

MARCIN WIŚNIEWSKI^{1)*}, ALINA SIONKOWSKA^{1)**}, HALINA KACZMAREK¹⁾,
SYLVAIN LAZARE²⁾, VLADIMIR TOKAREV²⁾

Wpływ promieniowania laserowego na cienkie błony kolagenowe

Cz. I. MECHANIZM TWORZENIA STRUKTURY „MIKROPIANKI” I ABLACJA POWIERZCHNI KOLAGENU

Streszczenie — Cienkie błony kolagenowe poddawano działaniu lasera ekscymerowego KrF ($\lambda = 248$ nm). Za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM) oraz mikroskopii sił atomowych (AFM) oceniono wpływ napromieniania na powierzchnię błony. Ubytki masy materiału w wyniku procesu ablacyjnego wyznaczono wykorzystując mikrowagę kwarcową (metodą QCM). Napromienianie laserowe suszonych błon kolagenowych (15 % pozostałości wody) wywołuje „spienienie” powierzchni już po zastosowaniu tylko jednego impulsu. Omówiono mechanizm tworzenia struktury „mikropianki” polegający na nukleacji pęcherzyków oraz ich wzroście, co jest możliwe w następstwie spadku ciśnienia aż do powstania naprężenia rozciągającego przekraczającego wytrzymałość błony kolagenowej. Zjawisko to jest powodowane przez dwubiegunową falę ciśnieniową tworzącą się w powierzchniowej sekwencji „przyspieszanie–opóźnianie” w kierunku działania wiązki promieniowania laserowego.

Słowa kluczowe: błony kolagenowe, promieniowanie laserowe, ablacja fotomechaniczna, struktura „mikropianki”.

INFLUENCE OF LASER IRRADIATION ON THE THIN COLLAGEN FILMS. PART I. MECHANISM OF “MICRO-FOAM” STRUCTURE FORMATION AND COLLAGEN SURFACE ABLATION

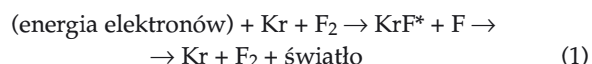
Summary — Thin collagen films were subjected to KrF excimer laser irradiation ($\lambda=248$ nm). The effect of irradiation on the film surface was evaluated using scanning electron microscopy (SEM) (Fig. 1–6) and atomic force microscopy (AFM) (Fig. 8, 9). Material weight loss, as a result of ablative process, was determined using quartz crystal microbalance (QCM method) (Table 1). Laser irradiation of dried collagen films (15 % of residual water) caused “foaming” of the surface just after use of one pulse. The mechanism of “micro-foam” formation based on the nucleation and growth of the bubbles, possible as a result of pressure drop causing tensile stress exceeding the strength of collagen film (Fig. 7), was discussed. This phenomenon is caused by bipolar pressure wave formed due to the surface “acceleration—deceleration” sequence towards the laser beam direction.

Key words: collagen films, laser irradiation, photomechanical ablation, structure of „micro-foam”.

TECHNIKI LASEROWE — ROZWÓJ I ZASTOSOWANIE

Termin „laser” wywodzi się od angielskiego sformułowania *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* określającego podstawowe zjawisko zachodzące w tych urządzeniach — wzmocnienie światła w wyniku wymuszonej emisji promieniowania. Lasery są urządzeniami służącymi zarówno do generacji, jak i wzmocnienia promieniowania elektromagnetycznego [1]. Istotną grupę stanowią lasery ekscymerowe, w których ośrodkiem aktywnym są cząsteczki stabilne wyłącznie w sta-

nach wzbudzonych. Noszą one nazwę ekscymerów (cząsteczka zawiera atomy takiego samego pierwiastka lub ekscypleksów (cząsteczka składa się z atomów różnych pierwiastków) [1]. Przykładem tego rodzaju laserów może być zastosowany w naszych badaniach laser ekscymerowy KrF. Reakcje zachodzące w jego komorze w atmosferze argonu przedstawia równanie (1):



Lasery ekscymerowe znalazły zastosowanie w wielu dziedzinach nauki i przemysłu, m.in. w medycynie oraz w procesach ablacji materiałów (ablacja od łac. *ablatio* = odjąć). Pierwsze doniesienia literaturowe dotyczące laserowej ablacji polimerów pojawiły się niemal równocześnie — w tym samym 1982 r. [2, 3]. Prawdopodobnie autorzy [3] jako pierwsi zastosowali terminy „ablacja la-

¹⁾ Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Chemii, ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń.

²⁾ Université de Bordeaux 1, Laboratoire de Physicochimie Moléculaire UMR 5803 du CNRS 351 cours de la Libération, F-33405 Talence, France.

^{*)} marcinw@chem.uni.torun.pl, ^{**)} as@chem.uni.torun.pl

serowa" i „fotodekompozycja ablacyjna" odnoszące się początkowo do procesu wyłącznie fotochemicznego polegającego na bezpośrednim rozrywaniu wiązań przez fotony światła nadfioletowego [4—7]. Odkrycie opisywanego procesu spowodowało dalsze intensywne badania prowadzone w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie [8].

Usuwanie materiału z powierzchni polimeru w wyniku ablacji wywołanej laserem możliwe jest od chwili, gdy energia promieniowania lasera (wyrażana jako ilość energii przypadająca na jednostkę powierzchni) osiąga tzw. wartość progową. Wartość ta, oznaczana w literaturze jako F_0 lub F_{thr} , zależy zarówno od rodzaju napromienianego materiału, jak i od zastosowanej długości fali; może zmieniać się ona w przedziale od kilkudziesięciu mJ/cm^2 do poziomu znacznie przekraczającego $1 \text{ J}/\text{cm}^2$.

Obecnie, ze względu na złożoność samego procesu ablacji i postępujące zaawansowanie technik eksperymentalnych, postuluje się kilka modeli opisujących powyższe zjawisko. Wśród nich należy wymienić model termiczny, fototermiczny, fotochemiczny oraz fotomechaniczny; modele te mogą funkcjonować odrębnie lub jako mechanizmy połączone [9—13].

Zainteresowanie wykorzystaniem impulsowego napromieniania laserowego w medycynie datuje się w istocie od chwili wynalezienia przez Maimana (1960) lasera rubinowego. Przewidywano, że lasery posłużą w opracowywanych technikach inwazyjnych do badania i leczenia tkanek biologicznych z niespotykaną dotychczas precyzją i selektywnością. Dopiero jednak na początku lat 80. zaczęto (w okulistyce) powszechnie używać laserów, a jeszcze później w innych specjalnościach medycznych, np. w dermatologii [9]. Przyczyną tak dużego opóźnienia był brak zrozumienia podstawowych mechanizmów rządzących oddziaływaniami laser-biomateriał — przede wszystkim ze względu na złożoną budowę tkanek.

