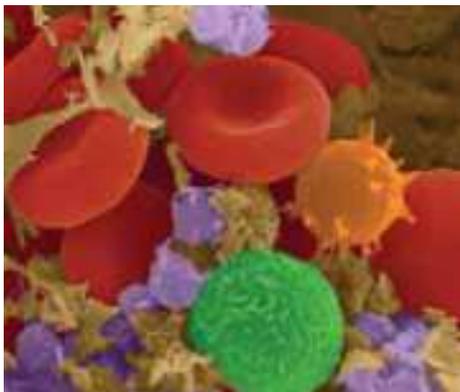


Figura 19: cellule del sangue

Le cellule del sangue (*emociti*) sono prodotte mediante il processo di *emopoiesi*; nei mammiferi la parte corpuscolata del sangue (45% del volume totale del sangue) si divide in tre categorie:

- globuli rossi (*eritrociti*) che trasportano ossigeno e anidride carbonica mediante emoglobina;
- globuli bianchi (*leucociti*) che appartengono al sistema immunitario coinvolto nella difesa del corpo dalle sostanze infettive;
- piastrine (*trombociti*) che formano coaguli di sangue rilasciando fibre filiformi (*emostasi*).

Il restante 55% del volume del sangue è composto dal *plasma* (componente liquida).

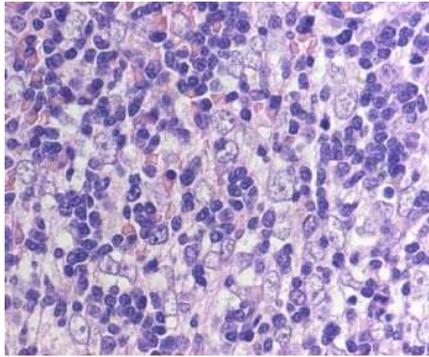


Figura 20: cellule epiteliali

Le cellule epiteliali formano una barriera protettiva che impedisce ai germi e alle sostanze chimiche nocive di raggiungere i tessuti all'interno; ricoprono il corpo, formando lo strato esterno della pelle, e organi cavi come lo stomaco, i polmoni e la vescica.

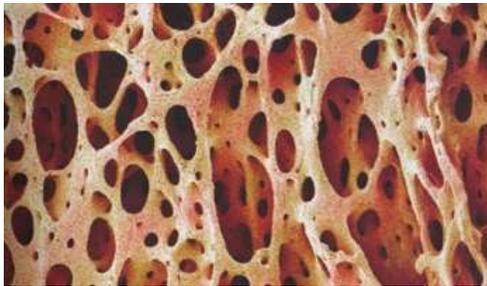


Figura 21: cellule ossee

Le cellule ossee, note anche come *osteociti*, aiutano a mantenere le ossa in buone condizioni. Dopo aver costruito l'osso, rimangono chiuse nelle sue cavità interne, comunicano tra loro attraverso sottili filamenti e ricevono nutrimento dai vasi sanguigni.



Figura 22: cellule del fegato

Note anche come *epatociti*, consentono al fegato di svolgere funzioni diverse e, per esempio, controllano la composizione del sangue e la stabilità del corpo, raccolgono il cibo e rimuovono le sostanze tossiche.

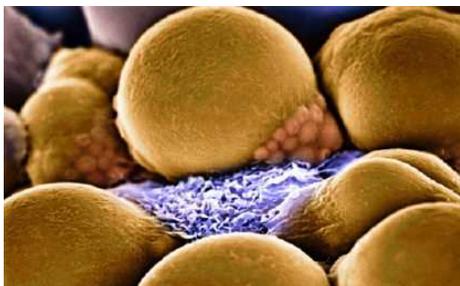


Figura 23: cellule del grasso

Queste cellule sono altamente specializzate nell'immagazzinare il grasso; si raggruppano per dare vita al tessuto adiposo (che funge da riserva di energia e agisce come strato di protezione per alcuni organi, quali i reni) e formano uno strato isolante sotto la pelle.

[B]

La reologia [17b] è la scienza che studia gli equilibri raggiunti nella materia che fluisce o si deforma per effetto di uno stato di sollecitazione. Le sue basi furono poste da E.C. Bingham nel 1928, con l'obiettivo di conferire rigore scientifico allo studio delle proprietà meccaniche dei materiali (sia naturali, sia di produzione industriale) e di formulare adeguati modelli analitici in grado di descrivere il comportamento di tali materiali nelle più svariate condizioni di sollecitazione e di conseguente deformazione. La reologia cellulare è conseguentemente l'analisi delle proprietà meccaniche delle cellule sottoposte a sollecitazioni esterne.

In medicina una delle più diffuse analisi reologiche prende il nome di *emoreologia* e consiste nella determinazione delle caratteristiche del sangue considerato come un fluido omogeneo quando scorre attraverso le grandi arterie, le vene e il cuore; nel caso sia di grandi sia di piccoli vasi, tuttavia, le proprietà reologiche del sangue dipendono dalle proprietà viscoelastiche delle singole cellule in esso contenute (principalmente globuli rossi, globuli bianchi e piastrine), così come dalle proprietà del plasma.

Nel caso delle grandi arterie e delle vene, la viscosità del sangue è principalmente dipendente dalla viscosità del plasma e dalla concentrazione e dalle proprietà dei globuli rossi, essendo il volume dei leucociti e delle piastrine così piccolo da far sì che essi abbiano poca influenza sulla viscosità totale. Il plasma è costituito per circa il 90% di acqua e può essere considerato un fluido newtoniano, cioè con viscosità indipendente dalla velocità di scorrimento. La viscosità apparente del flusso sanguigno nella microcircolazione risulta ancora più influenzata dalla natura stessa del sangue. In tal caso giocano un ruolo importante l'*ematocrito* (concentrazione volumetrica dei globuli rossi), che nei capillari risulta inferiore rispetto alle grandi vene e alle arterie, la turbolenza del flusso, la deformabilità dei globuli rossi e l'influenza dei leucociti che, in questo caso, è necessario prendere in considerazione (anche se i globuli bianchi sono in numero molto minore dei rossi, tuttavia essi sono molto più rigidi e possono rallentare il movimento di intere file di globuli rossi).

L'emoreologia ha importanti applicazioni anche dal punto di vista diagnostico: l'alterazione di parametri reologici (per esempio aumenti o diminuzioni di viscosità, variazioni dell'ematocrito, variazioni nell'aggregazione dei globuli rossi, ecc.) può condurre a una diminuzione del flusso sanguigno e di conseguenza a un minore apporto nutritivo dei tessuti.

[C]

AFM (*Atomic Force Microscopy*): una punta all'estremità libera di una trave a sbalzo genera una deformazione locale sulla superficie della cellula. L'inflessione della trave può essere calibrata per stimare il valore della forza applicata.

[D]

MTC (*Magnetic Twisting Cytometry*): particelle magnetiche, sottoposte ad un campo magnetico esterno, ruotano sulla cellula deformandone localmente la superficie.

[E]

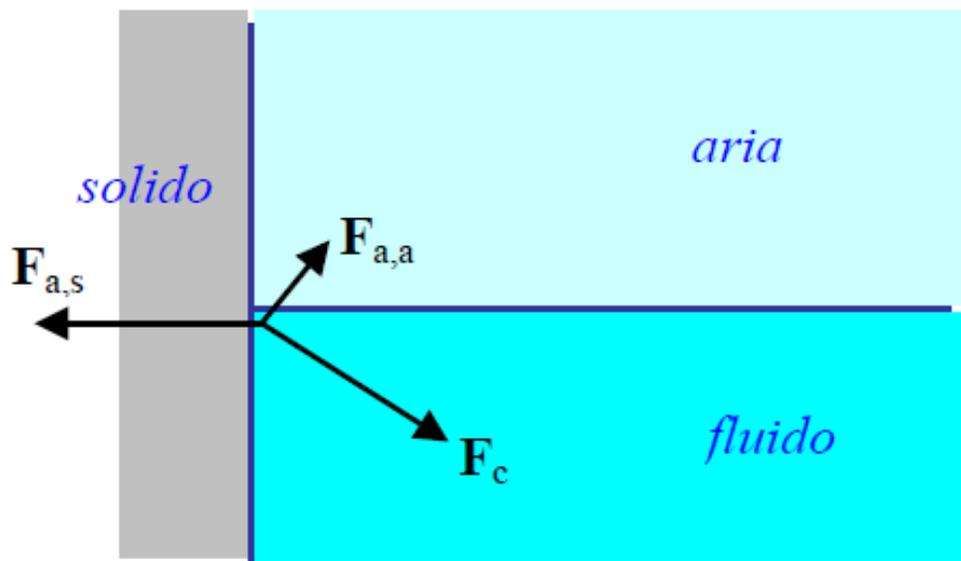


Figura 24: forze di adesione e di coesione scambiate tra sostanze diverse

La risultante delle forze di interazione molecolare [13s] su una molecola è spesso denominata *forza di coesione* (se si sviluppa fra molecole identiche) o *forza di adesione* (se si sviluppa fra molecole diverse).

