



(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00418

(22) Data de depozit: 17/07/2020

(41) Data publicării cererii:
28/01/2022 BOPI nr. 1/2022

(71) Solicitant:
• UNIVERSITATEA "BABEȘ-BOLYAI" DIN
CLUJ-NAPOCA,
STR.MIHAIL KOGĂLNICEANU NR.1,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO

(72) Inventatori:
• POPPE LASZLO, STR.LĂZĂR DEĂK,
NR.4/1, BUDAPESTA, HU;
• IRIMIE FLORIN DAN,
STR.JANOS ZSIGMOND, NR.16,
CLUJ - NAPOCA, CJ, RO;

• PAIZS CSABA, STR.LIVEZII, NR.22,
CLUJ - NAPOCA, CJ, RO;
• KATONA GABRIEL, NR.62, CRASNA, SJ,
RO;
• TOSA MONICA, STR.MARAMUREȘULUI,
NR.36, AP.20, CLUJ - NAPOCA, CJ, RO;
• LASZLO MELINDA EMESE,
STR. PROF. IOAN RUSU, NR.6A, AP.6,
FLOREȘTI, CJ, RO;
• BARTHA-VARI JUDITH HAJNAL,
STR.UNIRII, NR.2, AP.17, CLUJ-NAPOCA,
CJ, RO

(54) **METODĂ DE REALIZARE A MICROCIPIURILOR
DIN MATERIALE PLASTICE FOLOSIND TEHNICA GRAVĂRII
LASER**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la o metodă de realizare a microcipurilor din materiale plastice folosind tehnica gravării cu laser. Metoda, conform invenției, cuprinde o primă etapă de realizare a unui model 2d într-un program de grafică, urmată de transmiterea și gravarea pe un gravator laser cu CO₂, tratarea microcipului în atmosferă de acetonă, condiționarea microcipului la 85°C timp de 4 ore, aplicarea unei folii adezive de

protecție a canalelor și decuparea acestuia prin tehnica tăierii cu laser, aplicarea părții superioare a microcipului și lipirea acestuia cu un strat de adeziv pe bază de monomer acrilic și, în final, aplicarea legăturilor la instalația de microfluidică.

Revendicări: 1



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI
Cerere de brevet de invenție
Nr. a 2020 00418
Data depozit 17-07-2020

20

Metoda de realizare a microcipurilor din materiale plastice folosind tehnica gravării laser

Invenția se referă la realizarea de microcipuri din polimeri acrilici (PMMA, PA, ABS, PE, PP, PS, etc.) pentru sisteme microfluidice folosind tehnica gravurii și tăierii laser. Gravarea laser a diferitelor tipuri de plastic se realizează cu dispozitive laser cu CO₂ la diferite puteri. Adâncimea gravării este în concordanță cu modificarea puterii laserului și a vitezei de gravare.

Microfluidica se ocupă de fluxul de lichide în canalele de dimensiuni micrometrice. Pentru a-l considera microfluidic, cel puțin o dimensiune a canalului trebuie să se încadreze într-un interval de ordinul micrometrilor sau zecilor de micrometri.

Metodele de obținere a microcipurilor cunoscute până acum pot fi clasificate în [1,2,3]: fotolitografie, foto ablație laser, metode de laminare, modelare-turnare, injectare în matrițe, gravare mecanică/laser.

Dispozitivele microfluidice joacă în prezent un rol important în multe domenii de cercetare dar sunt relevante și pentru uz comercial de exemplu în: biologie, chimie, aplicații de inginerie și medicină. Un accent deosebit se pune pe realizarea de modele cât mai rapide și la costuri cât mai scăzute utilizând în mod special tehnicile de laminare, modelare, imprimare 3D, gravare și nanofabricare de înaltă rezoluție. Cele mai multe cercetări și rezultate în domeniul microfluidicelor au fost realizate folosind soft litografia introdusă de Whitesides în 1998 [4], în special în polidimetilsiloxan (PDMS) [5–7]. Există numeroase materiale ce sunt folosite în realizarea de microcipuri: sticlă, polimeri, silicon, materiale ceramice. Cele mai versatile sunt însă materialele plastice.

