

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 733 372**

51 Int. Cl.:

B41J 2/14

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.12.2015** **PCT/FR2015/053569**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2016** **WO16097619**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2015** **E 15837086 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019** **EP 3233499**

54 Título: **Procedimiento de impresión por láser y dispositivo para su implementación**

30 Prioridad:

17.12.2014 FR 1462568

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

28.11.2019

73 Titular/es:

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX (50.0%)

35 Place Pey Berland

33000 Bordeaux, FR y

**INSTITUT NATIONAL DE LA SANTÉ ET DE LA
RECHERCHE MÉDICALE (INSERM) (50.0%)**

72 Inventor/es:

GUILLEMOT, FABIEN

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 733 372 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de impresión por láser y dispositivo para su implementación

- 5 La presente invención se refiere a un procedimiento de impresión por láser, así como a un dispositivo para su implementación.

10 La impresión de tinta se utiliza en numerosos campos para producir complejos motivos. De este modo, la impresión de elementos puede implementarse particularmente en campos tan variados como la biología, la electrónica, los materiales o la relojería. Las problemáticas encontradas en estos diferentes campos son similares y se han relacionado particularmente con las necesidades de realizar combinaciones de elementos a escalas muy pequeñas. Una reproducción de motivos que consiste en depositar material en unos lugares específicos puede realizarse por vía química o física a través de la utilización de máscaras o través del recurso a una etapa de ablación selectiva.

15 Para solucionar los inconvenientes de estos métodos (riesgo de contaminación, complejidad de implementación, dificultad de combinar el depósito de varios elementos), se han desarrollado procedimientos de impresión de tinta. Presentan la ventaja de poder generar muy libremente motivos de elementos gracias a herramientas de diseño asistido por ordenador a las que se asocian.

20 En el campo de la biología, según los trabajos, estos procedimientos de impresión se denominan bioimpresión, microimpresión de elementos biológicos o bioprinting en inglés.

Según estos procedimientos, el tejido biológico se obtiene imprimiendo gotitas de tintas biológicas. Para obtener un volumen, las gotitas se disponen por capas que se superponen unas sobre otras.

25 Según una primera variante, la tinta se almacena en un depósito y pasa a través de boquillas o de capilares para formar gotitas que se transfieren sobre un soporte. Esta primera variante de impresión llamada de boquilla reagrupa la bioextrusión, la impresión por chorro de tinta o la impresión por microválvulas.

30 La bioextrusión permite obtener una gran densidad celular del orden de 100 millones de células por mililitro y una resolución del orden del milímetro.

La impresión por microválvulas permite tener una densidad celular menor del orden de algunos millones de células por mililitro y una resolución mejor del orden de 100 μm . La impresión por chorro de tinta permite obtener una densidad celular idéntica a la impresión por microválvulas, inferior a 10 millones de células por mililitro y una resolución mejor del orden de 10 μm .

40 En el caso de la bioextrusión, las células se depositan desde una primera boquilla y se deposita simultáneamente un hidrogel desde una segunda boquilla. Como variante, las células y el hidrogel se mezclan en un depósito antes de la extrusión. En los otros dos casos, la tinta es un medio acuoso que contiene las células. Según las variantes, la bioextrusión permite depositar la tinta de manera continua en forma de filamentos o de manera discontinua en forma de gotitas.

45 Según estos modos de impresión de boquilla, al estar vinculada la resolución de impresión a la sección de las boquillas, solo pueden utilizarse tintas biológicas con características reológicas dadas para resoluciones elevadas. De este modo, unas tintas biológicas de gran densidad celular pueden ser difícilmente impresas con una resolución elevada porque esta técnica de impresión induce en el momento del paso a través de la boquilla grandes limitaciones de cizallamiento susceptibles de dañar las células. Además, con este tipo de tinta, son altos los riesgos de obturación de las boquillas por las células debido principalmente a la sedimentación de las células en el interior de los depósitos.

50 Para poder utilizar una gran gama de tintas biológicas y alcanzar un nivel elevado de resolución, se ha desarrollado un procedimiento de impresión de elementos biológicos por láser. Este procedimiento de impresión llamado bioimpresión por láser, se conoce actualmente bajo el nombre de "Laser-Assisted Bioprinting" (LAB) en inglés. La invención se refiere más precisamente a este tipo de procedimientos de impresión. A título de comparación, la bioimpresión por láser permite imprimir tintas que presentan una gran densidad celular del orden de 100 millones de células por mililitro con una resolución de 10 μm .

60 De la misma forma, la impresión por láser se ha desarrollado igualmente en otros campos para poder mejorar la resolución y ampliar la gama de tintas utilizables.

65 Con relación a las técnicas de impresión de boquilla, la impresión láser proporciona una mayor flexibilidad de utilización (posibilidad de imprimir sobre superficies blandas, no planas, ...), reduce las limitaciones de cizallamiento, limita los riesgos de sedimentación. Según otra ventaja, es posible imprimir a partir de un reducido volumen de tinta del orden de algunos microlitros lo que es interesante para los depósitos de materiales caros. Por último, es posible utilizar el sistema de impresión para visualizar y seleccionar la zona de depósito como se describe en el documento

WO2011/107599.

Como se ilustra en la figura 1, un dispositivo de impresión de elementos biológicos por láser que se basa en la técnica denominada "Laser-Induced Forward Transfer" (LIFT) en inglés, comprende una fuente láser de pulsos 10 que emite un haz láser 12, un sistema 14 para enfocar y orientar el haz láser 12, un soporte donador 16 que incluye al menos una tinta biológica 18 y un sustrato receptor 20 situado de manera que reciba unas gotitas 22 emitidas desde el soporte donador 16.

Según esta técnica de impresión, el haz láser es de pulsos y en cada impulso se genera una gotita.

La tinta biológica 18 comprende una matriz, por ejemplo, un medio acuoso, en el que están presentes unos elementos, por ejemplo, unas células, a depositar sobre el sustrato receptor 20. El soporte donador 16 comprende una lámina 24 transparente a la longitud de onda del haz láser 12 que está revestida con una capa absorbente 26 sobre la que se deposita la tinta biológica 18 en la forma de una película.

La capa absorbente 26 permite convertir la energía luminosa en energía cinética. De este modo, el haz láser 12 produce un calentamiento puntual a la altura de la capa absorbente 26 que genera por vaporización una burbuja de gas 28 que por expansión provoca la eyección de una gotita 30 de tinta biológica.

Según una disposición conocida, el haz láser 12 impacta en el soporte donador 16 estando orientado según una dirección aproximadamente vertical y según un sentido de arriba hacia abajo, es decir en el mismo sentido que la fuerza gravitacional G. De ese modo, la tinta biológica 18 se coloca bajo la lámina 24 de manera que esté orientada hacia abajo en dirección al sustrato receptor 20 que se coloca bajo el soporte donador 16.

Teniendo en cuenta esta disposición, la tinta biológica 18 está en la forma de una película con un grosor E inferior a un umbral dado para poder mantenerse sobre la lámina. Este umbral varía particularmente en función de la tensión superficial, de la viscosidad y de la densidad de la tinta biológica.

La formación de las gotitas 30 a partir de la película de tinta depende de numerosos parámetros que se refieren particularmente al haz láser 12 (longitud de onda, energía, duración del impulso,...), a la naturaleza de la tinta biológica 18 (tensión superficial, viscosidad,...), a las condiciones exteriores (temperatura, higrometría,...).

La formación de las gotitas 30 depende igualmente del grosor de la película E de tinta biológica. Las gotitas no se formarán si el grosor E de la película de tinta biológica no está comprendido en un intervalo de grosores delimitado por un límite inferior y un límite superior. Si el grosor E tiene un valor superior al límite superior, no se formará ninguna gotita porque la expansión de la burbuja de gas 28 es demasiado reducida para alcanzar la superficie libre de la película. Si el grosor E tiene un valor inferior al límite inferior, la burbuja de gas 28 estallará a la altura de la superficie libre provocando la proyección incontrolada de una pluralidad de microgotitas hacia el sustrato receptor.

Por consiguiente, el grosor de la película E debe ser sustancialmente constante en toda la superficie del soporte donador 16 para obtener una reproductibilidad de la formación de las gotitas cualquiera que sea la zona del soporte donador 16 impactada por el haz láser 12. Ahora bien, como se ilustra en la figura 1, este grosor E no es constante.

Este problema de reproductibilidad no está limitado al caso de las tintas biológicas. Está presente cualquiera que sea el campo de utilización durante la impresión por láser de una película de tinta.

Para solucionar esta problemática, una publicación titulada "Microdroplet deposition through a film-free laser forward technique" publicada el 1 de octubre de 2011 en el sitio www.elsevier.com propone un dispositivo tal como se describe en la figura 2. Como anteriormente, este dispositivo comprende una fuente láser 32 que emite un haz láser 34, un sistema 36 para enfocar y orientar el haz láser 34, un soporte donador 38 que contiene al menos una tinta biológica 40, así como un sustrato receptor 42 situado de manera que reciba unas gotitas 44 emitidas desde el soporte donador 38.

Según esta publicación, el soporte donador 38 comprende un depósito 46 sin pared superior de modo que la superficie libre 48 de la tinta biológica 40 contenida en el depósito mira hacia el sustrato receptor 42. Para obtener una superficie libre 48 regular y sustancialmente plana, la tinta biológica no se presenta en la forma de una película delgada sino de un volumen que tiene una profundidad del orden de 3 mm. De esa manera, el fondo del depósito no tiene influencia en la forma de la superficie libre 48 de la tinta biológica y las paredes laterales del depósito tienen un efecto limitado en la periferia de la superficie libre 48 debido a la tensión superficial.

Teniendo en cuenta la profundidad del volumen de la tinta biológica, la superficie libre 48 está orientada necesariamente hacia arriba para permanecer en el depósito y el sustrato receptor 42 se sitúa por encima de la tinta biológica 40.

