



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2018 00958**

(22) Data de depozit: **25/01/2019**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/12/2021** BOPI nr. **12/2021**

(41) Data publicării cererii:
28/06/2019 BOPI nr. **6/2019**

(73) Titular:
• UNIVERSITATEA "BABEȘ-BOLYAI" DIN
CLUJ-NAPOCA,
STR.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.1,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE
CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU
TEHNOLOGII IZOTOPICE ȘI
MOLECULARE, STR.DONAT NR.67-103,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• FOCȘAN MONICA, STR.LUNII, NR.14,
AP.19, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• CÂMPU ANDREEA, STR.RAHOVA, NR.10,
SC.B, ET.3, AP.34, SIBIU, SB, RO;
• AȘTILEAN SIMION, CALEA MANĂȘTUR,
NR.99, AP.39, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;
• MURARIU TEODORA, STR. CERNĂUȚI,
NR.17-21, BL.E, AP.7, CLUJ NAPOCA, CJ,
RO;
• TURCU IOAN, STR.TITU MAIORESCU,
NR.7, AP.4, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2017/031393 A1; WO 2013/096528 A1

(54) **PROCEDEU DE OBȚINERE A UNUI DISPOZITIV
MICROFLUIDIC PLASMONIC PE BAZĂ DE NANOPARTICULE
BIPIRAMIDICE DE AUR**



RO 133447 B1

1 Prezența invenției se referă la un procedeu de obținerea a unui dispozitiv miniaturizat
2 cu aplicabilitate în domeniul biosenzoristicii, realizat prin integrarea în interiorul unui canal
3 microfluidic din polidimetilsiloxan (PDMS) a unui film nanoparticulat format din nanoparticule
4 de formă bipiramidală din aur (AuBPs). Procedeu de obținere și natura nanomaterialelor
5 plasmonice utilizate în realizarea dispozitivului asigură pe de o parte circulația continuă în
6 flux laminar a unui fluid biologic și pe de altă parte posibilitatea de a înregistra semnale
7 optice specifice (spectre) care traduc prezența și identitatea moleculelor de interes (bioanalizi
și biomarkeri) din fluidul biologic.

9 Este cunoscut din documentul **WO 2017/031393 A1** un procedeu de fabricare a unui
10 dispozitiv microfluidic sau de tip "spot-plate" de biodetecție prin Rezonanță Plasmonică de
11 Suprafață Localizată (LSPR) care combină într-un mod unic tehnicile de fotolitografie și
12 litografie coloidală de tip mască cu găuri pentru a produce dispozitive extrem de sensibile
13 și eficiente din punct de vedere al costurilor, adecvate pentru miniaturizare și portabilitate.
14 Modelul dispozitivului dorit este transferat cu ajutorul unui material fotorezistent pe un
15 substrat folosind fotolitografia; cel puțin două straturi de polimer au fost depuse prin tehnica
16 de rotire pe substrat (eng. "spin-coating") pentru a forma un film de polimer, o multitudine de
17 particule de polistiren având forma și dimensiunea dorite, au fost depuse pe stratul de
18 polimer prin picurare, apoi un film nanometric de aur a fost depus peste acesta din urmă,
19 particulele de polistiren au fost îndepărtate, masca de găuri a fost gravată, un metal
20 plasmonic este depus în găuri, iar stratul de polimer și rășina fotosensibilă au fost apoi
21 îndepărtate înainte de sigilarea opțională cu un înveliș.

22 Documentul **WO 2013/096528 A1** se referă la un substrat, care este util pentru
23 efectuarea de teste biologice, chimice și de diagnostic, și metoda de preparare a
24 substratului. Substratul are o suprafață superioară cu un strat dispus pe acesta. Acoperirea
25 cuprinde un polimer încărcat, un polieter neionic și un compus silicat. Substratul poate crește
26 legarea fazei de captare și reduce legarea nespecifică a biomoleculelor pentru un microtest
27 biologic.

