



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2014 00026

(22) Data de depozit: 16.01.2014

(41) Data publicării cererii:
28.08.2015 BOPI nr. 8/2015

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
MICROTEHNOLOGIE,
STR.EROU IANCU NICOLAE NR.126 A,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:
• AVRAM MARIOARA, STR.FELEACU
NR.19, BL.12 C, SC.3, AP.31, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;

• RĂDOI ANTONIO MARIAN, ALEEA ISTRU
NR.7, BL.A 3, SC.E, ET.4, AP.75,
SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• AVRAM MARIUS ANDREI, STR.FELEACU
NR.19, BL.12 C, SC.3, AP.31, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO;
• BĂLAN CĂTĂLIN MIHAI,
ALEEA CRĂIEȘTI NR. 6, BL. D41, SC.B,
ET. 1, AP. 20, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,
RO;
• MĂRCULESCU CĂTĂLIN VALENTIN,
ȘOS. OLTENIȚEI NR. 224, BL. 6, SC. 2,
ET. 8, AP. 105, SECTOR 4, BUCUREȘTI, B,
RO

(54) PROCEDEU DE REALIZARE A SISTEMULUI MICROFLUIDIC
CU JONCTIUNI DE TIP "Y" ȘI "T" PENTRU FORMAREA
PICĂTURILOR CU DIMENSIUNI CONTROLATE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a picăturilor cu dimensiuni controlate, utilizând fluide imiscibile, dar și pentru crearea altor formațiuni biocompatibile, cum ar fi lipozomii. Procedeu conform invenției constă în realizarea microcanalelor fluidice, dispuse sub formă de joncțiuni de tip "Y" și "T", și asigurarea controlului dimensional al picăturilor fluidului de lucru, prin variația rapoartelor debitelor pe cele două intrări ale joncțiunii de tip "Y", care este făcută cu o instalație micro-PIV, bazată pe un dispozitiv microscopic optic care constă dintr-o cameră CCD care este atașată la un obiectiv al unui microscop inversat, pentru a se obține vizualizări directe și observații cantitative, din această investigație reieșind faptul că cu cât numărul capilarității (Ca) este mai mare, cu atât picăturile formate sunt mai mici.

Revendicări: 3
Figuri: 3

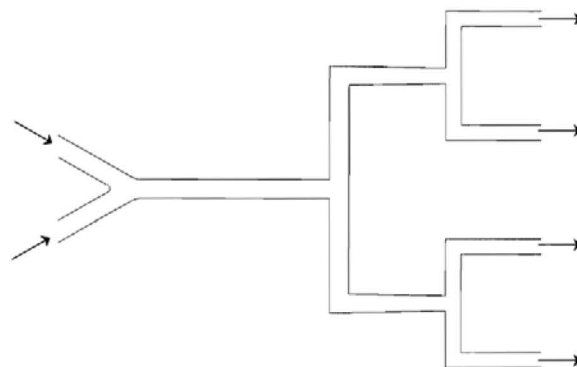


Fig. 1



Procedeu de realizare a sistemului microfluidic cu joncțiuni de tip „Y” și „T” pentru formarea picăturilor cu dimensiuni controlate

Autori: Catalin Marculescu, Catalin Balan, Andrei Marius Avram, Marioara Avram, Antonio Rădoi

Invenția se referă la o procedură de obținere a picăturilor cu dimensiuni controlate, utilizând fluide imiscibile, dar și pentru crearea altor formațiuni biocompatibile, cum ar fi lipozomii.

Lipozomii sunt structuri cvasi-sferice formate din membrane lipidice cu două straturi ce încapsulează un volum fluidic. Dimensiunile lipozomilor și distribuția dimensională sunt realizate pentru fiecare aplicație în particular și sunt extrem de importante pentru livrarea de medicamente și transfecția prin membrane nucleare în terapia genetică [1]. Utilizând metode convenționale, lipidele se asamblează în mod spontan în structuri heterogene cu două straturi. O procesare adițională prin extrudere sau sonicare este necesară pentru obținerea unor lipozomi cu dimensiuni mai mici care prezintă o distribuție a dimensiunilor mai restrânsă. *Jahn et al.* [2] au fost printre primii care au dezvoltat o metodă de focusare hidrodinamică microfluidică (MHF) pentru a controla formarea lipozomilor, metoda din care derivă și investigația conform invenției.