La condizione di equilibrio di un fluido in presenza di più sostanze è determinata dalla reciproca intensità delle forze di adesione e coesione.

Osservando la Figura 24 si nota che le molecole di un liquido in vicinanza della parete sentono la forza di coesione del fluido (F_c) diretta verso l'interno del fluido, la forza di adesione liquido-gas ($F_{a,a}$) diretta verso l'interno del gas e la forza di adesione liquido-solido ($F_{a,s}$) diretta verso l'interno del solido. La $F_{a,a}$ è così debole da poter essere trascurata; le restanti due forze, vista la loro direzione e il loro verso, non possono avere risultante nulla e all'equilibrio la superficie libera del fluido deve essere ortogonale alla risultante delle forze agenti.

Si possono avere due casi: il liquido si innalza sulla parete oppure il liquido si allontana dalla parete (v. Figura 25). L'incurvamento della superficie è osservabile solo in prossimità delle pareti e, in tubi di piccole dimensioni trasversali (i cosiddetti *tubi capillari*), dà luogo al fenomeno della *capillarità*: il livello della superficie libera del fluido nel capillare è diverso da quello nel resto del recipiente.

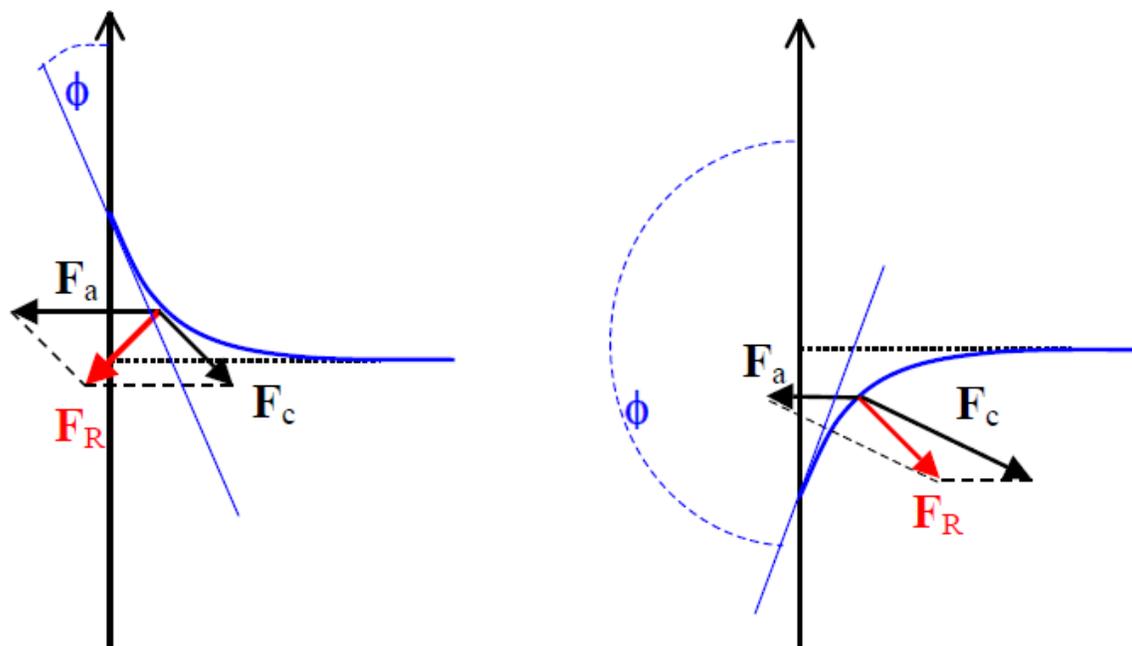


Figura 25: fenomeni di risalita capillare (a sinistra: innalzamento del liquido lungo la parete (es. acqua-vetro); a destra: allontanamento del liquido dalla parete (es. acqua-teflon))

[F]

L'elettroerosione [14s] è una tecnologia di lavorazione che utilizza le capacità erosive delle scariche elettriche. È utilizzabile solo su buoni conduttori (essenzialmente i metalli). Le macchine utensili realizzate per eseguire questo tipo di lavorazione vengono chiamate “macchine per elettroerosione” o in inglese *EDM (Electro Discharge Machining)*.

L'elettroerosione si divide in *elettroerosione a tuffo (EDM)* e in *elettroerosione a filo (WEDM)* e lavora sulla capacità termomeccanica delle scariche elettriche di erodere i materiali. L'elettroerosione a tuffo ha come scopo principale la lavorazione del pezzo facendogli assumere una forma complementare rispetto all'elettrodo. Il suo ciclo di lavorazione consiste in due fasi:

- creazione di un elettrodo di forma “negativa” rispetto alla forma della lavorazione che si vuole ottenere;
- elettroerosione del pezzo con l'elettrodo precedentemente creato, ottenendo così in “positivo” la forma voluta.

Nell'elettroerosione a filo (v. Figura 26), un filo conduttore teso è usato come elettrodo per tagliare o profilare il pezzo da lavorare. Il filo (immagazzinato in una bobina) viene cambiato di continuo durante la lavorazione, in quanto, essendo sottoposto all'usura delle scariche e allo stress di dilatazione, finirebbe per spezzarsi spesso, interrompendo la lavorazione stessa.

Per poter eseguire una lavorazione utile, è necessario ridurre l'usura al minimo; per fare ciò, oltre al controllo dei parametri elettrici, è necessario partire da una corretta scelta del materiale dell'elettrodo. Per la lavorazione “a tuffo” bisogna cercare un materiale che resista alle scariche, sia facilmente lavorabile e abbia costi contenuti. L'esperienza ha portato alla diffusione di due tipi di materiale: la grafite e il rame; la grafite resiste bene alle scariche (grazie al suo alto punto di fusione intorno ai 3500 °C), è relativamente facile da lavorare e costa poco, ma, durante la lavorazione di parti sottili (es. alette, nervature), tende a scheggiarsi, gli spigoli tendono ad arrotondarsi, le scariche tendono a rovinarne la superficie, impedendo di realizzare superfici ben finite (cioè con bassa rugosità), viene generato un pulviscolo che, se non viene opportunamente schermato e abbattuto, può insinuarsi negli organi in movimento della macchina utensile (in genere le guide) e causarne il rapido deterioramento.

Anche il rame resiste abbastanza bene alle scariche (la sua alta conducibilità termica tende a dissipare il calore delle scariche), si può lavorare molto facilmente (permettendo di realizzare particolari estremamente fini) e le scariche rovinano poco la sua superficie, permettendo lavorazioni particolarmente rifinite (in qualche caso sino alla lucidatura). Il rame però non resiste altrettanto bene con alte correnti di scarica (tipiche della lavorazione di sgrossatura) ed è un materiale costoso.

È quindi preferibile, quando possibile, realizzare due elettrodi: un elettrodo di grafite per le lavorazioni di “sgrossatura” e un elettrodo in rame per la lavorazione di “finitura”.

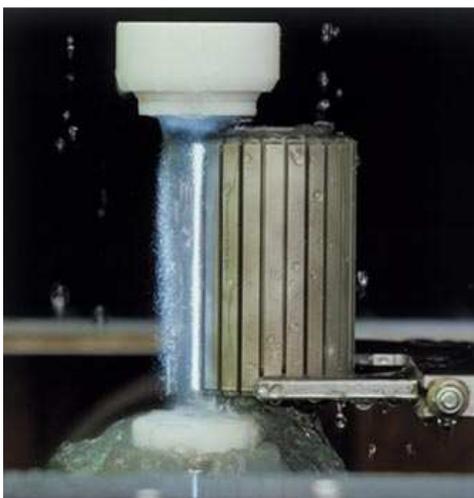


Figura 26: elettroerosione a filo

[G]

Il principio di funzionamento delle termocoppie è noto come *effetto Seebeck*; un filo metallico avente due temperature differenti alle sue estremità è soggetto ad una forza elettromotrice nota come *Seebeck electromotive force (emf)*. Questo fenomeno avviene se il materiale non è tutto alla stessa temperatura e non necessita di avere un circuito chiuso.

Una termocoppia (v. Figura 27) è costituita da due fili metallici (A e B) collegati ad un estremo avente una certa T_1 (*hot junction*) e aventi all'altro estremo una stessa temperatura T_2 (*cold junction*). La tensione (E_{AB}) che si va a misurare sul giunto freddo agli estremi dei due fili è strettamente correlata con la differenza di temperatura tra i due giunti: $E_{AB} = (\sigma_A - \sigma_B) \cdot (T_1 - T_2)$.