28 Problema pe care o rezolvă invenția este un procedeu de obținere a unui dispozitiv
29 microfluidic plasmonic pe bază de nanoparticule bipiramidice de aur cu aplicabilitate în
domeniul biosenzoristicii.

30 Procedeu de obținere a unui dispozitiv microfluidic plasmonic conform invenției,
31 înlătură dezavantajele de mai sus prin aceea că constă din următoarele etape:

32 - Sinteza de AuBPs care constă din două faze:

33 I. Prepararea germenilor în care 1M de clorură aurică a fost adăugată în 25% în
34 greutate soluție de clorură de cetiltrimetilamoniu, 0,25M acid nitric, 50 mM borohidru
de sodiu și 1M acid citric la temperatura camerei prin agitare puternică pentru reducerea ionilor
35 de aur și stabilizarea germenilor. Apoi soluția finală s-a păstrat la 80°C timp de 90 min;

36 II. Prepararea soluției de creștere care se obține din bromură de cetiltrimetilamoniu
37 45 mM, 25 mM clorură aurică, 5 mM ioni de argint și 0,4 M hidroxichinolină, 45 μl din
38 germenii rezultați au fost adăugați la soluția de creștere și amestecul a fost menținut 50 de
39 minute la 40°C, obținându-se AuBPs în soluție apoasă cu dimensiuni de 85 ± 2,3 nm lungime
40 și 26 ± 4,1 nm și cu răspuns plasmonic caracteristic nanostructurilor anizotrope ce prezintă
41 bandă plasmonică transversală la 515 nm datorată oscilațiilor transversale a electronilor de
42 suprafață și o bandă la 776 nm datorită oscilațiilor longitudinale ale electronilor de suprafață.

43 - Autoasamblarea controlată a AuBPs pe substrat solide de sticlă, astfel AuBPs au
44 fost supuse unei centrifugări la 8000 RPM timp de 15 min apoi redispersate în apă ultra-pură
45 pentru a îndepărta excesul de reactanți rămași în urma procesului de sinteză. Substratele
46 de sticlă au fost spălate cu detergent alcalin, apă ultra-pură, acetonă și metanol și au fost
47

