L10- Laboratorul de Micro și Nanofluidică

Laboratorul de micro- și nano-fluidică este rezultatul proiectului multidisciplinar POSCCE, O.2.1.2 Nr. 209, ID 665, Fabrică microfluidică pentru auto-asamblarea asistată a nanosistemelor (MICRONANOFAB), care a reunit specialişti din domeniul micro- nanotehnologiei, chimiei, biologiei moleculare, și care a avut ca *obiectiv fundamental* realizarea până la nivel de prototip a unui sistem microfluidic integrat capabil să dozeze, să încapsuleze și să livreze la ţintă, diferite substanţe pentru tratament medical.

1. Misiune

Cercetare, dezvoltare și educaţie în domeniul micro și nano-fluidicii. Principala preocupare a laboratorului este modelarea, simularea și proiectarea dispozitivelor microfluidice de tipul lab-on-a-chip pentru aplicaţii în diagnoze clinice și medicină regenerativă.

2. Domenii de activitate

- ✓ Modelare CFD (Computational Fluid Dynamics) a curgerii fluidelor Newtoniene și Ne-Newtoniene
- ✓ Proiectarea dispozitivelor microfluidice pentru aplicaţii în diagnoze clinice și medicină regenerativă.
- ✓ Investigarea reologică și a curgerii fluidelor la scară micrometrică și aplicațiile acesteia pentru optimizarea dispozitivelor de tipul lab-on-a-chip
- ✓ Nano- și microtehnologie experimentală
- ✓ Determinarea câmpurilor de viteze cu ajutorul sistemului μ-PIV
- ✓ Bioinginerie
- ✓ Fizica curgerii în microcanale
- ✓ Transport molecular în dispozitive microfluidice
- ✓ Vizualizarea și caracterizarea curgerii

3. Echipă

1. **Dr. Marioara Avram –** CS I – coordonator laborator- competențe în: modelare, simulare, proiectare, microfabricație și caracterizare dispozitive microfluidice (lab-on-a-chip) cu biosenzori integrați;
2. **Dr. Cătălin Valentin Mărculescu –** CS III - modelare și simulare a curgerii fluidelor Newtoniene și Ne-Newtoniene, curgeri mono și multifazice, amestecare, turbulență, transfer de căldură, implementarea unor funcții definite de utilizator pentru setarea unor parametri de curgere adiționali, magnetohidrodinamică, manipularea particulelor utilizând dielectroforeza și magnetoforeza;
3. **Dr. Andrei Marius Avram** – CS III - fizician, microtehnologie experimentală: procese uscate asistate de plasmă reactivă, microprelucrarea polimerilor, sticlei și a siliciului, designul, fabricare și caracterizarea dispozitivelor microfluidice de tipul lab-on-a-chip;
4. **Dr. Alina Matei** – CSIII - inginer chimist, sinteza materialelor nanostructurate şi a nanocompozitelor hibride, procese termice şi caracterizarea nanomaterialelor;
5. **Drd. Vasilica Tucureanu – CS III - chimist,** sinteza materialelor anorganice nanostructurate, studiul nanocompozite hibride, procese termice, optoelectronică, electrochimie, chimie analitică, configurare substrat;

6. **Drd. Tiberiu Alecu Burinaru** – Asistent de cercetare - modelări nanofluidice privind interacțiile biomoleculare, anatomie patologică, imunologie, modelarea formării complexelor imune.
7. **Drd. Cătălina Bianca Țîncu** – Asistent de cercetare - set-up experimental pentru caracterizarea și testarea biosenzorilor integrați pe platforme microfluidice; sinteza și caracterizarea nanomaterialelor carbonice.

4. Echipamente

Tehnologie: (1) ***ICP-RIE: Plasmalab System 100- ICP – Sistem de corodare uscată adâncă pe bază de ioni reactivi:*** Corodare: proces Bosch pentru Si şi SOI, proces criogenic pentru Si; (2) ***Reactive Ion Etching (RIE): Sistem de corodare uscată pe bază de ioni reactivi - Etchlab 200***: orodare dielectrici, semiconductori, polimeri, metale; (3) ***Instalație de depunere chimică din fază de vapori asistată de plasmă (PECVD)***: Depunere: oxid de siliciu, nitrură de siliciu; (4) ***Wafer Bonder System – SB6L – Sistem de lipire substraturi – plachetă***: Lipire Si pe Si, sticlă pe Si, cu polimer la temperatură/sub presiune; (5) ***Instalație de depunere chimică din fază de vapori (PECVD) pentru materiale carbonice: Nanofab 1000*** (5) Creștere: Grafenă, Nanotuburi de Carbon; (6) ***Instalație de depunere prin pulverizare catodică (RF SPuttering): PlasmaPro 400***: (6) Depunere: Ti, TiO_2, TiN, SiO_2, și alte metale magnetice/nemagnetice sau izolatoare.