Obecnie lasery wykorzystuje się niemal w każdej specjalności medycznej. Na przykład jedną z najbardziej popularnych procedur klinicznych stosowanych w celu poprawy refrakcyjności (czyli zdolności do załamania światła) ludzkiego oka jest keratektomia fotorefrakcyjna (PRK), tj. chirurgia rogówki. W PRK źródło promieniowania stanowi laser ekscymerowy ArF (argonowo-fluorowy, $\lambda = 193 \text{ nm}$) [14—17].

Promieniowanie elektromagnetyczne (np. UV), głównie generowane przez lasery, może powodować fizyczne oraz chemiczne zmiany na powierzchni polimerów. W pewnych przypadkach, w wyniku zastosowania promieniowania o odpowiedniej długości fali, energii impulsów oraz dawce obserwuje się na napromienianej powierzchni unikatowe nano- i mikrostruktury stożkowe, dendrytowe bądź periodyczne [18—24]. Chemiczna modyfikacja powierzchni polimerowej podczas procesu ablacji zależy przede wszystkim od tego, czy wartość energii impulsów laserowych znajduje się poniżej, czy powyżej poziomu wartości progowej. Nawet jednak

napromienianie dawką niższą od progu ablacyjnego może prowadzić do zmian właściwości powierzchniowych materiału, takich jak hydrofilowość, zwilżalność lub adhezja.

Ostatnio, duży nacisk kładzie się na rozwój zaawansowanych technik laserowych, mianowicie PLD (*pulsed laser deposition* — technika osadzania za pomocą lasera impulsowego), MAPLE (*matrix-assisted pulsed laser evaporation* — technika impulsowego odparowania laserowego wspomaganego matrycą), oraz RIR-PLD (*resonant infrared-pulsed laser deposition* — osadzanie przy użyciu impulsowego rezonansowego lasera emitującego promieniowanie podczerwone) pozwalających na uzyskanie biomateriałów (enzymów, białka) w postaci cienkich błon. Technologiczne zastosowanie mogą one znaleźć w bioelektronice (biochipy, biosensory) lub w medycynie (osłonki leków, powłoki mikroigieł w terapii genowej, biokompatybilne powłoki implantów) [25, 26]. Przykłady użytkowego wykorzystania laserowej ablacji polimerów to preparacja otworów w poliimidach na potrzeby multichipowych modułów używanych przez firmę IBM [12] oraz jeden z etapów produkcji dysz drukarek atramentowych. Obecne badania skupiają się na zastosowaniu technik ablacji laserowej (mikroobróbka powierzchni, wytrawianie, oczyszczanie, formowanie cząstek [27]) oraz na wyjaśnieniu mechanizmów tego procesu [12].

CHARAKTERYSTYKA KOLAGENU

Kolagen stanowi podstawowy białkowy budulec tkanki łącznej — występuje w skórze, chrząstkach, ścięgnach oraz narządach wewnętrznych ssaków [28—30]. Obecnie znanych jest 20 typów tego białka różniących się składem i sekwencją aminokwasów a także stopniem skomplikowania budowy (struktury I-, II-, III-, IV- i V-rzędowe) [30, 31]. Makrocząsteczki kolagenu są ułożone w postaci potrójnej helisy, której struktura jest utrzymywana za pomocą wiązań wodorowych oraz oddziaływań — elektrostatycznych, van der Waalsa i hydrofobowych [30, 32]. Obecność wody w istotny sposób wpływa na właściwości kolagenu, mianowicie w roztworach wodnych w makrocząsteczkach pojawiają się jony, które nadają im cechy amfoteryczne, w stanie stałym zaś znaczna liczba cząsteczek wody może być stosunkowo trwale związana za pomocą mostków wodorowych [32—34]. Najważniejsze aminokwasy wchodzące w skład kolagenu to: glicyna, prolina i hydroksyprolina [31].

Dzięki biozgodności i niskiemu poziomowi odpowiedzi immunologicznej organizmu biorcy, kolagen znalazł zastosowanie w medycynie jako materiał na implanty do przeszczepów, nośnik leków, rusztowanie w rekonstrukcji tkanek lub też podłoże zwiększające adhezję komórek biologicznych [28, 35].

Celem referowanej tu pracy było zbadanie wpływu, generowanego przez laser ekscymerowy promieniowa-

nia UV, na powierzchnie cienkich błon kolagenowych oraz zaproponowanie mechanizmu uzyskiwania w tych warunkach struktury „mikropianki” powstającej w wyniku przebiegającej ablacji fotomechanicznej.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiały

Kolagen (typ I) wypreparowano ze ścięgien ogonów szczurzych w warunkach laboratoryjnych. Po przemyciu wodą destylowaną, ścięgna rozpuszczano w 0,4 M wodnym roztworze kwasu octowego. Nierozpuszczalne części tkanki oraz zanieczyszczenia odwirowywano za pomocą wirówki (7500 obrotów na minutę). Cienkie błony kolagenowe uzyskiwano na wypoziomowanych płytkach szklanych metodą odparowania rozpuszczalnika. Suszono je (do 15 % pozostałości wody) w powietrzu, w temperaturze pokojowej.

Aparatura

Źródłem promieniowania UV był kryptonowo-fluorowy laser ekscymerowy KrF (typ LPX 220i firmy Lambda Physik) emitujący falę długości $\lambda = 248$ nm i czasie trwania impulsu $t = 25$ ns. Moc lasera oraz gęstość energii wiązki zostały precyzyjnie wyregulowane przy użyciu zmiennego atenuatora i zmierzone po częściowym odbiciu na szkiełku kwarcowym. Ustalenie współczynnika proporcjonalności energia światła odbitego/energia światła transmitowanego pozwoliło — w przypadku doświadczeń z pojedynczymi impulsami — na dokładne wyznaczenie efektywnej gęstości energii w miejscu napromieniania.

Wiązka promieniowania UV została skupiona za pomocą soczewki o ogniskowej $f = 250$ mm na kwadratowej masce molibdenowej (o boku $750 \mu\text{m}$), precyzyjnie odwzorowywanej na powierzchni próbki za pomocą pojedynczej soczewki ($f = 25$ mm), zmniejszającej obraz o ok. $1/5$. Dzięki takiej procedurze uzyskuje się dobry kontrast pomiędzy analizowanym miejscem a otoczeniem.

Napromienianie prowadzono w powietrzu, w temperaturze pokojowej, z częstotliwością 1 Hz, a w pomiarach ubytków masy techniką QCM (czyli z zastosowaniem mikrowagi kwarcowej — *Quartz Crystal Microbalance*) — pod wpływem naświetlania z częstotliwością 50 Hz. Zakres stosowanej energii impulsów (F) obejmował przedział $5 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ — $5 \text{ J}/\text{cm}^2$ [36, 37].