Según este documento, para obtener la eyección de una gotita, el haz láser 34 se enfoca justamente por debajo de la superficie libre 48 a una profundidad del orden de 40 a 80 μm . De este modo, las gotitas emitidas desde la

superficie libre 48 se proyectan hacia el sustrato receptor 42 según un sentido de desplazamiento contrario al sentido de la fuerza gravitacional G.

Incluso aunque la solución propuesta por esta publicación permite obtener una superficie libre 48 plana para la tinta, no está forzosamente adaptada a las tintas que están en la forma de suspensiones, como, por ejemplo, las tintas biológicas. En efecto, como se ha indicado anteriormente, estas tintas biológicas contienen elementos a imprimir, como por ejemplo, unas células, sumergidas en una matriz, que tienen tendencia por sedimentación a descender al fondo del depósito. Al ser reducida la concentración de elementos a imprimir en la proximidad de la superficie libre, las gotitas impresas tienen de hecho reducidas concentraciones de células lo que es generalmente perjudicial para el tejido biológico impreso. Además, según este método, es muy difícil de controlar el número de células y la concentración de las células depositadas.

Este problema de sedimentación no está limitado a las tintas biológicas. De este modo, se encuentra durante la impresión láser de las tintas en la forma de suspensiones, como, por ejemplo, suspensiones de partículas o de nanopartículas en una matriz líquida, cualquiera que sea el campo de aplicación de estas tintas.

Según otro inconveniente del procedimiento de la publicación, la tinta debe poder absorber el haz láser lo que puede limitar la gama de las tintas susceptibles de ser impresas según esta técnica.

Se conoce también la solicitud de patente US2008/117255 que describe un dispositivo de inyección de micro-fluido, por ejemplo, un cabezal de impresión de chorro de tinta que utiliza un láser para expulsar un fluido. Comprende una placa de paso que define una cámara de fluido llena de fluido y un canal de fluido para suministrar a la cámara de fluido un fluido, una placa superior prevista sobre la placa de paso, un orificio de eyección de fluido formado a través de la placa superior en una posición correspondiente a la cámara de fluido, una lente condensadora prevista sobre una superficie inferior de la placa de paso en una posición correspondiente a la cámara de fluido y un irradiador del haz láser capaz de irradiar un haz láser a través de la lente condensadora y en un fluido contenido en la cámara de fluido, en el que el fluido está nucleado por el haz láser de tal manera que se forma una burbuja de gas y desplaza una parte del fluido, eyectando así una gotita de fluido en el orificio de eyección de fluido.

Una patente similar, US5521140 describe un sistema que comprende una capa de material de registro frente a un cuerpo de registro con un espacio incorporado entre ellos, de modo que dicho material de registro se vaporice y transfiera a dicho cuerpo de registro a través de dicho espacio, con la condición de que se prevean unos poros sobre la parte de vaporización del material de registro de tal manera que los poros estén presentes en la capa del material de registro. La estructura de la unidad de registro de la presente invención asegura un registro de excelente calidad, es compacta y ligera, da un rendimiento térmico elevado y no produce hojas de tinta usadas y otros desechos.

Se conoce también la solicitud de patente internacional WO2003/056320 que describe un procedimiento y un aparato que permite micromecanizar con precisión motivos de biopolímeros sobre sustratos sólidos por transferencia láser. Dicho procedimiento consiste en utilizar impulsos láser ultrarrápidos para transferir material de biopolímero objetivo, cuyas dimensiones son función del punto focal del láser, de una superficie de un soporte transparente sobre la superficie opuesta del sustrato de recepción. La repetición del proceso de transferencia en diferentes posiciones del objetivo y del sustrato permite producir motivos ampliados tal como redes de características o unos revestimientos localizados. El aparato está concebido para producir de manera automatizada motivos de biopolímeros sobre sustratos sólidos. El procedimiento y el aparato son particularmente útiles para producir dispositivos destinados a sistemas de dosificación biológica y bioquímica tales como biocaptadores y juegos ordenados de micromuestras.

Estos tres últimos documentos de la técnica anterior están mal adaptados a una impresión fácil y controlada, por ejemplo, de una tinta biológica.

También, la presente invención se dirige a solucionar los inconvenientes de la técnica anterior proponiendo un procedimiento de impresión que permite imprimir con gran precisión una gran gama de elementos. En particular, este procedimiento permite imprimir una gran gama de elementos biológicos, particularmente de manera que se obtengan tejidos biológicos complejos.

Con este fin, la invención tiene por objeto un procedimiento de impresión de al menos una tinta de acuerdo con la reivindicación 1 y opcionalmente con las reivindicaciones dependientes.

Esta configuración permite particularmente obtener un grosor E para la película de tinta sustancialmente constante, limitando la aparición de los fenómenos de sedimentación. Además, permite utilizar una gran gama de tintas.

La tinta impresa por el procedimiento según la invención puede ser no importa qué tinta líquida y puede presentarse en la forma de solución o en la forma de suspensión. Entre las tintas utilizables, se pueden citar particularmente las tintas biológicas, las tintas utilizadas en la electrónica o relojería.

Según una aplicación, la tinta es una tinta biológica.

Según otra característica, la película tiene un grosor inferior a 500 μm y/o una relación de dimensión de la superficie libre de la película sobre grosor de la película superior o igual a 10.

5 Preferentemente, la distancia que separa la película de tinta y la superficie de depósito y/o la energía del haz láser se ajustan de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita toca la superficie de depósito. Estas características limitan los riesgos de daño de los elementos (células u otros) contenidos en la gotita.

10 Según otra característica, el procedimiento de impresión comprende una fase previa de calibración de la energía del haz láser. Esta fase de calibración comprende una etapa de medida de un ángulo de punta de una deformación de la superficie libre de la película de tinta en un instante fijo después del impacto del haz láser y una etapa de ajuste de la energía del haz láser en función del valor medido del ángulo de punta.

15 Preferentemente, la energía del haz láser se ajusta de manera que el ángulo de punta sea inferior o igual a 105°. En este caso, la energía del haz láser es suficiente para provocar la formación de una gotita.

Ventajosamente, la energía del haz láser se ajusta de manera que el ángulo de punta sea superior o igual a un segundo umbral para obtener una energía cinética casi nula en el momento en que la gotita formada alcanza la superficie de depósito.

20 Para una película de tinta, preferentemente biológica, de grosor del orden de entre 40 y 50 μm , el instante para efectuar la medida del ángulo de punta es preferentemente del orden de 4 a 5 μs a contar desde el impacto del haz láser.

25 Ventajosamente, la película de tinta tiene un grosor superior a 20 μm .

Para una tinta que está en suspensión con una alta concentración de elementos a imprimir, la película de tinta tiene preferentemente un grosor comprendido entre 40 y 60 μm .

30 Ventajosamente, para mejorar la precisión del depósito de los elementos a imprimir, la película 74 de tinta tiene un grosor E comprendido entre 1,5 D y 2 D, siendo D el diámetro de los elementos a imprimir que tienen una forma aproximadamente esférica o el diámetro de una esfera en la que se inscribe al menos un elemento a imprimir.

35 La invención tiene igualmente por objeto un dispositivo de impresión para la implementación del procedimiento de impresión de la invención antes mencionado, de acuerdo con la reivindicación 16.

Surgirán otras características y ventajas de la descripción que sigue de la invención, descripción dada únicamente a título de ejemplo, con relación a unos dibujos adjuntos en los que:

- 40
- la figura 1 es una representación esquemática de un dispositivo de impresión por láser que ilustra una variante de la técnica anterior,
 - la figura 2 es una representación esquemática de un dispositivo de impresión por láser que ilustra otra variante de la invención,
- 45
- la figura 3 es una representación esquemática de un dispositivo de impresión por láser que ilustra la invención,
 - las figuras 4A a 4D son vistas laterales que ilustran la formación o no de una gotita en función de diferentes regímenes,
 - las figuras 5A a 5D son unos esquemas que ilustran una gotita en diferentes momentos de su formación, ilustrando la última figura 5D el instante en el que una gotita alcanza un sustrato receptor,
- 50
- la figura 6 es una sección de un soporte donador ilustrando la relación entre el tamaño de los elementos a imprimir y el grosor de una película de tinta biológica,
 - las figuras 7A y 7B son unas vistas laterales que ilustran la formación de una excrescencia en la superficie libre de una película de tinta biológica, previamente a la formación de una gotita, en el mismo instante, pero producida con energías diferentes para el haz láser,
- 55
- la figura 8 es una representación esquemática de un dispositivo de impresión según un modo de realización de la invención que combina al menos un cabezal de impresión de tipo láser y al menos un cabezal de impresión de tipo chorro de tinta,
 - la figura 9 es una vista en perspectiva de un dispositivo de impresión según un modo de realización de la invención que combina un cabezal de impresión de tipo láser y varios cabezales de impresión de tipo chorro de tinta,
- 60
- la figura 10 es una vista en perspectiva de una parte del dispositivo de impresión de la figura 9 durante una impresión con uno de los cabezales de impresión de tipo chorro de tinta,
 - la figura 11 es una sección de una parte del dispositivo de impresión de la figura 9 durante una impresión con el cabezal de impresión de tipo láser,
- 65
- la figura 12 es una vista en perspectiva de una representación en 3 dimensiones de una parte de un tejido biológico que se busca reproducir,

- la figura 13 es una vista en perspectiva de un tramo de la representación de la figura 12,
- la figura 14 es una vista desde arriba del tramo de la figura 13 ilustrando el posicionamiento de las gotitas de tintas biológicas.