Dintre acestea poli-(metilmetacrilatul) (PMMA) prezintă caracteristici bune pentru dezvoltarea dispozitivelor microfluidice de unică folosință sau de semi-unică folosință [8-10].

Ca polimer rigid, PMMA a fost deosebit de util în fabricarea de cipuri microfluidice cu următoarele caracteristici: preț redus, transparență optică excelentă și proprietăți electrice și mecanice excelente.[8,11] Deoarece la temperatură ridicată se poate descompune în monomer, (metacrilat de metil-MMA) și poate fi reutilizat, PMMA este un material ideal pentru prepararea „microcipurilor verzi”. De asemenea este unul dintre materialele cu cea mai scăzută hidrofobitate dintre materialele plastice. Ușurința, simplitatea, versatilitatea și costurile reduse ale noii metode de fabricație a microcipurilor o face astfel extrem de atractivă pentru producția în masă a acestora prin metoda propusă.

Problema tehnică pe care o rezolvă invenția

Există diferite metode de obținere a microcipurilor care se bazează pe tehnici ce necesită materiale și aparatură costisitoare: tehnica imprimării 3D, tehnica litografierii, etc. De asemenea timpii necesari obținerii microcipurilor prin aceste tehnici sunt cu mult mai mari.

Prin versatilitatea metodei și a timpului de obținere a microcipurilor metoda se poate utiliza la confecționarea unui număr diferit de microcipuri într-un interval de timp scăzut în special în cazul testării microcipurilor în diferite reacții.

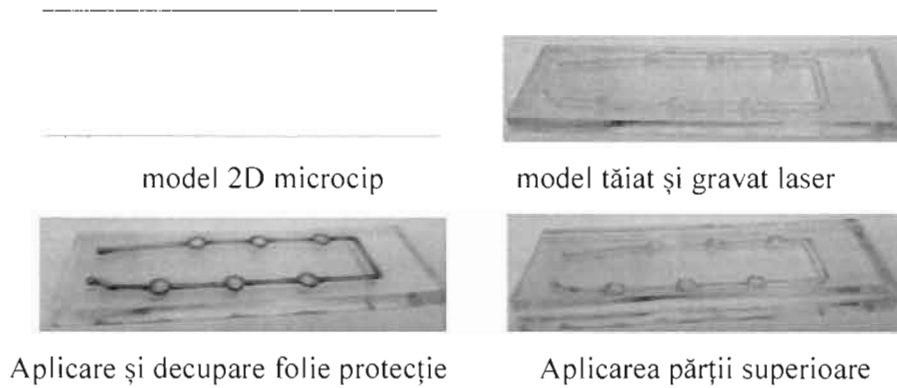
Controlul strict al condițiilor de reacție este important în vederea reproductibilității experimentelor și a obținerii de substanțe cu proprietăți bine definite. În acest sens testarea reacțiilor în sisteme de microfluidică care utilizează microcipuri polimerice oferă posibilitatea de control a vitezei de adăugare a partenerilor de reacție, a temperaturii de reacție, adăugarea controlată de catalizatori, chiar imobilizarea catalizatorilor, culminând cu crearea de sisteme microfluidice în cascadă.

Aplicarea invenției aduce următoarele avantaje:

- metodă ieftină și ușor realizabilă
- versatilitate, realizabilă în diferite modele
- controlul dimensiunii canalelor

Metoda de obținere a microcipurilor din PMMA constă în următorii pași (Figura 1):

1. Realizarea modelului 2D într-un program de grafică (coreldraw, autocad, adobe)
2. Transmiterea și gravarea pe un gravator laser cu CO₂
3. Tratarea microcipului în atmosferă de acetonă
4. Condiționarea microcipului la 85°C timp de 4h
5. Aplicarea unei folii adezive de protecție a canalelor și decuparea acesteia prin tehnica tăierii laser
6. Aplicarea părții superioare a microcipului și lipirea acestuia cu un strat de adeziv pe bază de monomer acrilic
7. Aplicarea legăturilor la instalația de microfluidică