Metody oceny próbek

Techniki mikroskopowe

Stan powierzchni błon nienapromienianych a także miejsc poddanych działaniu lasera ekscymerowego KrF badano za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM) oraz mikroskopu sił atomowych (AFM),

firmy Park Scientific Instruments) pracującego w trybie lekkiego dotykania próbki (*tapping mode*).

Technika QCM

Do pomiarów spowodowanego działaniem lasera ubytku masy błon kolagenowych użyto mikrowagi, którą stanowi wmontowany w obwód rezonansowy kryształ kwarcu o częstotliwości własnej 5 MHz. Częstotliwość tego obwodu mierzono za pomocą licznika (typ ICM 7226 firmy Intersil) [38, 39]. Pomiar prowadzono w ciągu 60 s, stosując impulsy o energii 5, 10 i 20 mJ/cm^2 .

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

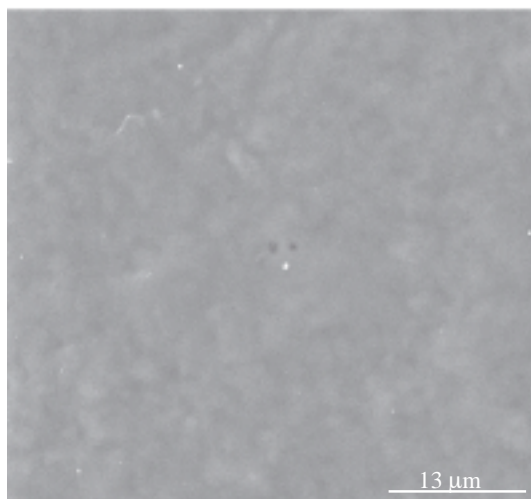
Pod wpływem działania impulsowego lasera KrF na powierzchnie błon kolagenowych zaobserwowano — w zależności od energii promieniowania padającego (wartość niższa lub wyższa od progu ablacyjnego) oraz liczby użytych impulsów — dwa różne zjawiska. Mianowicie, zastosowanie impulsów (50/s) o energii znacznie mniejszej od wartości progowej (5, 10, 20 mJ/cm^2 , podczas gdy energia progowa w przypadku kolagenu wynosi $0,5 \text{ J}/\text{cm}^2$) powoduje trawienie warstwy powierzchniowej błony, co stwierdzono bardzo czułą metodą pomiaru ubytku masy mikrowagą kwarcową. Efekt usuwania makrocząstek z powierzchni polimerowych służący do wyznaczenia np. stopnia wytrawienia lub osadzania (z wykorzystaniem różnych długości fali padającej) był już wcześniej badany na przykładach m.in. układów polistyrenowych, poliwęglanowych i dinitrocelulozowych [39].

Wykorzystanie pojedynczych impulsów lasera o energii przekraczającej wartość progową (0,7—5,0 J/cm^2) pozwoliło na zaobserwowanie drugiego zjawiska, opisanego po raz pierwszy w naszych wcześniejszych publikacjach [36, 37] — tworzenia się „pianki” na błonach kolagenowych. Ze względu na strukturę wewnętrzną „spienionej” próbki (m.in. wymiar porów rzędu mikrometrów) nazwaliśmy ją „mikropianką”.

Impuls promieniowania laserowego padającego na powierzchnię błony kolagenowej ulega absorpcji, powodując wzbudzenie atomów i cząstek. Energia dociera na pewną głębokość warstw zewnętrznych i rozchodzi się w nich z określoną szybkością. Jednocześnie zaburzenie w powierzchniowej warstwie napromienianego materiału jest przyczyną powstawania fali akustycznej. Mechanizm powstawania wspomnianej struktury w ujęciu fotomechanicznym wyjaśniamy w dalszym tekście.

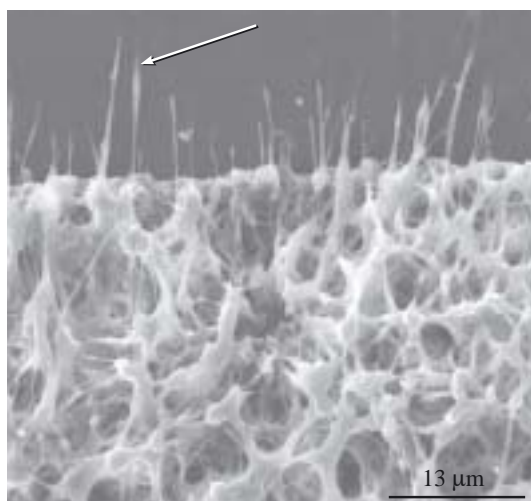
Wyniki badań metodą SEM

Na serii rysunków 1—6 przedstawiono zdjęcia SEM powierzchni błony kolagenowej obrazujące wpływ naświetlania próbki pojedynczym impulsem lasera o wartości energii impulsu z przedziału 0,7—5,0 J/cm^2 .



Rys. 1. Zdjęcie SEM nienapromienionej powierzchni błony kolagenowej

Fig. 1. SEM image of non-irradiated surface of collagen film

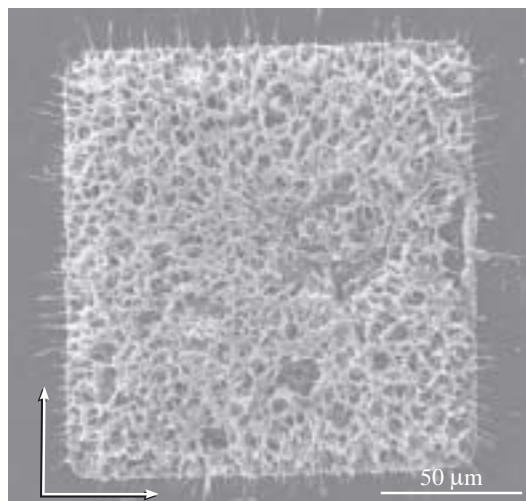


Rys. 2. Zdjęcie SEM nowej struktury „mikropianki” utworzonej na powierzchni błony kolagenowej w wyniku działania jednego impulsu laserowego o energii (F) = 1,7 J/cm². Strzałki oznaczają tu (podobnie jak na rys. 3 i 4) miejsca tworzenia się charakterystycznych filamentów

Fig. 2. SEM image of a new structure of „micro-foam” formed on the surface of collagen film as a result of one laser pulse ($F=1.7$ J/cm²). Arrows mean here (and in the next Figures) the places of formation of characteristic filaments

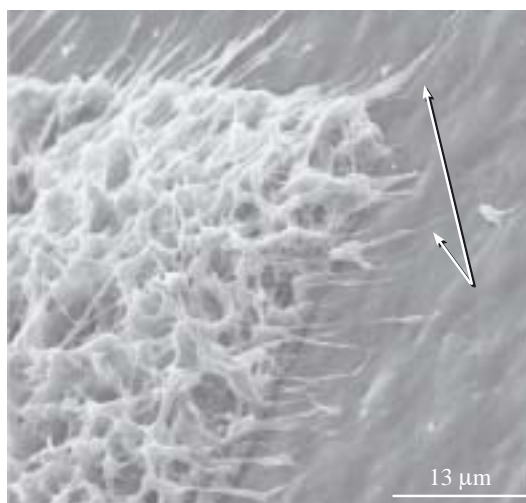
Nienapromieniona powierzchnia nie wykazuje nieregularności oraz widocznych uszkodzeń (rys. 1). Zastosowanie pojedynczych impulsów o energii przekraczającej podaną już wartość energii progową (0,5 J/cm²), spowodowało utworzenie na powierzchni błony nowej struktury — „mikropianki” (rys. 2—4).

