

(12) CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: a 2020 00755

(22) Data de depozit: 19/11/2020

(41) Data publicării cererii:
30/05/2022 BOPI nr. 5/2022

(71) Solicitant:
• INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE
DEZVOLTARE PENTRU FIZICA
MATERIALELOR (INCDFM),
STR.ATOMIȘTILOR, NR.405A, CP.MG-7,
MĂGURELE, IF, RO

(72) Inventatori:
• ENACHE TEODOR ADRIAN, SAT NANOV,
COMUNA NANOV, TR, RO;

• COSTAS LILIANA-ANDREEA,
STR.VÎLCELE NR.9, AP.7, FOCȘANI, VN,
RO;
• BOTTA OANA-DACIANA,
STR.GHIRLANDEI, NR.1A, BL.N13, SC.1,
AP.2, SECTOR 6, BUCUREȘTI, B, RO;
• MATEI ELENA, STR. FIZICIENILOR
NR.21, BL.M 1, AP.1, MĂGURELE, IF, RO;
• DICULESCU VICTOR CONSTANTIN,
STR.NERVA TRAIAN, NR.16, BL.M35, SC.3,
ET.7, AP.88, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO

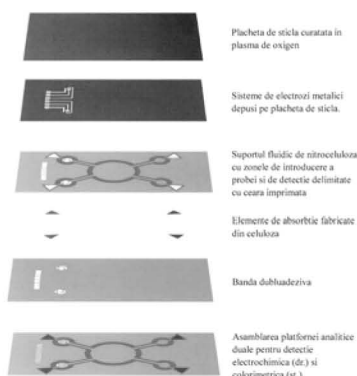
(54) METODĂ DE FABRICARE A UNEI PLATFORME ANALITICE
DUALE PENTRU DETECȚIE ELECTROCHIMICĂ
ȘI COLORIMETRICĂ

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un dispozitiv pentru detecție electrochimică și colorimetrică și la o metodă de fabricare a acestuia. Dispozitivul conform invenției cuprinde o zonă de introducere a probei, două zone de detecție electrochimică, cu doi transductori electrochimici folosiți pentru test și, respectiv, control, și două zone de detecție colorimetrică, de asemenea pentru test și control, interconectate printr-un suport de nitroceluloză, în care fiecare transductor electrochimic este alcătuit din trei electrozi metalici, și anume: un electrod de lucru fabricat din Ti/Au, un electrod auxiliar din Ti/Pt și un electrod de referință din Ti/Ag, iar zonele de detecție colorimetrică sunt asigurate de suportul de nitroceluloză și în care delimitarea zonelor este făcută cu ceară imprimată pe suportul de nitroceluloză, iar pentru asigurarea fluxului lateral, zonele de test și control sunt prevăzute cu elemente de absorbție fabricate din celuloză ce vor avea și rol de drenaj pentru surplusul de lichid. Metoda de fabricare a dispozitivului conform invenției constă dintr-un prim pas în care se aplică un tratament de curățare/activare în plasmă cu oxigen a unei plachete de sticlă, urmat de depunerea electrozilor metalici pe plachetă, dintr-un al doilea pas în care se prepară suportul fluidic de nitroceluloză prin imprimarea cu ceară a zonelor de introducere a probei și de

detecție, urmat de un pas final în care placheta de sticlă prevăzută cu electrozi și suportul de nitroceluloză sunt asamblate folosind bandă dublu-adezivă.

Revendicări: 4
Figuri: 1



Cu începere de la data publicării cererii de brevet, cererea asigură, în mod provizoriu, solicitantului, protecția conferită potrivit dispozițiilor art.32 din Legea nr.64/1991, cu excepția cazurilor în care cererea de brevet de invenție a fost respinsă, retrasă sau considerată ca fiind retrasă. Întinderea protecției conferite de cererea de brevet de invenție este determinată de revendicările conținute în cererea publicată în conformitate cu art.23 alin.(1) - (3).



