



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2011 00803

(22) Data de depozit: 10.08.2011

(41) Data publicării cererii:  
28.06.2013 BOPI nr. 6/2013

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

(72) Inventatori:  
• MOLDOVAN CARMEN AURA,  
BD. ION MIHALACHE NR.166, BL.2, SC.B,  
AP.35, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B, RO;  
• RADU CORNEL, BD. GHEORGHE ȘINCAI  
NR. 6, BL. 2, SC. 2, ET. 4, AP. 41,  
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;

• IOSUB RODICA, ȘOS.MIHAI BRAVU  
NR.42-62, BL.P8, SC.4, ET.8, AP.166,  
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• FIRTAT BOGDAN IONUȚ,  
STR. DRUMUL TABEREI NR. 74, BL. M37,  
AP. 52, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;  
• NECULA DANIEL,  
STR. CETATEA HISTRIA NR.3, BL.M 14,  
SC.A, AP.1, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B,  
RO;  
• CODREANU CECILIA,  
ALEEA CÂMPUL MOȘILOR NR. 1, BL.2,  
AP.22, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;  
• CODREANU NIȚĂ ION,  
ALEEA CÂMPUL MOȘILOR NR.1, BL.2,  
AP.22, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO

(54) SENZORI MINIATURIZAȚI DE TEMPERATURĂ, pH ȘI  
OXIGEN PENTRU MONITORIZAREA MEDIILOR BIOLOGICE

(57) Rezumat:

Invenția se referă la trei tipuri de senzori miniaturizați pe substrat de sticlă, cu utilizare în monitorizarea mediilor biologice. Senzorii conform invenției sunt plasați pe un substrat de sticlă având dimensiunea de 10 cm x10 cm și o grosime de 1,6 mm, șase cipuri identice, fiecare cip conținând un senzor rezistiv de temperatură, doi

electrozi metalici, pentru detecția pH, un senzor de oxigen și doi electrozi cu rol de referință.

Revendicări: 4  
Figuri: 9



## “Senzori miniaturizati de temperatura si pH pentru monitorizarea mediilor biologice”

### Descriere

Inventia se refera la un procedeu de obtinere si caracterizare a doua tipuri de senzori miniaturizati pe substrat de sticla cu utilizare in monitorizarea mediilor biologice. Substratul pe care se realizeaza senzorii este sticla, de dimensiune 4"x4" (10cmx10cm) si grosime 1,6mm. Substratul folosit este o sticla Corning speciala, borosilicata. Pe fiecare substrat se pot realiza 6 cipuri identice fiecare dintre ele continand un senzor rezistiv de temperatura si 2 electrozi pentru detectia pH-ului. Pentru fabricarea senzorilor pe sticla folosim o masca de lucru care este o sticla acoperita cu crom si fotorezist. Pe acest suport se imprima schema 2D a senzorilor de temperatura, pH si oxigen prin expunerea fotorezistului si corodarea statului de crom. Masca in cazul nostru este o sticla cu zone transparente si zone opace (crom) care este utilizata pentru configurarea senzorilor.

Pe substratul de sticla Corning pe care realizam senzorii depunem fotorezist negativ pe care il configuram cu masca din figura 1. Apoi depunem Platina, prin evaporare in vid de grosime, 0,2 micrometri. Apoi urmeaza procesul de indepartare rezist, care se face in acetona timp de 1h. Rezistul este atacat de acetona si dizolvat, indepartarea lui de pe sticla antrenand si indepartarea stratului de platina situat deasupra lui. In final raman pe sticla doar structurile de rezistoare pentru senzorii de temperatura (1), electrozii de pH (pH1 si pH2) si electrozii pentru senzorul de oxigen (3), ca in figura 2.

Senzorii de pH se realizeaza prin depunerea de polimer conductor pe electrozii de lucru (fig.2, 2) corespunzatori, prin depunere electrochimica din solutie anilina,  $C_6H_5NH_2$  1M si acid percloric  $HClO_4$  1M care are si rol de dopant;

Detectia pH se face prin citirea in tensiune intre electrodul de lucru plasat pe cipul de sticla si un electrod de referinta miniaturizat plasat in solutia de lucru (fig.3).

Senzorul de temperatura este un rezistor de platina care a fost proiectat sa aiba 70 Ohmi la temperatura camerei si o sensibilitate de 0,2  $Ohm/^{\circ}C$ .

Procesul tehnologic de obtinere microsenzorii de pH si temperatura este descris in figura 4(A-E)

### METODA TEHNOLOGICA .

Un substrat de sticla (sectiune, Fig.4 A) este folosit pentru realizarea senzorilor miniaturizati pentru detectie temperatura si pH. Pe acest substrat, am depus prin centrifugare fotorezist negativ de grosime 4  $\mu m$  (Fig.4B), pe care l-am tratat si expus la radiatia UV prin masca de crom obtinuta anterior (M1). Dupa dezvoltarea fotorezistului rezultand structura senzorilor (Fig.4.C).