Zdjęcia SEM pokazują również zjawisko wyniesienia takiej struktury powyżej nienapromienionej powierzchni (rys. 4 i 5). Na zmodyfikowanej warstwie wierzchniej „mikropianki” są widoczne charakterystyczne miejsca po powstających i rozrywanych pęcherzykach gazo-



Rys. 3. Zdjęcie SEM nowej struktury „mikropianki” utworzonej na powierzchni błony kolagenowej w wyniku działania jednego impulsu laserowego o $F = 2,0$ J/cm². Obszar działania impulsu laserowego wynosił ok. 140 × 140 μm

Fig. 3. SEM image of a new structure of „micro-foam” formed on the surface of collagen film as a result of one laser pulse ($F=2.0$ J/cm²). The area of laser pulse action was ~140 × 140 μm

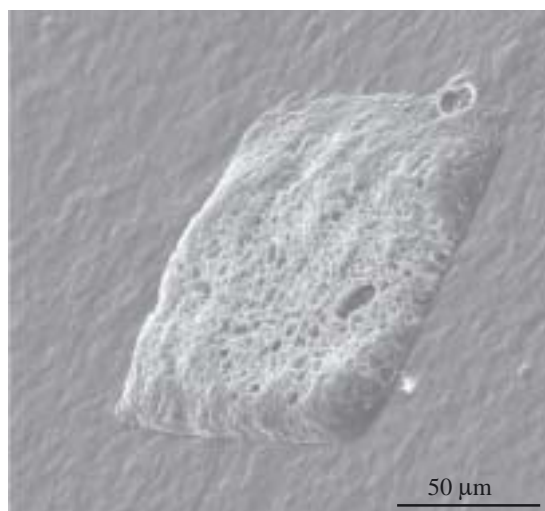


Rys. 4. Zdjęcie SEM struktury z rys. 2. Zdjęcie pokazuje wyniesienie materiału ponad nienapromienioną powierzchnię błony

Fig. 4. SEM image of the structure presented in Fig. 2. The image shows the material expansion over the initial non-irradiated film surface

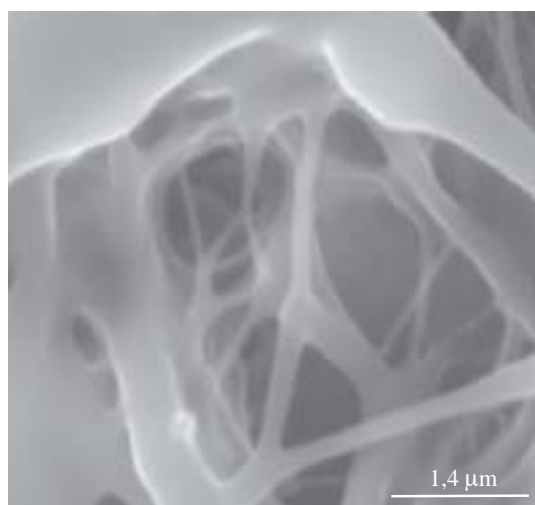
wych (rys. 2, 5 i 6) oraz tworzące się „włóknienka” średnicy rzędu nanometrów (rys. 6).

Zastosowanie do napromieniania precyzyjnego układu optycznego pozwoliło na uzyskanie dobrej homogeniczności gęstości energii na całym dostępnym dla impulsu obszarze (ok. 140 × 140 μm, rys. 3). Ponadto, umożliwiło osiągnięcie bardzo dużego gradientu energii na krawędziach napromienianych miejsc, co jest korzystne w procesie usuwania stopionych części „ablatowanej”



Rys. 5. Zdjęcie SEM nowej struktury „mikropianki” utworzonej na powierzchni błony kolagenowej ($F = 0,7 \text{ J/cm}^2$; 1 impuls) z widocznymi miejscami po tworzących się i rozrywanych pęcherzykach a także z widocznym wyniesieniem materiału ponad nienapromienioną powierzchnię błony

Fig. 5. SEM image of a new structure of „micro-foam” formed on the surface of collagen film ($F=1.7 \text{ J/cm}^2$; one pulse) with visible places of the formed and burst bubbles as well as visible material expansion over the initial non-irradiated film surface



Rys. 6. Zdjęcie SEM nowej struktury „mikropianki” utworzonej na powierzchni błony kolagenowej ($F = 5,0 \text{ J/cm}^2$; 1 impuls) z widocznymi miejscami po tworzących się i rozrywanych pęcherzykach z włóknkami o średnicach nanometrycznych

Fig. 6. SEM image of a new structure of „micro-foam” formed on the surface of collagen film ($F=5.0 \text{ J/cm}^2$; one pulse) with visible places of the formed and burst bubbles as well as the filaments of nanometric dimensions

próbki, w szczególności zaś w tworzeniu się charakterystycznych filamentów na zewnątrz naświetlanego obszaru (strzałki na rys. 2—4).

Mechanizm powstawania „mikropianki”

Mechanizm tworzenia „mikropianki” na powierzchni błon kolagenowych nie jest klasycznym procesem ablacji rozumianej jako „czyste” trawienie warstw wierzchnich w wyniku działania promieniowania laserowego. Polega on bowiem na gęstej i efektywnej nukleacji pęcherzyków [40] będącej efektem ich szybkiego powstawania pod wpływem znacznych efektów ciśnieniowych.

Zmiany temperatury powierzchni

W przypadku polimerów temperatura (T) na powierzchni „ablatowanej” błony pod koniec trwania impulsu laserowego — przy założeniu, że dyfuzja ciepła podczas jego działania może być pominięta — jest opisywana funkcją głębokości wnikania (z) promieniowania w próbkę [36, 41]:

$$T(z, F) = \frac{\alpha \cdot A}{C \cdot \rho} F \cdot e^{-\alpha z} + T_0 \quad (2)$$

gdzie: F — energia padającego impulsu, α — współczynnik absorpcji próbki, A — absorpcyjność próbki, C — pojemność cieplna próbki, ρ — gęstość próbki, T_0 — temperatura początkowa.