Caracterizare: (1) ***Sistem Micro – PIV pentru Microfluidică***: Măsurători câmpuri de viteze, distribuții de temperatură și concentrații în curgeri microfluidice; (2) ***Refractometru pentru măsurarea grosimii straturilor – NanoCalc-XR***: Măsurători ale grosimilor straturilor de material, ale filmelor subțiri, măsurători ale indicelui de refracție.

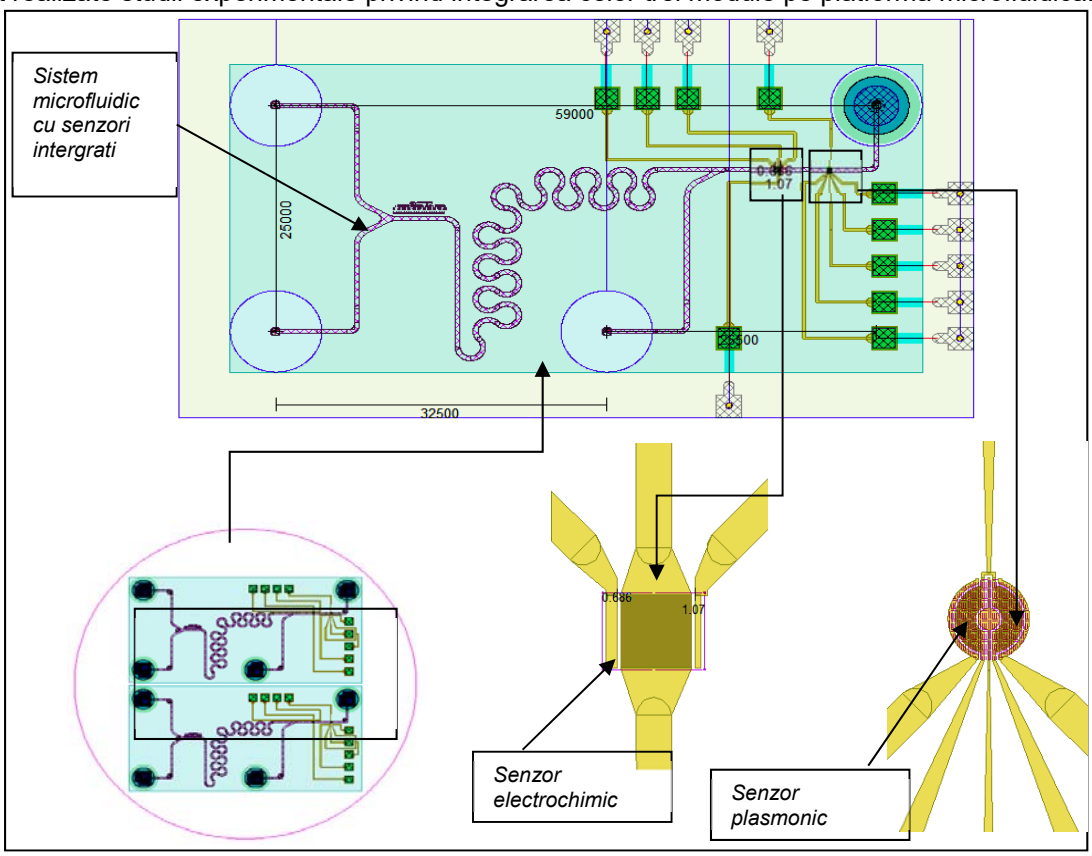
5. Colaborări internaţionale şi naţionale: (1) Cooperare internațională cu centre de cercetare universitare europene și cu firme din Anglia, Spania, Germania, Franța, Austria, Norvegia. (2) Cooperare națională cu institute de cercetare, universități și firme românești (SUUB, DDS, Spital LOTUS, SANIMED, UPB, UTBv, TUIASI, INC Cantacuzino).