DESCRIEREA BREVETULUI DE INVENȚIE

18

Titlu:

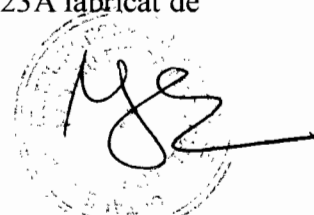
Metoda de fabricare a unei platforme analitica duale pentru detectie electrochimica si colorimetrica

Elaborat de:

Teodor Adrian Enache, Costas Liliana Andreea, Daciana Botta, Elena Matei, Victor Diculescu

Prezenta invenție descrie un dispozitiv, sub forma unei platforme analitice duale in flux lateral ce poate fi utilizat pentru efectuarea in acelasi timp, de măsurători analitice atat electrochimice cat si colorimetrice și procedeul prin care se poate obține acesta. Conform invenției, dispozitivul integreaza doua metode de detectie (electrochimica si colorimetrica), este fabricat pe substrat de nitroceluloza si contine 5 zone: o zona de introducere a probei de analizat, doua zone pentru detectie electrochimica (test si control) si doua zone pentru detectie colorimetrica (test si control). Analitul de interes este detectat in zonele de test iar zonele de control au ca scop certificarea functionarii sistemului. Detectia electrochimica se va face printr-un sistem de trei electrozi metalici (fabricati prin fotolitografie, pulverizare catodita cu magnetron in radiofrecventa si evaporare termica in vid) depusi pe un suport solid (sticla sau plastic) iar cea colorimetrica pe un suport de nitroceluloza. Curgerea solutiei, ce va contine analitul, din zona de introducere a probei catre zonele de detectie va fi asigurata prin flux lateral in suportul de nitroceluloza.

Inceputul electrochimiei dateaza din secolul 18 si are ca baza experimentele si teoriile lui Galvani si Volta, cel din urma producand prima sursa de curent continuu/baterie ce a dus la aparitia electrochimiei ca domeniu stiintific (John T. Stock, Electrochemistry in Retrospect, 2011, ACS Symposium Series Vol. 390). Odata cu aparitia primului polarograf, inventat de catre Jaroslav Heyrovsky, in 1922, pentru care a primit premiul Nobel in 1959, (Koryta, J. "Jaroslav Heyrovský—Nobel Laureate 1959." 1960, Electrochem. Acta. 2; 4; 233-234.) tehnicile și teoriile electrochimice s-au dezvoltat destul de rapid si progresul continuu a fost însoțit de dezvoltarea aplicațiilor, atât în laborator, cât și în industrie. O inventie notabila, aparuta la cativa ani de la aparitia polarografului este biosenzorul electrochimic de glucoza (platforma bioanalitica pentru detectia glucozei), inventat in laborator in 1962 de catre Clark si Lyons, si care 10 de ani mai tarziu a ajuns un produs comercial (Analizorul YSI Model 23A fabricat de



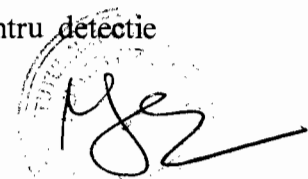
Yellow Springs Instrument Company) (Eun-Hyung Yoo and Soo-Youn Lee, Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice, *Sensors*, 2010; 10(5): 4558–4576; Joseph Wang, Glucose Biosensors: 40 Years of Advances and Challenges, *Electroanalysis* 2001, 13, 12).

In general, performanța unei platforme bioanalitice este dată de eficiența, selectivitatea și reproductibilitatea transducției semnalului și este determinată de alegerea celor două componente principale: transductorul și receptorul. Utilizarea metodelor electrochimice, i.e. transductor electrochimic, în combinație cu cele colorimetrice, i.e. evidențierea optică a rezultatului unei reacții chimice, este avantajoasă datorită răspunsului lor rapid și a posibilității de a detecta compușii la concentrații de ato- și femto-molar [Miroslav Pohanka, Petr Skládal, *Electrochemical biosensors – principles and applications*, *J. Appl. Biomed.*, 2008, 6 57-64; Bingwen Liu, Dan Du, Xin Hua, Xiao-Ying Yu, Yuehe Lin, *Paper-Based Electrochemical Biosensors: From Test Strips to Paper-Based Microfluidics*, *Electroanalysis*, 2014, 26 6 1214-1223; Weian Zhao, Jeffrey C. F. Lam, William Chiuman, Michael A. Brook, Yingfu Li, *Enzymatic Cleavage of Nucleic Acids on Gold Nanoparticles: A Generic Platform for Facile Colorimetric Biosensors*, *Small* 2008, 4, 6, 810–816].