Pominięcie dyfuzji ciepła wynika z tzw. ograniczenia cieplnego [42] wyrażonego następującym warunkiem

$$\frac{\tau}{\tau_h} = 4\alpha^2 \chi \tau \ll 1 \quad (3)$$

z którego wynika, że czas dyfuzji ciepła τ_h na drodze absorpcji l_a jest znacznie dłuższy niż czas trwania impulsu τ (χ — dyfuzyjność cieplna próbki).

Na podstawie znanych stałych fizycznych badanej błony kolagenowej ($\rho = 1,3 \text{ g/cm}^3$, $C = 3,9 \text{ J/g}$ [53], $A = 0,98$, $T_0 = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $\alpha = 600 \text{ cm}^{-1}$) obliczyliśmy temperaturę na powierzchni „ablatowanej” błony; jej wzrost okazał się zaskakująco niewielki: $141 \text{ }^\circ\text{C}$ w przypadku energii impulsu $F = 1,0 \text{ J/cm}^2$ oraz $83 \text{ }^\circ\text{C}$ w odniesieniu do energii progowej $F = 0,5 \text{ J/cm}^2$. Tak niskie wartości osiągniętej temperatury nie mogą być odpowiedzialne za szybkie efekty ablacyjne obserwowane na błonach kolagenowych (w przybliżeniu izobarycznym), tak więc w omawianym przykładzie należy wziąć pod uwagę silny efekt fotoakustyczny towarzyszący dużym zmianom ciśnienia [11, 42, 44—47]. Ponadto, jeśli założymy, że na początkowym etapie ablacji dominuje odparowanie wody, to teoretyczna wartość energii progowej (F_{th}) obliczona z warunku gęstości energii krytycznej na podstawie równania (4) [w odniesieniu do ciśnienia atmosferycznego 1 bar i $\rho_{H_2O} = 1 \text{ g/cm}^3$, T_b (temperatura wrzenia wody) = $100 \text{ }^\circ\text{C}$, $C = 4,18 \text{ J/g}$, L_v (ciepło parowania wody) = 2580 J/g]

$$\alpha A F_{th} = \rho_{H_2O} [C(T_b - T_0) + L_v] \quad (4)$$

wynosiłaby $F_{th} = 4,9 \text{ J/cm}^2$, zatem niemal dziesięć razy więcej niż wyznaczona doświadczalnie ($0,5 \text{ J/cm}^2$). Tak więc, omawiając mechanizm ablacyjny należy uwzględ-

nić również inne czynniki (np. przejściowe ciśnienie akustyczne), ponieważ rzeczywiste efekty ablacyjne pojawiają się już pod wpływem impulsów o znacznie mniejszych od obliczonych wartościach energii.

Powstawanie fali akustycznej

Na skutek laserowego ogrzewania podczas działania krótkiego impulsu oraz w wyniku szybkiego rozprzestrzeniania ciepła generuje się dwubiegunowy impuls ciśnieniowy, czyli fala akustyczna rozchodząca się w powierzchniowej sekwencji „przyspieszenie–opóźnienie” w kierunku zgodnym z wiązką promieniowania. Fala ciśnieniowa jest więc złożona ze składowej ściskającej (dodatniej) tworzonej na etapie przyspieszania w wyniku wytwarzającego się podciśnienia i składowej rozciągającej (ujemnej) powstającej na etapie opóźnienia. Fala akustyczna wnika w głąb próbki z prędkością dźwięku. Składowa rozciągająca fali ciśnieniowej może wywierać duży wpływ na proces ablacji, ponieważ powoduje rozciąganie wiązań chemicznych w cząsteczkach próbki. Gdy wytrzymałość materiału na rozciąganie zostaje przekroczona, na powierzchni zaczynają pojawiać się puste przestrzenie oraz tworzą się pęcherzyki (rys. 7). Opisany proces jest nazywany „zimną ablacją”, gdyż stanowi wynik bardzo intensywnie oddziaływującego rozciągającego pola wywołanego warunkiem „ograniczenia naprężeniowego” a nie wysokotemperaturowej ekspansji termicznej i obserwuje się go w przypadku krótko trwającego impulsu [42, 44, 48].

Nukleacja oraz wzrost pęcherzyków

Wzrost i rozprzestrzenianie pustych przestrzeni oraz pęcherzyków tworzących się w wyniku wspomnianej „zimnej ablacji” powoduje powstawanie struktury „mikropianki”. W polu rozciągającym niemal wszystkie te procesy zachodzą podczas trwania drugiej połowy

impulsu (w czasie t mieszczącym się w przedziale $\tau < t$ ($\tau + \tau_p$, gdzie τ_p — czas trwania impulsu rozciągającego). Zgodnie z teorią homogenicznej nukleacji [49–51], ze względu na niską temperaturę, wzrost pęcherzyków w obszarze podwyższonego ciśnienia (tj. w pierwszej połowie trwania impulsu) jest prawie niemożliwy, ponieważ ciśnienie wewnętrzne (P_{in}) jest wówczas mniejsze niż ciśnienie zewnętrzne (P_{out}).

Dlatego też, rozważamy tylko drugą część trwania impulsu, dającą falę rozciągającą (impuls podciśnieniowy). W wyniku jej działania promień krytyczny pęcherzyków (r_c) jest łatwo osiągalny, a w chwili, gdy jego wartość zostaje przekroczona ($r > r_c$) wzrost pęcherzyków następuje samorzutnie. Wyraża to następująca zależność:

$$r_c = -\frac{2\gamma}{P_{out} - P_{in}} = -\frac{2\gamma}{P_- - P^*(T)} \quad (5)$$

gdzie: γ — napięcie powierzchniowe ciekłej błony kolagenowej, $P_- = P_{out}$, $P^*(T)$ — prężność pary w pęcherzyku ($=P_{in}$).

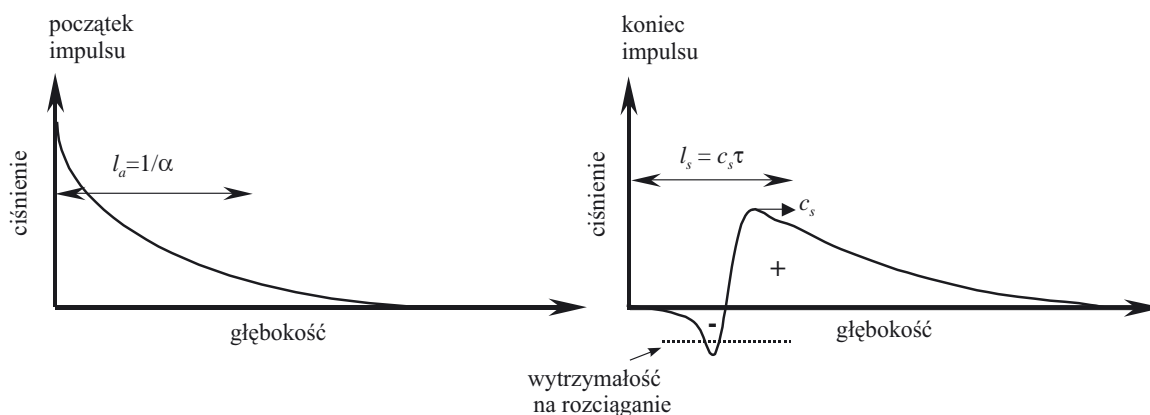
Promień krytyczny odpowiada pracy maksymalnej ΔW wykonanej podczas wzrostu pęcherzyka od wartości promienia 0 do r :