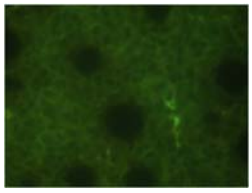
6. Rezultate obţinute

6.1. Optimizarea, fabricarea şi caracterizarea dispozitivului lab-on-a-chip – CANCELLAB

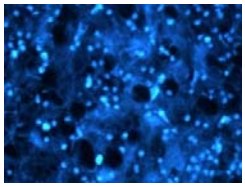
Proiectarea, modelarea, simularea și optimizarea dispozitivului lab-on-a-chip în conformitate cu tehnologiile de microfabricație și experimentarea unor tehnici de conjugare nanoparticule – anticorp – fluorofor – celule tumorale.

Dispozitivele realizate au fost caracterizate prin spectroscopie de impedanţă electrochimică și prin rezonanţă plasmonică de suprafaţă localizată, detecţie moleculară amplificată plasmonic. De asemenea, au fost realizate studii experimentale privind integrarea celor trei module pe platforma microfluidică.

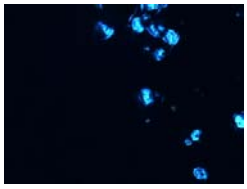




Imagine UV melanom, fără AuNPs



Imagine UV melanom cu AuNPs inoculate

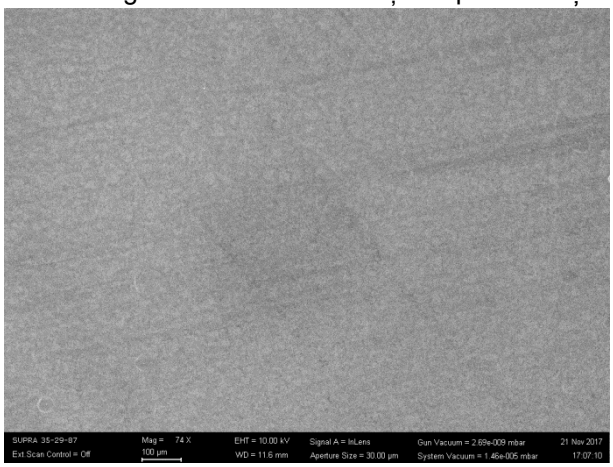


Celule tumorale cu AuNPs infiltrate în țesut sănătos

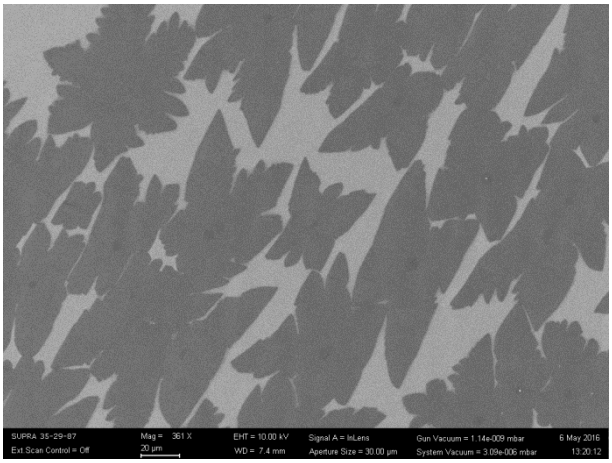
6.2. Sinteza grafenei pentru aplicații microfluidice – INTEGRAPH

Pentru procesele de creștere a grafenei s-a folosit ca și substrat folie de Cu cu grosimea de 35 μm (Graphene Platform Corporation, Japonia), livrat sub formă de folii cu dimensiunea de 210 mm x 300 mm. Pentru procesele CVD au fost tăiate cu un bisturiu bucăți de 20 mm x 20 mm. Înainte de procesare, fiecare substrat a fost curăţat în acid acetic timp de 10 minute pentru decaparea suprafeţei, urmată de o clătire în apă deionizată şi alcool isopropilic. Pentru menţinerea stabilităţii suprafeţei şi evitarea oxidării, probele au fost depozitate în alcool isopropilic, fiind uscate cu jet de azot înainte de introducerea în echipament. Gazele precursoare utilizate în procesul de obținere a grafenei au fost metan și hidrogen (CH_4 și H_2, puritate 9N, Linde Gas Romania). Pentru decaparea chimică și pregătirea suprafeței s-a folosit acid acetic și alcool isopropilic (electronic grade EG, Sigma Aldrich). Au fost modificați, pe rând, a parametrii de proces: temperatură, presiune, debit de gaz, timp de depunere, pentru a obţine grafenă monostrat, cu domenii cristaline mari, pe o arie cât mai largă şi de calitate comparabilă cu cea comercială. Parametrii procesului optimizat sunt: temperatura 1080°C, timpul de tratament termic în atmosferă de H_2 (10%) a crescut de la