Depunem apoi un strat metalic de tip sandwich format din 15nm Ti/ 200nm Pt realizat prin evaporare in vid inalt. Acest sandwich metalic se depune pe intreaga suprafata a substratului de sticla. El acopera atat statul de fotorezist cat si suprafetele de sticla ramase descoperite dupa configurarea stratului de rezist negativ (Fig.4, D). Prin introducerea sticlei acoperita fotorezist si strat metalic intr-un dizolvant al fotorezistului (Remover plus acetona) o perioada de 2 ore, fotorezistul de sub stratul

metalic se inmoaie si se dizolva, antrenand cu el si stratul metalic de deasupra. La final, pe sticla raman doar electrozii metalici pentru pH si rezistorul pentru temperatura (Fig.4, E). Acest procedeu se numeste lift-off si asigura o configurare precisa pentru dimensiuni de ordinul micronilor a acelor materiale care precum platina nu se pot ataca pentru configurare in solutii chimice.

Dupa configurarea senzorilor, o etapa importanta consta in depunerea de polianilina, polimer conductor cu rol de strat senzitiv la ionii de hidrogen. Electrozii de lucru configurati pe sticla sunt acoperiti cu polianilina si intra in componeneta sensorului de pH. Detectia se face prin citirea potentialului intre electrodul de lucru si electrodul de referinta.

Fluxul tehnologic si procesele de curatire sunt descrise mai jos:

1. Formare lot, sticle Corning, de 10cm x 10cm
2. Curatire initiala <sup>(A)</sup>
3. Depunere rezist negativ ma-N-1420 <sup>(B)</sup>
4. Expunere UV (cu masca 1) <sup>(C)</sup>
5. Developare rezist <sup>(D)</sup>
6. Curtaire depunere Ti/Pt <sup>(E)</sup>
7. Depunere Ti/Pt <sup>(F)</sup>
8. Lift-off prin Indepartare fotorezist <sup>(G)</sup>
9. Control dimensional si de conformitate la microscopul optic
10. Curatire chimica
11. Depunere polianilina <sup>(H)</sup>

#### (A) Programul curatire initial sticle inainte de programul curatire in plasma:

Solutia: H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> :H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3:1	10 min	
Clatire: H <sub>2</sub> ODI	prima cascada	10 min	ρ <sub>H<sub>2</sub>ODI</sub> = 17-18 MΩcm
Clatire: H <sub>2</sub> ODI	a doua cascada	10 min	ρ <sub>H<sub>2</sub>ODI</sub> = 17-18 MΩcm
Rinser: clatire		10 min	ρ <sub>H<sub>2</sub>OD</sub> = 17-18 MΩcm
Uscare		10 min	in atmosfera de azot

H<sub>2</sub>ODI = apa deionizata

Inainte de etalare cu rezist ma-N-1420 sticlele se curata in plasma, in vederea deshidratarii si functionalizarii suprafetei.

Programul curatire sticle in plasma se face intotdeauna inainte de etalare rezist ma-N-1420:

Putere P=150W  
 Presiune p=20Pa  
 Gaz O<sub>2</sub>: 99 sccm  
 Timp t = 7 minute

- In cazul in care trece mai mult de o ora de la curatire, se repeta operatia de curatire, dar se poate mica timpul de curatire la 5 minute;

- Daca depunerea de rezist se face a doua zi, se repeta etapa de curatire in plasma.

**(B) Depunere rezist ma-N-1420 prin centrifugare se realizeaza cu urmatorul program:**

1. 100 rpm                    10 secunde
2. 3 000 rpm                40 secunde
3. 100 rpm                    10 secunde

**Grosimea rezistului: ~ 5÷6 μm**

- Etalarea cu rezist ma-N-1420 la 3 000 rot./min., se obtine o grosime ~ 2,2 μm. Pentru a obtine o grosime a rezistului ~ 5÷6 μm, s-a etalat de 3 ori fiecare sticla in parte;
- Intre etalari, se face tratament termic pe plita la 100°C, timp de 2 minute;
- Este important sa nu fie amestec de vapori de acetona sau rezist pozitiv in camera, temperatura si umiditatea prea mare pot crea probleme la etalare;
- Tratamentul termic dupa etalare trebuie realizat pe plita in camera de fotolitografie, camera alba.

**(C) Dupa etalare si tratament termic, sticlele se expun in UV pe masina de aliniere expunere dubla fata MA6/BA6 de la Suss Microtec**

**Expunere: 15 minute**

**(D) Developare: 2minute si 15 secunde**

Nota:

Timpul se stabileste la developare, poate uneori creste sau sa scada.

**(E) Curatire inainte de depunere metal, titan-platina: in plasma cu masca resist ma-N-1420, pentru lift-off are urmatorul program:**

P: 200 W

p: 20Pa

O<sub>2</sub>: 40 sccm

CF<sub>4</sub>: 1 sccm

Timp: 15 secunde

- Programul nu afecteaza suprafata rezistului;
- Acest program este suficient, ca urmele de umiditate sa fie eliminate si suprafata rezistului sa nu devina mai poroasa (in sensul bombardarii cu ioni);

**(F) Depunere metal: titan-platina: 15nm/200nm**

- Obligativu inainte de depunere metal se face curatirea in plasma;
- Programul de curatire in plasma, este foarte scurt, dar eficacitatea lui consta ca sticlele sa intre imediat la depunere metal;

- Pentru a nu avea probleme la depunere metal si lift-off, trebuie ca timpul dintre configurare masca si depunere sa nu fie mai mare de o zi.

### (F) Lift-off Ti/Pt

Se realizeaza intr-un vas cu acetona, timpul este variabil, poate dura de la 20 minute pana la o ora, urmata de spalare sub jet de apa.