5 En la figura 3, se ha representado un dispositivo de impresión 50 para realizar al menos un tejido biológico montando capa por capa, según una disposición predefinida, diferentes constituyentes como, por ejemplo, una matriz extracelular y diferentes morfogénesis. De este modo, el dispositivo de impresión 50 permite depositar capa por capa unas gotitas 52 de al menos una tinta biológica 54 sobre una superficie de depósito 56 que corresponde a la superficie de un sustrato receptor 58 para la primera capa o a la última capa depositada sobre dicho sustrato receptor 58 para las capas siguientes.

Con el objetivo de simplificar la representación, la superficie de depósito 56 corresponde a la superficie del sustrato receptor 58 en la figura 3.

15 Según un modo de realización de la figura 6, la tinta biológica 54 comprende una matriz 60, por ejemplo, un medio acuoso, en el que se presentan unos elementos 62, por ejemplo, unas células o unos agregados de células, a imprimir sobre la superficie de depósito 56.

20 Según los casos, una tinta biológica 54 comprende en la matriz 60 una única clase de elementos a imprimir 62 o varias clases de elementos a imprimir 62. Como variante, la tinta biológica 54 puede no comprender más que un único constituyente.

25 Por tinta biológica, se entiende para la presente solicitud de patente un material biológico o biomaterial. A modo de ejemplo, la tinta biológica comprende únicamente una matriz extracelular (por ejemplo, de colágeno), una matriz extracelular y unos elementos tales como células o agregados de células, un medio acuoso conteniendo elementos tales como células o agregados de células.

La tinta biológica 54 no se describe porque puede tener diferentes naturalezas y características reológicas diferentes de una tinta a otra.

30 Este dispositivo de impresión comprende una fuente láser 64 configurada para emitir un haz láser 66 que se caracteriza entre otros por su longitud de onda, su frecuencia, su energía, su diámetro, su duración del impulso. Preferentemente, la fuente láser 64 es parametrizable con el fin de ajustar al menos una característica del haz láser, particularmente su energía.

35 Para poder formar gotitas disociadas entre ellas, la fuente láser 64 es una fuente de impulsos. Para dar un orden de magnitud, es posible inyectar 10.000 gotitas por segundo.

A modo de ejemplo, la fuente láser 64 es una fuente láser con una longitud de onda de 1064 nm.

40 Además, de la fuente láser, el dispositivo de impresión 50 comprende un sistema óptico 68 que permite una regulación del enfoque según un eje Z perpendicular a la superficie de depósito 56. Ventajosamente, el sistema óptico 68 comprende una lente que permite enfocar el haz láser 66 sobre una zona impactada. Preferentemente, el sistema óptico 68 comprende un espejo para modificar la posición de la zona impactada. De este modo, el sistema óptico 68 permite modificar la zona impactada por el haz láser en un plano de impacto referenciado P_i en la figura 3.

La fuente láser 64 y el sistema óptico 68 no se describen más allá porque son conocidos por el experto en la materia y pueden ser idénticos a los de la técnica anterior.

50 El dispositivo de impresión 50 comprende igualmente al menos un soporte donador 70 que comprende según un modo de realización una capa absorbente 72 a la longitud de onda del haz láser 66 sobre la que se dispone una película 74 de al menos una tinta biológica.

55 En lo que sigue de la descripción, se entiende por película que la tinta biológica ocupe un volumen con un grosor (dimensión según una dirección perpendicular al plano de impacto P_i) inferior a 500 μm .

Contrariamente a un depósito, el hecho de que la tinta biológica se acondicione en la forma de una película permite evitar los fenómenos de sedimentación.

60 La capa absorbente 72 se realiza de un material adaptado a la longitud de onda del haz láser 66 para transformar la energía luminosa en un calentamiento puntual de la capa absorbente 72.

Preferentemente, el soporte donador 70 se coloca de manera que el sistema óptico enfoque el haz láser a la altura de la capa absorbente 72.

Según un modo de realización, la capa absorbente 72 es de oro, de titanio u otro en función de la longitud de onda del haz láser 66.

Según otro modo de realización, el soporte donador 70 no comprende capa absorbente 72. En este caso, la energía del haz láser 66 es absorbida por la tinta.

Preferentemente, el soporte donador 70 comprende una lámina 76 de un material transparente a la longitud de onda del haz láser 66 que comprende en una de sus caras un revestimiento correspondiente a la capa absorbente 72. La presencia de la lámina 76 confiere una rigidez al soporte donador 70 que permite manipularlo y conservar la tinta y/o la capa absorbente 72 sustancialmente plana en el plano de impacto Pi.

La película 74 de tinta biológica comprende una superficie libre 78 que está separada de la capa absorbente 72 una distancia E correspondiente al grosor de la película 74 y que está separada de la superficie de depósito 56 una distancia L. La superficie libre 78 y la superficie de depósito 56 están enfrentadas.

Como se ilustra en la figura 3, el haz láser 66 está adaptado para producir una cavidad 80 en la interfaz entre la capa absorbente y la película 74 de tinta biológica que genera una gotita 82 que se separa de la superficie libre 78 para desplazarse hacia la superficie de depósito 56.

En lo que sigue de la descripción, una dirección vertical es paralela a la fuerza gravitacional G y el sentido de arriba abajo corresponde al sentido de la fuerza gravitacional G.

La dirección del haz láser 66 y la dirección del movimiento de la gotita son paralelas a la dirección vertical.

Disparo hacia arriba:

Según una característica de la invención, el haz láser 66 y por tanto el movimiento de la gotita 82 están orientados en contrasentido con relación a la fuerza gravitacional G. De ese modo, la superficie libre 78 de la película 74 de tinta biológica está orientada hacia arriba. Durante el movimiento de la película 74 de tinta biológica hacia la superficie de depósito 56, la gotita 82 se desplaza hacia arriba, según el sentido de abajo arriba.

Esta configuración proporciona las siguientes ventajas:

- Limita la aparición de fenómenos de sedimentación, al estar la tinta biológica en la forma de una película,
- Permite obtener un grosor E para la película 74 de tinta biológica sustancialmente constante, estando limitada la influencia de la fuerza gravitacional G sobre la forma de la superficie libre 78 de la película 74 debido a que la superficie libre 78 está orientada hacia arriba,
- Permite utilizar una gran gama de tintas biológicas cuando se utiliza una capa absorbente 72 independiente de la película 74 de tinta biológica para transformar la energía luminosa en un calentamiento puntual.

Energía cinética casi nula en el momento del depósito de una gotita sobre el sustrato receptor:

La formación de una gotita 82 a partir de una película de tinta biológica dependerá de numerosos parámetros, esencialmente de las características de la tinta biológica, de las características del haz láser y de las condiciones de realización.

En las figuras 4A a 4D, se ha representado la evolución en el tiempo de la deformación de la superficie libre de la película de tinta biológica, que conduce o no a la formación de una gotita, para diferentes valores de la energía del haz láser 66, teniendo este último una energía de 21 μ J en la figura 4A, de 35 μ J en la figura 4B, de 40 μ J en la figura 4C y de 43 μ J en la figura 4D.

Para la misma tinta biológica y en las mismas condiciones de realización, se observa que existen varios regímenes en función de la energía del haz láser.

Como se ilustra en la figura 4A, si la energía del haz láser es inferior a un umbral inferior, la gotita no se separa de la película 74 de tinta biológica. Al ser inferior la altura máxima de la deformación 84 generada a nivel de la superficie libre 78 de la película 74 de la tinta a la distancia L que separa la película 74 y las superficies de depósito 56, no se imprime ningún elemento. Según el ejemplo elegido, el umbral inferior está comprendido entre 21 μ J y 35 μ J. Como se ilustra en la figura 4D, si la energía del haz láser es superior a un umbral superior, la burbuja de gas 80 producida en el interior de la película estallará a nivel de la superficie libre provocando la proyección incontrolada de microgotitas. Según el ejemplo elegido, el umbral superior está comprendido entre 40 μ J y 43 μ J.

Entre los umbrales inferior y superior, como se ilustra en las figuras 4B y 4C, se está en presencia de un régimen que permite la formación del chorro. Si la distancia L que separa la película 74 y la superficie de depósito 56 es suficiente, este régimen permite la formación de una gotita.

Preferentemente, la distancia L es del orden de 1 a 2 mm para permitir la formación de una gotita y no de un chorro continuo que se extiende desde la película hasta la superficie de depósito. Esta configuración limita los riesgos de contaminación del tejido biológico realizado por la tinta biológica.

5 Según otra característica de la invención, para la misma tinta biológica y en las mismas condiciones de realización, la distancia L que separa la película 74 de tinta y la superficie de depósito 56 y/o la energía del haz láser 66 se ajustan de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita 82 toca la superficie de depósito 56, como se ilustra en la figura 5D. Esta configuración limita el riesgo de daños a los elementos a imprimir que son células.

10 Por casi nula, se entiende que la energía cinética es nula o muy ligeramente positiva para permitir a la gotita fijarse sobre la superficie de depósito 56.

15 Esta circunstancia se hace posible debido a que la gotita 82 se desplaza en contrasentido con relación a la fuerza gravitacional G.

Preferentemente, la distancia L que separa la película 74 de tinta biológica y la superficie de depósito 56 es fija. Por consiguiente, la energía del haz láser 66 se ajusta de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita 82 toca la superficie de depósito 56.

20 Cualquiera que sea la aplicación, el hecho de imprimir con un régimen que conduce a un depósito a velocidad nula permite reducir los riesgos de salpicadura (splashing en inglés) de la gotita en el momento del contacto con la superficie de depósito.

25 Técnica de calibración:

Como se ha indicado anteriormente, la formación de la gotita no está vinculada únicamente la energía del haz láser. Está vinculada igualmente a la naturaleza de la tinta biológica particularmente a su viscosidad, a su tensión superficial y a las condiciones de realización.

