



(12)

CERERE DE BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2022 00610**

(22) Data de depozit: **06/10/2022**

(41) Data publicării cererii:
28/04/2023 BOPI nr. **4/2023**

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

(72) Inventatori:
• **CÂMPU ANDREEA-MARIA,
STR.RAHOVEI, NR.10, SC.B, AP.34, SIBIU,
SB, RO;**

• **MORUZ MIHAIL- MIHNEA,
STR. PROF.LECA MORARIU, NR.3, BL.B1,
SC.A, ET.4, AP.17, SUCEAVA, SV, RO;**
• **POTARA MONICA, STR. POET GRIGORE
ALEXANDRESCU, NR.29, BL.K11, SC.2,
PARTER, AP.24, CLUJ-NAPOCA, CJ, RO;**
• **AȘTILEAN SIMION, CALEA MANĂȘTUR,
NR.99, AP.39, CLUJ- NAPOCA, CJ, RO;**
• **FOCȘAN MONICA-OLIVIA,
ALEEA NECTARULUI, NR.6,
CLUJ-NAPOCA, CJ, RO**

(54) **SUBSTRAT FLEXIBIL MICRO-RUGOS DE
POLIDIMETILSILOXAN METALIZAT PENTRU DETECȚIE
DUALĂ SPR-SERS**

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un procedeu de obținere a unui substrat flexibil metalizat utilizat ca platformă de detecție spectroscopică duală (SPR și SERS) în timp real a unor molecule de interes biologic. Procedeu, conform invenției, constă în etapele: imprimarea modelului structural 3D de micro- și nano-fibre al hârtiei de filtru Whatman nr. 1, ca matriță pozitivă, pe suprafața unui substrat flexibil de polimer polidimetilsiloxan (PDMS), depunerea prin vaporizare fizică în vid ultra-înalt a unui

film subțire de aur, rezultând un substrat micro-rugos flexibil de PDMS miniaturizat și portabil, având o stabilitate chimică și structurală, cu potențial ridicat de integrare în dispozitive de detecție și monitorizare a analiților de interes biologic.

Revendicări: 2
Figuri: 8



OFICIUL DE STAT PENTRU INVENȚII ȘI MĂRCI	
Cerere de brevet de invenție	
Nr.	a 2022 0610
Data depozit 06-10-2022	

Descrierea invenției

Prezenta invenție cu titlul *Substrat flexibil micro-rugos de polidimetilsiloxan metalizat pentru detecție duală SPR-SERS* propune fabricarea unui substrat flexibil, a cărui micro-rugozitate a fost modificată prin imprimarea (eng. micro-imprint lithography) matricii tridimensionale (3D) a hârtiei de filtru Whatman Nr. 1 și peste care s-a depus controlat un film subțire de aur (Au). Substratul flexibil micro-rugos metalizat obținut poate fi implementat cu succes ca platformă senzorică flexibilă, miniaturizată și versatilă în aplicații de detecție spectroscopică duală în timp real și la fața locului a unor analiți de interes prin Rezonanță Plasmonică de Suprafață (SPR) și Spectroscopia Raman Amplificată de Suprafață (SERS).

Invenția prezintă potențial în aplicații de detecție și identificare a unor molecule de interes biologic, astfel având impact în diagnosticarea precoce a bolilor. În plus, substratul flexibil obținut conform invenției poate fi integrat cu ușurință în diverse dispozitive de detecție sau monitorizare a unor analiți de interes contribuind la progresul tehnologiilor de tip „Lab-on-a-chip” și „Point-of-Care” pentru îmbunătățirea calității vieții și a siguranței populației.

Un efort considerabil este depus de către comunitatea științifică pentru a dezvolta platforme și dispozitive pentru detecția rapidă și în timp real a biomarkerilor asociați bolilor pentru a facilita diagnosticul precoce și monitorizarea acestora, precum și prescrierea unui tratament personalizat. În special în cazul bolilor, precum diabetul, care necesită o atență și frecventă monitorizare a nivelului de biomarkeri, este nevoie de platforme non-invasive, simple de utilizat și care oferă un răspuns rapid la fața locului. Mai mult decât atât, în vederea producției la scară largă, acestea ar trebui să se bazeze pe un proces simplu și ieftin de fabricare care să prezinte un grad crescut de reproductibilitate fără să afecteze proprietățile senzorice ale platformei de detecție.

Majoritatea platformelor de detecție nanostructurate au la bază un suport solid precum sticla (*Nanotechnology* 2020, 31, 335502; CN101919080B) sau hârtia (*Nanomaterials* 2020, 10(6), 1025). În vederea obținerii unui dispozitiv de detecție și monitorizare non-invasiv flexibil, polimerul polidimetilsiloxan (PDMS) prezintă numeroase avantaje: i) flexibilitate, ii) elasticitate, iii) biocompatibilitate, iv) transparent din punct de vedere optic, v) stabilitate termică și chimică, etc. (*Biosensors* 2021, 11, 292). Fiind ușor de manipulat și modelat folosind diferite mulaje, utilizarea acestui polimer ca substrat în dezvoltarea unor platforme senzorice poate facilita substanțial procesul de fabricare. În mod similar, s-a folosit în fabricarea substratelor flexibile și polietilena terentalată (PET), naftalat de polietilenă (PEN) și polimidă



ANDREEA-MARIA CÂMPU
A.