### (H) Depunere polianilina

## 2. Conceptia de realizare a unui sensor de pH planar

Conceptia de realizare a unui sensor de pH planar, integrat, miniaturizat. Termenul planar indica ca senzorul este realizat pe un substrat plan si este el insusi plan, desfasurat ca in figura 2. Considerand electrozii de pH clasici, Ag/AgCl in sticla tubulara, putem considera senzorul realizat plan.

Senzorul este conceput cu 2 electrozi de lucru care pot fi conectati in configuratie diferentiala sau separat si un electrod de referinta, extern cipului de sticla.

Electrozii sunt din Ti/Pt, ei sunt prezentati in figura 2.2 si sunt depusi cu polianilina depusa electrochimic care actioneaza ca strat senzitiv pentru ionii de hidrogen.

Masuratoarea senzorului este o masuratoare de tensiune la curent zero. Instrumentul trebuie sa aiba o rezistenta de intrare mai mare de  $100M\Omega$ .

Tensiunea este masurata intre doi electrozi:

- electrodul activ (in cazul nostru un electrod de platina acoperit cu un strat polimeric conductiv (polianilina). Electrozii activi sunt pH1 si pH2
- Electrodul de referinta (Ag/AgCl, KCl 3M), miniaturizat, plasat pe traseul microfluidic

Celula de masura este calibrata individual, bazata pe perechea de valori (E, pH). Fiecare modul are doi electrozi de pH. Electrodul de referinta este comun. Posibilele masuratori sunt:

- a) pH 1 (pe pad nr 5), plasat in figura 2 in pozitia pH1
- b) pH 2 (pe pad nr 8), plasat in figura 2 in pozitia pH2
- c) masuratoare diferentiala intre electrozii pH 1 and pH 2

Masuratorile de pH in buffer de pH 4 si pH 10 ne dau panta curbei de calibrare conform figurii 4. S-a obtinut o valoare de  $80mV/pH$  care este mai buna decat valoarea electrodului standard  $59mV/pH$ .

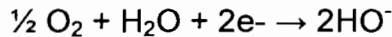
Figura nr.5 prezinta caracteristica senzorului de pH, realizata prin masuratori atat pe electrodul pH 1 cat si pe electrodul pH 2

### 3. Conceptia de realizare a unui sensor de oxigen dizolvat, planar

Senzorul de oxigen dizolvat este conceput ca un senzor planar. El este conceput ca fiind format din 2 electrozi metalici dintre care unul de forma semicirculara in jurul celui de al doilea electrod. Senzorul masoara curentul intre cei doi electrozi la aplicare unei tensiuni de

-900 mV aplicata pe electrodul de lucru fata de electrodul de referinta.

La tensiunea de polarizare de -900mV avem crestere a curentului ca o indicatie ca are loc reactia



la suprafata electrodului de platina.

Acest curent scade rapid in 6-10 secunde, ca urmare a consumului acestuia la suprafata electrodului. Modul de lucru este urmatorul:

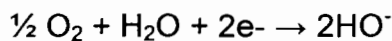
Se polarizeaza electrozii intre padurile 10 (sau 9) si 11 la -900mV si se masoara curentul in intervalul 5-10 secunde.

Dupa 10 secunde se decupleaza sursa de tensiune pentru a evita consumarea O<sub>2</sub>.

Al doilea electrode (contraelectrodul) este realizat prin scurtcircuitarea celor doi electrozi: electrodul de platina (Pad 10 sau pad 9) si electrodul de referinta (Ag/AgCl, KCl 3M, acelasi ca pentru masuratoarea de pH) si se masoara ca in circuitul din figura 6.

Considerand figura 6 avem urmatoarele comentarii

- Celula pentru masurarea O<sub>2</sub> este o celula fara membrana, un strat de difuzie liber a fost identificat si constitutie baza teoretica a explicarii comportarii senzoului
- Se masoara curentul care nu este o masura a ratei de difuzie a O<sub>2</sub> prin membrana ci o masura a ratei de difuzie printr-un strat de difuzie care apare la Interfata electrod de Platina /solutie
- Electrodul de lucru este un electrod de platina si va fi polarizat negativ fata de electrodul de referinta, la -700 mV ÷ -900mV
- Electrodul de referinta tine potentialul constant. Electrodul de lucru este polarizat fata de electrodul de referinta suficient timp pentru a starta reactia:



Semnalul obtinut care defineste caracteristica senzoului de oxigen este prezentat in figura 7.

Se poate observa ca dupa aproximativ 6-10 secunde curentul este relativ stabil si curba are un palier care merge spre zero .

Pe aceasta curba am definit trei zone:

- Zona A: Imediat dupa aplicarea potentialului (-900mV) curentul obtinut este direct legat de prezenta O<sub>2</sub> la suprafata electrodului de lucru din Platina; curentul incepe sa descreasca foarte repede deoarece oxigenul este consumat si trece in HO<sup>-</sup>.

- Zona B: Concentratia de  $O_2$  pe suprafata electrodului de lucru descreste repede spre zero
- Zona C: La suprafata electrodului de lucru,  $O_2$  ajunge prin difuzie avand o viteza controlata prin gradientul concentratiei in stratul de difuzie. Practic, curentul este controlat prin difuzie.

Masuratoarea trebuie sa aiba loc intr-un timp cat mai scurt. Valoarea curentului care este considerata o indicatie a prezentei oxigenului diluat este cea obtinuta dupa stabilizarea curbei la inceputul zonei C.