30 En las figuras 5A a 5D, 7A a 7D, se ha ilustrado un procedimiento de calibración que permite determinar la energía del haz láser para obtener un régimen óptimo con relación a la formación y el depósito de las gotitas, particularmente un régimen que conduce a un depósito a velocidad nula a una distancia L dada.

35 En las figuras 5A a 5D, se han representado ciertas etapas de formación de una gotita 82 entre el instante del impacto del haz láser ilustrado en la figura 5A y el depósito de la gotita 82 sobre la superficie de depósito 56.

40 Según una característica de la invención, el procedimiento de calibración que permite ajustar la energía del láser comprende las etapas que consisten en medir un ángulo de punta θ de una deformación 86 de la superficie libre 78 de la película 74 de la tinta biológica en un instante T1 fijo después del impacto del haz láser 66 y en ajustar la energía del haz láser 66 en función del valor medido del ángulo de punta θ .

45 Como se ilustra en las figuras 5B, 7A y 7B, la deformación 86 tiene una forma simétrica con relación a un eje medio Am paralelo a la dirección vertical. Esta deformación 86 comprende un vértice S centrado con relación al eje medio Am. Este vértice S corresponde a la zona de la deformación 86 más alejada del resto de la superficie libre 78 de la película 74.

50 En un plano que contiene el eje medio Am, el vértice S se prolonga por un primer flanco 88 de un lado del eje medio Am y por un segundo flanco 88' del otro lado del eje medio Am, siendo simétricos los dos flancos 88, 88' con relación al eje medio Am.

Cada flanco 88, 88' comprende un punto de inflexión.

55 El primer flanco 88 comprende a nivel de su punto de inflexión una primera tangente Tg1 y el segundo flanco 88' comprende a nivel de su punto de inflexión una segunda tangente Tg2, siendo secantes las dos tangentes Tg1 y Tg2 en un punto del eje medio Am.

60 El ángulo de punta θ corresponde al ángulo formado por las agentes Tg1 y Tg2 y orientado hacia la película 74 (es decir hacia abajo).

Para obtener la formación de una gotita, el ángulo de punta θ debe ser inferior o igual a un primer umbral θ_1 .

65 De este modo, como se ha ilustrado en la figura 7A, si el ángulo de punta θ es superior al primer umbral θ_1 , la energía del haz láser no es suficiente para generar una gotita. Por el contrario, como se ilustra en la figura 7B, si el ángulo de punta θ es inferior al primer umbral θ_1 , la energía del haz láser es suficiente para generar una gotita.

Para obtener una energía cinética casi nula en el momento en que la gotita formada alcanza la superficie de depósito 56 colocada a una distancia L de la superficie libre 78 de la película 74, el ángulo de punta θ debe ser superior o igual a un segundo umbral θ_2 .

- 5 Preferentemente, el valor del ángulo de punta θ se determina gracias a una vista tomada en el instante T1 de la deformación 86. Según un modo de realización, la toma de la vista se realiza gracias a una cámara cuyo eje de visión es perpendicular a la dirección vertical.

- 10 El instante T1 es función del grosor de la película y varía muy poco de una tinta a otra. Ventajosamente, el instante T1 es del orden de 4 a 5 μs a contar desde el impacto del haz láser para un grosor E de película del orden de 40 a 50 μm . Este instante T1 corresponde a la figura 5B.

- 15 El primer umbral θ_1 es aproximadamente igual a 105° . De este modo, si en el instante T1 el ángulo de punta θ es inferior o igual a 105° , la energía del haz láser es suficiente para generar una gotita 82.

- El segundo umbral θ_2 es función de la distancia L entre la superficie de depósito 56 y la superficie libre 78 de la película 74 de la tinta. El segundo umbral θ_2 es inversamente proporcional a la distancia L.

- 20 El segundo umbral θ_2 es elevado e igual a aproximadamente 80° para una distancia L reducida del orden de 1 mm. La elección de una distancia L relativamente reducida se favorece para reducir las limitaciones en el chorro y en el momento del contacto de las gotitas con la superficie de depósito. El segundo umbral θ_2 es reducido e igual a aproximadamente 50° para una distancia L grande del orden de 10 mm. La elección de una distancia L relativamente grande se favorece si se desea imprimir a larga distancia, por ejemplo, si el soporte donador 70 tiene unas dimensiones mayores que las del foso en el fondo del que se coloca la superficie de depósito 56.

- 25 Esta técnica de calibración de la energía del haz láser permite optimizar la velocidad del chorro reduciéndola para limitar los riesgos de daño a los elementos contenidos en la tinta particularmente en el momento del depósito sobre la superficie de depósito 56.

- 30 Grosor de la película de tinta:

Preferentemente, la tinta biológica comprende una elevada concentración de elementos a imprimir 62 con el fin de obtener un tejido biológico con elevada concentración de células.

- 35 En este caso, como se ilustra en la figura 3, la gotita 82 comprende una alta fracción en volumen de elementos a imprimir 62.

Para las tintas biológicas de elevada concentración, el grosor de la película 74 es del orden de 40 a 60 μm .

- 40 Ventajosamente, para mejorar la precisión del depósito de los elementos a imprimir, la película 74 de tinta biológica tiene un grosor E comprendido entre 1,5 D y 2 D, siendo D el diámetro de los elementos a imprimir 62 que tienen una forma aproximadamente esférica o el diámetro de una esfera en la que se inscribe al menos un elemento a imprimir 62.

- 45 Según un modo de realización, la película 74 de tinta biológica tiene un grosor E superior o igual a 20 μm para los elementos más pequeños a imprimir que tienen un diámetro del orden de 10 a 15 μm . El grosor E de la película puede ser del orden de 400 μm cuando los elementos a imprimir 62 son agregados de células.

- 50 Generalmente, el grosor E de la película es inferior a 100 μm cuando los elementos a imprimir 62 son células unitarias.

- 55 Preferentemente, la película 74 se caracteriza por una relación (dimensión de la superficie libre 78)/(grosor de la película 74) superior o igual a 10 y ventajosamente superior o igual a 20. La dimensión de la superficie libre 78 corresponde a la mayor dimensión de la superficie libre 78 de la película 74 tomada en un plano paralelo al plano de impacto P_i .

Técnica de impresión que combina un cabezal de impresión de tipo láser y un cabezal de impresión de boquilla:

- 60 Según otra característica de la invención, el procedimiento de impresión utiliza al menos un cabezal de impresión de tipo láser para al menos una primera tinta biológica y al menos un cabezal de impresión de boquilla para al menos una segunda tinta biológica.

Esta combinación permite aumentar la velocidad de fabricación.

- 65 Por cabezal de impresión de boquilla, se entiende un cabezal de impresión que comprende un orificio a través del que pasa la segunda tinta biológica. De este modo, un cabezal de impresión de boquilla puede ser un cabezal de

impresión de tipo chorro de tinta, un cabezal de impresión por microválvulas, un cabezal de impresión de tipo bioextrusión.

Preferentemente, cada cabezal de impresión de tipo láser es idéntico al descrito en la figura 3. Sin embargo, la invención no está limitada a este cabezal de impresión de tipo láser.

De este modo, se puede concebir la utilización de cabezales de impresión de tipo láser descritos en las figuras 1 y 2 u otros.

Los cabezales de impresión de boquilla no se describen porque son preferentemente idénticos a los de la técnica anterior.

En el caso de un tejido biológico que comprende células disjuntas separadas por materiales extracelulares, los materiales extracelulares se depositan preferentemente por el o los cabezal(es) de impresión de boquilla y las células se depositan preferentemente por el o los cabezal(es) de impresión de tipo láser.

Al ser los materiales extracelulares menos sensibles a los efectos de cizallamiento, es posible depositarlos con un cabezal de impresión de boquilla. Teniendo los cartuchos de tinta biológica destinados a los cabezales de impresión una boquilla que tiene un volumen muy netamente superior al volumen de tinta (del orden de 40 µl) soportada por un soporte donador 70 destinado a un cabezal de impresión de tipo láser, es posible depositar los materiales de la matriz extracelular con una gran velocidad. Incluso aunque el cabezal de impresión de boquilla es capaz de depositar las tintas con una gran velocidad, al soportar cada soporte donador destinado a un cabezal de impresión de tipo láser un volumen muy reducido de tinta, es necesario cambiarlos frecuentemente lo que tiende a aumentar el tiempo de depósito con relación a un cabezal de impresión de boquilla.

Según otra característica, el o los cabezal(es) de impresión de tipo láser y el o los cabezal(es) de impresión de boquilla están integrados en una misma máquina y se desplazan con la misma referencia. Esta configuración permite simplificar el posicionamiento relativo de los diferentes cabezales de impresión, mejorar la precisión de depósito y garantizar la integridad de los elementos impresos.

Dispositivo de impresión que comprende un recinto de almacenamiento de soportes donadores:

En las figuras 8 a 11, se ha representado un dispositivo de impresión según un modo de realización de la invención.

Este dispositivo de impresión comprende un bastidor 100 que soporta un cabezal de impresión 102 de tipo láser y varios cabezales de impresión 104, 104', 104" de tipo chorro de tinta. Este bastidor 100 comprende una referencia X, Y, Z, estando orientado al eje Z según la dirección vertical, correspondiendo el plano X, Y a un plano horizontal.

Los cabezales de impresión 102, 104, 104', 104" son fijos con relación al bastidor 100 y situados de manera que las gotitas se emitan verticalmente, hacia arriba.

Los cabezales de impresión 102, 104, 104', 104" están desfasados según una primera dirección paralela al eje Y. Según un modo de realización, los cabezales de impresión 104, 104', 104" de tipo chorro de tinta están juntos unos contra otros. El cabezal de impresión 102 de tipo láser está separado de los cabezales de impresión 104, 104', 104" del tipo de chorro.