(PI) peste care s-au depus nanoparticule cu diametere între 1 și 50 nm în vederea dezvoltării unui cheemisenzor pentru detecția de vapori de benzen, toluen și apă (US10393690B2).

Este bine cunoscut din literatură faptul că substratele nanostructurate prezintă capacități de detecție SPR și SERS îmbunătățite (*Biosensors* 2022, 12, 180; *Mater. Today Commun.* 2022, 32, 104066; US007450227B2). Fabricarea acestor substraturi presupune metode laborioase de sinteză a nanoparticulelor metalice și de depunere controlată a acestora pe substraturi solide tari sau flexibile (*Sci. Rep.* 2021, 11, 14185; *Nanomaterials* 2020, 10, 927). Problema pe care o rezolvă această invenție este de a simplifica procedeul de obținere a unui substrat rugos necesar pentru aplicații SPR și SERS prin imprimarea unei structuri neordonate, și anume structura 3D de micro- și nano-fibre a hârtiei de filtru Whatman nr. 1, pe suprafața unui substrat flexibil de PDMS și, ulterior, de a depune în condiții controlate un film subțire de Au. Astfel se obține cu costuri reduse un substrat micro-rugos metalizat flexibil de PDMS stabil, miniaturizat și reproductibil, care poate fi implementat ca platformă de detecție duală spectroscopică SPR – SERS în aplicații de senzorică.

Prin aplicarea prezentei invenții se obțin următoarele **avantaje**:

- (i) *Miniaturizarea și portabilitatea platformei de detecție* – oferă posibilitatea de a fi testată direct la fața locului utilizând sisteme de analiză portabile;
- (ii) *Detecție în timp real și rapid* – timp de incubare și analiză redus (~ 10 minute);
- (iii) *Volum redus de probă* (~ 10 – 100 μ L);
- (iv) *Stabilitate chimică și structurală*;
- (v) *Reproductibilitate și versatilitate* – ușor adaptabil la diferite aplicații de detecție;
- (vi) *Capacitatea substratului de a funcționa ca platformă de detecție spectroscopică duală SPR – SERS*;

Noutatea invenției constă în procedeul de fabricare a unui nou substrat micro-rugos flexibil care se realizează prin imprimarea modelului structural 3D al hârtiei de filtru Whatman nr. 1 în relieful filmului de PDMS (eng. micro-imprint lithography) peste care se depune termic în vid un film subțire de aur. Substratul obținut conform invenției permite implementarea a două tehnici spectroscopice de detecție, și anume SPR și SERS, prezentând un potențial ridicat de a fi integrat în dispozitive de detecție și monitorizare de substanțe chimice în diverse domenii de interes.

Procedeul de fabricare și testare în condiții de laborator al substratului micro-rugos metalizat conform patentului de față presupune realizarea următorilor pași:



ANDREEA-MARIA CĂMPU
A.

- (1) fabricarea substratului de PDMS și modificarea micro-rugozității suprafeței acestuia prin imprimarea structurii 3D a hârtiei de filtru Whatman nr. 1;
- (2) depunerea unui film subțire de aur pe suprafața micro-rugosă a PDMS;
- (3) legarea pe suprafața substratului de PDMS a unui analit de interes;
- (4) detecția moleculei de interes prin înregistrarea spectrelor SPR;
- (5) achiziția spectrelor SERS și identificarea al moleculei de interes prin analiza spectrelor SERS.

Conform invenției, primul pas în fabricarea substratului micro-rugos metalizat flexibil de PDMS este obținerea substratului de PDMS și modificarea micro-rugozității suprafeței acestuia prin imprimarea structurii 3D de micro- și nano-fibre a hârtiei de filtru Whatman nr. 1, folosită în acest caz ca matriță pozitivă. Pașii urmați în procesul de fabricare sunt ilustrați schematic în Figura 1. Concret, în prima etapă s-a realizat un amestec omogen format din precursorul elastomerului și agentul de întărire corespunzător în raport masic de 10:1 folosind un kit un kit SYLGARD 184 de la Dow Corning. Amestecul obținut a fost turnat în mod egal (~ 1.5 g) în forme de plastic dreptunghiulare și degazat timp de 30 minute într-un desicator de vid pentru a elimina bulele de aer din compoziție. Ulterior, formele conținând PDMS au fost introduse în etuva pre-încălzită la o temperatură de 65 °C și au fost supuse unui tratament termic pentru 15 minute, ca mai apoi să fie scoase pentru a se alipi hârtia de filtru Whatman nr. 1 pe suprafața polimerului PDMS. Fâșii de hârtie de filtru Whatman nr. 1 cu dimensiuni de aproximativ 2 cm lățime × 2.5 cm lungime au fost tăiate și lipite de PDMS prin ușoară apăsare, urmând ca ansamblul să fie tratat termic pentru încă 5 minute la 65 °C, timpul fiind suficient pentru imprimarea structurii 3D de micro- și nano-fibre a hârtiei pe PDMS-ul încă neîntărit și adeziv profitând de proprietatea acestuia de a lua foarte ușor forma unor matrițe. După cele 5 minute, s-a îndepărtat hârtia de filtru, folosită în acest caz ca matriță pozitivă, iar substratul de PDMS a fost reintrodus în etuvă la 65 °C pentru încă 40 minute pentru a se întări. Odată finalizat tratamentul termic, PDMS-ul a fost scos din forma dreptunghiulară obținându-se astfel substratul micro-rugos flexibil de PDMS.