Procedura nu se dorește a fi o alternativă a metodei MHF, ci mai degrabă o îmbunătățire a respectivei metode. Aceasta determină dinamica formei interfaciale manifestată la diferite numere ale capilarității (Ca), prin variația rapoartelor de debite (FRR) aplicate la intrări. Este cunoscut faptul că parametrii adimensionali precum numărul capilarității și raportul vâscozităților, pot influența deplasarea structurilor curgerii [3-8].

De asemenea, au fost raportate în diverse reviste de specialitate cuplarea FFR și a tensiunii interfaciale într-un singur număr adimensional, numărul capilarității, pentru a demonstra influența acestora asupra curgerilor multifazice imiscibile. *Sugiura et al.* [9] a utilizat grupuri adimensionale pentru a descrie formarea picăturilor într-un microcanal într-o fază continuă statică. *Lepera et al.* [10] au luat în considerare un număr al capilarității ce compară forța vâscoasă exercitată asupra picăturii de fază continuă cu forța tensiunii superficiale. Concluziilor lor au relevat că, pentru un efort tangential la perete dat, o tensiune interfacială mare duce la formarea unor picături mai mari.

Sistemul este alcătuit din microcanale dispuse sub formă de joncțiuni de tip „Y” și „T”. Aplicația, conform invenției, prezintă comportamentul a două fluide imiscibile în acest sistem de microcanale prin determinarea dinamicii formei interfeței ce se manifestă la diferite numere ale capilarității (Ca), apelând la variația rapoartelor debitelor pe cele două intrări.

În dinamica fluidelor, acest număr al capilarității reprezintă efectul relativ al forțelor vâscoase raportat la tensiunea superficială (interfacială) care acționează la interfața dintre un lichid și un gaz sau între două lichide imiscibile. Acest număr adimensional este direct

proporțional cu vâscozitatea (η_0) și viteza medie (v), și invers proporțional cu tensiunea superficială (σ).

Tensiunea superficială este, generic, o măsură a tendinței unei suprafețe fluide de a atinge o arie minimă. În general, se utilizează termenul de *tensiune superficială* atunci când este vorba de o interfață lichid-gaz (suprafață liberă), și *tensiune interfacială* pentru interfețele lichid-lichid.

Din punct de vedere termodinamic, tensiunea superficială este interpretată drept creșterea energiei Helmholtz sau Gibbs a sistemului la creșterea reversibilă infinitesimală a ariei interfeței considerate, la temperatură constantă și la volum sau presiune constantă. Din punct de vedere mecanic, tensiunea superficială este forța de contracție pe unitatea de lungime, ce acționează la interfață, pe o direcție paralelă cu aceasta; tensiunea superficială poate fi deci măsurată ca forța necesară pentru creșterea infinitesimală a ariei interfeței. Pentru interfețe izotrope, această forță specifică este independentă de direcția sau orientarea suprafeței. La echilibru, cele două interpretări, termodinamică și mecanică, sunt echivalente (atunci când interfața are suficient timp pentru a atinge starea de echilibru, adică la numere Deborah mici sau în lipsa elasticității). Ne referim în acest caz la tensiunea superficială statică.

Când interfața nu a atins starea de echilibru, tensiunea superficială capătă adjectivul *dinamică*, în acest caz rămânând valabilă doar formularea mecanică. Starea de non-echilibru poate fi determinată de timpii mari de relaxare ai unor procese interfaciale (de exemplu absorbția polimerilor la interfață).

Una dintre cele mai importante relații în studiul fenomenelor de interfață este ecuația Young-Laplace, care exprimă echilibrul dintre forța de tensiune superficială și forța de presiune (respectiv masică), stabilind legătura între valoarea tensiunii superficiale și diferența de presiune de-a lungul interfeței (denumită și presiune capilară).

Există numeroase metode de măsurare a tensiunii superficiale/interfaciale statice, însă cea mai utilizată este metoda picăturii, bazată pe principiul că forma unei picături în repaos este rezultatul echilibrului dintre forța de tensiune interfacială și forța de gravitație.

Tensiunea interfacială tinde să aducă picătura la o formă sferică, în timp ce gravitația o alungește, astfel încât forma rezultată e cea de pară. Atât timp cât aceste două efecte opuse au valori absolute cu același ordin de mărime, este posibilă determinarea parametrilor geometrici ai profilului rezultat.