## Calibrarea

Caracteristica de masura a senzorului de oxigen dizolvat este liniara cu valori de  $0,00\mu A$  pentru  $C_{O_2} = 0$ . Din acest motiv curentul masurat initial va fi considerat curentul corespunzator saturatiei solutiei cu  $O_2$  (100% la presiune atmosferita si temperatura ambianta ceea ce corespunde la  $\sim 8mg O_2 / litru$  in apa).

Masurarea  $O_2$  diluat se face in pasi scurti (max 10 sec) care se repeta la anumite intervale (15 min, 30 min, etc).

## **Electrodul redox**

Acesta este un electrod de platina (Pad 7). El masoara o tensiune intre el si electrodul de referinta (potentialul redox). Celulele moarte pot crea un potential de reducere care poate modifica potentialul masurat de electrozii de pH. El este introdus in aceeasi arie ca si culturile de celule investigate.

## **4. Metoda de realizare electrod de referinta miniaturizat**

### **Metoda de obtinere**

1. Electrodul de referinta este de tip Ag/AgCl, KCl3M (solutia de umplere este KCl 3M);
2. Corpul electrodului este un tub polimeric in care se introduce un fir de argint.
3. Tubul se umple cu solutie KCl 3M prin presare si eliberare a aerului ai aerul evacuat lasa locul solutiei KCl care intra in tub.
4. Tubul este lipit in partea superioara lasand afara doar firul de Ag care este conectat la aparatele de masura si are fixata in partea inferioara un capac din PVC. Atunci cand este introdus intr-un flux microfluidic (ex: canal microfluidic) tubul din PVC se indeparteaza si electrodul se fixeaza in canal asa cum se vede in figura 8, prin intermediul unor conectoare fluidice
5. Prepararea electrodului de referinta se repeta dupa cateva saptamani, deoarece electrolitul poate parasi tubul prin difuzie sau datorita diferentei de presiune. Tubul se reumple cu electrolit prin repetarea pasilor 3-4

### **Principalii beneficiari:**

Laboratoare de analize medicale, fabricanti ai unor platforme biomedicale de analize si diagnostic, unitati de cercetare in domeniul biomedical, universitati, etc

**Conceptia de realizare senzori miniaturizati de pH si oxigen pe sticla, prin depunere de metale (Ti/Pt) si depunere de polimer conductor respectiv polianilina este noua.**

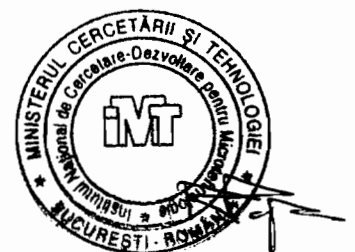
Metoda de realizare senzori integrati de temperatura, pH si oxigen este conceptia autorilor si permite implementarea conceptelor descrise in brevet.

Ceea ce propunem in brezentul brevet este un concept si metoda de realizare a unor senzori miniaturizati de pH si oxigen , 2D, care traditional au dimensiuni de ordinul centimetrilor, care raspund cerintelor moderne ale aplicatiilor biomedicale de utilizare a unor incinte miniaturizare pentru analize, cu consum mic de reactanti, solutii tampon, solutii de nutrienti, etc.

Setul de senzori descris este necesar in toate aplicatiile care implica experimente pe cultuii de celule, biosenzori enzimatici, biosenzori cu DNA, imunosenzori, etc.

**Avantajele metodei propuse:**

1. Utilizeaza depuneri metalice prin evaporare in vid care sunt perfect controlate si reproductibile, straturile depuse fiind de grosime in domeniul a 10- 200 nm.
2. Utilizeaza depuneri electrochimice de polimeri, perfect controlate ca grosime si calitate, sub forma de nanofibre, utilizand voltametria ciclica.
3. Utilizeaza tehnici de litografie care sunt precise si ofera o rezolutie in tehnologia propusa de +/- 100nm, pentru configurare la nivel micrometric a senzorilor propusi