20 minute la 30 minute, pasul de creștere a fost prelungit până la 60 minute iar concentrația precursorilor a fost modificată la CH_4 (0.6%) și H_2 (3%). În figurile de mai jos se prezintă o imagine reprezentativă pentru probele de grafenă crescute cu rețeta optimizată și un detaliu.



Imagine SEM a probei experimentale crescute timp de 45 minute. Imaginea surprinde un proces de creștere complet, domeniile de grafenă formează un film continuu pe suprafață. Domeniile de grafenă acoperă în totalitate suprafața catalizatorului.



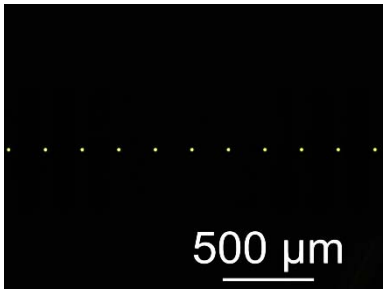
Diametrul domeniilor obținute variază între 50 µm și 150 µm.

Pe probele optimizate s-a ajuns la un grad de acoperire de peste 90%, cu domenii de grafenă cu diametrul între 50 µm și 150 µm, iar spectrele Raman achiziționate confirmă obținerea unui monostrat de grafenă, cu defecte minime și o calitate foarte bună. Benzile Raman G și 2D sunt specifice grafenei monoatomice, în timp ce lipsa benzii D în locațiile investigate este un indicator al calității. În tabelul 1 sunt prezentați parametrii extrași ca urmare a prelucrării spectrale. Valoarea raportului I2D/IG se află în intervalul 3.16-3.6, valoarea mult mai mare decât 2 arătând existența fără echivoc a grafenei monostrat. Lărgimea la semiînălțime a benzii G se află în intervalul 10.92-16.38 cm^{-1} fiind apropiată de valoarea de echilibru 15 cm^{-1}. Lărgimea la semiînălțime a benzii 2D se află în intervalul 30.57-21.62 și certifică prezența grafenei monoatomice în zonele investigate.

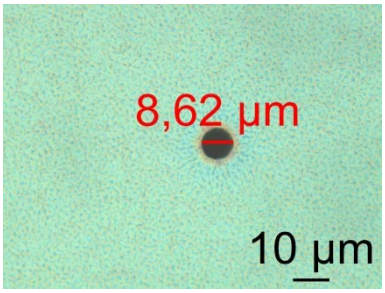
6.3. Fabricarea membranelor de grafenă – INTEGRAPH

Pentru fabricarea membranelor de grafenă, cu utilizare în dispozitive microfluidice, o etapă esențială este transferul acesteia de pe substratul de creștere (Cu), pe substratul de lucru (Si și Si/SiO_2). Controlul transferului de grafenă este cel mai important aspect, pentru fabricarea membranelor. Pentru a obține cu succes acest rezultat, această etapă presupune experimente de transfer, prin corodarea substratului de Cu. Substraturile de interes vor fi Si și Si/SiO_2, deoarece acestea vor fi baza dispozitivelor ulterioare, prevăzute cu pori, pe care vom urmări transferul grafenei. Pentru a menține diametrul orificiilor cât mai aproape de cel proiectat, gravarea oxidului de siliciu se face în doi pași: un pas de corodare uscată în plasmă, urmat de un proces scurt de corodare umedă. Corodarea uscată s-a făcut în sistemul de corodare cu ioni reactivi (RIE – Reactive Ion Etching) folosind un amestec de Ar: CHF_3, în raport 4:1, la presiunea de 10 Pa, și putere de radio-frecvență de 250 W. Procesul este unul competitiv de corodare-depunere, CHF_3 având tendința de a disocia și de a forma un film fluoropolimeric, de tip (CFx)n, care este inert și inhibă corodarea. În acest proces, Ar are rolul de a pulveriza filmul care se formează pe suprafețele orizontale, astfel încât se permite formarea filmului fluoropolimeric numai pe suprafețele verticale, de exemplu pereții laterali ai oxidului expuși în timpul corodării. Ultimii 30 nm de oxid rămași au fost corodați în soluție BHF (NH_3: HF, 6:1), timp de 30 s. Un alt avantaj al folosirii plasmei de CHF_3 pentru corodarea oxidului este reprezentat de procesul de fluorinare al fotorezistului, proces care întărește și crește rezistența