El dispositivo de impresión comprende igualmente un chasis móvil 106, un sistema de guiado y de desplazamiento del chasis móvil 106 con relación al bastidor 100 según tres direcciones paralelas a los ejes X, Y, Z y un sistema de mando que permite controlar los desplazamientos del chasis móvil 106. El sistema de guiado y de desplazamiento y el sistema de control se eligen de manera que alcancen una precisión micrométrica con referencia a los desplazamientos del chasis móvil 106 con relación al bastidor.

Como se ilustra en la figura 10, el chasis móvil 106 comprende un marco 108 que permite fijar de manera extraíble al menos un sustrato receptor 58. Cuando está unido al chasis móvil, los desplazamientos del sustrato receptor 58 se controlan con una precisión micrométrica.

El cabezal de impresión 102 de tipo láser comprende un cuerpo hueco cilíndrico 110, fijo con relación al bastidor, que contiene una parte del sistema óptico y que está coronado con una parte tubular 112 que comprende un extremo superior 114 situado tal que conduce a un plano horizontal. Estos elementos se configuran de manera que un haz láser guiado por el sistema óptico barra la sección del extremo superior 114.

Cada soporte donador 70 tiene la forma de un disco situado sobre un pedestal 116.

Según un modo de realización ilustrado en la figura 11, cada pedestal 116 tiene la forma de un tubo que comprende a la altura de su borde superior un rebaje 118 que tiene un diámetro idéntico al de un soporte donador 70 y una altura suficiente para mantenerlo. De este modo, este rebaje 118 permite situar un soporte donador 70 con relación

al pedestal que lo recibe.

El extremo superior 114 y el pedestal 116 tienen formas que cooperan entre sí de manera que el pedestal 116 queda inmovilizado según una posición dada con relación al extremo superior 114 y por tanto con relación a la referencia X, Y, Z del bastidor. Según un modo de realización, el pedestal 116 comprende un collarín 120 exterior que apoya contra el extremo superior 114 y permite posicionar el pedestal según el eje Z. Por encima del collarín 120, el pedestal 116 comprende una superficie troncocónica 122 que coopera con una parte troncocónica prevista en el interior de la parte tubular 112. Estas formas permiten centrar el pedestal 116 con relación a la parte tubular 112 y posicionarle en un plano XY. Preferentemente, es posible utilizar materiales magnéticos para mejorar el posicionamiento del pedestal 116 con relación a la parte tubular 112.

Ventajosamente, el dispositivo de impresión comprende un recinto 124 configurado para almacenar al menos un pedestal 116. Este recinto 124 comprende el menos una abertura 125 que permite hacer entrar y salir el o los pedestales 116 almacenados. Según un modo de realización, cada recinto 124 tiene una forma paralelepípedica.

Preferentemente, el recinto 124 tiene dimensiones adaptadas para poder almacenar varios pedestales. De este modo, el dispositivo de impresión puede imprimir sucesivamente varias tintas biológicas con el mismo cabezal de impresión 102 de tipo láser.

Los pedestales 116 se almacenan sobre la base 126 que comprende unos alojamientos 128, un alojamiento para cada pedestal 116. La base 126 tiene una forma alargada y comprende sobre su longitud unas muescas 128 en U. Según una primera variante ilustrada en la figura 9, la longitud de la base 126 está orientada según el eje Y.

Según una segunda variante favorecida, la longitud de la base 126 está orientada según el eje X y las muescas 128 están abiertas en dirección a los cabezales de impresión.

Ventajosamente, el recinto 124 comprende en una primera cara orientada hacia los cabezales de impresión una primera abertura 125 que permite hacer salir los pedestales 116 y sobre otra cara una segunda abertura 125' que permite introducir los pedestales 116.

Según un modo de realización, el recinto 124 comprende un sistema de guiado para posicionar la base 126, por ejemplo, un rail, comprendiendo la base 126 en la parte inferior una ranura cuya sección coopera con la del rail. Este rail desemboca a nivel de la segunda abertura 125'. Está orientado preferentemente según el eje X.

El recinto 124 comprende unos medios de confinamiento para conservar en el interior del recinto una atmósfera adaptada a las tintas biológicas, particularmente en temperatura y/o en higrometría. Estos medios de confinamiento se prevén particularmente a la altura de cada abertura 125, 125'. Pueden tomar la forma de una barrera o de una cortina de aire.

Como complemento del recinto, el dispositivo de impresión comprende una garra móvil 130 para desplazar los pedestales entre el recinto 124 y el cabezal de impresión 102 de tipo láser. Según una primera variante, la garra móvil 130 está unida a un carrito móvil 132, independiente del chasis móvil 106, que se configura para desplazarse según las direcciones X, Y, Z.

Según otra variante, la garra móvil 130 está unida al chasis móvil 106.

Según un modo de realización, el dispositivo de impresión comprende un aparato de captura de imagen (no representado) cuyo eje de visión es perpendicular a la dirección vertical y orientado a nivel de la superficie superior del soporte donador. Este aparato puede utilizarse para calibrar la energía del haz láser del cabezal de impresión 102 de tipo láser.

Procedimiento de realización de un tejido biológico por bioimpresión:

La primera etapa de dicho procedimiento consiste en generar una representación digital en tres dimensiones del tejido biológico a imprimir.

En la figura 12, se ha representado 140 una parte de una representación de ese tipo en la forma de un cubo que comprende una primera zona volumétrica 142 colocada en el interior de una segunda zona volumétrica 144 a su vez dispuesta en una tercera zona volumétrica 146. Por necesidades de la descripción, la representación 140 está grandemente simplificada.

Cada zona volumétrica 142, 144, 146 está coloreada o texturada de modo diferente, correspondiendo cada color o textura a un conjunto de características entre las siguientes características (no limitadas) de material, medio de fabricación, trayectoria, ...

Preferentemente, cada color o textura corresponde a una tinta biológica.

Todas las zonas volumétricas 142, 144 y 146 están cerradas.

- 5 Ventajosamente, la representación comprende una pluralidad de pequeños volúmenes elementales que tienen colores o texturas diferentes en función de la zona volumétrica a la que pertenecen. Según un modo de realización, la representación 140 procede de un fichero informático de tipo PLY.

- 10 La segunda etapa del procedimiento consiste en recortar la representación 140 en una sucesión de capas superpuestas según un eje Z. En la figura 13, se ha aislado una capa 148 de la representación 140.

Durante el recorte de la representación 140, a la derecha de un cambio de la zona volumétrica, cada capa comprende una arista que corresponde a un cambio de zona.

- 15 Como se ilustra en la figura 13, la capa 148 comprende una primera zona 142' que corresponde a la primera zona volumétrica 142, una segunda zona 144' que corresponde a la segunda zona volumétrica 144 y una tercera zona 146' que corresponde a la tercera zona volumétrica 146. Para cada capa, las zonas 142', 144', 146' están coloreadas o texturadas en función del color o textura de las zonas volumétricas 142, 144, 146.

- 20 Cada capa tiene un grosor ϵ que se determina en función de la altura de las gotitas impresas.

Si la capa no comprende más que un único material a imprimir, la capa tiene un grosor sustancialmente igual a la altura de una gotita.

- 25 Cuando la capa comprende varios materiales a imprimir, según una primera variante, la capa tiene un grosor igual al más pequeño común múltiplo de las alturas de las gotitas asociadas a cada material. Esta variante tiene como ventaja minimizar el desfase entre toda la altura del objeto a imprimir y conseguir una impresión rápida.

- 30 Según una segunda variante, la capa tiene un grosor igual al más grande común divisor de las alturas de las gotitas asociadas a cada material. Esta variante tiene como ventaja aumentar la resolución y el número de capas.

- 35 A modo de ejemplo, si el primer material se imprime mediante bioimpresión por láser, las gotitas impresas tienen una altura del orden de 10 μm . Si el segundo material se imprime mediante bioimpresión por microválvulas, las gotitas impresas tienen una altura del orden de 100 μm . Según la primera variante, las capas tienen un grosor del orden de 100 μm . Según la segunda variante, las capas tienen un grosor del orden de 10 μm . Preferentemente, cada capa comprende una pluralidad de pequeños polígonos elementales, por ejemplo, triángulos que tienen colores diferentes en función de la zona a la que pertenecen.

- 40 De este modo, el objeto a imprimir corresponde a un conjunto de capas que comprenden cada una conjuntos de polígonos que tienen cada uno un color o una textura asociados.

- 45 Una tercera etapa del procedimiento consiste en determinar para cada capa la posición de las gotitas a imprimir de cada tinta biológica en función de las zonas 142', 144', 146' coloreadas o texturadas y del volumen previsto de cada una de las gotitas. Con este fin, cada zona 142', 144', 146' de cada capa se rellena por unas elipses 142'', 144'', 146'' cuyas dimensiones son función de las dimensiones de las gotitas de la tinta biológica destinada a ser impresa en dicha zona, como se ilustra en la figura 14.

Para cada zona, las elipses tienen las mismas dimensiones. Todas las elipses tienen unos ejes focales paralelos.

- 50 La forma elíptica permite poder adaptar las distancias entre las gotitas según dos direcciones (una primera dirección paralela a los ejes focales y una segunda dirección perpendicular a la primera).

El centro de cada elipse corresponde a la posición del centro de una gotita.

- 55 El posicionamiento de las elipses se realiza zona por zona, por orden decreciente de grosores. De este modo, las elipses más gruesas dispuestas en la zona 146' se posicionan en primer lugar y las elipses más pequeñas dispuestas en la zona 142' se posicionan en último lugar.

Preferentemente, a nivel de un cambio de zona, la optimización del posicionamiento se realiza según dos criterios:

- 60
- relación máxima de los polígonos elementales que tienen un buen color o textura en el seno de una elipse, del orden del 75 %, por ejemplo,
 - relación mínima de polígonos elementales que tienen un mal color o textura en el seno de una elipse, del orden del 5 %, por ejemplo.
- 65

Pueden tolerarse los solapamientos entre elipses.