Utilizarea unei platforme analitice ce integrează detectia electrochimică și colorimetrică într-un singur dispozitiv reprezintă o alternativă, ieftină dar fiabilă, la echipamente complexe de laborator [Niina J. Ronkainen, H. Brian Halsall and William R. Heineman, *Electrochemical biosensors*, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, 39, 1747-1763; Aldewachi, H., Chalati, T., Woodroffe, M. N., Bricklebank, N., Sharrack, B., Gardiner, P. *Gold nanoparticle-based colorimetric biosensors*, *Nanoscale*, 2018, 10, 18-33].

Scopul invenției din prezenta cerere este de a fabrica un dispozitiv ce integrează o zonă de introducere a probei cu doi transductori electrochimici, folosiți pentru test și control și două zone de detecție colorimetrică (test și control) interconectate printr-un suport de nitroceluloză. Fiecare transductor electrochimic este alcătuit din trei electrozi metalici: electrodul de lucru de Ti/Au, electrodul auxiliar de Ti/Pt și electrodul de referință de Ti/Ag, fabricați prin fotolitografie, pulverizare catodică cu magnetron în radiofrecvență și evaporare termică în vid. Zonele de detecție colorimetrică vor fi asigurate de suportul de nitroceluloză. Delimitarea zonelor va fi făcută cu ceară imprimată pe suportul de nitroceluloză. Pentru asigurarea fluxului lateral, zonele de test și control sunt prevăzute cu elemente de absorbție, fabricate din celuloză, ce vor avea și rolul de drenaj pentru surplusul de lichid.

În cele ce urmează se prezintă un exemplu de realizare a invenției. În Figura 1 sunt arătați schematic pașii procesului de obținere a platformei analitice duale pentru detecție

A handwritten signature in black ink is written over a circular stamp. The stamp contains some illegible text and a central emblem. The signature appears to be 'M. G.' or similar.

electrochimica și colorimetrică. Astfel, pornind cu o plachetă de sticlă, primul pas este curățarea suprafeței acesteia printr-un tratament de durată (5 minute) în plasmă de oxigen. Următorul pas este reprezentat de depunere celor doi transductori electrochimici pe substrat de sticlă într-un laborator de tip camera curată de clasa ISO 5 urmat curățarea și activarea suprafeței depuse printr-un tratament scurt, 1 minut, în plasmă de oxigen. Acesta se realizează utilizând fotolitografia, pulverizarea catodica cu magnetron în radiofrecvență și evaporarea termică in vid. În procesul de fotolitografie vor fi folosite utilizate masti individuale pentru fiecare dintre cei trei electrozi. Procesul de fotolitografie presupune următorii pași: acoperirea substraturilor de sticlă cu un strat de fotorezist (polimer sensibil la o anumită lungime de undă), iradierea (la o anumită lungime de undă) substraturilor de sticlă acoperite cu fotorezist printr-o mască, tratament termic, efectuarea celui de-al doilea proces de iradiere pe toată suprafața (fără mască) și dezvoltarea. În continuare, filmele subțiri de Ti (10 nm) și de Pt (200 nm) au fost depuse prin pulverizare catodica cu magnetron, iar filmele subțiri de Ag (200 nm) și de Au (200 nm) au fost depuse utilizând evaporarea termică in vid, urmând ulterior efectuarea procesului de „lift-off” (înlăturarea controlată a surplusului de metal și fotorezist). Următorul pas este reprezentat de prepararea suportului fluidic de nitroceluloză prin imprimarea cu ceara a celor cinci zone: o zonă de introducere a probei, două zone pentru detectia electrochimică și cele două zone pentru detectia colorimetrică. Imprimarea cu ceara este finalizată prin tratarea termică a substratului de nitroceluloză; ceara încălzită astfel difuzează în substrat și creează bariere hidrofobe, care alcătuiesc pereții canalelor fluidice. Ultimul pas este reprezentat de asamblarea platformei folosind banda dublu adezivă. Pentru asigurarea fluxului lateral și stocare a surplusului de lichid, în zonele de detecție vor fi introduse elemente de absorbție fabricate din celuloză.