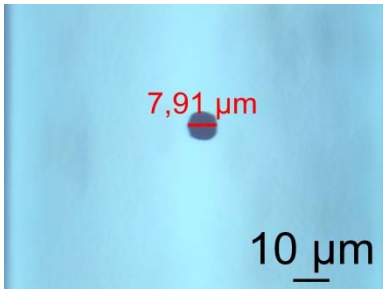
la agenți chimici. Astfel, atât fotorezistul folosit inițial pentru corodarea oxidului, cât și stratul de oxid în sine pot fi folosiți ca straturi de mascare.



Imagine optică, mărire 20x, iluminare de jos. Serie de orificii de 9 µm cu spațiere de 200 µm.



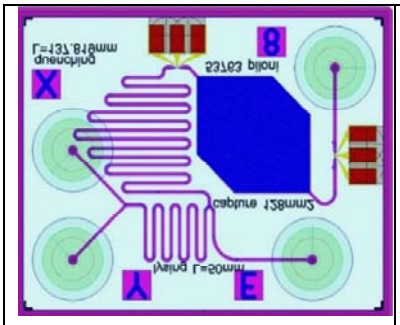
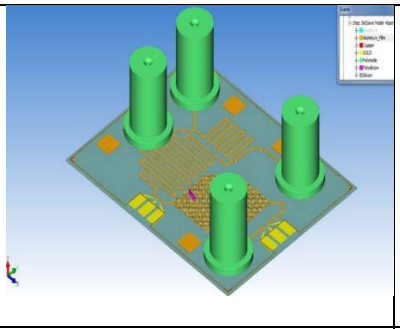
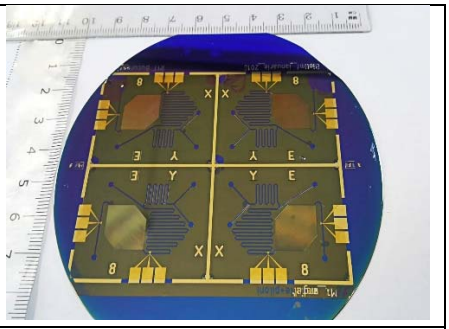
Imagine optică, mărire 100x, orificiul corodat văzut de pe fața plachetei.



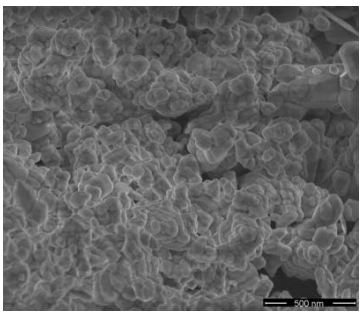
Imagine optică, mărire 100x, orificiul corodat văzut de pe spatele plachetei.

6.4. Proiectarea și modelarea tehnologică a dispozitivului microfluidic pentru determinarea numărului de limfocite – BIOLIMF

Proiectul sistemului microfluidic pentru detecția și numărarea limfocitelor T, compus din: modul de lizare a eritrocitelor, modul de stopare a lizării, cameră de captură cu dimensiunea de 128 mm^2, care conține 53763 piloni de siliciu cu diametrul de 40 µm și spațiere între piloni de 12 µm și cei doi senzori electrochimici cu microelectrozi interdigitați plasați la intrarea și respectiv ieșirea din camera de captură a limfocitelor.