Una cuarta etapa del procedimiento consiste en sincronizar el desplazamiento de la superficie de depósito 56 sobre la que se imprimen las gotitas de tinta biológica y los diferentes cabezales de impresión.

Para una bioimpresión por láser, la zona de enfoque del láser es el centro de cada elipse impresa por el láser y cada elipse es el objeto de un pulso láser. En este caso, la superficie de depósito es fija, es el láser el que barre toda la superficie de depósito. Para una superficie de depósito mayor que el soporte donador, es posible desplazar igualmente el sustrato (sobre el que se refieren las superficies de depósito) de manera sincronizada con el barrido del láser.

Para una bioimpresión de boquilla, el centro de cada elipse corresponde al punto de impacto supuesto de una gotita sobre la superficie de depósito 56. En este caso, la boquilla de impresión es fija, es el sustrato el que se desplaza. No obstante, la boquilla de impresión podría ser móvil.

Aplicaciones:

La bioimpresión según la invención puede utilizarse para producir:

- Tejidos implantables para la medicina regeneradora,
- Tejidos individualizados, realizados a partir de las células del paciente, permitiendo seleccionar *in vitro* los tratamientos y desarrollar soluciones terapéuticas personalizadas,
- Modelos predictivos que reproducen la fisiología de tejidos humanos sanos o de tejidos afectados por una patología para probar de manera predictiva la eficacia o la toxicidad de las moléculas, de ingredientes y de medicamentos candidatos.

A modo de ejemplo y de manera no limitativa, el tejido biológico es un tejido óseo.

Aunque se ha descrito aplicada a tintas biológicas, la invención no está limitada a esta aplicación. De este modo, el procedimiento y el dispositivo según la invención pueden utilizarse para imprimir no importa qué tinta líquida, en la forma de solución o de suspensión. Entre otras tintas utilizables, se pueden citar de manera no limitativa las tintas utilizadas en los revestimientos en electrónica, en los materiales o en relojería.

A modo de ejemplo y de manera no limitativa, las tintas pueden estar compuestas:

- De metales preciosos (particularmente oro, plata, platino, rodio y paladio) o semipreciosos (titanio, circonio, cobre),
- De aleaciones funcionales,
- De materiales orgánicos,
- De sistemas sol-gel,
- De cerámicas o microcompuestos o nanocompuestos.

Los diferentes materiales permiten realizar diferentes tipos de revestimientos:

- Anticorrosivos,
- Con alta resistencia química,
- Biofuncionales (antibacterianos, antimicrobianos, biocompatibles),
- Para contacto alimentario,
- De modificación de la energía superficial,
- Antiadhesivos,
- Electrotécnicos (aislantes, antiestáticos o conductores),
- Anti-desgastes,
- De modificación de las propiedades ópticas (antirreflejos, fotocatalíticos, barreras a IR/IV),
- De modificación del sentido háptico,
- Permitiendo reducir el coeficiente de fricción,
- Permitiendo aumentar la durabilidad a la alta temperatura,...

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de impresión de al menos una tinta, comprendiendo dicho procedimiento una etapa de enfoque de un haz láser (66) de manera que genere una cavidad en una película (74) de tinta, una etapa de formación de al menos una gotita (82) de tinta a partir de una superficie libre (78) de la película (74) de tinta y una etapa de depósito de dicha gotita (82) sobre una superficie de depósito (56) de un sustrato receptor (58) situado a una distancia dada (L) de la película (74), estando orientado el haz láser (66) en contrasentido con relación a la fuerza gravitacional (G), estando orientada la superficie libre (78) de la película hacia arriba en dirección a la superficie de depósito (56) colocada por encima de la película (74) de tinta **caracterizado por que** la distancia (L) que separa la película (74) de tinta y la superficie de depósito (56) y/o la energía del haz láser (66) se ajustan de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita (82) toca la superficie de depósito (56).
2. Procedimiento de impresión según la reivindicación 1, **caracterizado por que** la película (74) tiene un grosor inferior a 500 μm .
3. Procedimiento de impresión según la reivindicación 1 o 2, **caracterizado por que** la película tiene una relación de dimensión de la superficie libre de la película (74) sobre grosor de la película (74) superior o igual a 10.
4. Procedimiento de impresión según la reivindicación 1, **caracterizado por que** la distancia (L) que separa la película (74) de tinta y la superficie de depósito (56) es de 1 a 2 mm y **por que** la energía del haz láser (66) se ajusta de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita (82) toca la superficie de depósito (56).
5. Procedimiento de impresión según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** el procedimiento de impresión comprende una fase previa de calibración de la energía del haz láser que comprende una etapa de medida de un ángulo de punta (Θ) de una deformación (86) de la superficie libre (78) de la película (74) de tinta en un instante (TI) fijo después del impacto del haz láser (66) y una etapa de ajuste de la energía del haz láser (66) en función del valor medido del ángulo de punta (Θ).
6. Procedimiento de impresión según la reivindicación 5, **caracterizado por que** la energía del haz láser se ajusta de manera que el ángulo de punta (Θ) sea inferior o igual a 105°.
7. Procedimiento de impresión según la reivindicación 5 o 6, **caracterizado por que** la energía del haz láser se ajusta de manera que el ángulo de punta (Θ) sea superior o igual a un segundo umbral para obtener una energía cinética casi nula en el momento en que la gotita formada alcanza la superficie de depósito (56).
8. Procedimiento de impresión según la reivindicación anterior, **caracterizado por que** el segundo umbral es función de la distancia (L) entre la superficie de depósito (56) y la superficie libre (78) de la película (74) de la tinta.
9. Procedimiento de impresión según la reivindicación anterior, **caracterizado por que** el segundo umbral es igual a aproximadamente 80° para una distancia (L) del orden de 1 mm.
10. Procedimiento de impresión según una de las reivindicaciones 5 a 9, **caracterizado por que** el instante (TI) de medida del ángulo de punta (Θ) es del orden de 4 a 5 μs a contar desde el impacto del haz láser (66).
11. Procedimiento de impresión según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la película de tinta tiene un grosor superior a 20 μm .
12. Procedimiento de impresión según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizado por que** la película de tinta tiene un grosor comprendido entre 40 y 60 μm para las tintas biológicas con una alta concentración de elementos a imprimir (62).
13. Procedimiento de impresión según una de las reivindicaciones 1 a 11, **caracterizado por que** para una tinta biológica con una baja concentración de elementos a imprimir (62), la película (74) de tinta biológica tiene un grosor comprendido entre 1,5 D y 2 D, siendo D el diámetro de los elementos a imprimir (62) que tienen una forma aproximadamente esférica o el diámetro de una esfera en la que se inscribe un elemento a imprimir (62).
14. Dispositivo de impresión para la implementación del procedimiento de impresión según una de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo dicho dispositivo de impresión:
 - al menos una fuente láser (64) de pulsos, configurada para emitir un haz láser (66),
 - un sistema óptico (68) para enfocar y orientar dicho haz láser (66),
 - al menos un soporte donador (70) sobre el que se coloca una película (74) de al menos una tinta con una superficie libre (78) y
 - al menos un sustrato receptor (58) que comprende una superficie de depósito (56) colocada a una distancia dada (L) de la película (74), **caracterizado por que** el haz láser (66) está orientado en contrasentido con relación a la fuerza gravitacional (G) y **por que** la superficie libre (78) de la película está orientada hacia arriba en

dirección a la superficie de depósito (56) colocada por encima de la película de tinta,
- ajustándose la distancia (L) que separa la película (74) de tinta y la superficie de depósito (56) y/o la energía del haz láser (66) de modo que la energía cinética de la gotita sea casi nula cuando la gotita (82) toca la superficie de depósito (56).