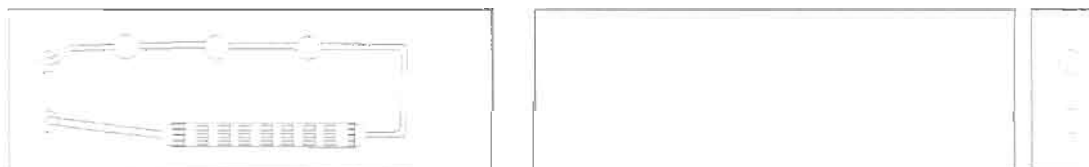
**Figura 1.**

În continuare se prezintă un exemplu de realizare a sistemului și monitorizarea procesului de obținere a hidroxiapatitei prin coprecipitare, conform invenției.

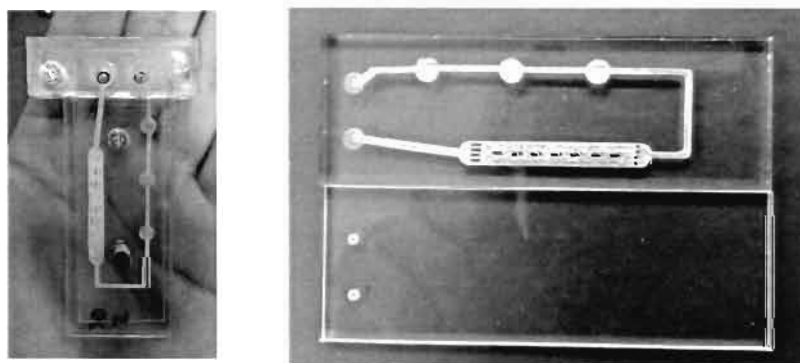
Exemplul 1.

Testarea capacității de recirculare a enzimelor immobilizate în sisteme microfluidice

În vederea proiectării și realizării microcipurilor prin tehnica gravării laser s-a utilizat ca material plăci acrilice de PMMA turnate. Tăierea și gravarea s-a realizat cu un aparat de gravat laser cu CO₂ cu o putere de 100W. În continuare s-a trecut la condiționarea acestora în atmosferă de acetonă, urmată de menținerea acestora în etuvă la 82 °C timp de 4 ore. Microcipurile astfel realizate au fost utilizate în continuare în sisteme microfluidice enzimactice (**Figura 2**).



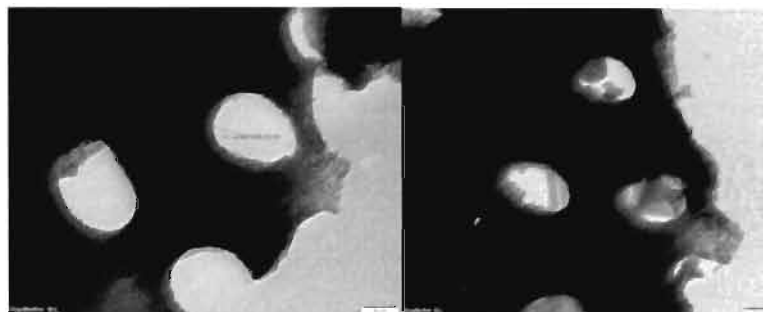
a.



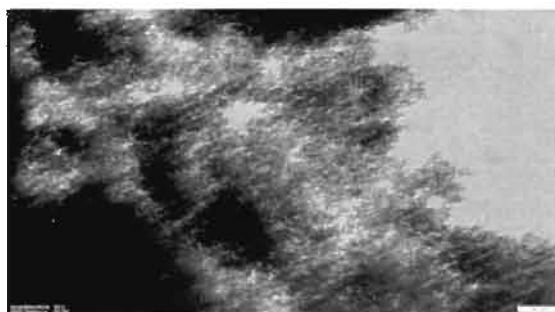
b.