Descriere procedeu

Se porneste de la o jonctiune de tip „Y” care desemnează două intrări, prin care vor fi injectate cu un anumit debit cele două fluide, respectiv solutii biocompatibile. Prin variatia debitelor de intrare pe cele două ramuri se controleaza într-o prima faza dimensiunea și frecvența de formarea a picăturilor, respectiv a particulelor biocompatibile. Urmează apoi o serie de jonctiuni de tip „T” prin care se reduce dimensiunea picăturilor în mod controlat. În funcție de dimensiunea dorită se apelează la un număr mai mic sau mai mare de jonctiuni de

tip „T” pentru completarea sistemului microfluidic (figura 1). Dimensiunile microcanalelor din jonctiunile de tip „T” scad pe măsură ce complexitatea sistemului crește.

Fluidele imiscibile utilizate pentru acest studiu sunt două fluide Newtoniene bine cunoscute și caracterizate: ulei mineral și apă deionizată, fiecare fiind introdus separat pe ramurile de intrare ale bifurcației în Y. Un aspect foarte important al caracterizării din punct de vedere al proprietăților fizice ale fluidelor de lucru îl reprezintă tensiunea interfacială. Valoarea acesteia a fost măsurată cu un aparat numit goniometru și implementată în modelul numeric. Investigatia relevă faptul că variația Ca are un impact important asupra frecvenței de formare a picăturilor. Prin simpla modificare a raportului debitelor de intrare, comportamentul picăturilor se modifică drastic. Predicția și reconstrucția numerică a formei interfeței dintre cele două fluide imiscibile conduce la o caracterizare mai amplă a fenomenului formării picăturilor sau vezicule lipidice cu comportament asemănător.

Rezultatele numerice (figurile 2 și 3) au fost comparate cu o investigație experimentală, realizată cu o instalație cu design special, micro-PIV, bazată pe un dispozitiv microscopic optic (o camera CCD a fost atasată la obiectivul unui microscop inversat). Utilizând această configurație, s-au obținut vizualizări directe și observații cantitative (figura 3). Din această investigație a reieșit faptul că, cu cât numărul capilarității este mai mare, cu atât picăturile formate sunt mai mici.

- [1] B. Yu, R.J. Lee and L.J. Lee, Microfluidic methods for production of liposomes, *Methods in Enzymology*; 465 (2009) 129-141.
- [2] A. Jahn *et al.*, Controlled vesicle assembly in microfluidic channels with hydrodynamic focusing, *J. Am. Chem. Soc.*, 126 (2004) 2674-2675.
- [3] D.G. Avraam, A.C. Payatakes. Flow regimes and relative permeabilities during steady-state two-phase flow in porous media. *J. Fluid Mech.* 293 (1995) 207–236.
- [4] G.D. Henderson, A. Danesh, B. Al-kharusi, D. Tehrani, Generating reliable gas condensate relative permeability data used to develop a correlation with capillary number. *J. Pet. Sci. Eng.* 25 (2000) 79–91.
- [5] C.D. Tsakiroglou, D.G. Avraam, A.C. Payatakes. Transient and steady-state relative permeabilities from two-phase flow experiments in planar pore networks. *Adv. Water Resour.* 30 (2007) 1981–1992.
- [6] M. Ferer, G.S. Bromhal, D.H. Smith. Crossover from capillary fingering to compact invasion for two-phase drainage with stable viscosity ratios. *Adv. Water Resour.* 30 (2007) 284–299.
- [7] Molly K. Mulligan, J. P. Rothstein. Scale-up and control of droplet production in coupled microfluidic flow-focusing geometries. *Microfluid Nanofluid* DOI 10.1007/s10404-012-0941-7. (2012).
- [8] L. Mazutis, J. Gilbert, W. L. Ung, D. A. Weitz, A. D. Griffiths & J. A. Heyman. Single-cell analysis and sorting using droplet-based microfluidics. *Nature Protocols* 8, (2013) 870–891 doi:10.1038/nprot.2013.046
- [9] S. Sugiura, M. Nakajima, N. Kumazawa, S. Iwamoto, M. Seki, Characterization of spontaneous transformation-based droplet formation during microchannel emulsification, *J. Phys. Chem. B* 106 (2002) 9405.
- [10] Emilie Lepercq-Bost, Marie-Laurence Giorgi, A. Isambert, C. Arnaud. Use of the capillary number for the prediction of droplet size in membrane emulsification, *Journal of Membrane Science* 314 (2008) 76–89.

REVENDICĂRI

1. Procedeu de realizare a sistemului microfluidic cu joncțiuni de tip „Y” și „T” pentru formarea picăturilor cu dimensiuni controlate, **caracterizat prin aceea că**, arhitectura acestui sistem contribuie la îmbunătățirea metodei de obținere a lipozomilor în canale microfluidice prin focalizare hidrodinamică.