## Brevet "Senzori miniaturizati de temperatura, pH si oxigen pentru monitorizarea mediilor biologice"

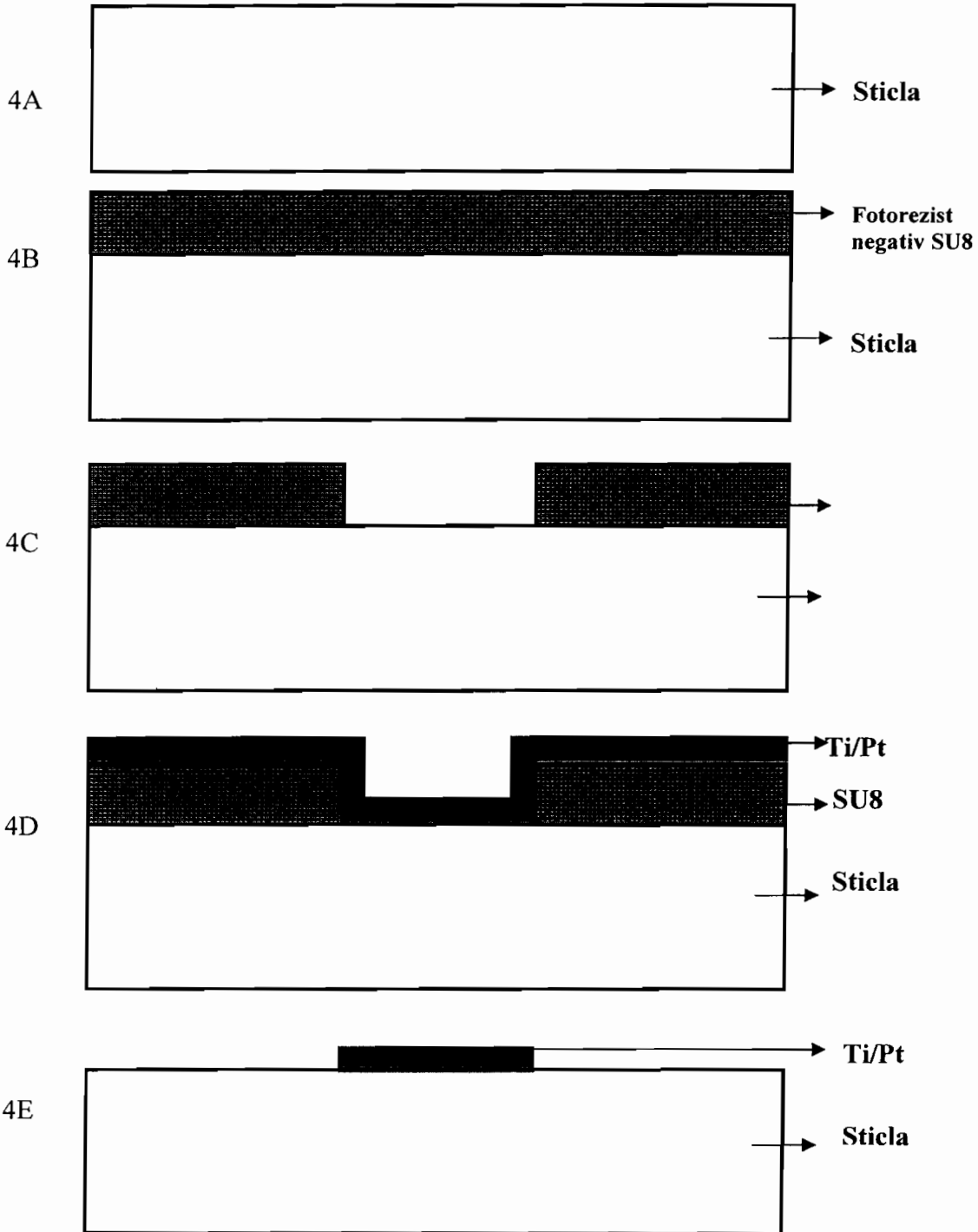
### Revendicari

1. Metoda de realizare a unui senzor de temperatura, a unui senzor de pH si a unui senzor de oxigen miniaturizati, integrati pe acelasi chip pe substrat de sticla
2. Conceptia de realizare a unui senzor de pH bidimensional, miniaturizat, integrat pentru a fi utilizat in canale microfluidice inguste pentru monitorizarea mediilor biologice.
3. Conceptia de realizare a unui senzor de oxigen bidimensional, miniaturizat, integrat pentru a fi utilizat in canale microfluidice inguste
4. Metoda de realizare a unui electrod de referinta miniaturizat



