



UNIVERSITATEA NAȚIONALĂ DE
ȘTIINȚĂ ȘI TEHNOLOGIE
POLITEHNICA BUCUREȘTI

Școala Doctorală de Inginerie Electrică



TEZĂ DE DOCTORAT

Metode electromagnetice în studiul proceselor biomedicale

- Rezumatul tezei -

Doctorand: *Msc. Ing. Sorina GOGONEAȚĂ*

Coordonator științific: *Prof. Dr. Ing. Alexandru Mihail MOREGA*

București

2023

Cuprins

CAPITOLUL 1 - INTRODUCERE	6
1.1. FORMULAREA PROBLEMEI.....	6
1.2. OBIECTIVELE CERCETĂRII.....	6
1.3. STRUCTURA ȘI CONȚINUTUL TEZEI.....	7
CAPITOLUL 2 - STADIUL ACTUAL PRIVIND BIOSENZORII IMPEDIMETRICI.....	7
2.1. METODELE ELECTROMAGNETICE ÎN STUDIUL PROCESELOR BIOMEDICALE.....	7
2.2. BIOSENZORII.....	8
2.3. BIOSENZOR INTEGRAT ÎN PLATFORMĂ MICROFLUIDICĂ.....	9
2.4. BIOSENZORI IMPEDIMETRICI IMPRIMAȚI 3D.....	10
CAPITOLUL 3 - INTERACȚIUNI ȘI PROCESE ELECTRICE ÎN SISTEMELE DE BIODETECTIE BAZATE PE BIOSENZORI.....	11
3.1. BIOSENZORI CU EFECTE DE CÂMP ELECTROMAGNETIC – DISPOZITIVE DE ANALIZĂ A MATERIALULUI BIOLOGIC	11
3.2. BIOSENZOR CU EFECT DE CÂMP	11
3.3. COMPONENTELE UNUI BIOSENZOR	12
3.4. CLASIFICARE GENERALĂ.....	12
3.4.1. Biosenzori optici	13
3.4.2. Biosenzori piezoelectrics	13
3.4.3. Biosenzori termometrici	13
3.4.4. Biosenzori electrochimici	13
3.5. DETECȚIA ELECTROCHIMICĂ	13
3.5.1. Biosenzori de tensiune	15
3.5.2. Biosenzori de curent	15
3.5.3. Biosenzori de impedanță	15
CAPITOLUL 4 - INFLUENȚA CÂMPULUI ELECTRIC ASUPRA CURGERII FLUIDULUI ÎN MICROCANALE: CONTRIBUȚII ȘI APLICAȚII ÎN CONTEXTUL BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI	15
4.1. APLICAȚII ALE BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI PENTRU DETECȚIA ȘI IDENTIFICAREA HIBRIDIZĂRII ADN-ULUI	15
4.2. DESIGN-UL UNUI BIOSENZOR ADN INTEGRAT ÎNTR-UN DISPOZITIV MICROFLUIDIC	16
4.3. MODELAREA CURGERII UNUI FLUID ÎNTR-UN MICROCANAL CONTROLATĂ PRIN CÂMP ELECTRIC	17
4.3.1. Modelul fizic	17
4.3.2. Modelul matematic	18
4.3.3. Modelarea numerică	20
4.4. MODELAREA TRANSFERULUI DE MASĂ	21

4.5.	EXPERIMENTE NUMERICE	22
4.6.	CONCLUZII REZULTATE ÎN URMA SIMULĂRILOR	25
CAPITOLUL 5 - CARACTERIZAREA PROPRIETĂȚILOR ELECTRICE ALE ELECTROZILOR IMPRIMAȚI 3D: CONTRIBUȚII ÎN DEZVOLTAREA BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI		26
5.1.	PROIECTAREA ȘI FABRICAȚIA ELECTROZILOR IMPRIMAȚI 3D	26
5.1.1.	Proiectarea geometriei electrozilor	26
5.1.2.	Metoda de fabricație	26
5.2.	CARACTERIZAREA PARAMETRILOR ELECTRICI CU AJUTORUL SPECTROSCOPIEI DE IMPEDANȚĂ ELECTRICĂ	27
5.2.1.	Setarea aparaturii	27
5.2.2.	Condiții experimentale pentru caracterizarea electrozilor imprimați 3D	28
5.2.3.	Măsuratori electrice	29
5.3.	REZULTATE EXPERIMENTALE.....	29
5.4.	CONCLUZII	33
CAPITOLUL 6 - CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE		33
6.1.	CONCLUZII	33
6.2.	ÎNDEPLINIREA OBIECTIVELOR CERCETĂRII.....	34
6.3.	CONTRIBUȚII ORIGINALE.....	34
6.4.	DISEMINAREA REZULTATELOR	35
GLOSAR DE TERMENI SPECIFICI		36
Referințe bibliografice:.....		38

Cuvinte cheie: *câmpului electromagnetice, biosenzor, electrozi imprimați 3D, Spectroscopie de Impedanță Electrochimică (EIS), structuri microfluidice, Laborator pe chip, element finit, model multifizic*

CAPITOLUL 1 - INTRODUCERE

1.1. FORMULAREA PROBLEMEI

Cunoașterea câmpurilor electromagnetice în mediul biomedical este esențială într-o varietate de situații, inclusiv în interacțiunile acestor câmpuri cu sistemele biologice și în interferențele electromagnetice cu dispozitivele medicale.