Prin aplicarea invenției se obțin următoarele avantaje: (i) diminuarea riscului de eșec ce poate apărea în efectuarea de măsurători analitice individuale, *i.e.* electrochimice sau colorimetrice, (ii) reducerea timpului de dezvoltare a platformelor senzoriale prin integrarea a două platforme într-una, (iii) creșterea randamentului de detecție prin măsurători electrochimice și colorimetrice simultane, (iv) posibilitatea calibrării măsurătorilor calitative (colorimetrice) prin cele cantitative (electrochimice) și (iv) posibilitatea integrării celor două metode de detecție într-un sistem unic de citire.

A handwritten signature in black ink is written over a circular stamp. The stamp contains some illegible text, possibly a date or a reference number.

Revendicări

1. Platforma analitica duala pentru detectie electrochimica si colorimetrica caracterizata prin aceea că este alcătuita din zone de introducere a probei si detectie interconectate prin suport de nitroceluloza.
2. Procedeu de obținere a platformei descrise în revendicarea 1 prin aplicarea unui tratament de curățare/activare în plasmă cu oxigen asupra unei plachete de sticlă, depunerea de electrozi metalici pe plachetă, delimitarea cu ceara, prin imprimare pe suport de nitroceluloza a zonelor de introducere a probei si detectie, si asamblarea platformei folosind banda dubluadeziva.
3. Procedeu de obtinere a platformei din revendicarea 1 caracterizat prin aceea ca numarul de zone de detectie, atat electrochimice cat si colorimetrice, poate varia.
4. Procedeu de obtinere a platformei din revendicarea 1 caracterizat prin aceea ca numarul de analiti detectati simultan, electrochimic cat si colorimetric, poate varia



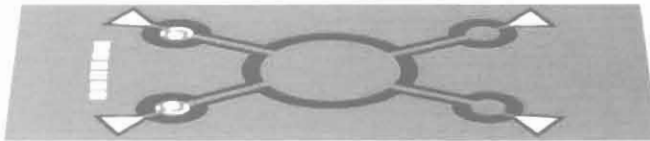
FIGURI EXPLICATIVE PENTRU INVENTIE:



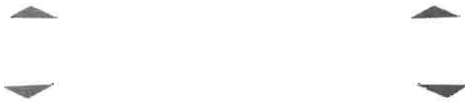
Placheta de sticla curatata in plasma de oxigen



Sisteme de electrozi metalici depusi pe placheta de sticla.



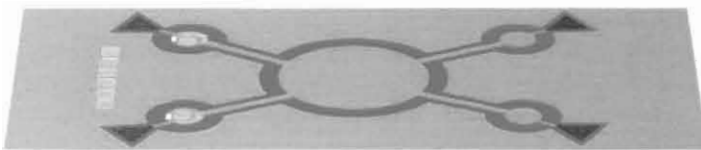
Suportul fluidic de nitroceluloza cu zonele de introducere a probei si de detectie delimitate cu ceara imprimata



Elemente de absorbtie fabricate din celuloza



Banda dubluadeziva



Asamblarea platformei analitice duale pentru detectie electrochimica (dr.) si colorimetrica (st.)

Figura 1: Schema procesului de obtinere a platformei analitice duale pentru detectie electrochimica si colorimetrica