Următorul pas a fost de a depune controlat un film subțire de aur (Au) pe suprafața substratului micro-rugos flexibil de PDMS prin metoda depunerii termice, folosind un sistem de depunere prin vaporizare fizică în vid (eng. Physical Vapour Deposition - PVD). Concret, substratul de PDMS a fost introdus în incinta echipamentului de depuneri de filme subțiri (PREVAC, Polonia). Depunerea filmului subțire de Au s-a făcut în condiții de vid ultra-înalt de 10^{-7} mbar obținut utilizând un sistem de două pompe de vid: prima pompă atinge valoarea



ANDREEA - MARIA CĂMPU
A.

unei presiuni de 10-3 mbar asigurând în același timp etanșietatea incintei, și o pompă turbo care susține condițiile de vid ultra-înalt. Odată ce vidul este stabil, Au în stare solidă din creuzet este încălzit treptat până la temperatura de evaporare de 1080 °C. Folosind balanța de cuarț componentă a echipamentului, s-a determinat o rată de depunere a Au de ~ 30 nm pe oră rezultând o grosime a filmului de Au de ~ 1 nm în 2 minute. În aceste condiții experimentale s-au depus pe 4 substraturi de PDMS fabricate conform invenției filme subțiri de Au de diferite grosimi prin varierea timpului de depunere, astfel s-au obținut grosimi de 5, 10, 20 și 30 nm în 10, 20, 40 și, respectiv, 60 minute. Pentru extragerea substraturilor metalizate din echipament, incinta a fost aerisită în condiții de atmosferă controlată de azot. Substraturile au fost ulterior tăiate la dimensiuni mici de aproximativ 2-3 mm lățime × 5 mm lungime utilizând un bisturiu. Figura 2 prezintă comparativ imagini digitale ale substraturilor micro-rugozate flexibile metalizate de PDMS obținute. Modificarea micro-rugozității substraturii de PDMS este vizibilă și cu ochiul liber (Figura 2a) remarcându-se ca o suprafață micro-rugozată neregulată. În cazul substraturilor metalizate, această micro-rugozitate este în continuare evidentă (Figura 2b-e). În plus, se observă că odată cu creșterea grosimii filmului de Au, acestea au culori diferite de la albastrui (5 nm – Figura 2b) până la culoarea galbenă a Au bulk (30 nm – Figura 2e) și, implicit, proprietăți optice diferite.

Mai departe, s-a urmărit caracterizarea din punct de vedere morfologic și optic a substraturilor micro-rugozate flexibile metalizate de PDMS. Utilizând un microscop electronic de baleaj (SEM) FEI Quanta 3D FEG cu un voltaj de accelerare de 10 kV s-a investigat suprafața substraturilor înainte (Figura 3a) și după depunerea filmelor subțiri (Figura 3b-e) utilizând două magnificări diferite, 300× și, respectiv 20 000×. Imaginile reprezentative SEM confirmă imprimarea cu succes a matricei 3D a hârtiei pe suprafața substraturilor de PDMS, identificându-se mulajele micro- și nanofibrelor interconectate. Astfel, substraturile flexibile de PDMS prezintă o suprafață micro-rugozată neregulată. Această micro-rugozitate a substraturilor flexibile obținute se regăsește pentru toate substraturile de PDMS fabricate atât înainte cât și după depunerea filmelor subțiri de Au. De asemenea, imaginile microscopice SEM confirmă depunerea filmelor subțiri de Au. Datorită formei 3D neregulate, filmele subțiri de Au suferă mici fisuri, care odată cu creșterea grosimii filmului de Au sunt mult mai proeminente și mai adânci. Următorul pas a fost de a caracteriza substraturile folosind un microscop optic în reflexie Kern echipat cu obiective cu mărire de 5× și 20×. Imaginile au fost colectate și analizate cu programul aferent sistemului MicroscopeVis. Imagini reprezentative de microscopie optică în reflexie ale substraturilor flexibile de PDMS micro-rugozate sunt prezentate în Figura 4. Acestea



ANDREEA-MARIA CĂMPU

A.