$$\Delta W = \frac{4}{3}\pi r^3 [P^*(T) - P_-] + 4\pi r^2 \gamma \quad (6)$$

W wyniku pojawienia się fali rozciągającej, bezwzględna wartość P_- jest znacznie większa niż P^* (P^* staje się więc nieistotne) i wówczas r_c oraz próg energetyczny $\Delta W(r_c)$ stają się bardzo małe:

$$\Delta W(r_c) \approx \frac{16\pi\gamma^3}{3P_-^2} \approx \tau^2 F^{-1} \quad (7)$$

Zatem, gęsta nukleacja oraz wzrost pęcherzyków mogą przebiegać gdy $r > r_c$. Bardzo intensywna fala rozciągająca powoduje, że proces nukleacji pęcherzyków ustaje, a równanie (7) wskazuje na jeszcze większą zależność wartości $\Delta W(r_c)$ od parametrów lasera (F i τ).



Rys. 7. Graficzne przedstawienie fal ciśnienia wytworzonego przez krótki impuls laserowy na powierzchni gęstego ośrodka. Jest on charakteryzowany przez drogę absorpcji l_a oraz drogę propagacji dźwięku l_s (τ jest czasem trwania impulsu laserowego). Na końcu impulsu laserowego, fala rozciągająca zaczyna rozchodzić się od powierzchni w głąb próbki z prędkością dźwięku c_s .
Fig. 7. Graphical illustration of the waves of the pressure created by short laser pulse on the surface of dense medium. It is characterized by absorption path l_a and sound propagation path l_s (τ is time of laser pulse duration). At the end of laser pulse, the extending wave begins to spread from the surface deep into sample with the speed of sound c_s .

Szybkość nukleacji $J(T)$, tj. prędkość przekraczania wymiaru krytycznego] jest wyrażona następującą zależnością [36]:

$$J(T) = Zn(r_c) = Zn_0 e^{-\frac{\Delta W(r_c)}{kT}} = N \sqrt{\frac{3\gamma(T)}{\pi m}} e^{-\frac{\Delta W(r_c)}{kT}} \quad (8)$$

gdzie: Z — współczynnik Zeldovicha, $n(r_c)$ — liczba gęstościowa pęcherzyków krytycznych, n_0 — maksymalne stężenie potencjalnych pęcherzyków o promieniu podkrytycznym, N oraz m — odpowiednio, stężenie i masa cząsteczek stanowiących centra nukleacji (każda cząsteczka wody może być takim centrum), k — stała Boltzmanna.

Naprężenie rozciągające wywołane działaniem lasera jest wykorzystywane w tzw. laserowym kruszeniu powierzchni [11] i laserowym oczyszczaniu [45, 52] materiałów zawierających wodę, np. tkanek biologicznych. Daje bowiem początek „zimnej ablacji”, która tu zachodzi na skutek rozrywania wiązań woda–cząsteczka. Ponadto umożliwia usuwanie (odjęcie) wody w postaci nano- lub mikrokropelek. Proces ten — często określany jako czołowe, powierzchniowe kruszenie lub ablacja fotomechaniczna [11, 53] — prowadzi do szybkiego wyeliminowania z napromienianego materiału wody, a jednocześnie do tworzenia nowej sieci złożonej z odporniejszych na rozciąganie cząsteczek — struktury „pianki” polimerowej. W pustych przestrzeniach, powstałych w wyniku działania naprężenia rozciągającego, odparowują tylko uwalniane z polimeru cząsteczki wody. Nowa, sucha sieć „mikropiankowa” może być później ponownie uwodniona.

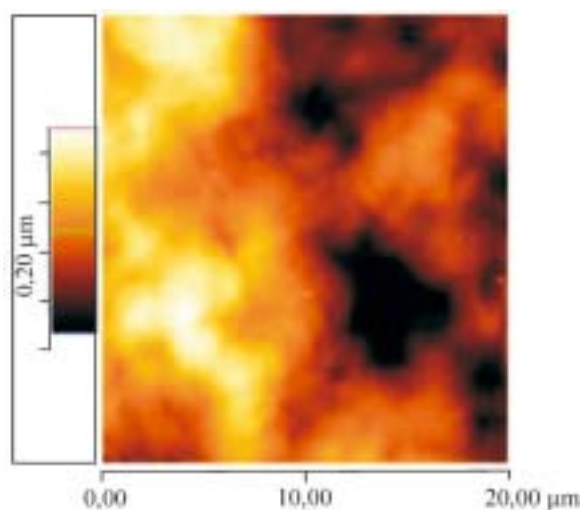
Ponieważ opisywane przemiany mają charakter eksplozyjny (szybkość procesu jest bardzo duża) to do przebiegu nukleacji wystarczający jest już czas działania pojedynczego impulsu. Sądzymy także, że większość przemian prowadzących do rozbudowy struktury pianki za-

chodzi w czasie nie dłuższym niż $\Delta\tau = \tau + \tau_p \approx 36$ ns trwania impulsu rozciągającego. Ponadto przewidujemy, że nukleacja występuje nie tylko na skrajnej powierzchni próbki, ale także na jej określonej głębokości z^* .

Mechanizm omawianego procesu szczegółowo przedstawiliśmy w ostatnich publikacjach [36, 37].