RO 133447 B1

supuse unui tratament cu ozon, apoi au fost imersate pentru 24 h la temperatura camerei în soluție etanoică de (3-aminopropil)-trietoxisilan 10%, excesul de (3-aminopropil)-trietoxisilan a fost îndepărtat cu etanol, iar substratele au fost lăsate la uscat la temperatura camerei, urmând ca 300 µl să fie picurați pe suprafața de sticlă obținându-se componenta senzorică formată din AuBPs imobilizate pe substratul de sticlă.	1 3 5
- Obținerea sistemului de microcanale în care polidimetilsiloxanul obținut în urma amestecării unei baze polimerice cu un agent de întărire în raport de 10:1 este turnat peste o matriță obținându-se un microcanal care este tratat la 65°C timp de 1 h. Apoi microcanalul tratat a fost îndepărtat de pe matriță iar polidimetilsiloxanul cu microcanalul integrat și componenta plasmonică au fost tratate în plasmă cu ajutorul sistemului Tetra 30 PC/PPCE la o presiune constantă de 0,2 bari și o putere de 60 W din totalul de 300 W al generatorului RF de 13,56 MHz timp de 40 sec, imediat cele două componenete au fost aduse în contact pentru a crea o legătură permanentă, obținându-se astfel dispozitivul microfluidic plasmonic pe bază de nanoparticule bipiramidice de aur.	7 9 11 13
Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje:	15
- timp de analiză scăzut în interiorul canalului microfluidic;	17
- volum de probă redus folosit pentru detecție în canal microfluidic;	19
- abilitatea dispozitivului de a investiga în timp real;	19
- portabilitatea dispozitivului;	19
- miniaturizarea dispozitivului;	21
- automatizarea necesară manipulării fluxului de lichid biologic investigat, evitând contaminarea probei;	21
- posibilitatea de a detecta simultan multiple molecule de interes în canal microfluidic;	23
- nanoparticulele bipiramidice de aur prezintă de asemenea un grad ridicat de stabilitate structurală și chimică în diferite fluide biologice, ca urmare pot fi implementate direct în aplicații specifice de biosenzoristică;	25
- nanoparticulele de formă bipiramidică generează la extremități câmpuri electromagnetice intense (hot-spot) pentru implementarea detecției prin spectroscopie Raman amplificată de suprafață (engl. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy SERS);	27 29
- introducerea unor proceduri neinvazive sau puțin invazive pentru detecția specifică de analiți de interes;	31
- efectuarea de analize rapide și ultrasensibile;	33
- investigarea în timp real în fluide biologice.	33
Noutatea invenției constă în utilizarea pentru prima dată în canale microfluidice de elemente transductoare plasmonice de tipul nanoparticulelor de aur de formă bipiramidală, care prin forma lor particulară permit implementarea simultană în timp real a două metode de sensing, una pentru detecția de material biologic molecular sau macromolecular atașat la suprafața nanoparticulelor prin Rezonanța Plasmonică de Suprafață Localizată (engl. Localized Surface Plasmon Resonance - LSPR) și cealaltă metodă pentru identificare moleculară prin amprenta spectrală a fiecărei molecule dată de SERS).	35 37 39
Miniaturizarea, portabilitatea, identificarea rapidă și precisă a agenților patogeni califică invenția propusă pentru implementare în aplicații biomedicale de detecție, identificarea și inactivarea agenților patogeni în mediul spitalicesc sau în alte aplicații de biosenzoristică de interes.	41 43
În continuare se prezintă un exemplu de realizare a invenției în legătură cu fig. 1...7 care reprezintă:	45
- fig. 1, spectrul de extincție UV-Vis-NIR al nanobipiramidelor de aur sintetizate în soluție coloidală (A), împreună cu o imagine reprezentativă de microscopie electronică în transmisie (TEM) (B) și analiza de împrăștiere dinamică a luminii (DLS) corespunzătoare nanobipiramidelor de aur sintetizate (C);	47 49

1 - fig. 2, schemă ilustrativă a procesului de autoasamblare controlată de nanobipiramide de aur sintetizate în soluție coloidală pe un substrat de sticlă prefuncționalizat cu (3-aminopropil)-trietoxisilan (APTES);

3 - fig. 3, demonstrarea reproductibilității nanoplatforme plasmonice prin colectarea spectrelor de extincție în diferite poziții (A) împreună cu imagini reprezentative de microscopie electronică în baleaj (SEM) (B) și microscopie de forță atomică (AFM) (C);

5 - fig. 4, schema ilustrativă a dispozitivului microfluidic plasmonic obținut prin integrarea în interiorul canalului microfluidic de polidimetilsiloxan (PDMS) (3) a unui film nanoparticulat format pe un substrat de sticlă aminosilanizată (1) printr-un procedeu de autoasamblare de nanoparticulelor bipiramidice de aur (2) disponibile în soluție apoasă;

7 - fig. 5, imagine optică a dispozitivului microfluidic plasmonic final fabricat;

9 - fig. 6, curba de regresie lineară care determină indicele de sensibilitate bulk luând în considerare banda longitudinală LSPR a bipiramidelor asamblate pe substrat;

11 - fig. 7, testarea dispozitivului microfluidic plasmonic fabricat prin detectarea duală LSPR (A) și SERS (B) a moleculei de analit p-ATP în flux laminar.