Figura 2. Microcip utilizat în sisteme microfluidice a. proiectat, b. realizat

În vederea imobilizării enzimelor au fost utilizate două tipuri de suporturi: a. MATSPHERES 540 și CELITE 209. Forma și mărimea acestora a fost studiată prin microscopie electronică TEM (Figura 3).



A.



B.

Figura 3. Imagini TEM pentru enzima imobilizată pe **A.** Suport de tip Matshere 540,
B. Suport de tip Celite 209

În vederea realizării unităților de microcipuri cu enzime imobilizate au fost rezalizați următorii pași:

1. Activarea nanosuporturilor cu glicerol-diglicidil eter

Într-un balon de 25 mL se introduc 5 mL diclorometan și 1 mL glicerol-diglicidil eter. La soluția rezultată se adaugă 140 mg de nanosuport și se amestecă 24 h la temperatura camerei. Amestecul rezultat se centrifughează la 5000 rpm timp de 15min. Suportul solid se spală cu diclorometan și se usucă.

2. Imobilizarea enzimei Cal-B pe support

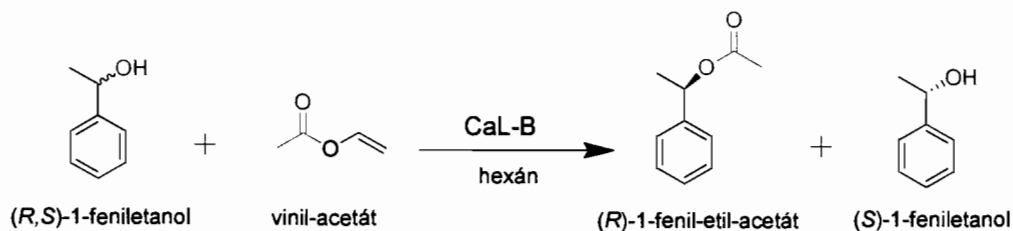
Într-un balon de 10 mL se amestecă nanosuportul activat și soluția enzimei Cal-B (1.1 mg enzimă/mL) în tamponul optim (pH=8,7, 2 mL) în raport de 1:1, timp de 24 h la temperatura camerei. Amestecul rezultat se centrifughează și se usucă.

3. Umplerea microcipurilor

Cu ajutorul unei spatule, catalizatorul solid obținut anterior se introduce în microcipuri. Se cântărește microcipul neumplut și după umplere pentru determinarea cantității de enzimă imobilizată fixate în microcip. După umplere cipul se lipește cu un polimer pe bază de metacrilat de metil.

În urma analizei nanosuporturilor cu enzima imobilizată prin metoda Bradford se constată că în 0.55 mg/mL Mat540 s-a imobilizat 0,52 mg enzimă, iar în cazul Celitei 209 în 1,28 mg/mL s-a imobilizat 0,95 mg de enzimă.

Testarea microcipurilor s-a realizat utilizând folosind ca reacție model acilarea enzimatică a 1-feniletanolului racemic cu acetat de vinil într-un proces de rezoluție cinetică enzimatică.



În acest sens, se măsoară 9981 μL *n*-hexan, 12 μL 1-feniletanol și 7 μL de acetat de vinil. Amestecul obținut se încarcă în sistemul de microfluidică și se injectează în microcipurile realizate anterior.

Transformarea 1-feniletanolului s-a urmărit prin cromatografie de lichide pe o coloană Kinetix C18, faza mobilă acetonitril: apă = 40:60 (v/v), cu un debit de 0,3 mL/min, la temperatura de 35 °C. Curba de calibrare utilizată pentru calculul conversiei este prezentată în **Figura 4**.