sunt în concordanță cu rezultatele obținute prin SEM, negativul structurii 3D a hârtiei poate fi observat atât înainte (Figura 4a) cât și după depunerea filmelor subțiri (Figura 4b-c). În ciuda faptului că prin microscopia optică în reflexie nu este vizibil filmul de Au, se observă în cazul substratelor cu filme subțiri de 20 (Figura 4d) și, respectiv 30 nm (Figura 4e) că suprafața substratelor este fisurată. Asemeni, determinărilor SEM acestea sunt mult mai vizibile în cazul substratului cu 30 nm Au decât cel având 20 nm Au depus. Următorul pas a fost de a studia proprietățile optice ale substratelor flexibile micro-rugose metalizate. În acest sens, s-a folosit un spectrofotometru portabil OceanOptics USB 4000 cuplat la un microscop optic inversat Zeiss Axio Observer Z1 printr-o fibră optică de 600 μm . În Figura 5 sunt prezentate spectrele de transmisie ale substratelor fabricate conform invenției: (a) 5 nm; (b) 10 nm; (c) 20 nm; (d) 30 nm. Observăm că odată cu creșterea grosimii filmului de Au apare banda de transmisie caracteristică a Au bulk localizată la o lungime de undă de aproximativ 560 nm (*Chem. Eur. J.* 2002, 8(17), 3849-3857), astfel confirmându-se încă odată depunerea cu succes a filmelor subțiri de Au și potențialul substratelor fabricate de a fi implementate ca platforme de detecție SPR. Acestea au fost ulterior expuse la o soluție de acid 4-mercaptobenzoic (4-MBA) de concentrație 10^{-3} M în etanol. Substratele fabricate cu diferite grosimi ale filmului de Au (5, 10, 20 și 30 nm) au fost imersate timp de 30 minute în soluția de 4-MBA și uscate ulterior la temperatura camerei. În Figura 6 sunt prezentate spectrele de transmisie obținute pentru substratul având grosimea filmului de Au de 20 nm înainte (spectrul albastru) și după (spectrul maro) grefarea 4-MBA pe suprafața acestuia. Se observă că banda de transmisie se deplasează cu 61 nm spre lungimi de undă mai mari, confirmând legarea 4-MBA ca urmare a modificării indicelui de refracție la suprafața metalică.

Pasul următor a constat în evaluarea și compararea activității SERS a substratelor realizate. Pentru aceasta, Spectrele SERS au fost înregistrate cu Microscopul Raman Confocal Alpha300R Witec GmbH, Ulm, Germania. Pentru excitarea probelor a fost utilizată o diodă laser cu emisia în domeniul infraroșu apropiat (near-infrared NIR) la 785 nm. Lumina laser excitatoare a fost focalizată pe suprafața substratelor printr-un obiectiv cu mărirea $20\times$ și apertura numerică $NA = 0.4$, iar lumina împrăștiată Raman a fost colectată printr-o fibră optică de diametru 100 μm și transmisă spre analiză la un spectrometru echipat cu o cameră CDD (1024×128 pixeli, DU401-BR-DD, Andor) care operează la -60°C . S-au colectat mai multe spectre din diferite spoturi de pe suprafața substratelor utilizând condiții experimentale similare pentru toate probele, și anume: timp de integrare 10 s/spectru, 1 acumulare, putere laser la ieșirea din obiectiv de 10 mW. Pentru fiecare substrat s-au colectat câte 10 spectre SERS din



ANDREEA-MARIA CAMPU
A.

spoturi diferite și s-a calculat media aritmetică a acestora obținându-se astfel spectrul mediu. Imaginile microscopice ale substratelor SERS au fost capturate cu o cameră video color a aceluiași microscop, folosind pentru iluminare o sursă LED cu lumină albă. Pentru analiza spectrală a fost utilizat software-ul Witec Project Four Plus. În Figura 7 sunt prezentate spectrele SERS medii corespunzătoare celor 4 substratelor SERS. Interpretarea benzilor SERS caracteristice 4-MBA a fost făcută în acord cu datele din literatură (*J. Raman Spectrosc.* 2003, 34 (1), 21–25; *Colloids. Colloids Surf., A* 2015, 474, 29–35). Remarcăm că toate substratele facilitează detecția și identificarea 4-MBA, dar intensitatea semnalului SERS este sensibil diferită de la un substrat la altul. În mod concret, se obține cea mai mare intensitate a semnalului SERS pentru substratul cu o grosime a filmului de aur de 20 nm, în timp ce substratul cu grosimea filmului de aur de 30 nm conduce la cea mai mică intensitate SERS. În ceea ce privește substratele cu grosimile filmelor de Au de 5 și respectiv 10 nm, intensitatea semnalului SERS colectat este ușor mai ridicată în cazul substratului de 10 nm.

Având în vedere aceste rezultate am selectat pentru experimentele ulterioare substratul cu cea mai ridicată eficiență SERS, și anume cel cu grosimea filmului de Au de 20 nm. Acesta a fost expus la diferite concentrații de 4-MBA dizolvat în etanol de la 10^{-3} la 10^{-10} M conform procedurii descrise mai sus, iar răspunsul optic a fost înregistrat pentru fiecare concentrație de 4-MBA. Prin analiza spectrelor de transmisie înregistrate, s-a observat că în urma legării 4-MBA pe suprafața substratelor banda de transmisie suferă deplasări spre lungimi de undă mai mari ca urmare a modificării indicelui de refracție de la suprafața filmului de Au. Aceste deplasări au fost reprezentate grafic pe scală logaritmică în funcție de concentrația de 4-MBA (Figura 8). Se observă o zonă de liniaritate între concentrațiile de 10^{-10} și 10^{-6} M 4-MBA pentru care s-a calculat o limită de detecție de 9.1×10^{-10} M și o limită de cuantificare de $27,6 \times 10^{-10}$ M, demonstrându-se astfel capacitatea acestui substrat de a opera ca platformă de detecție duală SPR – SERS prezentând sensibilitate crescută.



ANDREEA-MARIA CÂMPU
A.