		
Proiectul dispozitivului microfluidic	*Modelarea tehnologică a dispozitivului microfluidic*	*Pe o plachetă de siliciu cu diametrul de 4 inch au fost realizate 4 dispozitive microfluidice încapsulate în PDMS*

6.5. Nanocompozite multifuncționale bazate pe oxizi ai metalelor tranziționale cu aplicabilitate în domeniul aerospațial – OXITRANS



Imagine SEM reprezentativă a probei YAG obținută

Rezultatele obținute în cercetările preliminare ale proiectului OXITRANS au constat în: (1) Studiul teoretic cu privire la identificarea tipurilor de oxizi (de tip granați YAG și M_2O_x, nedopați sau dopați cu pământuri rare), metode de sinteză și de îmbunătățire a proprietăților nanoparticulelor OXITRANS prin modificarea suprafeței, metode de încorporare a particulelor în matrici polimerice și modul de compatibilizare cu diferite tipuri de substraturi specifice domeniului aerospațial; (2) Folosind metode sol-gel și de coprecipitare

modificate s-au dezvoltat particule nanostructurate oxidice de tipul YAG şi Y_2O_3. Principalul avantaj oferit de tehnicile dezoltate este reprezentat de îmbunătățirea proprietăților morfo-structurale concomitent cu temperatura de sinterizare la circa 1000°C; (3) Folosind procedee in situ s-a reușit înglobarea nanoparticulelor de YAG și Y_2O_3 în matrici polimerice (PMMA, PVDF).

7. Proiecte în derulare

7.1. PN-III-P1-1.2-PCCD – 0214/2017 - Platforma microfluică pentru detecția celulelor tumorale circulante (CTC) concentrate prin dielectroforeză- magnetoforeză și analizate prin spectroscopie dielectrică și de impedanță electrochimică.
7.2. PN-III-P5-5.1-STAR-639/2017 - Nanocompozite multifunctionale bazate pe oxizi ai metalelor tranzitionale cu aplicabilitate in domeniul aerospatial.
7.3. PN-III-P2-2.1-PTE-2016-0145 – Sistem microfluidic microfluidic portabil pentru determinarea numărului limfocitelor T.
7.4. COST – Biomedicine and Molecular Biosciences, “European network for innovative uses of EMFs in biomedical applications (EMF-MED)”, MC Member [BM1309 RO].

8. Premii obținute în perioada 2015 - 2017

8.1. **Medalie de aur** la Barcelona International Inventions Salon (INNOVA): "*Microfluidic system with type "Y" and type "T" jonctions for the assembly of bacterial cells in drops of controlled dimensions*", 2017
8.2**. Medalie de aur** la Barcelona International Inventions Salon (INNOVA) "*Procedure for realization of the dielectrophoretic device for electrical impedance spectroscopic study of self-assembled tumor cells in the microfluidic channels*" , mai 2017
8.3. **Medalie de aur cu felicitarile juriului** la Salonul International de Inventii de la Geneva pentru inventia "*Systéme micro fluidique de type "Y" et "T"pour l`assemblage de cellules bactériennes en gouttes de dimensions contrôlées*", martie-aprilie 2017
8.4. **Special Award for exceptional results & performance** presented by the innovative invention „*Microfluidic System with „Y” and „T” Junctions for the Assembly of Bacterial Cells in Drop of Controlled Dimensions*” from the Association of Portuguese Inventor’s Innovator’s Creatives, 31 martie 2017
8.5. **Special Award of First Institute Researcher and Inventors in Iran** for the Best Invention „*Development of a Microfluidic System*”, 2017
8.6. **Medalie de aur cu felicitarile juriului** la Salonul International de Inventii de la Geneva, pentru inventia „*Procedure for realization of the dielectrophoretic device for electrical impedance spectroscopic study of self-assembled tumor cells in the microfluidic channels*”, aprilie 2016
8.7. **Outstanding Innovation Award from Institute for Entrepreneurship the Hong Kong** Polytechnic University, 2016;
8.8. **Special Award of First Institute Researcher and Inventors in Iran** (FIRI), 2016;
8.9. **Medalie de aur cu felicitarile juriului** la Salonul International de Inventii de la Geneva, pentru inventia „*Réactif à base de nanoparticules d'or, procédé pour sa préparation et son utilisation pour la cartographie de l'architecture du tissu tumoral*”, aprilie 2015
8.10. **Medalie de aur** la 13th International Innovation Exhibition (ARCA): "*Reagent based on gold nanoparticles, recipe for its preparation and its use for mapping of tumor tissue architecture*", Zagreb, Croatia, October 2015;
8.11. **Special Award of Association of Polish Inventors and Rationalizers**, aprilie 2015
8.12. **OSIM Special Award**, aprilie 2015, pentru inventia „*Reactiv pe bază de nanoparticule de aur, procedeu de preparare a acestuia și utilizarea sa pentru cartografierea arhitecturii țesuturilor tumorale*”.