Exemplul 1

17 Primul pas pentru fabricarea dispozitivului microfluidic plasmonic a fost acela de a sintetiza AuBPs în soluție apoasă prin procesul chimic de creștere asistată de germeni (eng. seed-mediated growth approach) bazat pe reacția de reducere a ionilor de aur în prezența unui agent reducător, putându-se astfel obține AuBPs cu răspunsul optic controlat între domeniul vizibil și cel infraroșu apropiat, prin manipularea raportului de aspect al AuBPs. Sinteza constă în doi pași: i) prepararea germenilor și ii) prepararea soluției de creștere (Nanotechnology 2012, vol. 23, 145707). Pe scurt, 1 M de clorură aurică a fost adăugat în 25% wt soluție de clorură de cetiltrimetilamoniu (CTAC), 0,25 M acid nitric, 50 mM borohidruură de sodiu și 1 M de acid citric, utilizate pentru reducerea ionilor de aur și stabilizarea germenilor. Reacțiile s-au realizat la temperatura camerei prin agitare puternică. Soluția finală s-a păstrat la 80°C, timp de 90 min 45 μl din germenii rezultați au fost adăugați soluției de creștere formată din agentul stabilizator bromura de cetiltrimetilamoniu (CTAB) 45 mM, 25 mM clorură aurică, 5 mM ioni de argint și 0,4 M hidroxichinolină (HQL). Mixtura a fost menținută 50 min la 40°C. Astfel, am obținut AuBPs în soluție apoasă cu răspuns plasmonic caracteristic nanostructurilor anizotrope ce prezintă o bandă plasmonică transversală la 515 nm datorată oscilațiilor transversale ale electronilor de suprafață și o bandă la 776 nm datorată oscilațiilor longitudinale ale electronilor de suprafață. Fig. 1A prezintă spectrul de extincție al AuBPs înregistrat cu ajutorul unui spectrofotometru Jasco V 670 UV-VIS NIR cu rezoluție spectrală de 1 nm. Morfologia AuBPs a fost investigată prin microscopie electronică în transmisie (TEM, fig. 1B) cu ajutorul căruia am stabilit dimensiunea nanostructurilor ca fiind $85 \pm 2,3$ nm lungime și $26 \pm 4,1$ nm lățime. Pentru determinarea monodispersității soluției, precum și distribuției dimensionale și morfologice a AuBPs s-a folosit microscopul de înaltă rezoluție FEI Tecnai F20, ce funcționează cu un voltaj de 200 kV și este echipat cu o cameră CCD Eagle 4k. Dimensiunea obținută prin analiza imaginilor TEM a fost confirmată și prin măsurarea diametrului hidrodinamic al nanoparticulelor prin tehnica de împrăștiere dinamică a luminii (DLS, Dynamic Light Scattering) cu ajutorul instrumentului Malvern Zetasizer Nano-ZS 90 la temperatura camerei de 25°C (fig. 1C). În vederea autoasamblării controlate a AuBPs pe substrat solide de sticlă, acestea au fost suspuse unei centrifugări la 8000 RPM timp de 15 min fiind redispersate în apă ultra-pură pentru a îndepărta excesul de reactanți rămași în urma procesului de sinteză.

Așadar, mai departe am fost interesați în realizarea autoasamblării a AuBPs sintetizate în soluție coloidală pe un substrat de sticlă într-o manieră controlată și reproductibilă, prin dezvoltarea unui protocol de depunere a acestora pe substrat de sticlă, în mod specific, substratul de sticlă au fost spălate folosind detergent alcalin, apă ultra-pură, acetonă și metanol și au fost supuse unui tratament în ozon. Apoi, așa cum este ilustrat schematic în fig. 2, substratul de sticlă au fost imersate pentru 24 h la temperatura camerei în soluție etanoică de (3-aminopropil)-trietoxisilan (APTES) 10%. Excesul de APTES a fost îndepărtat folosind etanol, iar substratul de sticlă au fost lăsat la uscat la temperatura camerei, urmând ca 300 μl de coloid să fie picurați pe substratul de sticlă.