Desene/Figuri

Figura 1. Ilustrarea schematică a procesului de fabricare a substratelor metalizate micro-rugoase de PDMS compus din două etape: i) Fabricarea substratului micro-rugos de PDMS prin imprimarea structurii 3D a hârtiei de filtru Whatman nr. 1 pe suprafața acestuia și ii) Depunerea controlată a filmului subțire de Au prin evaporare termică.

Figura 2. Imagini digitale ale substratelor micro-rugoase de PDMS metalizate cu diferite grosimi ale filmului de aur: (a) 0 nm; (b) 5 nm; (c) 10 nm; (d) 20 nm; (e) 30 nm. Inserții: Imagini digitale mărite ale suprafeței micro-rugoase metalizate.

Figura 3. Imagini de microscopie electronică de baleaj (SEM) reprezentative ale substratelor micro-rugoase flexibile de PDMS fără (a) și cu film subțire de aur de diferite grosimi: (b) 5 nm; (c) 10 nm; (d) 20 nm; (e) 30 nm, obținute la două magnificări (panou stânga – 300× și panou dreapta – 20 000×).

Figura 4. Imagini de microscopie în reflexie reprezentative ale substratelor micro-rugoase flexibile de PDMS fără (a) și cu film subțire de aur de diferite grosimi: (b) 5 nm; (c) 10 nm; (d) 20 nm; (e) 30 nm, obținute utilizând obiective cu mărire de 5x (panou stânga) și 20x (panou dreapta).

Figura 5. Spectrele de transmisie ale substratelor micro-rugoase de PDMS metalizate având diferite grosimi ale filmului de aur: (a) 5 nm; (b) 10 nm; (c) 20 nm; (d) 30 nm.

Figura 6. Spectrele de transmisie înainte (spectrul albastru) și după (spectrul maro) expunerea substratului flexibil metalizat (grosime film de Au de 20 nm) la o soluție de 4-MBA în etanol (concentrație 10^{-3} M).

Figura 7. Spectrele SERS medii ale 4-MBA colectate de pe suprafața substratelor SERS fabricate cu diferite grosimi ale filmului de aur: (a) 20 nm; (b) 10 nm; (c) 5 nm; (d) 30 nm în urma expunerii acestora la o soluție de 4-MBA în etanol (concentrație 10^{-3} M).

Figura 8. Reprezentarea grafică a deplasării benzii de transmitanță în funcție de logaritmul concentrației de 4-MBA. În intervalul concentrațiilor de la 10^{-6} la 10^{-10} M s-a determinat o regiune de linearitate (încadrată în cercul albastru) pentru care s-a determinat o limită de detecție de 9.1×10^{-10} M și o limită de cuantificare de $27,6 \times 10^{-10}$ M.



ANDREEA-MARIA CÂMPU

A.

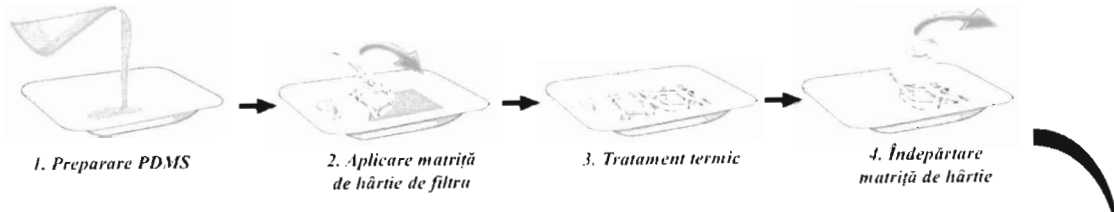
Revendicări:

1. Substrat micro-rugos metalizat flexibil și miniaturizat de PDMS **caracterizat prin aceea că** a fost obținut printr-o metodă simplă de imprimare a matricei 3D a hârtiei de filtru – un material natural, abundent și ieftin, pe suprafața polimerului pentru a-i modifica micro-rugozitatea.
2. Substrat micro-rugos metalizat flexibil de PDMS conform cu revendicarea 1, **caracterizat prin aceea că** permite implementarea detecției duale în timp real prin spectroscopie de Rezonanță Plasmonică de Suprafață (eng. Surface Plasmon Resonance – SPR) și Spectroscopie Raman Amplificată de Suprafață (eng. Surface Enhanced Raman Spectroscopy – SERS).



ANDREEA-MARIA CÂMPU
A.

Fabricarea substratului micro-rugos de PDMS



Metalizarea substratului micro-rugos de PDMS

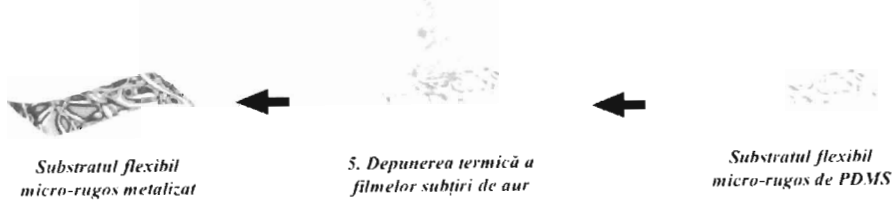


Figura 1.



ANDREEA-MARIA CÂMPU
A.