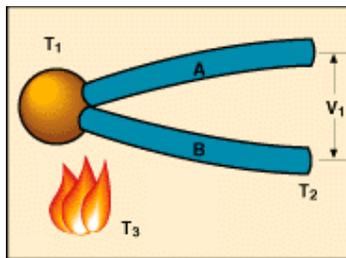


Figura 27: effetto Seebeck in una termocoppia

Da questa formula si capisce che se i rami A e B fossero costituiti dallo stesso metallo, i due coefficienti di Seebeck (σ_A e σ_B) sarebbero uguali e quindi la differenza di potenziale ai capi dei due fili sarebbe nulla (*legge dei metalli omogenei*); per questo motivo la termocoppia è costituita da due differenti metalli.

[H]

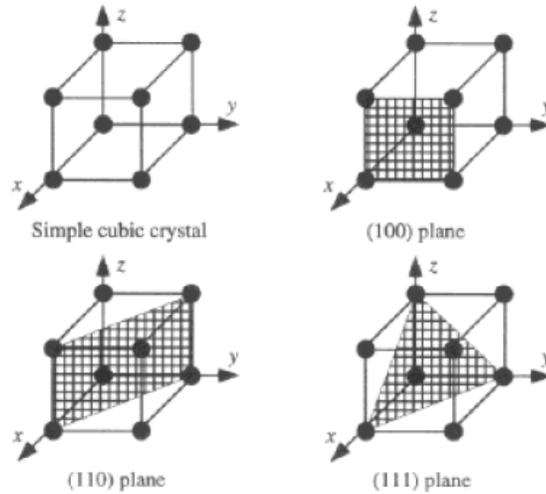


Figura 28: piani cristallini individuati in un reticolo atomico cubico

La Figura 28 [12b] mostra i possibili piani cristallini individuati in un reticolo atomico cubico. La posizione dei piani cristallografici nello spazio [18b] viene indicata mediante gli *indici di Miller*, tre numeri del tipo (hkl) ; h , k , ed l sono rispettivamente i reciproci dei punti di intersezione del piano con l'asse x , con l'asse y e con l'asse z . Se un piano cristallografico è parallelo ad un asse, il punto di intersezione è all'infinito e il corrispondente indice è quindi nullo. Il piano cristallino (100) interseca solo l'asse x , il piano cristallino (110) interseca sia l'asse x che l'asse y , mentre il piano cristallino (111) interseca tutti e tre gli assi.

La Figura 29 mostra una cella cristallina completa di silicio; tutti gli atomi sono uguali e collegati ai quattro vicini mediante legami tetraedrici. In una superficie (111) di silicio ogni atomo è legato a tre atomi al di sotto della superficie, lasciando solo un legame potenzialmente “a penzolini” sulla superficie libera; al contrario gli atomi sulle superfici (110) e (100) sono legati solo a due atomi al di sotto della superficie e hanno due legami potenzialmente liberi. Una superficie (111) ha la più alta densità di atomi per unità di area.

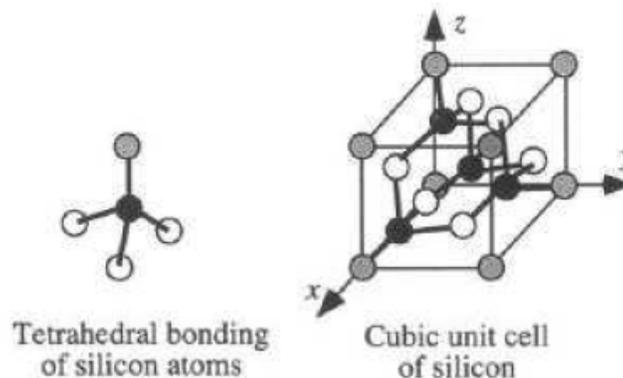


Figura 29: legami tetraedrici tra gli atomi di silicio in una cella cristallina

[I] [16s]

[J]

Tra le principali tecnologie MEMS [12b, 19b, 17s] si ricordano:

- la *fotolitografia*:

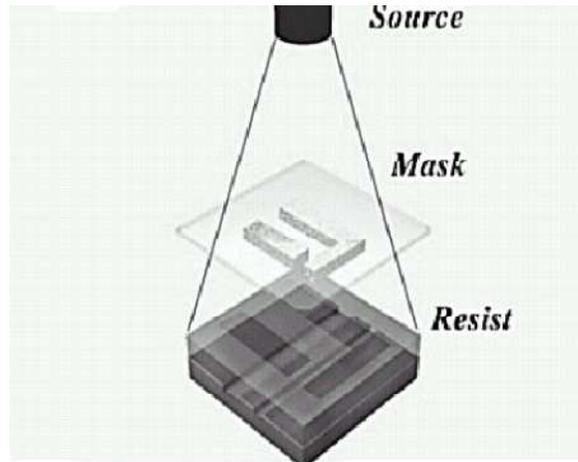


Figura 30: fotolitografia



Figura 31: struttura di una maschera utilizzata nella fotolitografia

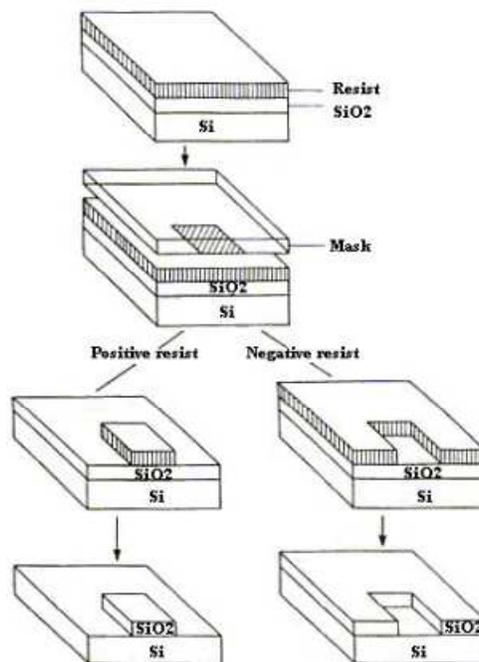


Figura 32: fotolitografia eseguita su resist avente polarità positiva e negativa

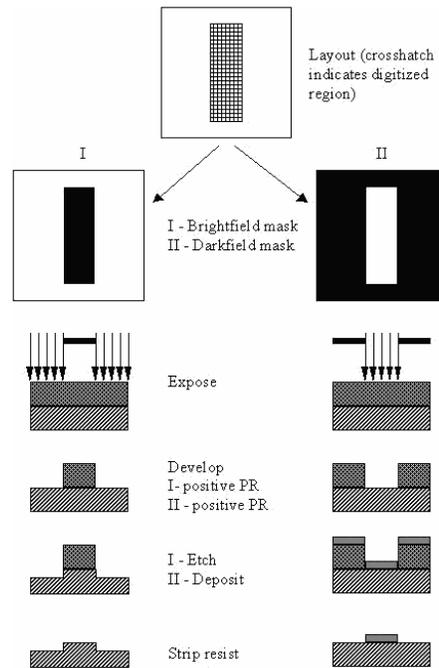


Figura 33: fotolitografia eseguita su resist positivo con maschere di diversa polarità

Si tratta di un processo (denominato anche *litografia ottica*) in cui una sorgente luminosa, attraverso una maschera in quarzo e cromo (v. Figura 31), colpisce uno strato di materiale fotosensibile (*photo resist*) avente polarità positiva o negativa. Osservando la Figura 32 si nota che il resist positivo viene rimosso dalla luce, mentre il resist negativo polimerizza al contatto con la luce e si indurisce portando alla rimozione della porzione di materiale coperta dalla parte di maschera che impedisce il passaggio della fonte luminosa.

Anche la maschera utilizzata in questo processo ha una polarità (v. Figura 33) e, più precisamente, può essere a sfondo chiaro (*lightfield*) o a sfondo scuro (*darkfield*); diversa è quindi la zona della maschera che è interessata dal passaggio della luce.

- *l'etching*:

consente la rimozione di porzioni di materiale dalla micro-struttura in fase di lavorazione. Può avvenire a secco (*dry etching*) o mediante l'utilizzo di acidi (*wet etching*). Gli acidi in grado di rimuovere il silicio sono l'idrossido di potassio (KOH), l'acido $\text{HNO}_3:\text{HF}:\text{CH}_3\text{COOH}$ (acido nitrico-fluoridrico-acetico), l'acido EDP (etilendiammina pirocatechina) e l'acido TMAH (idrossido tetrametilammonio); gli acidi in grado di rimuovere l'ossido di silicio (SiO_2) sono l'acido fluoridrico (HF) e una sostanza denominata BOE (Buffered Oxide Etch) che è una soluzione commerciale a base di acido fluoridrico e di fluoruro di ammonio.