În urma imobilizării pe substrat, răspunsul optic al AuBPs își păstrează forma benzii plasmonice longitudinale din soluție, acesta fiind prezentat în fig. 3A. În plus, o nouă bandă plasmonică apare în spectru, la lungimi de undă mai mari în jur de 825 nm, bandă ce este atribuită asamblării controlate a AuBPs sub formă de lanțuri. Demonstrarea reproductibilității nanoplatformelor plasmonice a fost confirmată prin colectarea spectrelor de extincție în diferite poziții pe același substrat plasmonic, spectre ce prezintă un răspuns plasmonic similar. Imobilizarea AuBPs atât individuale cât și sub formă de lanțuri este confirmată și de imaginea electronică de baleaj (SEM) prezentată în fig. 3B, utilizând un microscop electronic de baleaj FEI Quanta 3D FEG precum și prin microscopie de forță atomică (AFM), prezentată în fig. 3C cu ajutorul unui sistem Witec alpha 300 Asystem.

Ulterior am fabricat sistemul de microcanale în care se va realiza interfața între fluidul ce conține analitul de interes investigat și componenta senzorică formată de AuBPs imobilizate și prezentate anterior. Ca urmare, am demarat fabricarea de canale microfluidice și integrarea biosenzorilor plasmonici în aceste dispozitive. În mod specific, dispozitivele microfluidice au fost fabricate prin legarea polidimetilsiloxan (PDMS) - transparent din punct de vedere optic - de componenta plasmonică printr-o procedură ce constă în replicare prin folosirea unei măști comerciale achiziționate de la BlackHole Lab. Mască folosită conține un canal cu o lățime de 50 μm și o adâncime de 50 μm. PDMS-ul obținut în urma amestecării unei baze polimerice cu un agent de întărire în raport de 10:1 este turnat peste matriță și tratat la 65°C timp de 1 h. După tratament, microcanalul a fost îndepărtat de pe matriță iar PDMS-ul și componenta plasmonică au fost tratate în plasmă cu ajutorul sistemului Tetra 30 PC/PPCE la o presiune constantă de 0,2m bari și o putere de 60 W din totalul de 300 de W al generatorului de RF de 13,56 MHz timp de 40 sec. Imediat după această procedură cele două componente au fost aduse în contact pentru a crea o legătură permanentă (**Lab. Chip, 2005, 5, 1173-1177**). Schema ilustrativă a dispozitivului microfluidic plasmonic astfel obținut este prezentat în fig. 4 și prezintă integrarea în interiorul canalului microfluidic de polidimetilsiloxan (PDMS) (3) a unui film nanoparticulat format pe un substrat de sticlă aminosilanizată (1). De asemenea, imaginea optică a dispozitivului microfluidic plasmonic final fabricat este ilustrată în fig. 5.

În vederea utilizării ulterioare a dispozitivului microfluidic plasmonic ca și nanosensor plasmonic integrat, mai departe am investigat sensibilitatea bulk (S) la modificarea indicelui de refracție al mediului de dispersie (RI). În general, sensibilitatea S a unei nanostructuri plasmonice este dependentă de forma, dimensiunea, precum și de compoziția materialului și se definește prin deplasarea valorii lungimii de undă a peak-ului LSPR în funcție de indicele de refracție a mediului înconjurător (**J. Chem. Sci, 2003, 115, 147-154**). Cu acest scop am preparat diferite concentrații de glicerol (0%, 20%, 40%, 60% și 80%) cu diferiți indici de refracție pe care ulterior le-am injectat în interiorul canalului microfluidic cu ajutorul unei seringi NE-4000 NEW Era prin tubul PTFE (Elveflow). În urma înregistrării spectrelor UV-Vis-

RO 133447 B1

1 NIR înregistrate sub microscopul inversat Zeiss Axio Observer Z1 utilizând un spectro-
fotometru portabil Ocean Optics 4000, s-a observat că banda plasmonică longitudinală a
3 AuBPs se deplasează spre valori mai mari odată cu creșterea indicelui de refracție. Prin
plotarea valorii benzii plasmonice longitudinale în funcție de indicele de refracție utilizat am
5 putut determina prin analiza lineară de regresie indicele de sensibilitate bulk de
243 nm/unitate de indice de refracție ($S = 243 \text{ nm/RIU}$) cu un coeficient de determinare (R^2)
7 de 0,997 (fig. 6). În acest context, dispozitivul dezvoltat prezintă un potențial crescut pentru
a fi utilizat ca senzor LSPR integrat.