Scopul cercetărilor din această teză îl reprezintă studiul interacțiunii câmpului electromagnetice cu mediul biologic în cadrul biosenzorilor, având în vedere detecția electrochimică, modelarea comportamentului electrochimic și integrarea senzorilor în platforme microfluidice.

Pentru a atinge obiectivul propus, cercetarea se axează pe două direcții principale, care sunt esențiale pentru dezvoltarea tezei de doctorat. Aceste direcții sunt:

- *problema detecției electrochimice*, care se bazează pe modificările câmpului electric, respectiv a proprietăților electrice ale mediului de lucru în funcție de concentrația analitului în eșantioane biologice. În capitolele 3 și 5, se analizează utilizarea spectroscopiei de impedanță pentru detectarea compușilor organici în eșantioane biologice și modelarea comportamentului electrochimic al materialului biologic și al substratului metalic al electrozilor folosind circuite electrice echivalente.

- *integrarea biosenzorilor în platforme microfluidice*, care permit manipularea fluidelor la scară mică cu ajutorul câmpului electric, este abordată în capitolul 4. Dispozitivele microfluidice complexe, cum ar fi cele de tip Lab-on-a-Chip (LoC), includ multiple microcanale pentru dozarea controlată a fluidelor utilizând microvalve și micropompe, precum și senzori de curgere și biofiltre pentru controlul fluxului. Utilizarea unor dispozitive de acest tip, permite detectarea reacțiilor biologice la interfața analitului cu suprafața microsenzorilor, eliminând astfel necesitatea amplificării semnalului pentru biodetecția fără etichetare.

1.2. OBIECTIVELE CERCETĂRII

Obiectivul general al tezei este cercetarea și dezvoltarea unor metode avansate și a unor dispozitive în domeniul biosenzorilor, cu accent pe interacțiunea câmpurilor electromagnetice cu mediul biologic. Scopul este obținerea de cunoștințe detaliate și înțelegerea interacțiunilor câmp - substanță în aceste domenii și de a contribui la progresul cercetărilor în această direcție.

În cadrul acestei teze, s-au realizat *contribuții semnificative în domeniul cercetărilor teoretice*, prin elaborarea și dezvoltarea unor modele numerice complexe. Aceste modele au fost propuse cu scopul de a investiga efectele aplicării unui câmp electric asupra fenomenului de

curgere a fluidelor în microcanale și asupra procesului de transport de masă în sistemele microfluidice.

Această lucrare aduce *contribuții practice semnificative* prin dezvoltarea unei metode inovatoare de fabricare a electrozilor folosind imprimarea 3D, obținând astfel electrozi cu forme și dimensiuni precise, adaptate cerințelor și nevoilor experimentale din domeniul biosenzorilor, utilizați pentru detecția și cuantificarea diverselor biomolecule în probele analizate.

1.3. STRUCTURA ȘI CONȚINUTUL TEZEI

Capitolul 1 – Introducere, prezintă contextul și importanța cercetării.

Capitolul 2 – Stadiul actual privind biosenzorii impedimetrice, realizează o analiză amănunțită a stadiului actual al cercetărilor în domeniul biosenzorilor impedimetrice și descrie principalele progrese din acest domeniu.

Capitolul 3 – Interacțiuni și procese electrice în sistemele de biodetecție bazate pe biosenzori, al tezei prezintă o cercetare a biosenzorilor, dispozitive de analiză a materialului biologic, cu accent pe principiul lor de funcționare și componentele biosenzorilor.

Capitolul 4 – Influența câmpului electric asupra curgerii fluidului în microcanale: aplicații ale biosenzorilor electrochimici, prezintă în detaliu aplicațiile biosenzorilor electrochimici în detecția și identificarea hibridizării ADN-ului, acordând o atenție specială design-ului biosenzorului ADN integrat într-un dispozitiv microfluidic.

În *Capitolul 5 – Caracterizarea proprietăților electrice ale electrozilor imprimați 3D*, sunt prezentate și analizate rezultatele referitoare la caracterizarea proprietăților electrice ale electrozilor imprimați 3D, cu accent pe dezvoltarea biosenzorilor electrochimici.

Capitolul 6 – Concluzii, cuprinde sinteza și analiza cercetării efectuate, prezentând concluziile relevante și perspectivele obținute în urma studiului.