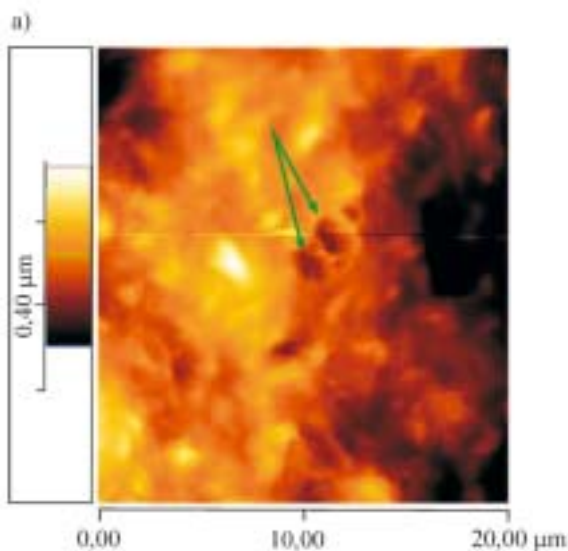
Wyniki badań metodą AFM

Uzyskane techniką AFM rys. 8 i 9 ilustrują topografię powierzchni błony kolagenowej przed i po napromienieniu światłem lasera. W doświadczeniu tym użyto jednego impulsu o energii $0,5 \text{ J/cm}^2$ odpowiadającej



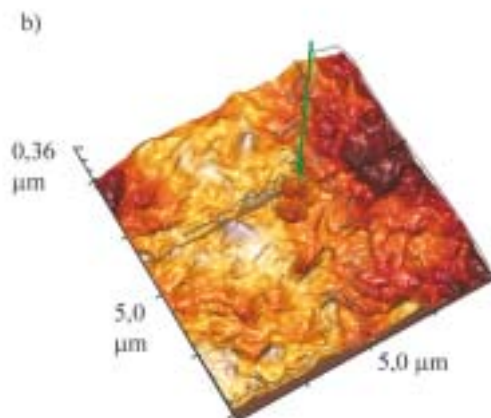
Rys. 8. Zdjęcie AFM nienapromienionej powierzchni błony kolagenowej

Fig. 8. AFM image of non-irradiated surface of collagen film



Rys. 9. Zdjęcia AFM napromienionej powierzchni błony kolagenowej ($F = 0,5 \text{ J/cm}^2$; 1 impuls) z widocznymi miejscami po tworzących się i rozrywanych pęcherzykach (zielone strzałki)

Fig. 9. AFM images of irradiated surface of collagen film ($F=0.5 \text{ J/cm}^2$; one pulse) with visible places of the formed and burst bubbles (green arrows)



wartości progowej procesu ablacji. Zdjęcie 9 potwierdza modyfikację analizowanych błon — wyraźnie widoczne są miejsca po nukleacji i rozrywaniu pęcherzyków. Zastosowanie pojedynczego impulsu o energii mieszczącej się poniżej progu ablacyjnego nie spowodowało widocznych zmian w strukturze powierzchni badanej błony.

Tak więc nukleacji i wzrostowi pęcherzyków sprzyjają krótkie impulsy i duża gęstość energii, co sprawia, że omawiany proces zachodzi z większą wydajnością, powodując ekspansję materiału powyżej nienapromienianej powierzchni i tworzenie struktury „mikropianki”; może on być także przyczyną wyrzucania materiału z miejsca poddanego działaniu lasera.

Wyniki badań metodą QCM

T a b e l a 1. Wyznaczony techniką QCM ubytek masy błon kolagenowych pod wpływem impulsów laserowych
T a b l e 1. Weight losses of collagen films under the influence of laser pulses, determined by QCM technique

Energia impulsu mJ/cm ²	Grubość błony kolagenowej, nm		
	przed napromienieniem	po napromienieniu	usunięta warstwa
5	674	633	41
10	574	528	46
20	750	644	106

W tabeli 1 zamieszczono wyznaczone ubytki masy błon kolagenowych poddanych działaniu impulsów lasera KrF o wartościach energii znacznie mniejszych od progu ablacyjnego (<0,5 J/cm²). Napromienianie próbek z częstotliwością 50 impulsów/s spowodowało wyraźny ubytek ich masy wyrażony w tabeli 1 jako grubość (w nm) usuniętej warstwy. Gdy analizowana błona pokrywa elektrodę kwarcową (dysk średnicy 5,9 mm), to częstotliwość rezonansowa układu mikrowagi f_0 osiąga nową wartość f związaną z masą polimeru następującą zależnością [38, 39]:

$$\delta f = -2,3 \cdot 10^6 f_0^2 \left(\frac{m_b}{A_b} \right) \quad (9)$$

gdzie: $\delta f = f_0 - f$ — przesunięcie rezonansowe, Hz; f_0 — częstotliwość własna niepokrytego kryształu kwarcu, MHz; m_b — masa pokrywającej błony, g; A_b — powierzchnia błony, cm².

Mnożąc ostatni człon równania (9) wyrażający zmianę masy (m_b/A_b) przez odwrotność gęstości błony kolagenowej uzyskuje się podaną w tabeli 1 grubość warstwy materiału usuniętej w wyniku napromieniania laserowego.

Przypuszczenie, że podczas eksperymentów wykorzystujących technikę QCM może zachodzić zjawisko powstawania struktury „mikropiankowej” nie jest naszym zdaniem uzasadnione. Energia impulsów jest tu bowiem znacznie mniejsza od podanej wartości progu ablacyjnego, nawet wtedy, gdy stosuje się dużą liczbę impulsów przypadającą na 1 sekundę (50 Hz). Nato-

miast już wcześniej zauważono, że napromienianie błon polimerowych przy użyciu dużej liczby impulsów o energii podprogowej nie powoduje modyfikacji powierzchni w takim samym stopniu jak równoważna dawka pojedynczego impulsu o energii przekraczającej wartość progową [54].

PODSUMOWANIE

Napromienianie błon kolagenowych laserem ekscymerowym KrF powoduje „spienienie” powierzchni, prowadzące do utworzenia struktury tzw. „mikropianki”. Powstawanie jej wymaga gwałtownej i gęstej nukleacji pęcherzyków, wywołanej przez część rozciągającą przejściowego ciśnienia fotoakustycznego. Pianki takie były dotychczas otrzymywane klasyczną metodą liofilizacji, a więc w sposób bardziej złożony i czasochłonny, ponadto zaś niekorzystnie wpływający na środowisko.

Charakter wewnętrznej struktury uzyskanych przez nas „mikropianek” kolagenowych, ich potencjalne właściwości a także względnie prosta metoda otrzymywania mogą stanowić istotne czynniki w perspektywnym projektowaniu materiałów biologicznych oraz materiałów do implantacji.