9 În final, dispozitivul microfluidic plasmonic a fost testat pentru detecția duală LSPR-
SERS în timp real a analitului de interes, molecula para-aminotiofenol (p-ATP) un bine
11 cunoscut și studiat reporter Raman al cărui spectru vibrațional nu interferează cu spectrul
caracteristic al PDMS-ului, astfel identificarea acestuia din spectrul compus nu reprezintă un
13 risc (fig. 7). Cele două tehnici de detecție ultrasensibilă oferă informații complementare, pe
de o parte privind atașarea moleculelor pe suprafața AuBPs (prin modificarea indicelui de
15 refracție al mediului din jurul nanoparticulelor, ceea ce determină deplasarea LSPR spre
lungimi de undă mai mari) și pe de altă parte privind identificarea moleculei și orientarea
17 acesteia față de suprafața AuBPs, prin analiza spectrului SERS. Astfel, o soluție stock
concentrată de p-ATP de 10^{-5} M a fost utilizată pentru a pune în evidență capacitatea de
19 detecție a dispozitivului. În acest context s-a dezvoltat un sistem experimental ce permite
detecția în flux continuu format din două seringi automatizate, una pentru injectarea analitului
21 în interiorul canalului microfluidic cu o rată de infuzie de $1 \mu\text{l/min}$ și una pentru colectarea
controlată a probei.

23 Menționăm faptul că AuBPs prezintă capacități senzorstice remarcabile datorită
benzilor de extincție mai înguste ce permit distingerea unei deplasări spre lungimi de undă
25 mai mari indusă de o mică modificare a indicelui de refracție a mediului în imediata apropiere
a nanostructurii, asigurându-le astfel sensibilitate LSPR crescută. Mai mult decât atât,
27 datorită formei, acestea prezintă un câmp electromagnetic localizat concentrat la vârfurile
ascuțite ale celor două capete, astfel încât se observă o amplificare a acestuia, AuBPs
29 dovedindu-se a fi substrate SERS eficiente și ultrasensibile.

Astfel, soluția de p-ATP a fost injectată în dispozitivul microfluidic plasmonic fabricat,
31 care datorită grupării active thiol (-SH) se leagă covalent de suprafețele de aur rămase
expuse. Spectrele de extincție înregistrate după grefarea cu p-ATP (fig. 7A) arată o depla-
33 sare spre lungimi de undă mai mari ca urmare a modificării indicelui de refracție al mediului
învecinat nanostructurilor, indicând detectarea cu succes a moleculei de p-ATP.

35 Informații suplimentare, privind identitatea moleculei de p-ATP atașate de suprafața
nanoparticulelor bipiramidice de aur sunt furnizate de spectrele SERS achiziționate (fig. 7B)
37 cu spectrometrul Raman portabil Raman Systems R3000CN echipat cu o diodă laser la 785
nm ca sursă de excitație. Identificarea spectroscopică și atribuirea benzilor p-ATP s-a făcut
39 în acord cu datele din literatură (**S. Chem. Phys. Lett.** **2006**, **422**, (1-3), **127-132**), asigurând
identificarea moleculei prin evidențierea benzilor acesteia vibraționale caracteristice, situate
41 la 1079 și 1585 cm^{-1} datorită vibrațiilor de întindere C-S, respectiv, C-C, demonstrând
detecția cu succes a moleculelor de p-ATP în flux laminar datorită amplificării semnalului de
43 către câmpul electromagnetic generat de AuBPs.