# DESENE

## Brevet "Senzori planari, miniaturizati de temperatura, pH si oxigen pentru monitorizarea mediilor biologice"



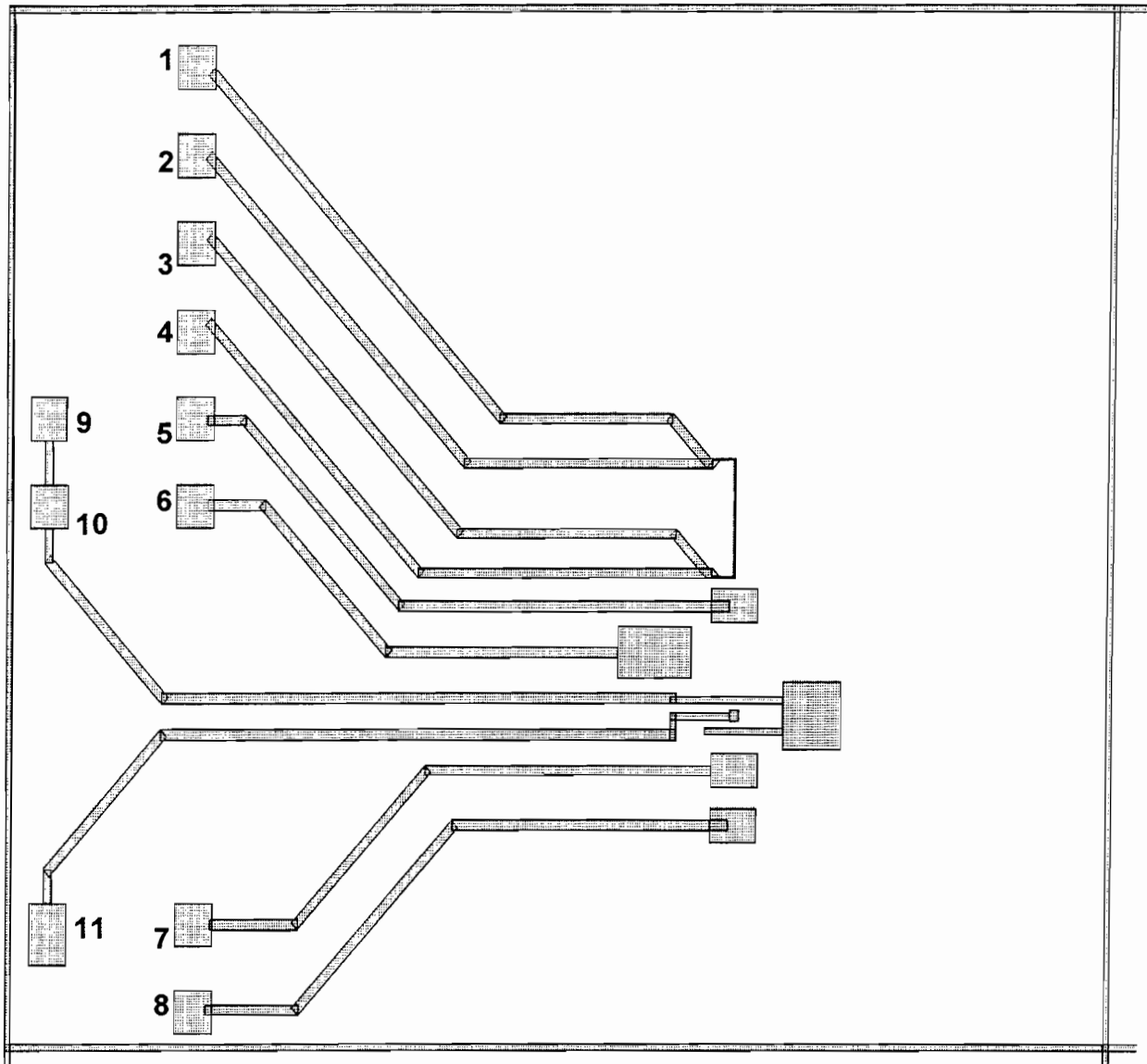
**Legenda:** Sticla – suport pentru senzori  
ma-N-1420 - fotorezist negativ, rasina fotosensibila.  
Zonele expuse la lumina polimerizeaza si raman pe substrat  
dupa dezvoltare, in zonele neexpuse la lumina, fotorezistul  
este dizolvat si dispare de pe substrat la dezvoltare  
Ti/Pt - strat de Titan-Platina cu rol de strat metalic pentru  
senzori

**Figura 1. Descriere metoda tehnologica prin sectiunea transversala in etapele principale de procesare:**

- 4A) Sectiune transversala substrat sticla
- 4B) Sectiune transversala substrat sticla depus cu fotorezist negativ , 4 microni
- 4C) Configurare fotorezist negativ SU8 prin expunere si dezvoltare
- 4D) Depunere Ti/Pt pe toata suprafata
- 4E) Indepartare fotorezist (lift-off)



Figura 2 Schema 2D a cipului continand senzoriilor – Masca 1 metalizare



**Legenda**

Padul nr.

1, 2, 3, 4 – conexiunile senzorului de temperatura

5 – conexiunea la electrode pH 1

6 – electrod de referinta (referenta chimica– electrod de Ag/AgCl)

10 (sau 9), 11 - conexiunile pentru senzorul de oxigen

7 - conexiunea la electrode pH 2

8 – fir de Pt – referinta electrica

Figura 4.  
Schema electrozului de referinta.