- il metodo *LIGA*:

questo processo (acronimo tedesco di Lithographie, Galvanoformung, Abformung) consente di ottenere stampi metallici utilizzati, ad esempio, nello stampaggio di polimeri.

- la tecnica *bulk micromachining*:

utilizzata per ottenere la terza dimensione nelle micro-strutture mediante il *bulk-etching*.

- la tecnica *surface micromachining*:

utilizzata per lavorare microstrutture mediante deposizione ed etching di strati differenti a partire da un substrato. Il silicio policristallino è utilizzato come materiale di base, mentre l'ossido di silicio è usato come strato sacrificale che viene rimosso per creare vuoti nello spessore del pezzo.

- deposizione superficiale di film sottili:

le principali tecniche sono quella *PVD (Physical Vapor Deposition)* che prevede la deposizione fisica (mediante *evaporazione* o mediante *sputtering*) di atomi sulla superficie da ricoprire (*target*), quella *CVD (Chemical Vapor Deposition)* che prevede la deposizione chimica attraverso la decomposizione di precursori che contengono il materiale che deve essere depositato e l'*elettrodeposizione*.

- la tecnica *lift-off*:

è un metodo necessario per creare strutture (*patterning*) a partire da un substrato utilizzando uno strato sacrificale (v. Figura 34) depositato su di esso.

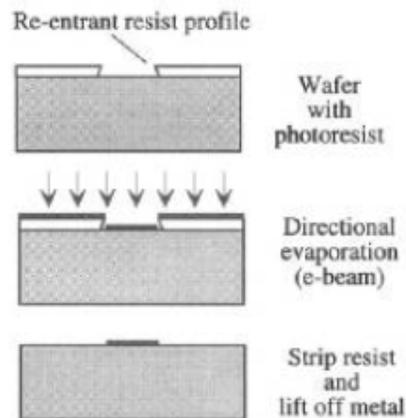


Figura 34: tecnica lift-off

[K] Trave a sbalzo con carico concentrato in mezzeria

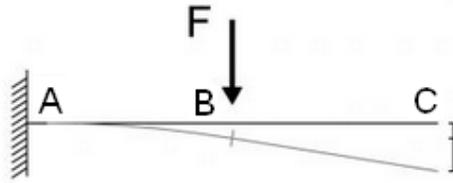


Figura 35: trave a sbalzo con carico concentrato in mezzeria

In una trave a sbalzo, applicando un carico concentrato in un punto generico “B” avente una distanza dall’incastro minore della lunghezza (L) dell’intera struttura, la porzione di trave compresa tra l’incastro (A) e il punto di applicazione del carico si inflette mentre la restante parte non si deforma e rimane rettilinea. Osservando la Figura 35 si nota che il carico è concentrato in mezzeria ($AB = L/2$) e che la massima inflessione (u_{max}) della trave si ha in corrispondenza dell’estremo “C”:

$$u_{max} = u_C = u_B + \varphi_B \cdot L/2 = \frac{5 \cdot F \cdot L^3}{48 \cdot E \cdot I}$$

dove:

$u_B = \frac{F \cdot L^3}{24 \cdot E \cdot I}$ = inflessione della trave in corrispondenza del punto di applicazione del carico (mezzeria) calcolata mediante il metodo della *linea elastica*;

$\varphi_B = \frac{F \cdot L^2}{8 \cdot E \cdot I}$ = rotazione della trave in corrispondenza del punto di applicazione del carico (mezzeria) calcolata mediante il metodo della *linea elastica*;

E = modulo elastico longitudinale relativo al materiale della trave (SU-8 nel caso in esame);

I = momento d’inerzia della sezione trasversale della trave (calcolato rispetto all’asse attorno a cui si verifica l’inflessione della trave);

F = carico concentrato pari, nel caso esaminato, al peso proprio della trave.

[L] Simulazione FEM per il calcolo della freccia di inflessione dovuta al peso proprio della micro-
struttura

! Geometrical parameters [um]

b = 20 ! width of the three upper arms

c = 1000 ! related to the length of the gripper

d = 30 ! distance between the two upper arms

h = 20 ! related to the width of the springs

j = 20 ! related to the angle of the springs

l1 = 400 ! distance of the left spring from the origin of the reference system

l2 = 200 ! distance between two adjacent springs

thk = 20 ! thickness of the device

meshsize = 10

! SU-8 properties

E = 2e3 ! Young modulus [MPa]

nu = 0.22 ! Poisson coefficient

alfa = 52e-6 ! thermal expansion [1/°C]

con = 0.3e6 !thermal conductivity [pW/(um*K)]

ro = 1190e-18 ! mass density [kg/(um)^3]

Ta = 20 ! cold arm temperature [°C]

Tb = 80 ! hot arm temperature [°C]

/PREP7

! ET definition

et,1,SOLID98,0 ! thermal element type

! Structural/thermal material properties

mp,EX,1,E

mp,nuxy,1,nu

mp,alpx,1,alfa

mp,KXX,1,con

mp,dens,1,ro

! Solid model creation

rectng,b+b,c,b,2*b

rectng,b+b,c,-2*b,-b

rectng,b+b+b,c,2*b+d,2*b+d+b

$\text{rectng}, b+b+b, c, -2*b-d-b, -2*b-d$
 $\text{rectng}, l1+j, c, -b/2, b/2$
 $k, 1001, l1, b$
 $k, 1002, l1+h, b$
 $k, 1003, l1+h+j, b/2$
 $k, 1004, l1+j, b/2$
 $k, 1005, l1+l2, b$
 $k, 1006, l1+h+l2, b$
 $k, 1007, l1+h+j+l2, b/2$
 $k, 1008, l1+j+l2, b/2$
 $k, 1009, l1+2*l2, b$
 $k, 1010, l1+h+2*l2, b$
 $k, 1011, l1+h+j+2*l2, b/2$
 $k, 1012, l1+j+2*l2, b/2$
 $k, 1013, l1+j, -b/2$
 $k, 1014, l1+h+j, -b/2$
 $k, 1015, l1+h, -b$
 $k, 1016, l1, -b$
 $k, 1017, l1+j+l2, -b/2$
 $k, 1018, l1+h+j+l2, -b/2$
 $k, 1019, l1+h+l2, -b$
 $k, 1020, l1+l2, -b$
 $k, 1021, l1+j+2*l2, -b/2$
 $k, 1022, l1+h+j+2*l2, -b/2$
 $k, 1023, l1+h+2*l2, -b$
 $k, 1024, l1+2*l2, -b$
 $a, 1001, 1002, 1003, 1004$
 $a, 1005, 1006, 1007, 1008$
 $a, 1009, 1010, 1011, 1012$
 $a, 1013, 1014, 1015, 1016$
 $a, 1017, 1018, 1019, 1020$
 $a, 1021, 1022, 1023, 1024$
 $k, 1025, 2*b - ((2*b)**2 - (b/2)**2)**0.5, b/2$

k,1026,2*b,2*b
 k,1027,2*b,b
 k,1028,2*b-(b**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1029,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,b
 k,1030,2*b+((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1031,2*b+(b**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1032,2*b-((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1033,2*b,-2*b
 k,1034,2*b,-b
 k,1035,2*b-(b**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1036,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-b
 k,1037,2*b+((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1038,2*b+(b**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1039,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,2*b
 k,1040,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,2*b+d
 k,1041,2*b,2*b+d
 k,1042,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-2*b
 k,1043,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-2*b-d
 k,1044,2*b,-2*b-d
 k,1045,b+b,b+b+d
 k,1046,b+b+b,b+b+d+b
 k,1047,b+b+b,b+b+d
 k,1048,b+b,-(b+b+d)
 k,1049,b+b+b,-(b+b+d+b)
 k,1050,b+b+b,-(b+b+d)
 a,1026,1039,1040,1041
 a,1033,1042,1043,1044
 larc,1025,1026,1028,b+b
 larc,1028,1027,1031,b
 l,1025,1028
 l,1026,1027
 a,1025,1026,1027,1028
 larc,1032,1033,1035,b+b

```

larc,1034,1035,1038,b
l,1032,1035
l,1033,1034
a,1032,1033,1034,1035
larc,1029,1030,1031,b+b
larc,1027,1031,1028,b
l,1031,1030
a,1027,1029,1030,1031
larc,1036,1037,1038,b+b
larc,1038,1034,1035,b
l,1038,1037
a,1034,1036,1037,1038
larc,1045,1046,1039,b
larc,1048,1049,1042,b
a,1045,1046,1047
a,1048,1049,1050
aadd,all
nummerge,all
VEXT,all,,,,,thk
! Materials definition + meshing
mat,1
type,1
esize,meshsize
vmesh,1
! Structural constraints
nset,s,loc,x,999,c
d,all,ux,0
d,all,uy,0
d,all,uz,0
nset,all
! weight effect
acel,0,0,9.81*10**6
/SOLU