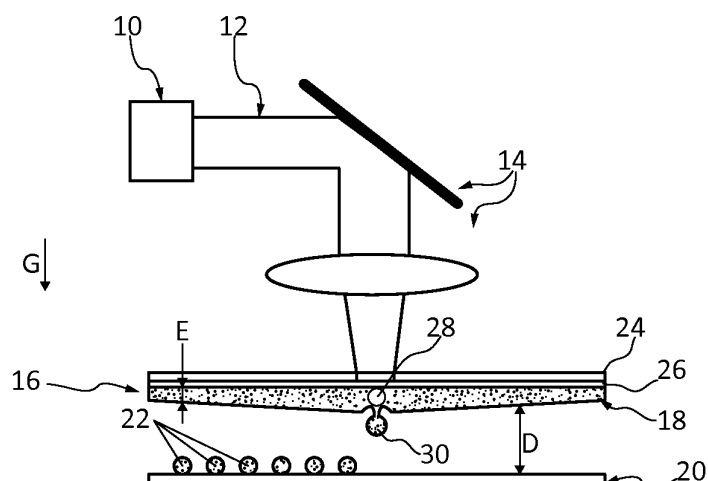


FIG. 1
Técnica anterior

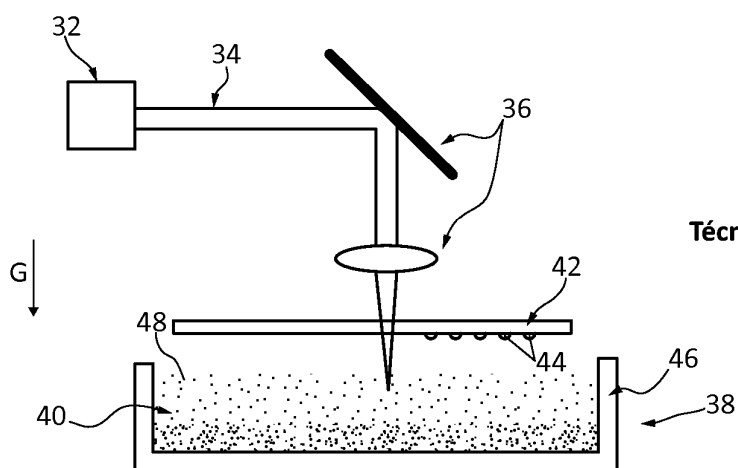


FIG. 2
Técnica anterior

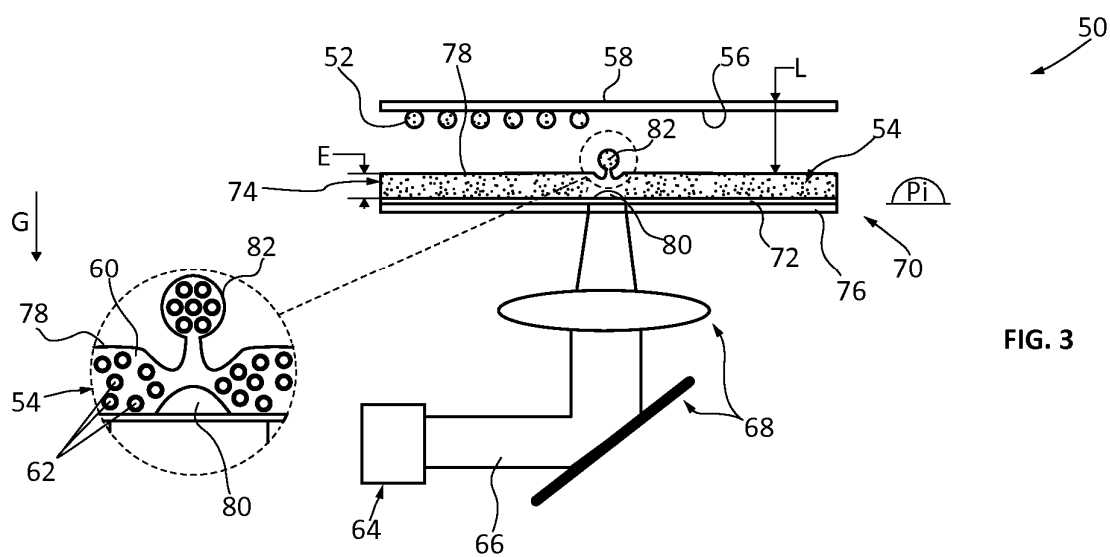


FIG. 3

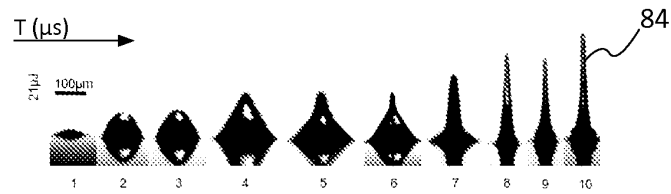


FIG. 4A



FIG. 4B



FIG. 4C

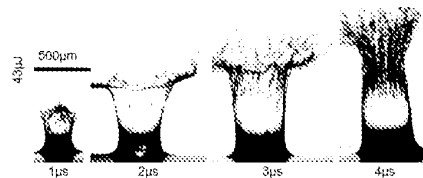


FIG. 4D

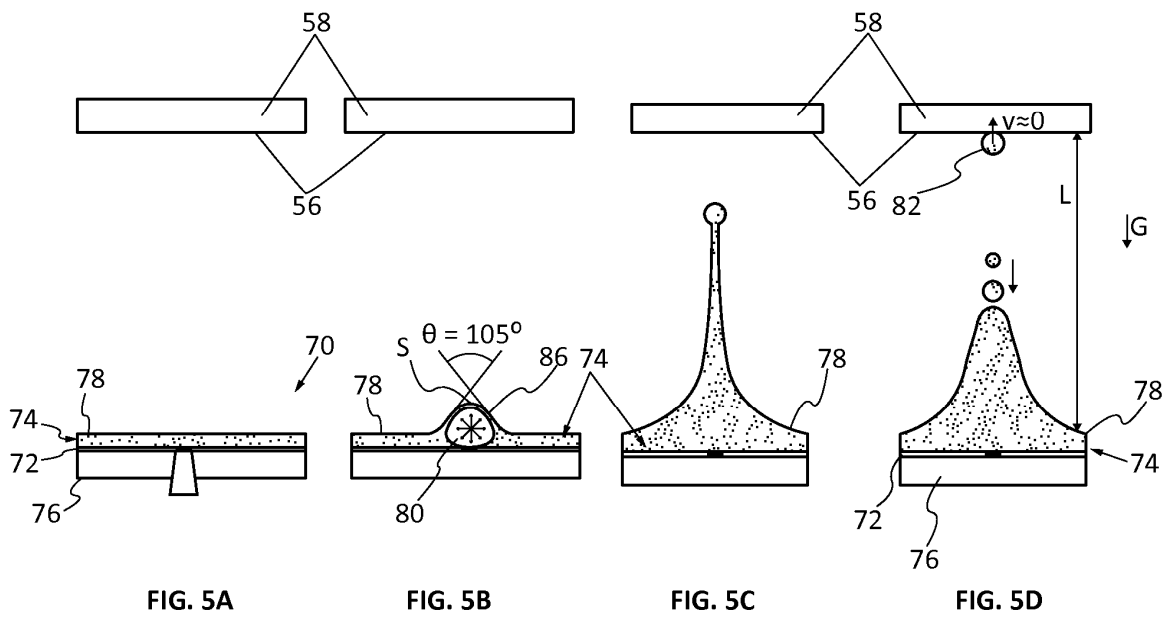


FIG. 5A

FIG. 5B

FIG. 5C

FIG. 5D

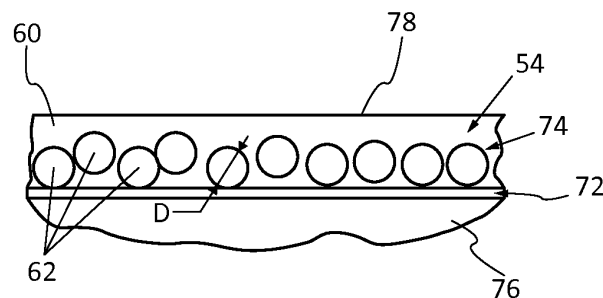