RO 133447 B1

Revendicări

1. Procedeu de obținere a unui dispozitiv microfluidic plasmonic pe bază de nanoparticule bipiramidice de aur, **caracterizat prin aceea că**, constă din următoarele etape: 3
- sinteza de AuBPs care constă din două faze: 5
 - I. Prepararea germenilor în care 1M de clorură aurică a fost adăugată în 25% în greutate soluție de clorură de cetiltrimetilamoniu, 0,25M acid nitric, 50 mM borohidruă de sodiu și 1M acid citric la temperatura camerei prin agitare puternică pentru reducerea ionilor de aur și stabilizarea germenilor. Apoi soluția finală s-a păstrat la 80°C timp de 90 min; 7 9
 - II. Prepararea soluției de creștere care se obține din bromură de cetiltrimetilamoniu 45 mM, 25 mM clorură aurică, 5 mM ioni de argint și 0,4 M hidroxichinolină. 45 μl din germenii rezultați au fost adăugați la soluția de creștere și amestecul a fost menținut 50 de min la 40°C, obținându-se AuBPs în soluție apoasă cu dimensiuni de $85 \pm 2,3$ nm lungime și $26 \pm 4,1$ nm și cu răspuns plasmonic caracteristic nanostructurilor anizotrope ce prezintă bandă plasmonică transversală la 515 nm datorată oscilațiilor transversale electronilor de suprafață și o bandă la 776 nm datorită oscilațiilor longitudinale ale electronilor de suprafață. 11 13 15
 - autoasamblarea controlată a AuBPs pe substrate solide de sticlă astfel AuBPs au fost supuse unei centrifugări la 8000 RPM timp de 15 min apoi redispersate în apă ultra-pură pentru a îndepărta excesul de reactanți rămași în urma procesului de sinteză. Substratele de sticlă au fost spălate cu detergent alcalin, apă ultra-pură, acetonă și metanol și au fost supuse unui tratament cu ozon, apoi au fost imersate pentru 24 h la temperatura camerei în soluție etanoică de (3-aminopropil)-trietoxisilan 10%, excesul de (3-aminopropil)-trietoxisilan a fost îndepărtat cu etanol, iar substratele au fost lăsate la uscat la temperatura camerei, urmând ca 300 μl să fie picurați pe suprafața de sticlă obținându-se componenta senzorică formată din AuBPs imobilizat pe substratul de sticlă; 17 19 21 23 25
 - obținerea sistemului de microcanale în care polidimetilsiloxanul obținut în urma amestecării unei baze polimerice cu un agent de întărire în raport de 10:1 este turnat peste o matriță obținându-se un microcanal care este tratat la 65°C timp de 1 h. Apoi microcanalul tratat a fost îndepărtat de pe matriță iar microcanalul și componenta plasmonică au fost tratate în plasmă cu ajutorul sistemului Tetra 30 PC/PPCE la o presiune constantă de 0,2 bari și o putere de 60 W din totalul de 300 W al generatorului RF de 13,56 MHz timp de 40 sec, imediat cele două componente au fost aduse în contact pentru a crea o legătură permanentă, obținându-se astfel dispozitivul microfluidic plasmonic pe bază de nanoparticule bipiramidice de aur. 27 29 31 33
2. Dispozitiv microfluidic plasmonic pe bază de nanoparticule bipiramidice de aur, **caracterizat prin aceea că**, este obținut prin procedeul definit în revendicarea 1. 35