```

antype,static

solve

finish

/POST1

pldisp,2

plnsol,u,z

[M] Simulazione FEM relativa all'analisi elettro-termica-strutturale del microdispositivo

! Geometrical parameters [um]

b = 20 ! width of the three upper arms

c = 1000 ! related to the length of the gripper

d = 30 ! distance between the two upper arms

h = 20 ! related to the width of the springs

j = 20 ! related to the angle of the springs

l1 = 400 ! distance of the left spring from the origin of the reference system

l2 = 200 ! distance between two adjacent springs

thk = 20 ! thickness of the device

meshsize = 10

! SU-8 properties

E = 2e3 ! Young modulus [MPa]

nu = 0.22 ! Poisson coefficient

alfa = 52e-6 ! thermal expansion [1/°C]

con = 0.3e6 !thermal conductivity [pW/(um*K)]

ro = 1190e-18 ! mass density [kg/(um)^3]

Ta = 20 ! cold arm temperature [°C]

Tb1 = 26 ! hot arm temperature 1 [°C]

Tb2 = 81 ! hot arm temperature 2 [°C]

/PREP7

! ET definition

et,1,SOLID98,0 ! thermal element type

! Structural/thermal material properties

mp,EX,1,E

mp,nuxy,1,nu

mp,alpx,1,alfa

mp,KXX,1,con

mp,dens,1,ro

! Solid model creation

rectng,b+b,c,b,2*b

rectng,b+b,c,-2*b,-b

rectng,b+b+b,c,2*b+d,2*b+d+b

rectng,b+b+b,c,-2*b-d-b,-2*b-d

rectng,l1+j,c,-b/2,b/2

k,1001,l1,b

k,1002,l1+h,b

k,1003,l1+h+j,b/2

k,1004,l1+j,b/2

k,1005,l1+l2,b

k,1006,l1+h+l2,b

k,1007,l1+h+j+l2,b/2

k,1008,l1+j+l2,b/2

k,1009,l1+2*l2,b

k,1010,l1+h+2*l2,b

k,1011,l1+h+j+2*l2,b/2

k,1012,l1+j+2*l2,b/2

k,1013,l1+j,-b/2

k,1014,l1+h+j,-b/2

k,1015,l1+h,-b

k,1016,l1,-b

k,1017,l1+j+l2,-b/2

k,1018,l1+h+j+l2,-b/2

k,1019,l1+h+l2,-b

k,1020,l1+l2,-b

k,1021,l1+j+2*l2,-b/2

k,1022,l1+h+j+2*l2,-b/2

k,1023,l1+h+2*l2,-b

k,1024,l1+2*l2,-b

a,1001,1002,1003,1004

a,1005,1006,1007,1008

a,1009,1010,1011,1012

a,1013,1014,1015,1016

a,1017,1018,1019,1020

a,1021,1022,1023,1024

k,1025,2*b-((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,b/2

k,1026,2*b,2*b
 k,1027,2*b,b
 k,1028,2*b-(b**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1029,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,b
 k,1030,2*b+((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1031,2*b+(b**2-(b/2)**2)**0.5,b/2
 k,1032,2*b-((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1033,2*b,-2*b
 k,1034,2*b,-b
 k,1035,2*b-(b**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1036,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-b
 k,1037,2*b+((2*b)**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1038,2*b+(b**2-(b/2)**2)**0.5,-b/2
 k,1039,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,2*b
 k,1040,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,2*b+d
 k,1041,2*b,2*b+d
 k,1042,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-2*b
 k,1043,2*b+((2*b)**2-b**2)**0.5,-2*b-d
 k,1044,2*b,-2*b-d
 k,1045,b+b,b+b+d
 k,1046,b+b+b,b+b+d+b
 k,1047,b+b+b,b+b+d
 k,1048,b+b,-(b+b+d)
 k,1049,b+b+b,-(b+b+d+b)
 k,1050,b+b+b,-(b+b+d)
 a,1026,1039,1040,1041
 a,1033,1042,1043,1044
 larc,1025,1026,1028,b+b
 larc,1028,1027,1031,b
 l,1025,1028
 l,1026,1027
 a,1025,1026,1027,1028
 larc,1032,1033,1035,b+b

```

larc,1034,1035,1038,b
l,1032,1035
l,1033,1034
a,1032,1033,1034,1035
larc,1029,1030,1031,b+b
larc,1027,1031,1028,b
l,1031,1030
a,1027,1029,1030,1031
larc,1036,1037,1038,b+b
larc,1038,1034,1035,b
l,1038,1037
a,1034,1036,1037,1038
larc,1045,1046,1039,b
larc,1048,1049,1042,b
a,1045,1046,1047
a,1048,1049,1050
aadd,all
nummerge,all
VEXT,all,,,,,thk
! Materials definition + meshing
mat,1
type,1
esize,meshsize
vmesh,1
! Structural constraints
nset,s,loc,x,999,c
d,all,ux,0
d,all,uy,0
d,all,uz,0
nset,all
! Thermal constraints
nset,s,loc,x,l1+j,c
nset,r,loc,y,-b/2,b/2

```


[N]

La microscopia ottica [8s, 9s, 10s] è una tecnica di osservazione capace di produrre immagini ingrandite di oggetti o di particolari di essi troppo piccoli per essere osservati ad occhio nudo. Per vedere un oggetto distintamente è necessario che sulla retina (delicato strato di fibre nervose) dell'occhio umano si formi un'immagine nitida, trasferita attraverso il nervo ottico al cervello. Il cristallino ha le proprietà di una lente convergente in grado di modificare la sua forma e quindi la sua distanza focale (intervallo di spazio in cui è possibile la messa a fuoco); la sua elasticità consente all'occhio normale di "accomodarsi" per una visione distinta per tutte le distanze comprese tra $d_{\min} = 250$ mm (distanza della visione distinta più vicina all'occhio o punto prossimo) e l'infinito (punto remoto). Quando si vuole esaminare un piccolo oggetto nei suoi dettagli, lo si avvicina il più possibile agli occhi, affinché l'angolo di osservazione sia il più piccolo possibile e l'immagine retinica la più grande possibile, ma la minima distanza alla quale l'occhio può adattarsi per una visione distinta è quella del punto prossimo. Per ovviare a questo inconveniente si fa ricorso al microscopio ottico che può essere *semplice* o *composto*.

Il microscopio semplice è una lente convergente posta tra l'occhio e l'oggetto da osservare in modo che quest'ultimo si trovi in posizione intermedia tra il primo piano focale e la lente stessa. In tali condizioni la lente fornisce un'immagine virtuale dritta e ingrandita dell'oggetto, anche se questo si trova ad una distanza dall'occhio inferiore al punto prossimo. Il massimo ingrandimento ottenibile con una singola lente è di 8-10 volte (8x-10x). Ingrandimenti maggiori si possono raggiungere invece grazie al microscopio composto, un sistema di due lenti convergenti dette, rispettivamente, *obiettivo* e *oculare*. L'oggetto da osservare viene posto davanti all'obiettivo che ne fornisce un'immagine reale, capovolta e ingrandita; questa immagine viene fatta cadere davanti all'oculare ad una distanza opportuna, che ne dà un'altra, virtuale, ingrandita e orientata nello stesso verso.

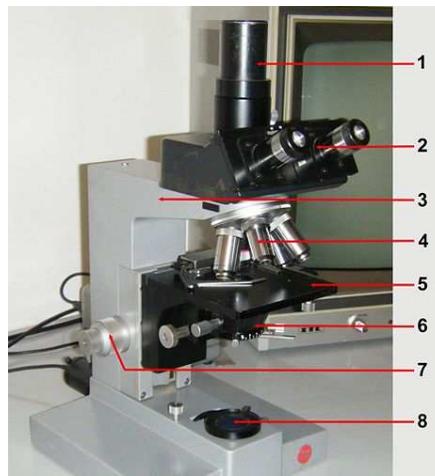


Figura 36: modello base di microscopio ottico composto (1: tubo verticale per la fotografia; 2: oculare; 3: stativo; 4: revolver porta-obiettivi; 5: tavolino porta-oggetti; 6: condensatore; 7: manopole di messa a fuoco; 8: sorgente di luce)

Il nostro occhio riesce a percepire come separati due punti se distano almeno 0.2 mm (limite di risoluzione dell'occhio umano); il potere di risoluzione (R) del microscopio ottico è limitato dalla lunghezza d'onda della luce (λ).