43

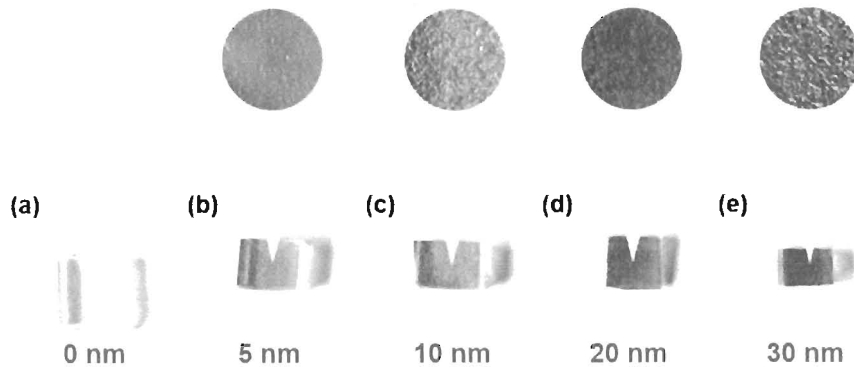
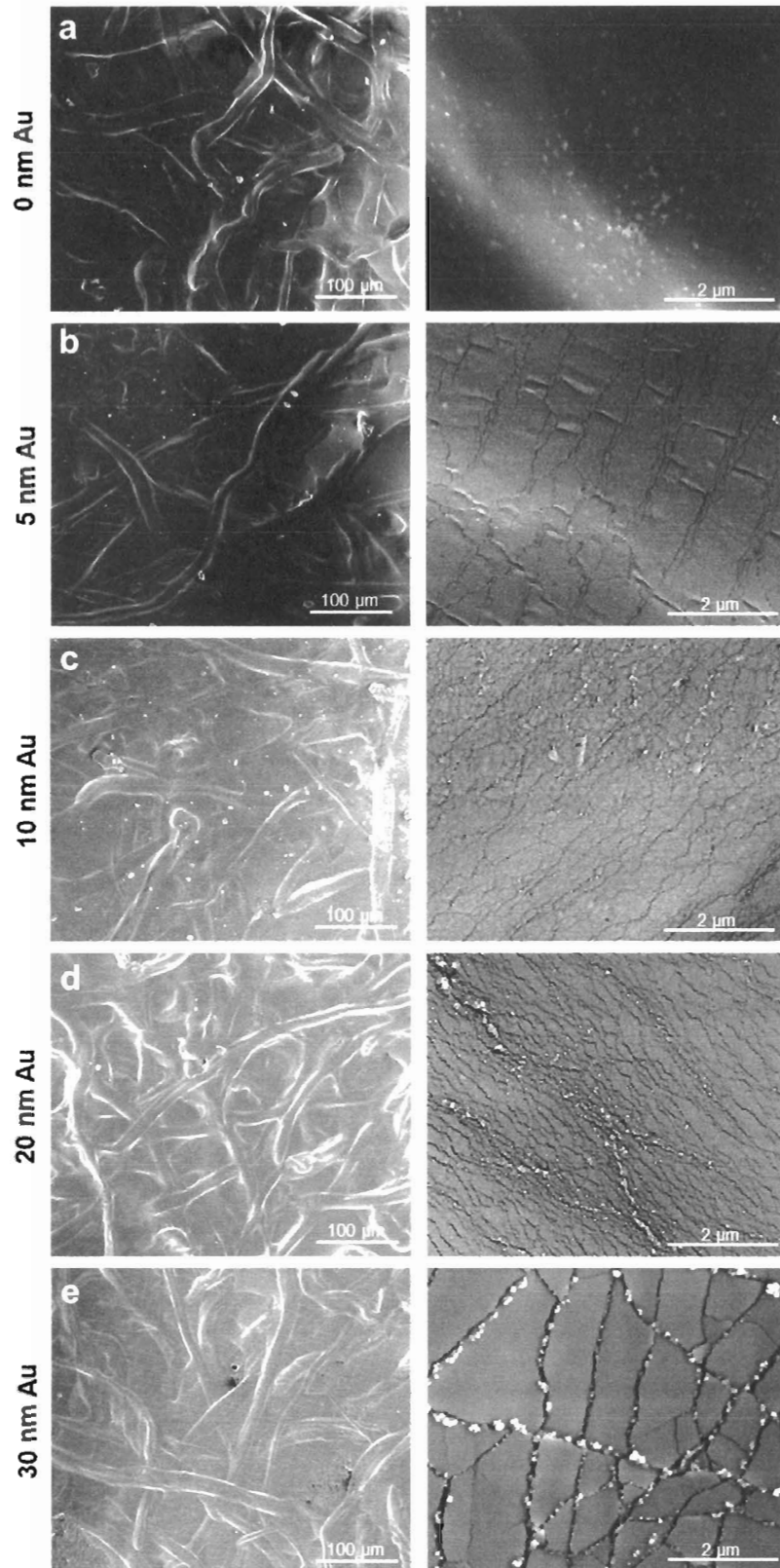


Figura 2.



ANDREEA-MARIA CÂMPU
A.