2. Procedeu de determinare a comportamentului a două fluide imiscibile în sistemul microfluidic definit în revendicarea 1, **caracterizat prin** determinarea formei și dinamicii interfeței la diferite numere ale capilarității (Ca), apelând la variația rapoartelor debitelor pe intrările sistemului microfluidic.

3. Procedeu de caracterizare a dinamicii fluidelor în sistemul microfluidic definit în revendicarea 1, prin efectul cumulat al forțelor vâscoase și al tensiunii superficiale care acționează la interfața dintre un lichid și un gaz sau între două lichide imiscibile.



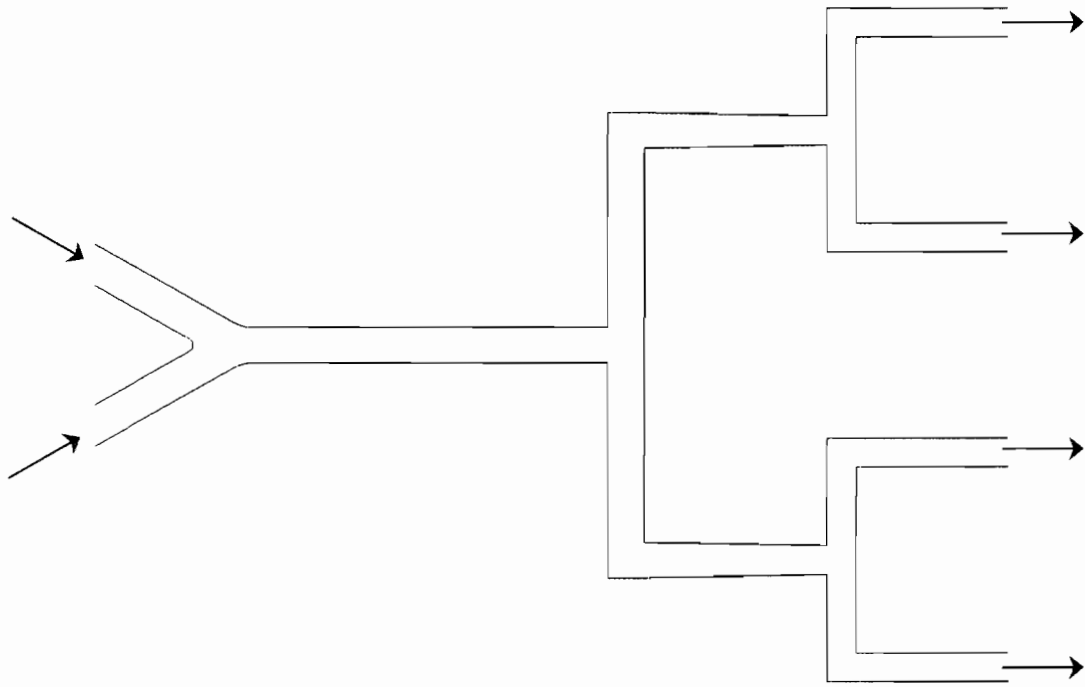


Figura 1. Layout sistem microcanale

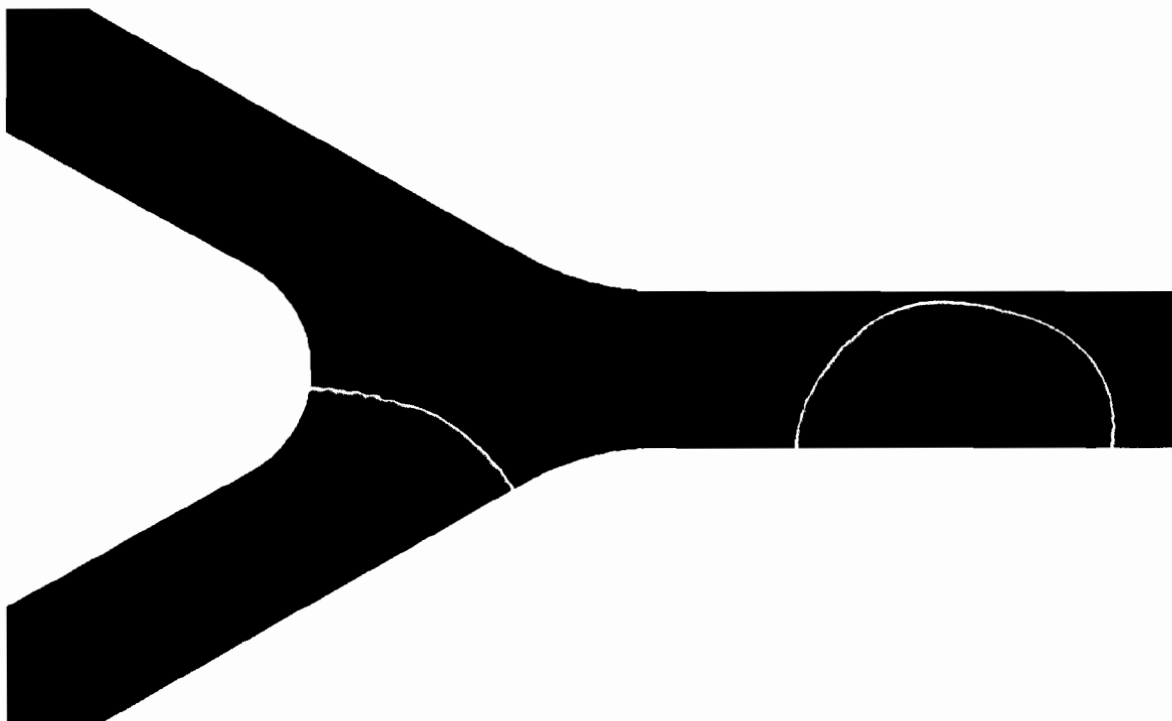


Figura 2. Detaliu microcanal pe jonctiunea Y – reprezentare numerica a interfetei apa-ulei .

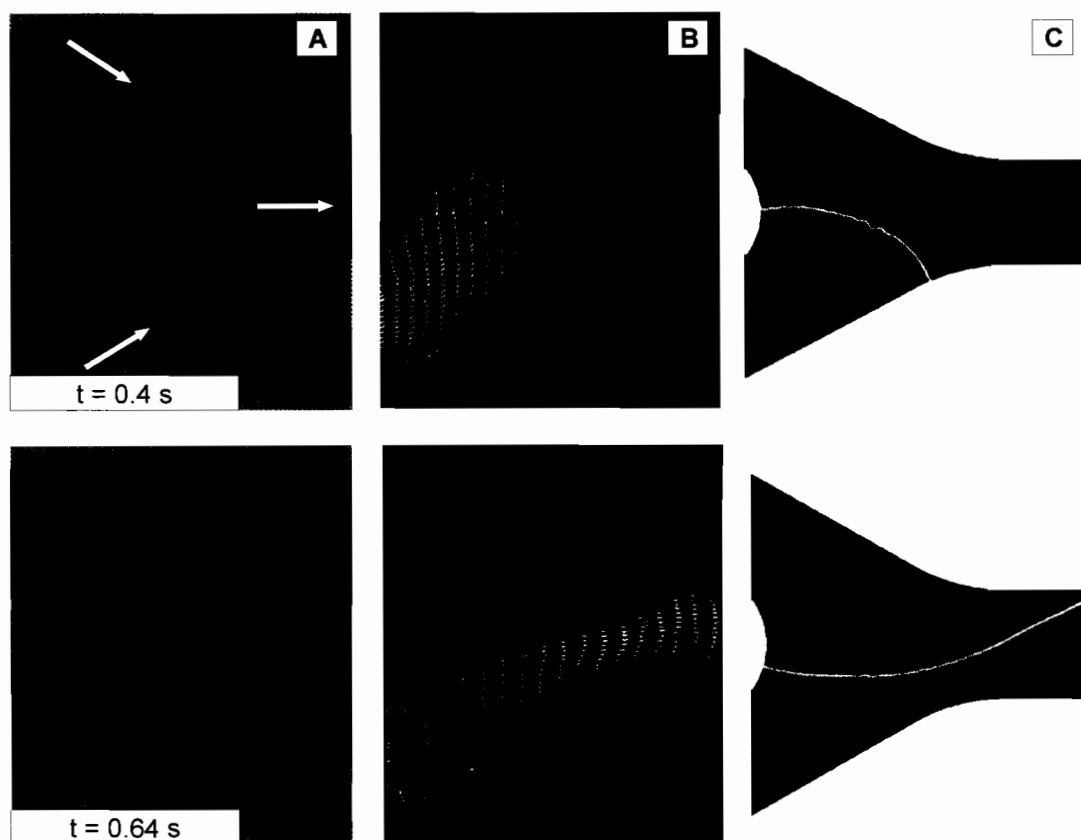


Figura 3. A) Vizualizari experimentale ale formarii picăturii; B) Reprezentari calitative ale campului de curgere în interiorul picăturii de apa obtinute cu sistemul de masurare micro-PIV; C) Reprezentari numerice ale interfetei.