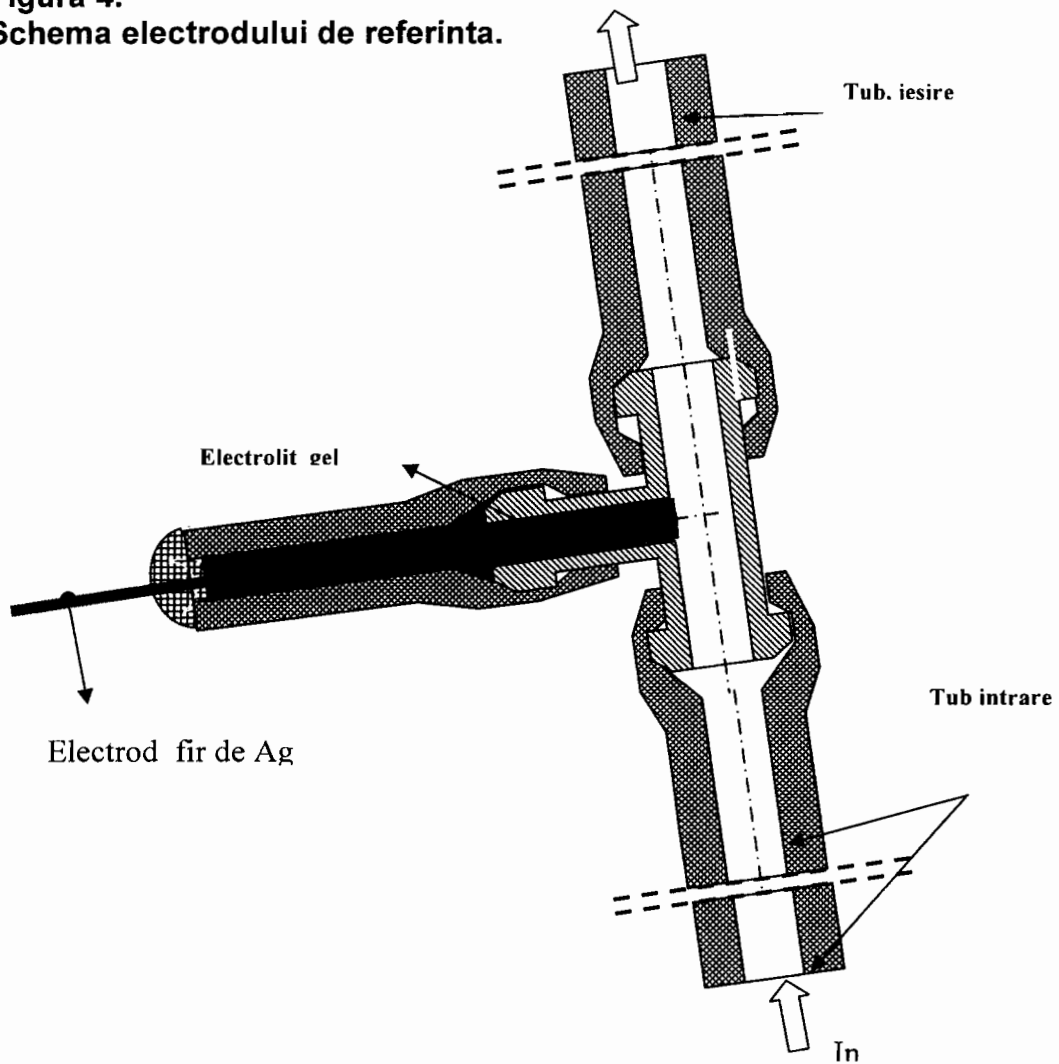


Figura 5 Caracteristica senzorului de pH

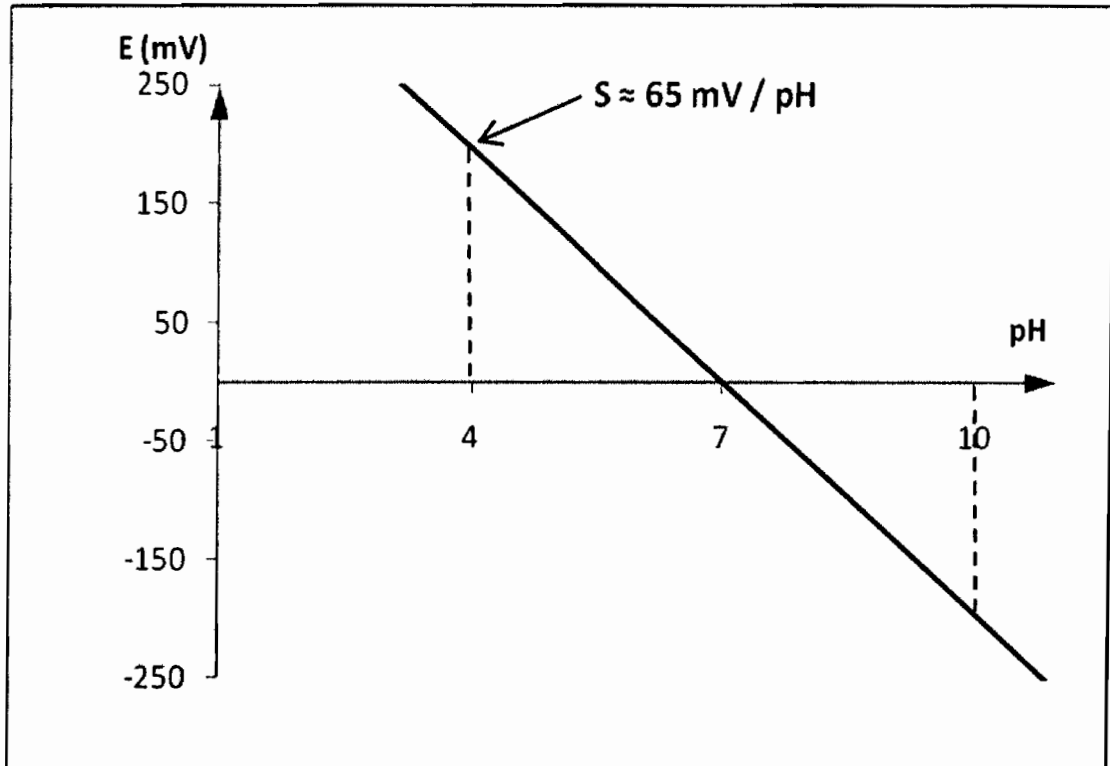


Figura 6. Circuitul de masura al senzorului de oxigen

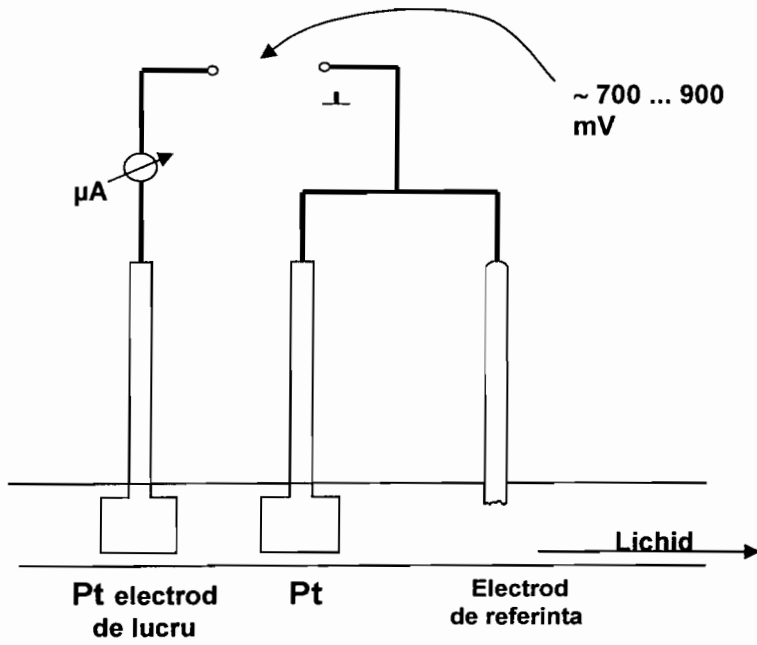