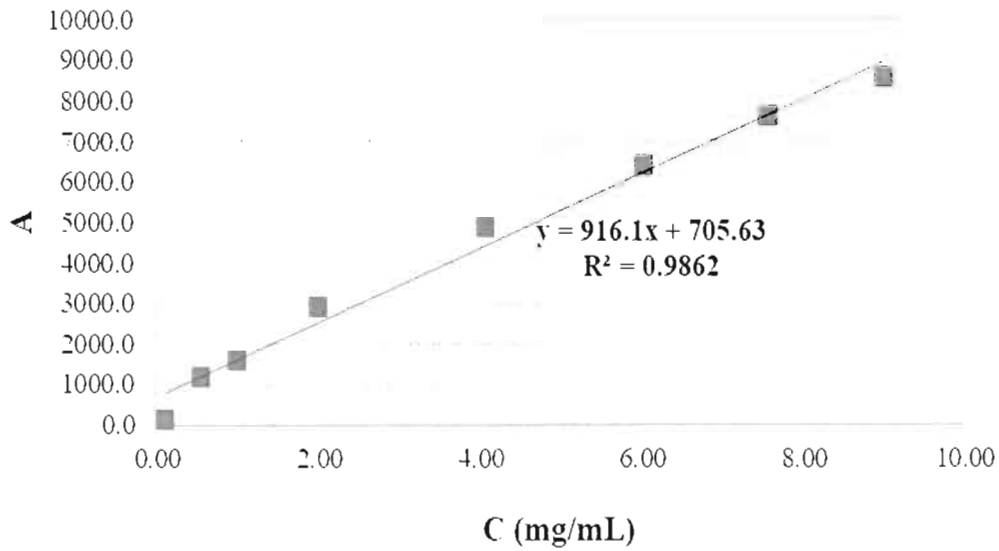
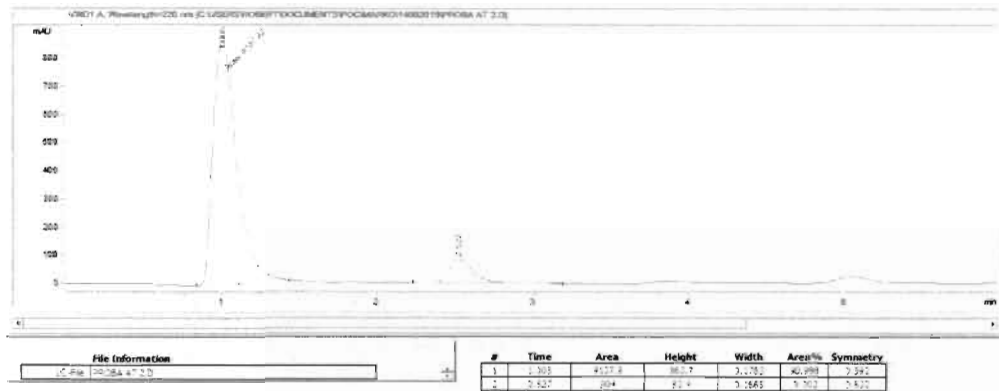


Figura 4. Curba de calibrare pentru EKR a 1-feniletil acetatului racemic

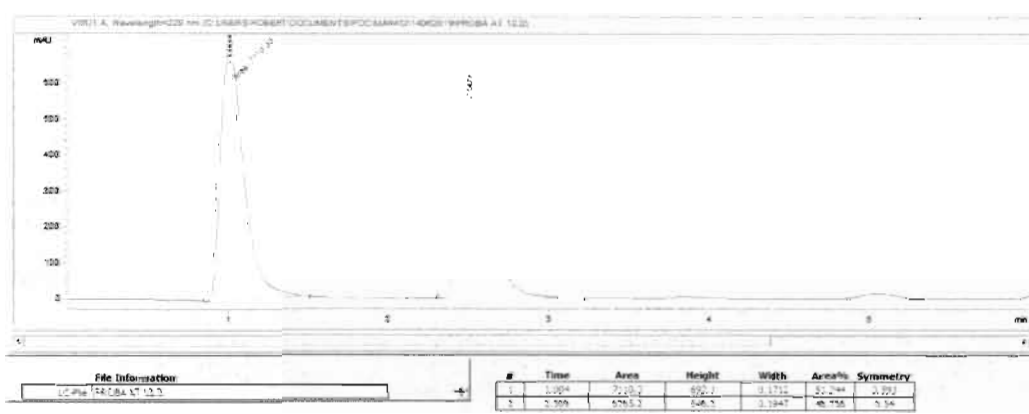
În continuare s-a studiat recircularea în flux continuu a substratului prin microcipurile astfel realizate, urmărindu-se variația concentrației acetatului de (*R*)-1-fenil-etil, pentru un număr de 12 recirculări. Rezultatele sunt prezentate în **Tabelul 1** și în **Figurile 5**.