$R = \lambda/2$ ($0.4 \mu\text{m} \leq \lambda \leq 0.8 \mu\text{m}$) $\rightarrow R_{\min} = 0.4/2 = 0.2 \mu\text{m} \rightarrow$ un organello intracellulare di dimensioni inferiori al μm può essere solo intravisto senza poterne comprendere i dettagli.

Il microscopio ottico ha quindi un limite di risoluzione (0.2 μm) mille volte (1000x) superiore a quello del nostro occhio (0.2 mm) e ci consente di riconoscere la forma delle cellule e di individuarne alcuni dettagli (ad esempio il nucleo). È possibile costruire un microscopio ottico da 2000 ingrandimenti o molto di più, ma i risultati non sarebbero migliori di quelli di un microscopio ottico da 1000x in quanto il suo limite reale è dato dal suo potere di risoluzione (R).

[O]

Il potere di risoluzione del microscopio elettronico [10s, 11s, 12s], che non utilizza la luce visibile, ma un fascio di elettroni, è determinato dalla lunghezza d'onda degli elettroni stessi. Gli attuali microscopi elettronici hanno un potere di risoluzione dell'ordine del nm e quindi un ingrandimento utile di centinaia di migliaia di volte.

Il *microscopio elettronico a scansione*, comunemente indicato con l'acronimo *SEM* (*Scanning Electron Microscope*), sfrutta come sorgente di radiazioni un fascio di elettroni primari focalizzati che colpiscono il campione e che sono accelerati dalla differenza di potenziale presente tra l'anodo e il catodo dello strumento; il fascio primario non è fisso, ma viene fatto scandire: viene cioè pilotato in sequenza, punto dopo punto, riga dopo riga, su una piccola zona rettangolare del campione. Nell'interazione tra il fascio primario e gli atomi costituenti il campione, vengono emesse numerose particelle, fra le quali gli elettroni secondari. Questi elettroni sono catturati da uno speciale rivelatore e convertiti in impulsi elettrici che vengono inviati in tempo reale ad uno schermo (un monitor) dove viene eseguita simultaneamente una scansione analogica.

Il risultato è un'immagine in bianco e nero ad elevata risoluzione e grande profondità di campo, che ha caratteristiche simili a quelle di una normale immagine fotografica. Per questa ragione le immagini SEM sono immediatamente intelligibili ed intuitive da comprendere. Il potere di risoluzione di un normale microscopio elettronico SEM a catodo di tungsteno si aggira intorno ai 5 nm, ma alcuni modelli arrivano a 1 nm. Il campione è sotto alto vuoto (10^{-5} Torr), poiché l'aria impedirebbe la produzione del fascio (data la bassa energia degli elettroni), e deve essere conduttivo (oppure metallizzato), altrimenti produce cariche elettrostatiche che disturbano la rivelazione dei secondari.

Con il SEM a pressione variabile (low vacuum) si riescono ad analizzare anche campioni biologici non metallizzati o isolanti. Con il cosiddetto “Environmental SEM” si possono controllare e modificare i valori di pressione, di temperatura e di umidità; questo rende possibile analizzare anche campioni estremamente delicati con un alto grado di idratazione o addirittura liquidi.

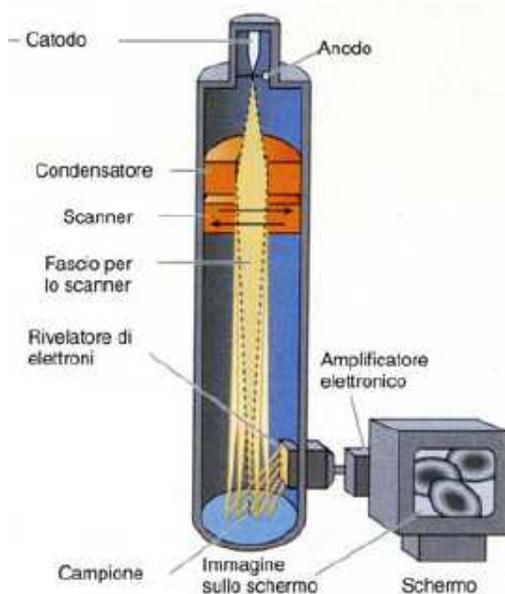


Figura 37: schematizzazione di un microscopio elettronico a scansione

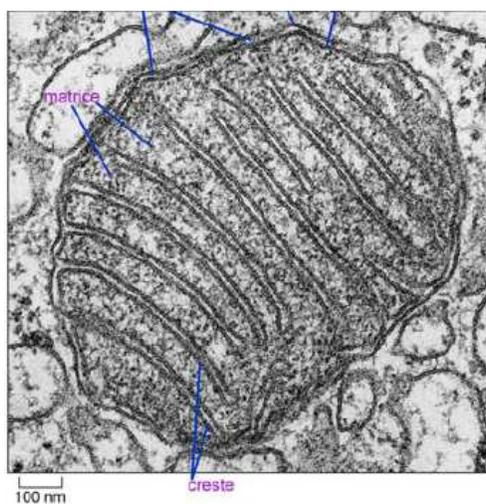


Figura 38: dettaglio al microscopio elettronico di un mitocondrio

In un *microscopio elettronico a trasmissione*, comunemente indicato con l'acronimo *TEM* (*Transmission Electron Microscope*), gli elettroni che costituiscono il fascio attraversano una sezione dove è stato creato precedentemente il vuoto per poi passare completamente attraverso il campione. Quest'ultimo deve quindi avere uno spessore estremamente ridotto, compreso tra 50 e 500 nm. Il potere di risoluzione di questo microscopio è di circa 0.2 nm. Il campione consiste

in sezioni molto sottili appoggiate al di sopra di un piccolo dischetto in rame o nichel (avente un diametro di pochi millimetri) fenestrato di solito a rete (“retino”) in modo che la sezione possa essere osservata tra le sue maglie senza interposizione di vetro (a differenza di quello che avviene nel microscopio ottico) che non sarebbe attraversato dagli elettroni in quanto non possono attraversare materiali spessi. Il fascio di elettroni colpisce uno schermo fluorescente (sensibile agli stessi) proiettando su di esso un’immagine reale e fortemente ingrandita della porzione di campione precedentemente attraversata. Questo microscopio fornisce le immagini in bianco e nero, però molte volte si trovano immagini ottenute dallo stesso che sono state successivamente elaborate e migliorate digitalmente.

[P]

Il ponte di Wheatstone [185] è un dispositivo elettrico inventato per la misura precisa del valore di una resistenza elettrica. È costituito (v. Figura 39) da un generatore di tensione che alimenta due rami resistivi posti in parallelo: il primo è composto da un resistore campione (R_1) in serie a una cassetta di resistori (R_2 : resistenza variabile tramite opportune manopole) di elevata precisione; il secondo ramo è invece composto da un resistore campione (R_3) in serie alla resistenza incognita (R_x).

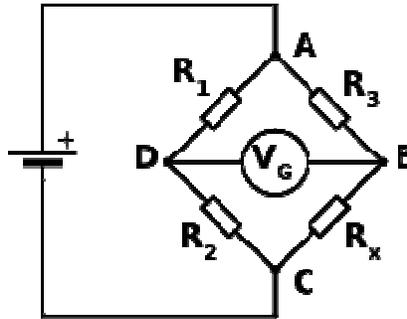


Figura 39: schema elettrico di un ponte di Wheatstone

Mettendo un galvanometro tra i due resistori del primo ramo e i due del secondo ramo e alimentando il circuito, si nota che il galvanometro segnala il passaggio di una corrente elettrica; variando il valore della cassetta di resistenze fino a quando il galvanometro non indica più il passaggio di una corrente (condizione di equilibrio), il valore di resistenza elettrica del resistore incognito è calcolabile con una semplice formula matematica in quanto il prodotto delle resistenze di due lati opposti uguaglia il prodotto delle altre due:

$$R_x = R_2 \cdot R_3 / R_1.$$

[Q]

Le cellule staminali embrionali di topo (mESCs) sono cellule staminali [20b, 20s, 21s] pluripotenti derivate dalla massa cellulare interna della blastocisti. Le proprietà che distinguono le cellule staminali embrionali sono: la pluripotenza, la capacità di auto-rinnovamento in determinate condizioni, la capacità di differenziarsi in tutti i foglietti germinativi (ectoderma, endoderma, mesoderma) generando ogni tipo di cellula del corpo (dall'ectoderma derivano ad esempio il tessuto nervoso, l'epidermide e gli organi di senso).