Figura 7. Caracteristica senzorului de oxigen dizolvat

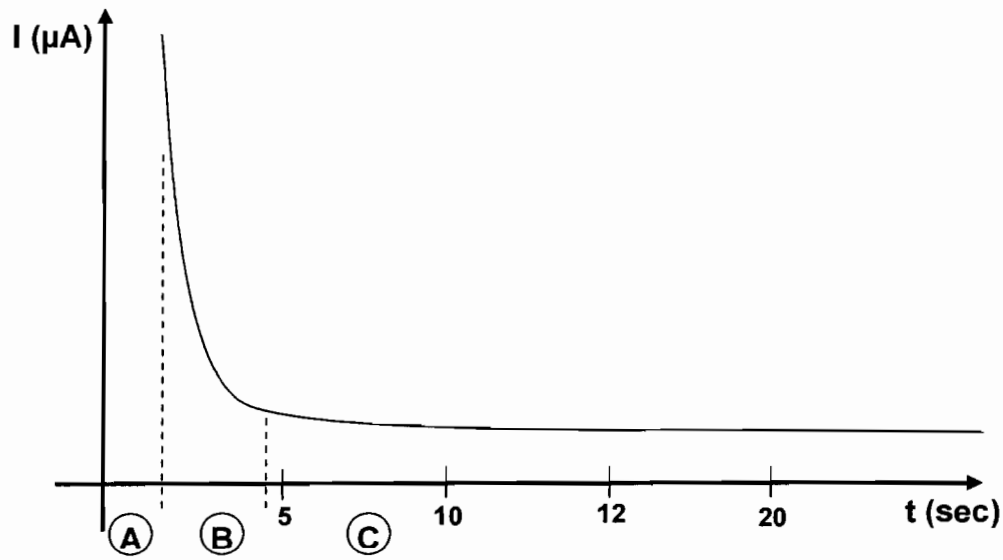




Figura 8. Curba de calibrare a senzorului de oxigen dizolvat

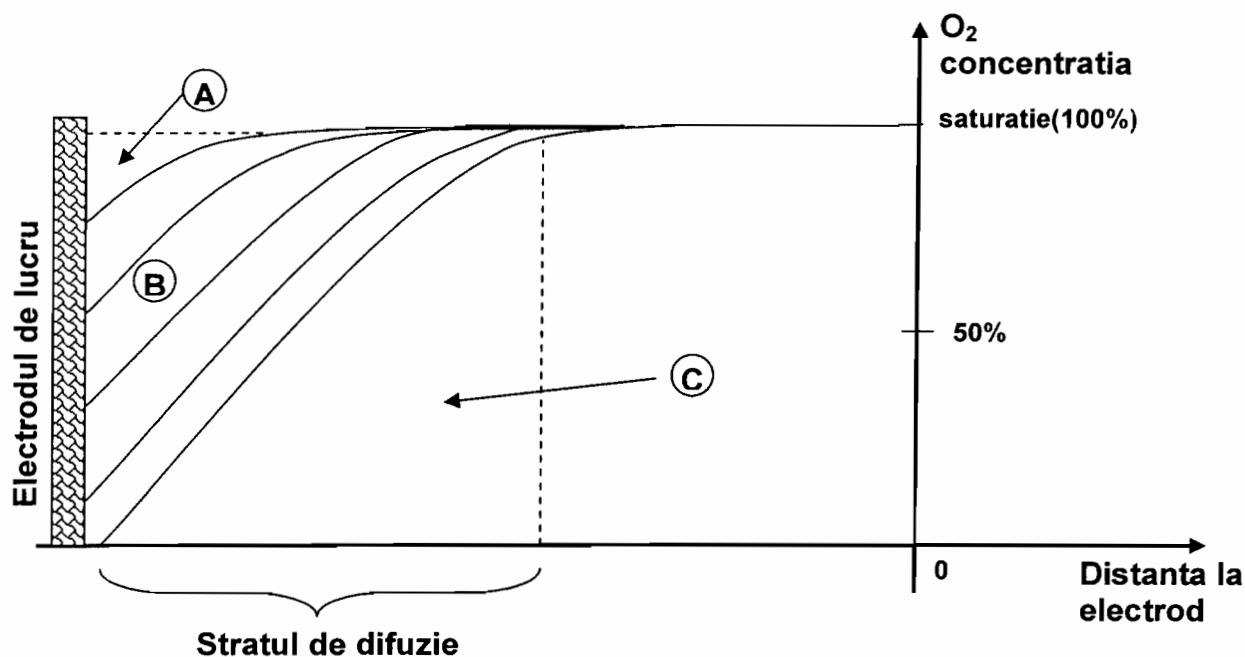


Figura 9. Electrodul de referinta