LITERATURA

- [1] Ziętek B.: „Optoelektronika”, Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń 2004. [2] Kawamura Y., Toyoda K., Namba S.: *Appl. Phys. Lett.* 1982, **40**, 374. [3] Srinivasan R., Mayne-Banton S.: *Appl. Phys. Lett.* 1982, **41**, 576. [4] Andrew J. E., Dyer P. E., Forster D., Key P. H.: *Appl. Phys. Lett.* 1983, **43**, 717. [5] Deutsch T. F., Geis M. W.: *J. Appl. Phys.* 1983, **54**, 7201. [6] Jellinek H. H. G., Srinivasan R.: *J. Phys. Chem.* 1984, **88**, 3048. [7] Srinivasan R., Braren D.: *Chem. Rev.* 1989, **89**, 1303. [8] Bäuerle D.: „Laser Processing and Chemistry”, wyd. 3., Springer-Verlag, Berlin 2000. [9] Vogel A., Venugopalan V.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 577. [10] Bityurin N., Luk'yanchuk B. S., Hong M. H., Chong T. C.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 519. [11] Paltauf G., Dyer P. E.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 487. [12] Lippert T., Dickinson J. T.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 453. [13] Georgiou S., Koubenakis A.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 349. [14] Trokel S. L., Srinivasan S., Braren B.: *Amer. J. Ophthalmol.* 1983, **96**, 710. [15] Puliafito C. A., Steinert R. F., Deutsch T. F., Hillenkamp F., Dehm E. J., Adler C. M.: *Ophthalmol.* 1985, **92**, 741. [16] Puliafito C. A., Wong K., Steinert R. F.: *Lasers Surg. Med.* 1985, **7**, 155. [17] Krueger R. R., Sliney D. H., Trokel S. L.: *J. Refractive Corneal Surg.* 1992, **8**, 274. [18] Hopp B., Bor Z., Homolya Z., Mihalik E.: *Appl. Surf. Sci.* 1997, **109/110**, 232. [19] Hopp B., Bor Z., Homolya Z., Mihalik E.: *Proc. SPIE Int. Soc. Opt. Eng.* 1998, **3423**, 389. [20] Heitz J., Arenholz E., Bäuerle D., Schilcher K.: *Appl. Surf. Sci.* 1994, **81**, 108. [21] Heitz J., Arenholz E., Bäuerle D., Hibst H., Hagemeyer A., Cox G.: *Appl. Phys. A* 1993, **56**, 329. [22] Bolle M., Lazare S., Le Blanc M., Wilmes A.: *Appl. Phys. Lett.*

1992, **60**, 674. [23] Bolle M., Lazare S.: *J. Appl. Phys.* 1993, **73**, 3516. [24] Żenkiewicz M.: *Polimery* 2005, **50**, 4. [25] Chrisey D. B., Pique A., McGill R. A., Horwitz J. S., Ringeisen B. R.: *Chem. Rev.* 2003, **103**, 553. [26] Słomkowski S.: *Polimery* 2006, **51**, 87. [27] Praca zbiorowa: „Proceedings of the Fifth International Conference on Laser Ablation — COLA '99, Appl. Phys. A69 Suppl.” (red. Horwitz J. S., Krebs H. U., Murakami K., Stuke M.), Springer, Berlin 1999. [28] Lee Ch. H., Singla A., Lee Y.: *Int. J. Pharm.* 2001, **221**, 1. [29] Lasek W.: „Kolagen — chemia i wykorzystanie”, WNT, Warszawa 1978. [30] Sionkowska A., Kamińska A., Miles Ch. A., Bailey A. J.: *Polimery* 2001, **6**, 379.

[31] Bailey A. J., Paul R. G.: *J. Soc. Leather Technol. Chem.* 1998, **82**, 104. [32] Bella J., Berman H. M.: *J. Mol. Biol.* 1996, **264**, 734. [33] Bella J., Brodsky B., Berman H. M.: *Structure* 1995, **3**, 893. [34] Kramer R. Z., Berman H. M.: *J. Biomol. Struct. Dynam.* 1998, **16**, 367. [35] Chen G., Ushida T., Tateishi T.: *Mat. Sci. Eng.* 2001, **C17**, 63. [36] Lazare S., Tokarev V., Sionkowska A., Wisniewski M.: *Appl. Phys. A* 2005, **81**, 465. [37] Lazare S., Tokarev V., Sionkowska A., Wisniewski M.: *J. Phys.: Conference Series* 2006, w druku. [38] Lazare S., Soullignac J. C., Fragnaud P.: *Appl. Phys. Lett.* 1987, **50**, 642. [39] Lazare S., Granier V.: *Am. Chem. Soc. Ser. „Polymers in Microlithography*

— *Materials and Processes”* 1989, **412**, 411. [40] Błędzki A. K., Faruk O., Kirschling H., Kühn J., Jaszkievicz A.: *Polimery* 2006, **51**, 697.

[41] Cain S. R., Burns F. C., Otis C. E., Braren B.: *J. Appl. Phys.* 1992, **72**, 5172. [42] Oraevsky A. A., Jacques S. L., Tittel F.: *J. Appl. Phys.* 1995, **78**, 1281. [43] Tseretely G. I., Belopolskaya T. V., Mel'nik T. N.: *Biophys.* 1997, **42**, 584. [44] Dyer P. E., Srinivasan R.: *Appl. Phys. Lett.* 1986, **48**, 445. [45] Kudyashov S. I., Allen S. D.: *J. Appl. Phys.* 2004, **95**, 5820. [46] Paltauf G., Schmidt-Kloiber H.: *Appl. Phys. A* 1996, **62**, 303. [47] Sun J. M., Gerstman B. S.: *Phys. Rev. E* 1999, **59**, 5772. [48] Dingus R. S., Scammon R. J.: *SPIE Proc.* 1991, **1427**, 45. [49] Abraham F.: „Homogeneous nucleation”, Academic, New York 1974. [50] Skripov V. P.: „Metastable liquid”, Wiley, New York 1974.

[51] Dale C. F., Hruby J., Marsik F.: „The classical theory of homogeneous bubble nucleation revisited”, 5th International Symposium on Cavitation, Osaka, Japan, November 1—4, 2003. [52] Kennedy C. J., Vest M., Cooper M., Wess T. J.: *Appl. Surf. Sci.* 2004, **227**, 151. [53] Albagli D., Dark M., Perelman L. T., Vonrosenberg L. T., Itzkan I., Feld M. S.: *Opt. Lett.* 1994, **19**, 1684. [54] Dyer P. E.: *Appl. Phys. A* 2003, **77**, 167.

Otrzymano 11 IV 2006 r.

W kolejnym zeszycie ukaza się m.in. następujące artykuły:

- Nanokompozyty polimerowe z warstwowymi krzemianami (*j. ang.*)
- Modyfikacja polietylenu za pomocą wysokoenergetycznej wiązki jonów i elektronów — badania struktury, właściwości mikromechanicznych i przewodności warstwy wierzchniej (*j. ang.*)
- Porównawcze badania swobodnej energii powierzchniowej i oporności powierzchniowej cienkich folii polipropylenowych i polistyrenowych po poddaniu ich działalności plazmy stałoprądowej (*j. ang.*)
- Struktura i właściwości nanokompozytów poliuretan/YAG:Tb³⁺ (*j. ang.*)
- Kompozycje tiksotropowe: nienasycone żywice poliestrowe/modyfikowane bentonity (*j. ang.*)
- Otrzymywanie pianek kordierytowych metodą bezpośredniego spieniania (*j. ang.*)
- Modyfikacja włóknin przez nakładanie nanowarstw (*j. ang.*)
- Bakteriostatyczne włókienno-tworzywowe materiały powłokowe modyfikowane nanocząstkami (*j. ang.*)
- Modyfikowane nanocząstkami lakiery do zastosowania w powłokach elektroizolacyjnych (*j. ang.*)