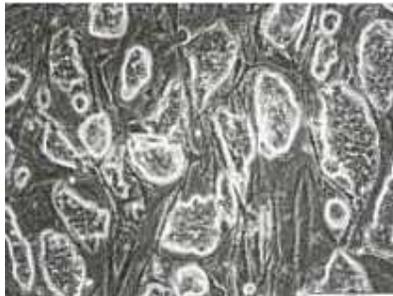


Figura 40: morfologia di una colonia di mESC

Queste cellule hanno un diametro compreso tra i 12 μm e i 15 μm , un grande nucleo, poco citoplasma e formano colonie aventi una struttura tondeggiante (v. Figura 40). La Figura 41 mostra gli stadi dello sviluppo di una cellula mESC:

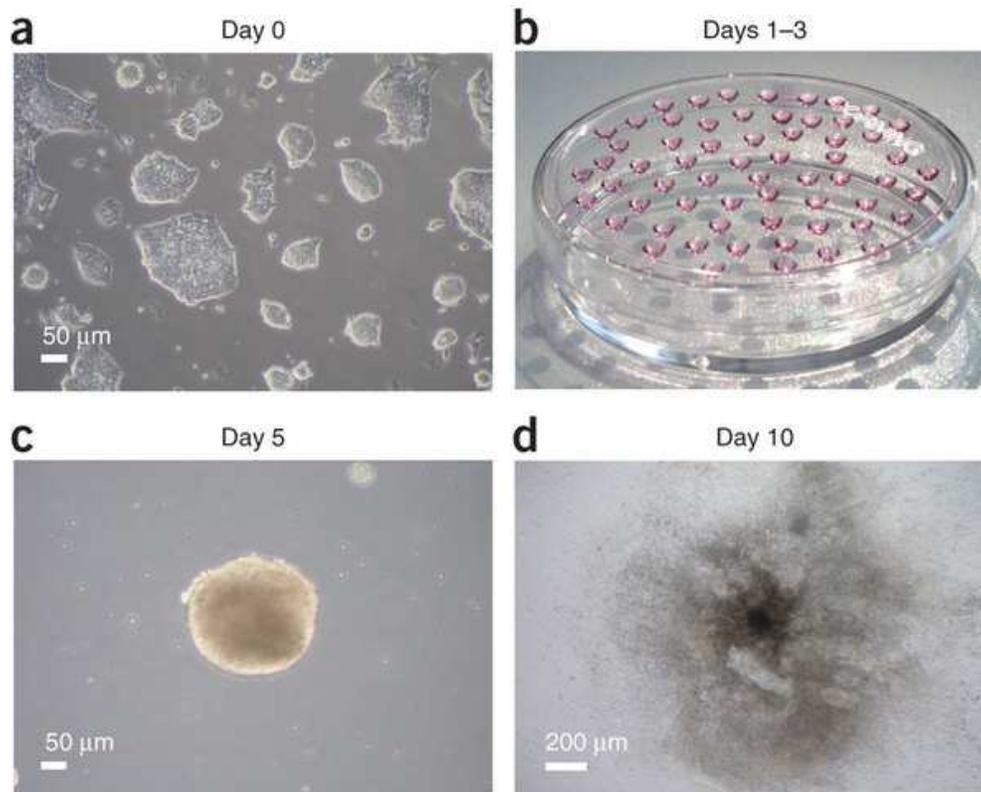


Figura 41: stadi di sviluppo di una cellula mESC

Si tratta di una colonia di cellule mESC indifferenziate sottoposte ad un processo di differenziazione mediante una cultura a goccia (*hanging drop culture*); le singole cellule vengono posizionate mediante una pipetta sul coperchio di un piatto di coltura cellulare e si aggregano per effetto della forza gravitazionale dando vita al corpo embrioide.

[R]

F. Karas, utilizzando diverse ipotesi di rottura, ha scoperto che la tensione ideale massima è inferiore alla massima tensione di contatto sulla superficie; per questo motivo è necessario introdurre un coefficiente correttivo (minore dell'unità) nella formula della pressione di contatto nel modello hertziano; questo coefficiente dipende dalla forma della superficie di contatto.

[S]

La *resistenza elettrica* [23s] è una grandezza fisica scalare che misura la tendenza di un conduttore ad opporsi al passaggio di una corrente elettrica quando è sottoposto ad una tensione. Questa opposizione dipende dal materiale con cui è realizzato, dalle sue dimensioni e dalla sua temperatura. Uno degli effetti del passaggio di corrente in un conduttore è il suo riscaldamento (*effetto Joule*).

La resistenza elettrica (R_e) è data da:

$$R_e = V/I$$

dove:

V = tensione a cui è sottoposto il componente (differenza di potenziale ai capi del componente);

I = corrente che attraversa il componente.

Nel sistema internazionale l'unità di misura della resistenza elettrica è l'ohm (Ω).

È bene precisare che la relazione sopra riportata non esprime la *legge di Ohm*, ma è semplicemente la definizione di resistenza. La legge di Ohm, invece, si riferisce a una relazione lineare fra corrente e tensione per alcune classi di conduttori per i quali il rapporto tra tensione e corrente è costante indipendentemente dalla tensione applicata. Per queste classi di conduttori, allora, la definizione di resistenza diventa anche la prima legge di Ohm.

Non esistono materiali a resistenza nulla (perfetti conduttori) o infinita (perfetti isolanti), tali rispettivamente da permettere un passaggio di corrente senza dissipare parte della potenza in calore o tali da impedire il passaggio di qualsiasi corrente elettrica.

La resistenza elettrica di un filo è direttamente proporzionale alla sua lunghezza (L) ed inversamente proporzionale alla sua sezione (S):

$$R_e = \rho \cdot L/S$$

ρ è la *resistività elettrica* (detta anche *resistenza elettrica specifica*) del materiale, ovvero la misura della capacità del materiale di opporsi al fluire in esso della corrente elettrica (indipendentemente dalle sue dimensioni e dalla sua forma).

La resistività elettrica di un metallo conduttore dipende linearmente dalla temperatura e il suo valore di riferimento (ρ_{20}) si ha a 20 °C.

Il dimensionamento di un cavo [24s] in regime variabile va fatto con oculatezza. Se viene presa come riferimento la corrente più elevata, si ottiene un funzionamento sicuro del cavo, ma nello stesso tempo si ha anche un suo scarso sfruttamento; se la scelta viene fatta prendendo come riferimento una corrente intermedia fra quella più alta e quella più bassa, il cavo viene maggiormente sfruttato ma c'è il rischio che funzioni in condizioni non sicure ovvero a temperature

più elevate di quella massima consentita. L'analisi del comportamento termico di un cavo elettrico è quindi fondamentale.

Quando un cavo è percorso da corrente si riscalda. A causa delle perdite per effetto Joule che in esso si verificano, la sua temperatura aumenta salendo dal valore iniziale (pari alla temperatura ambiente se il cavo è rimasto inattivo per un tempo sufficientemente lungo) a quello finale (corrispondente alla temperatura a regime).

Il *comportamento termico* di un cavo in fase di *riscaldamento* può essere analizzato prendendo in considerazione il bilancio energetico fra il calore prodotto dal passaggio della corrente (W_p), il calore immagazzinato nel cavo (W_i) e il calore ceduto all'ambiente circostante (W_c).

In maniera analoga si può analizzare il comportamento termico di un cavo in fase di *raffreddamento* nelle condizioni in cui, dopo aver raggiunto una certa temperatura di regime, la corrente si annulla; in queste condizioni è nulla la quantità di calore prodotta (W_p).

[T]

Il fenomeno fisico della conduzione termica [27s] può avvenire nello spessore di un tubo (cilindro cavo) all'interno del quale scorre un fluido a temperatura diversa dall'ambiente esterno (ad esempio acqua calda in un impianto di riscaldamento, aria in un canale a sezione circolare di un impianto di climatizzazione). Se il tubo è sufficientemente lungo tanto da trascurare gli effetti di bordo e delimitato da due superfici isoterme a temperature differenti, si può ipotizzare che lo scambio termico avvenga solo nella direzione radiale, quindi che sia monodimensionale; se inoltre le temperature interna ed esterna al tubo sono costanti nel tempo il fenomeno avviene in regime stazionario.

La Figura 42 mostra un tubo a sezione circolare avente raggio interno r_1 e raggio esterno r_2 (ovvero diametro interno D_1 e diametro esterno D_2), lunghezza L e conducibilità termica media k , delimitato da sue superfici isoterme a temperature rispettivamente pari a T_1 e T_2 .