Tabel 1. Variația conversiei la EKR realizată în microcipuri în flux continuu

Nr. recirculări	Aria semnalului	Concentrația (mg/mL)	Conversia (%)
2	904,00	0,22	2,65
4	3012,80	2,52	30,86
6	3705,60	3,27	40,13
8	5839,50	5,60	68,68
10	6460,20	6,28	76,98
12	6765,20	6,61	81,06



A



B.

Figura 5. Cromatograma amestecului de reacție după: A. 2 recirculări, B. 12 recirculări

Bibliografie:

1. Walsh, D.I.; Kong, D.S.; Murthy, S.K.; Carr, P.A. Enabling Microfluidics: from Clean Rooms to Makerspaces. *Trends Biotechnol.* 2017, 35, 383–392.
2. Ontiveros, F.; Mcdowell, J.R. Ultra-Thin Microfluidic Devices Built via Thermal Lamination; Biology Faculty Publications, Paper 28; St. John Fisher College: Rochester, NY, USA, 2016
3. Qin, D.; Xia, Y.; Whitesides, G.M. Soft lithography for micro- and nanoscale patterning. *Nat. Protoc.* 2010, 5, 491–502
4. Xia, Y.; Whitesides, G.M. Soft lithography. *Annu. Rev. Mater. Sci.* 1998, 28, 153–184.
5. McDonald, J.C.; Duffy, D.C.; Anderson, J.R.; Chiu, D.T.; Wu, H.; Schueller, O.J.; Whitesides, G.M. Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Electrophoresis* 2000, 21, 27–40.
6. Kim, P.; Kwon, K.W.; Park, M.C.; Lee, S.H.; Kim, S.M. Soft Lithography for Microfluidics: A Review. *Biochip J.* 2008, 2, 1–11.
7. Qin, D.; Xia, Y.; Whitesides, G.M. Soft lithography for micro- and nanoscale patterning. *Nat. Protoc.* 2010, 5, 491–502.
8. Graß, B.; Neyer, A.; Jöhnck, M.; Siepe, D.; Eisenbeiß, F.; Weber, G.; Hergenröder, R., A new PMMA-microcip device for isotachopheresis with integrated conductivity detector, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2001, 72(3), 249-258
9. Utsumi, Y.; Tomohiro, I.; Minamitani, M.; Kazuo, S. Integrated structure of PMMA microchannels for DNA separation by microcip capillary electrophoresis, *Microsyst Technol* (2008) 14:1461–146
10. Xu, G.; Wang, J.; Chen, Y.; Zhang, L.; Wang, D.; Chen, G. Fabrication of poly(methyl methacrylate) capillary electrophoresis microcips by in situ surface polymerization, *Lab Chip*, 2006, 6, 145–148
11. Soper, S. A.; Ford, S. M.; Qi, S.; McCarley, R. L.; Kelly, K.; Murphy, M. C., Polymeric microelectromechanical systems, *Anal. Chem.*, 2000, 72, 643A.

REVENDICARE

Metoda de realizare a microcipurilor din plastice folosind tehnica gravarii laser, caracterizat printr-un procedeu rapid si versatil prin care se pot realiza diferite microreactoare utilizate in sisteme microfluidice simple sau in cascada, avand capacitatea de a fi rapid modificabile in functie de parametrii de reactie.