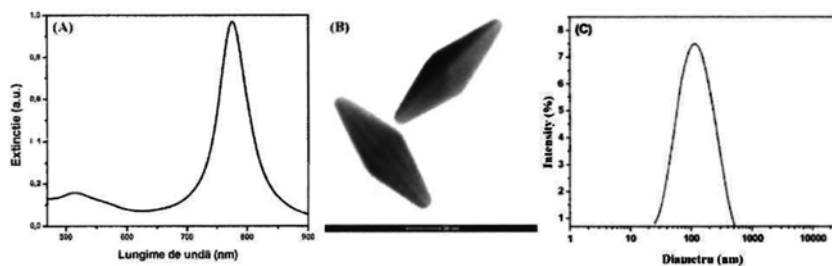


Fig. 1



Fig. 2

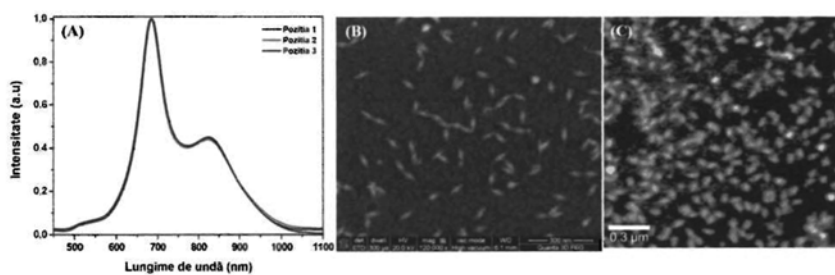


Fig. 3

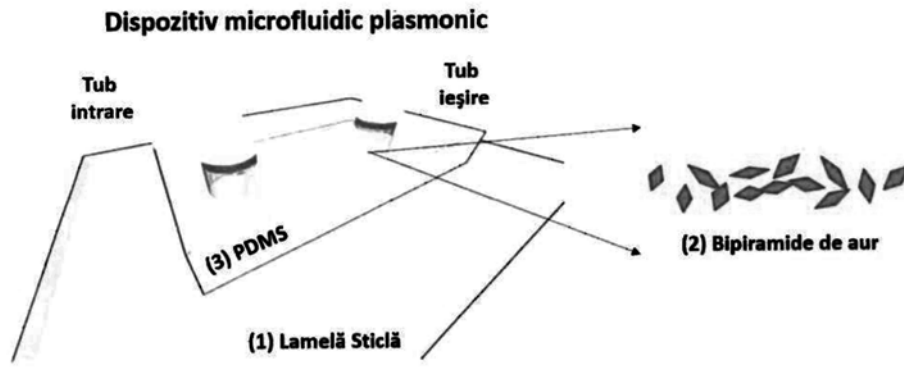


Fig. 4

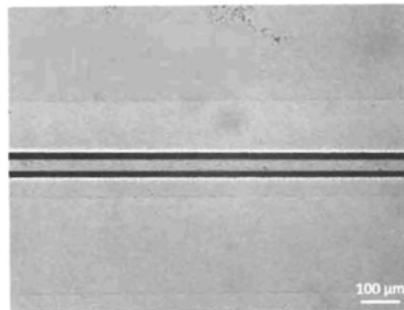


Fig. 5

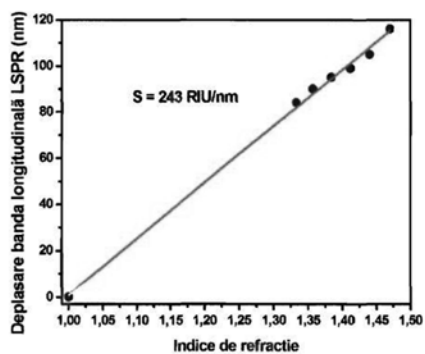


Fig. 6

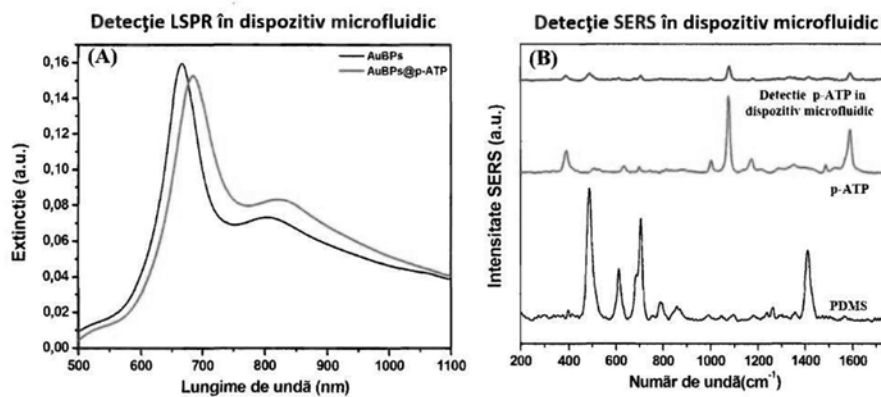


Fig. 7