ANDREEA-MARIA CĂMPU
A

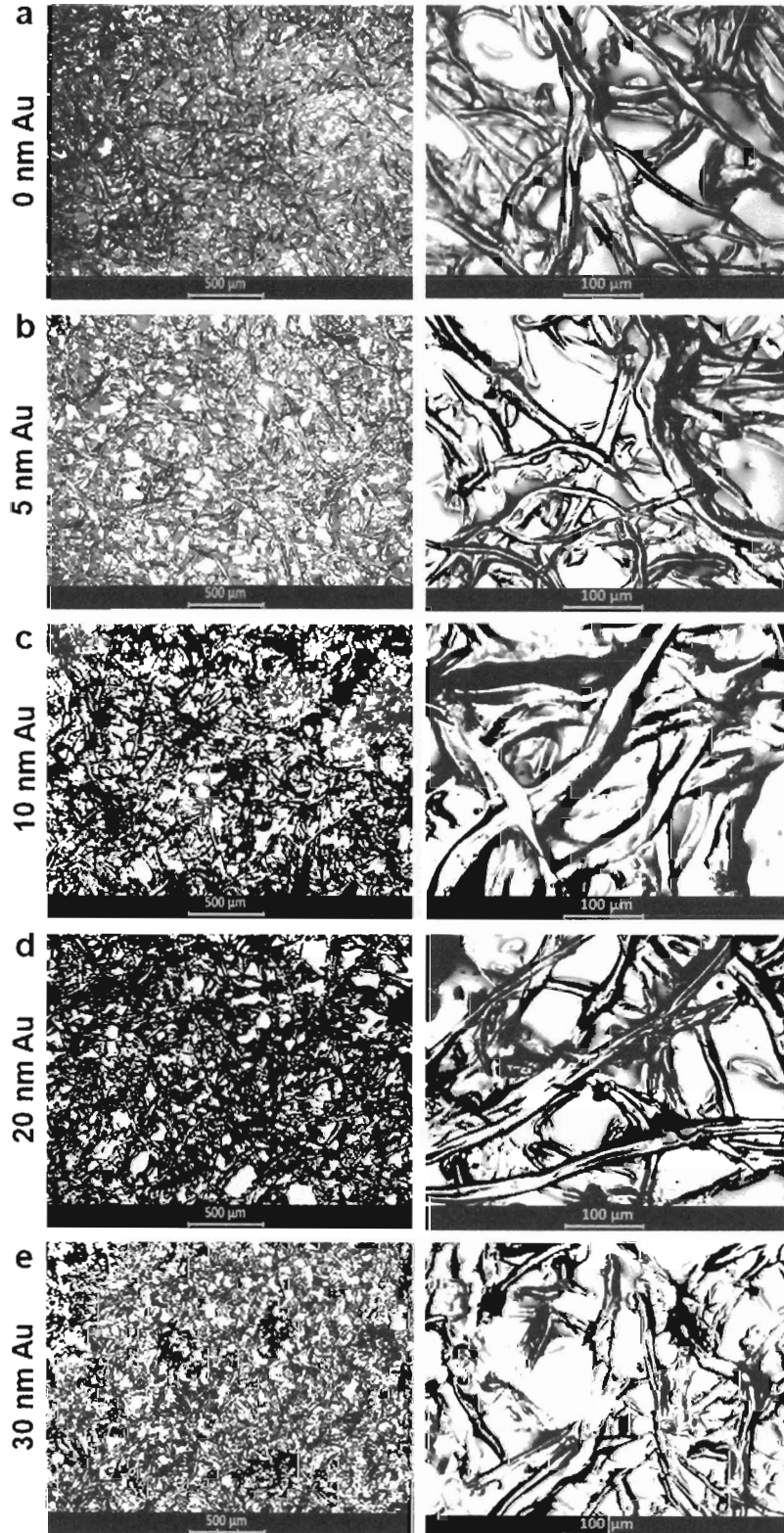


Figura 4.



ANDREEA - MARIA CÂMPU

A.

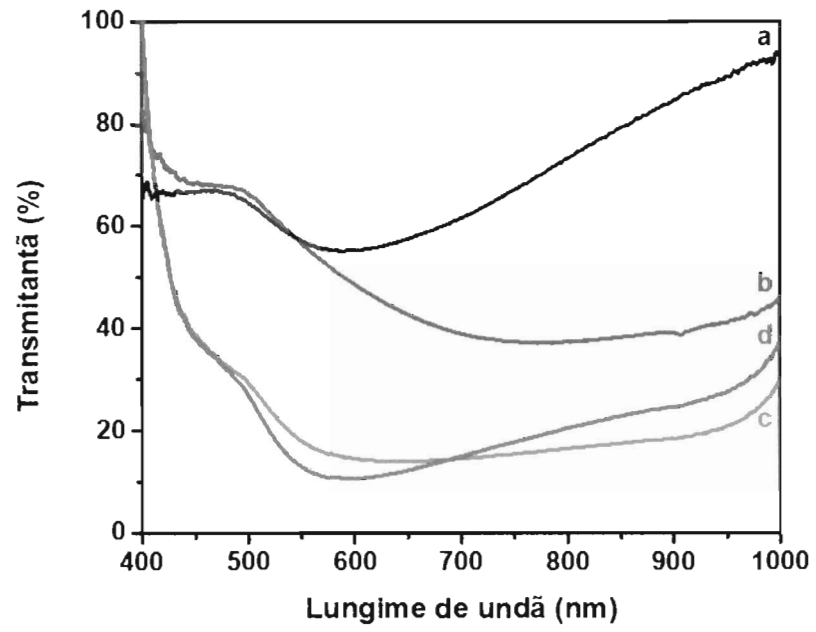


Figura 5.