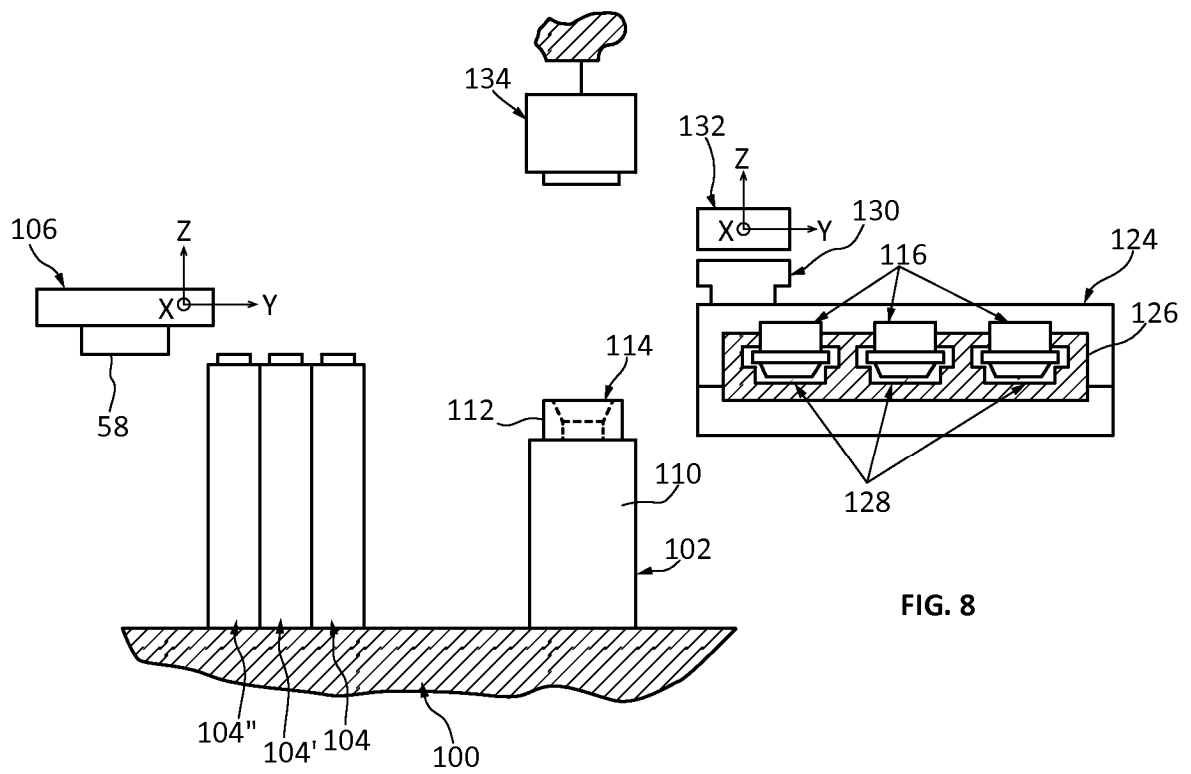
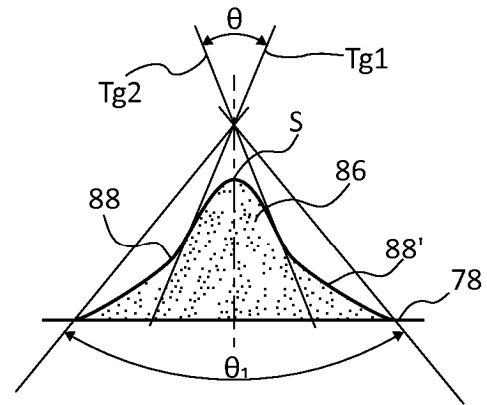
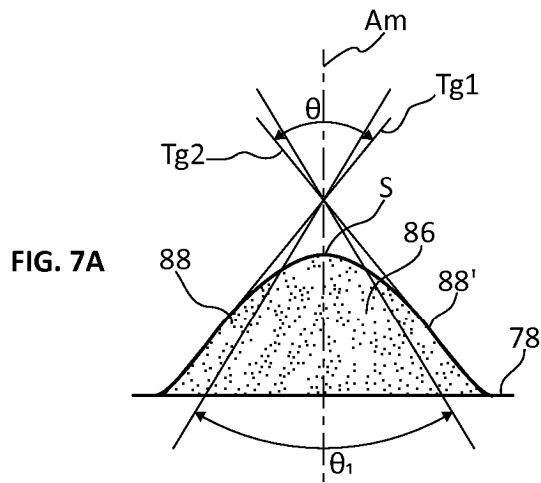
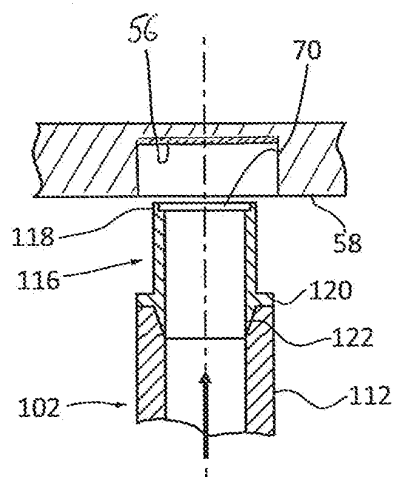
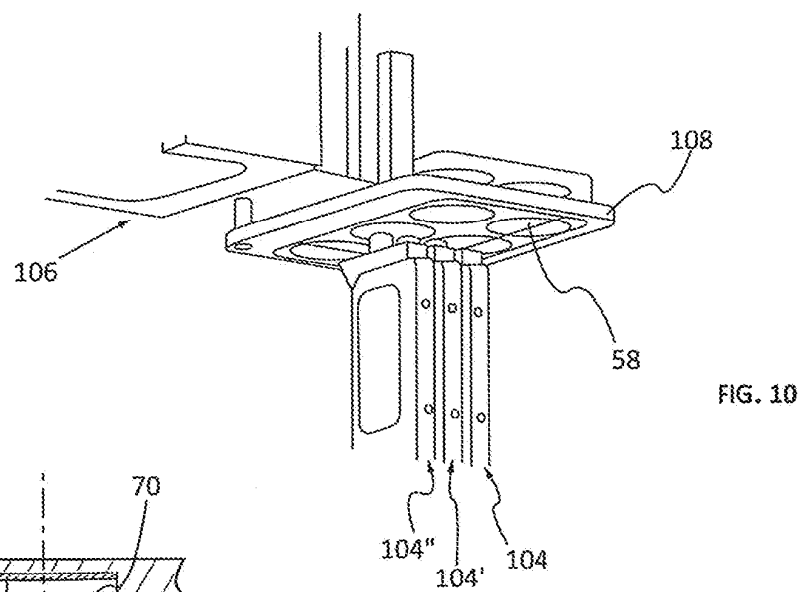
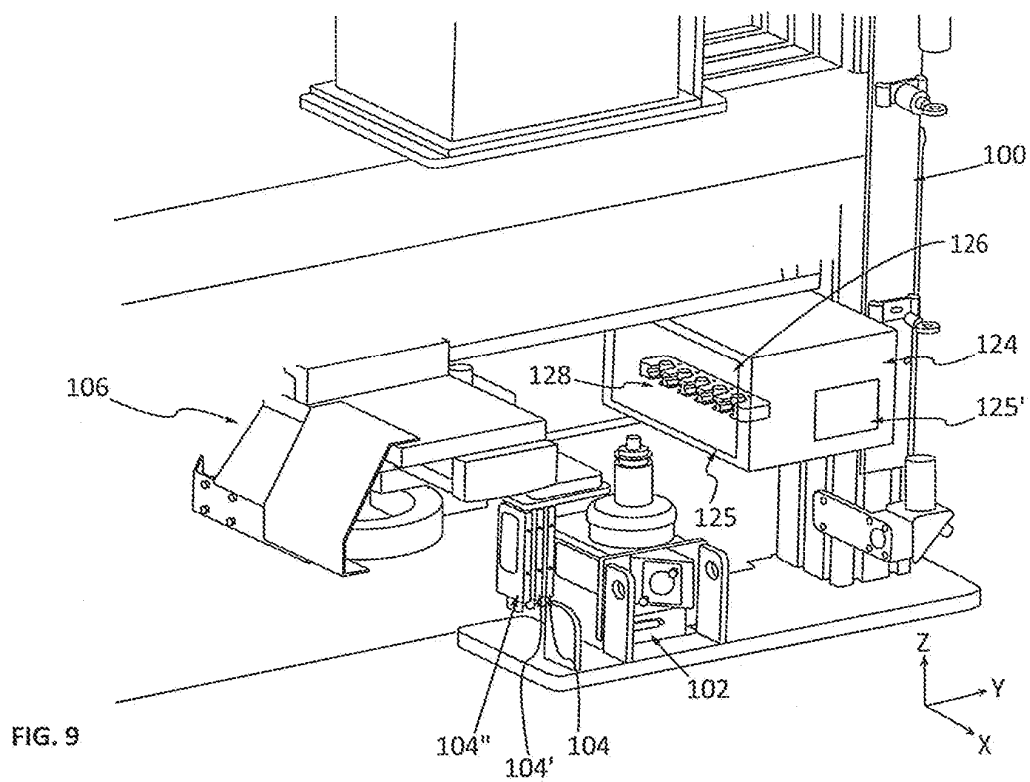


FIG. 6





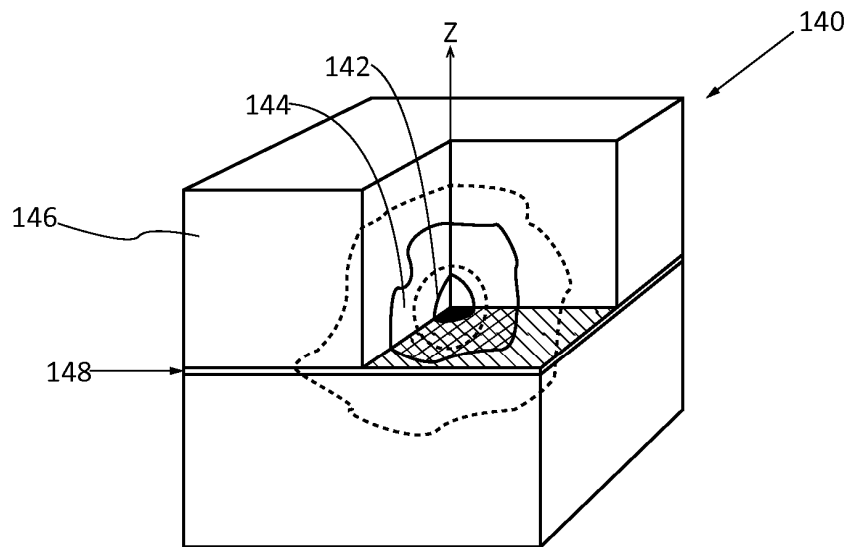


FIG. 12

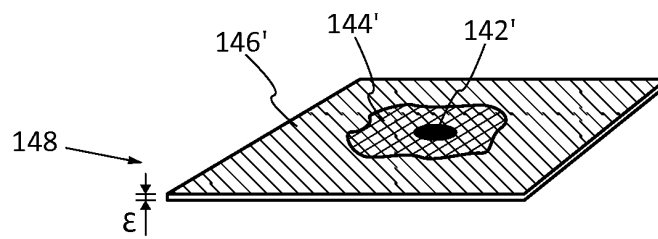


FIG. 13

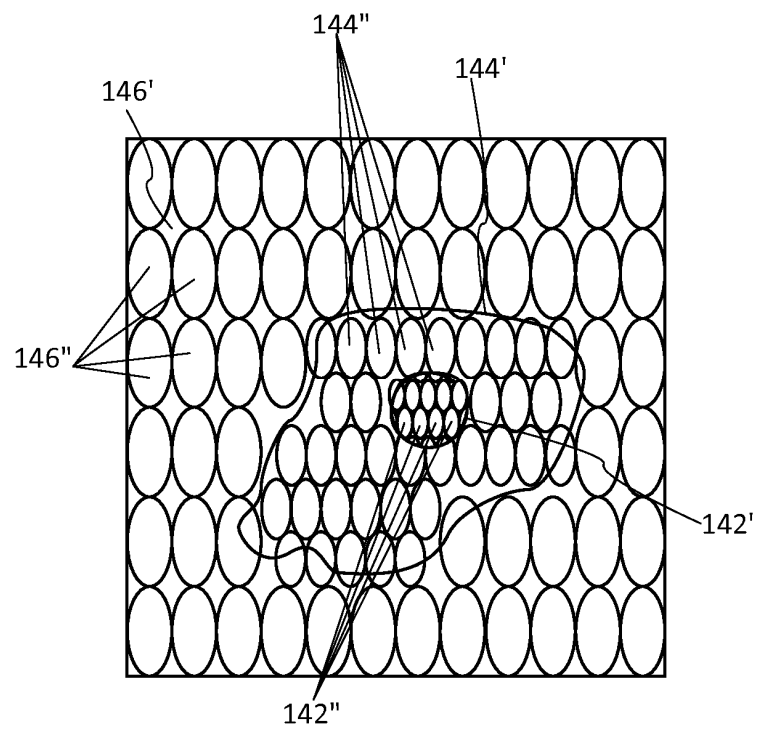


FIG. 14