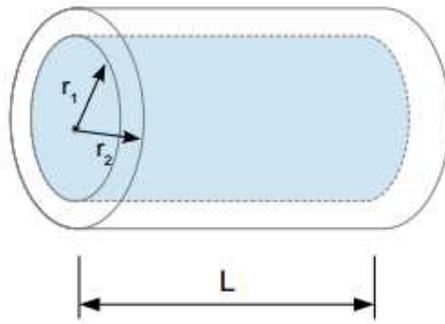


Figura 42: conduzione termica in una geometria cilindrica

In tale configurazione la temperatura all'interno dello spessore del tubo varia radialmente e la resistenza termica (R_t) risulta essere pari a:

$$R_t = \frac{\ln(r_2/r_1)}{2 \cdot \pi \cdot L \cdot k} = \frac{\ln(D_2/D_1)}{2 \cdot \pi \cdot L \cdot k}$$

I contatti in oro del micromanipolatore in esame sono stati modellati come fili conduttori in oro percorsi da corrente il cui diametro esterno (D) è stato ottenuto facendo l'ipotesi che i fili conduttori avessero la stessa massa di ciascun braccio in oro (m_g) e che il diametro interno del filo (d) fosse pari allo spessore della lamina in oro (thk_g); sulla base di questi parametri geometrici ipotizzati, è possibile fare una breve dimostrazione delle principali relazioni riportate nel capitolo 3:

- uguaglianza tra la massa della lamina in oro e quella del filo \rightarrow

$$m_g = d_g \cdot thk_g \cdot b_g \cdot L_g = d_g \cdot \pi \cdot \frac{D^2 - d^2}{4} \cdot L_g$$

d è trascurabile in quanto lo spessore della lamina in oro è molto minore delle altre sue dimensioni \rightarrow

$$d_g \cdot thk_g \cdot b_g \cdot L_g = d_g \cdot \Pi \cdot \frac{D^2}{4} \cdot L_g \rightarrow$$

$$D = \sqrt{\frac{4 \cdot thk_g \cdot b_g}{\Pi}}$$

- resistenza termica del filo conduttore (nell'ipotesi che $d = thk_g$) \rightarrow

$$R_t = \frac{\ln(D/thk)}{2 \cdot \Pi \cdot L_g \cdot k_g}$$

[U]

In Figura 43 è mostrato un sistema [25s, 26s] costituito da due corpi A e B posti rispettivamente alle temperature T_A e T_B (con $T_A < T_B$). I due corpi sono separati da una parete adiabatica e conseguentemente le loro temperature non cambiano.

Se la parete adiabatica viene rimossa o sostituita con una parete diatermica (v. Figura 44), dopo un determinato intervallo di tempo, i due corpi raggiungono la stessa temperatura grazie all'*equilibrio termico*.

Se due corpi a diversa temperatura vengono messi a contatto, il corpo più caldo cede calore al più freddo; il calore è l'energia scambiata dai due corpi a causa della loro diversa temperatura. L'equilibrio termico porta i due corpi ad assumere la stessa temperatura finale (*temperatura di equilibrio - T_m*) che dipende dalle loro temperature iniziali (T_A e T_B), dalle loro masse (m_A e m_B) e dai loro rispettivi calori specifici (c_A e c_B):

$$T_m = \frac{m_A \cdot c_A \cdot T_A + m_B \cdot c_B \cdot T_B}{m_A \cdot c_A + m_B \cdot c_B}$$

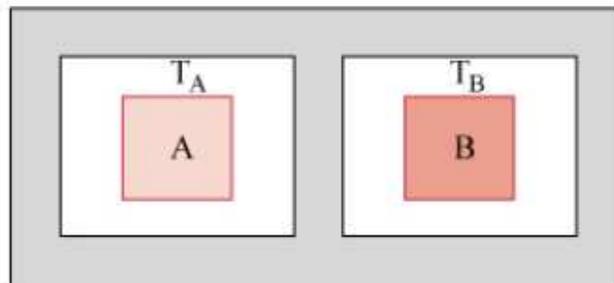


Figura 43: sistema di due corpi separati da una parete adiabatica

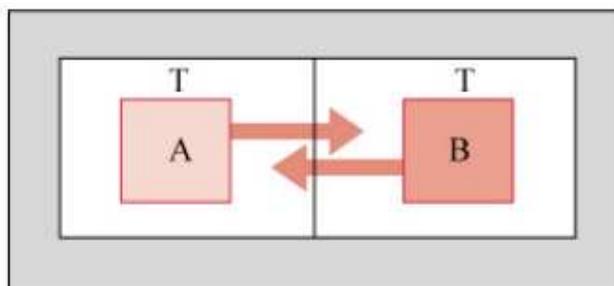


Figura 44: scambio termico tra due corpi a contatto

[V]

Il laboratorio pulito [28s] è un ambiente adibito a laboratorio chimico, meccanico e/o elettronico la cui caratteristica principale è la presenza di aria molto pura, cioè a bassissimo contenuto di microparticelle di polvere in sospensione; il termine corretto in italiano è camera bianca, sebbene quello inglese di “*clean room*” sia ampiamente utilizzato e diffuso a livello internazionale. Si tratta di una stanza ad atmosfera controllata (pressione atmosferica ed inquinamento particellare), da non confondere con la camera iperbarica (pressione controllata), con le camere sterili (microbiologicamente controllate) o con le camere anecoiche che schermano segnali elettromagnetici o sonori.

Una camera bianca è utilizzata nella produzione di microsistemi (v. Figura 45); la luce gialla è necessaria per la fotolitografia per prevenire l’ indesiderata esposizione del fotoresist alla luce avente una lunghezza d’ onda più corta.

La classificazione delle camere bianche si basa sul conteggio delle microparticelle da 0.5 μm in un volume definito di aria (in base alle normative UNI è un metro cubo). Questa classificazione viene rilasciata dal costruttore, una volta messa in funzione la camera, mediante un contatore particellare; per fare un paragone, in un ufficio normale si conterebbe qualche milione di particelle da 0.5 μm , in un locale pubblico sono presenti 4-5 milioni di particelle, in un’ acciaieria in produzione se ne potrebbero misurare quasi 10 milioni.



Figura 45: esempio di camera bianca

Il funzionamento di una camera bianca si basa sul principio di ricircolo forzato di aria super-filtrata in una stanza sigillata (v. Figura 46); il sistema che provvede a questo è costituito da grandi ventilatori operanti a bassa velocità che immettono nella stanza attraverso il soffitto un flusso laminare di aria precedentemente filtrata ed aspirata attraverso griglie poste sul pavimento.

La purezza dell'aria in questi locali è decisamente superiore a quella di una sala operatoria, conseguentemente le persone che vi lavorano devono indossare camici sterili, copriscarpe, cuffie e mascherine. Nelle camere in cui è richiesta una purezza dell'aria molto elevata o totale, l'accesso è consentito solo a personale adeguatamente addestrato.

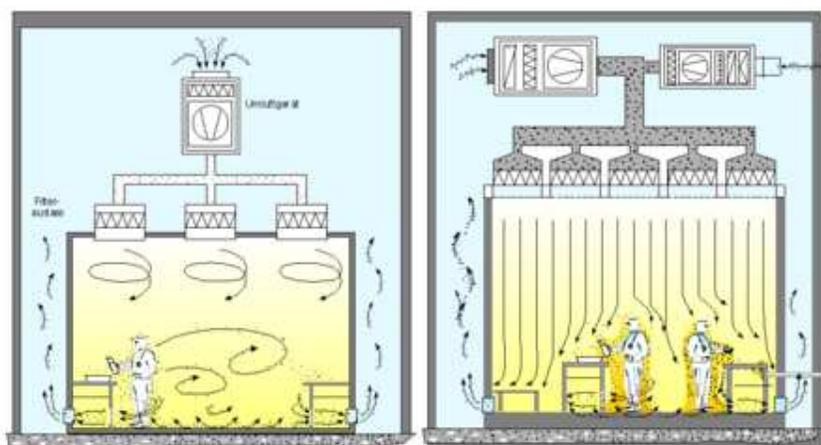


Figura 46: camera bianca con flusso turbolento (sinistra) e a flusso unidirezionale verticale (destra)

Il divertimento della ricerca scientifica è anche trovare sempre altre frontiere da superare, costruire mezzi più potenti d'indagine, teorie più complesse, cercare sempre di progredire pur sapendo che probabilmente ci si avvicinerà sempre di più a comprendere la realtà, senza arrivare mai a capirla completamente.

Margherita Hack

Nella ricerca scientifica né il grado di intelligenza né la capacità di eseguire e portare a termine il compito intrapreso sono fattori essenziali per la riuscita e per la soddisfazione personale. Nell'uno e nell'altro contano maggiormente la totale dedizione e il chiudere gli occhi davanti alle difficoltà.

Rita Levi-Montalcini

A chi ha creduto e a chi continua ancora a credere in me...

Torino, 06/03/2014

Sonia