ANDREEA-MARIA CÂMPU

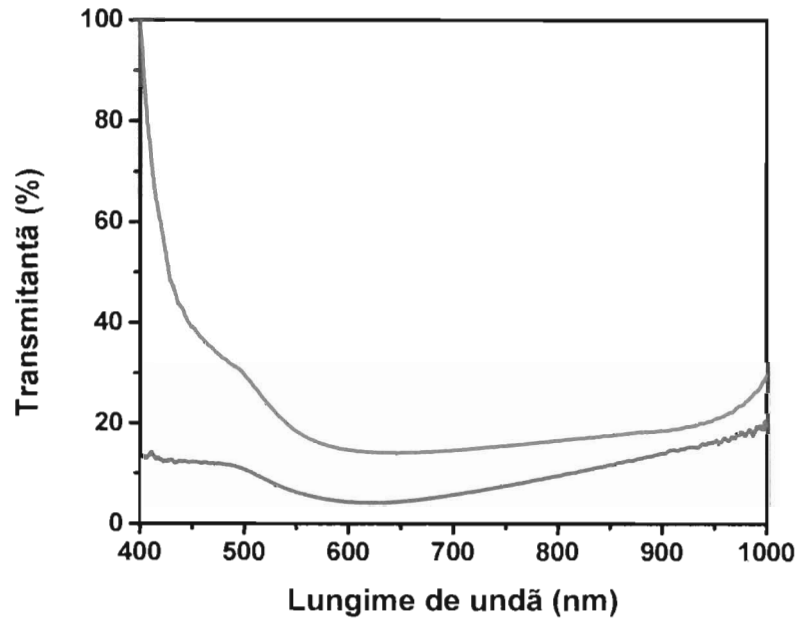


Figura 6.



ANDREEA-MARIA CÂMPU

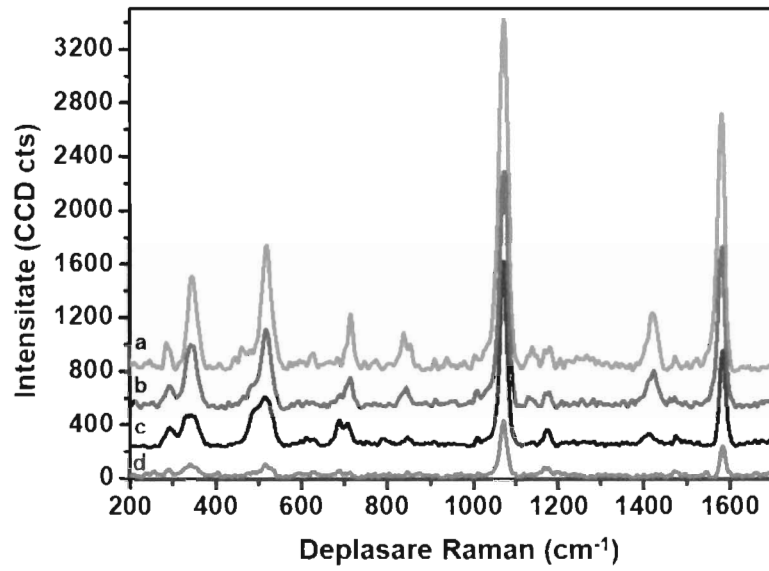


Figura 7.



ANDREEA-MARIA CĂMPU

A.

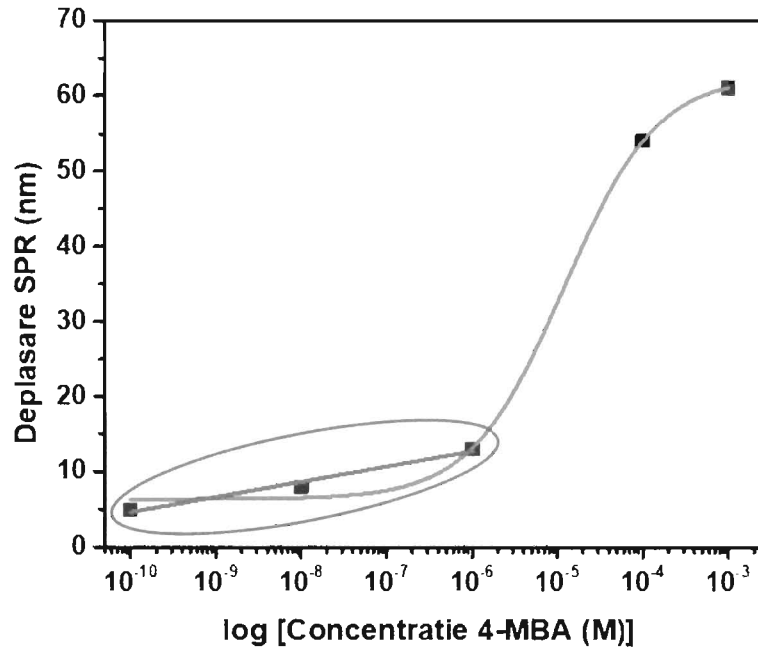


Figura 8.



ANDREEA - MARIA CÂMPU

A.