CAPITOLUL 2 - STADIUL ACTUAL PRIVIND BIOSENZORII IMPEDIMETRICI

2.1. METODE ELECTROMAGNETICE ÎN STUDIUL PROCESELOR BIOMEDICALE

Interacțiunea dintre sistemele biologice și câmpurile electromagnetice a fost abordată în numeroase lucrări de specialitate și continuă să reprezinte un subiect de mare interes pentru mulți cercetători. Aceste cercetări includ investigarea interacțiunii câmpului electromagnetic cu țesuturile biologice și sistemele vii, precum și dezvoltarea de aplicații de diagnostic și tratament.

Studiul biosenzorilor se referă la caracterizarea proprietăților electrice ale biosenzorilor electrochimici fabricați prin tehnologia de imprimare 3D. Scopul este de a înțelege răspunsul

electric al acestor biosenzori și de a evalua performanța lor în funcție de parametrii electrici relevanți, cum ar fi conductivitatea sau impedanța electrică.

Cercetarea asupra biosenzorilor se extinde în direcția integrării acestora în platforme microfluidice, reprezentând o abordare neconvențională în ceea ce privește simularea mediului în care au loc procesele biochimice, în comparație cu metodele tradiționale consacrate.

Utilizarea modelării numerice pentru simularea proprietăților electromagnetice ale mediilor biologice aduce un aport semnificativ în înțelegerea și analiza acestor medii complexe. Această abordare permite cercetătorilor să exploreze interacțiunea câmp electromagnetic - mediul biologic, oferind o mai bună înțelegere a fenomenelor și proceselor care au loc [1].

2.2. BIOSENZORII

Biosenzorii sunt o categorie de dispozitive care integrează tehnologii avansate din domeniul ingineriei și al biotehnologiilor. Aceste dispozitive pot fi utilizate pentru monitorizarea sistemelor vii și pot încorpora elemente biologice [3].

Biosenzorii permit detectarea și măsurarea prezenței anumitor molecule într-un analit. În cadrul biosenzorului, componentele sau speciile chimice din mediu interacționează, iar biosenzorul detectează aceste interacțiuni, permițând identificarea și măsurarea concentrației substanței de interes.

Biosenzorii electrici activi generează un semnal electric, tensiune sau curent, ca răspuns la reacții chimice, de exemplu legarea a două molecule. Aceste reacții sau interferența cu câmpurile electrice pot provoca schimbări în parametrii electrici ai biosenzorului [9].

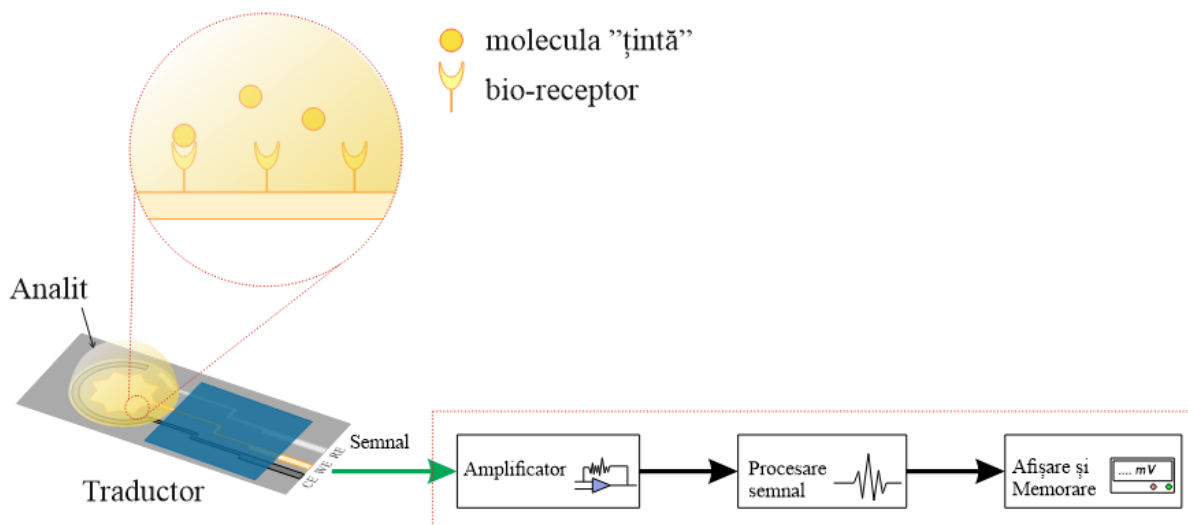


Fig. 2.1. Principiul de funcționare al unui biosenzor

Conform reprezentării din Fig. 2.1, un biosenzor este alcătuit dintr-un receptor biologic cum ar fi enzima, anticorpul, acidul nucleic sau celula, care se leagă de o componentă specifică. Acesta este asociat cu un traductor care convertește interacțiunea receptor-analit într-un semnal

măsurabil, utilizând electrozi și sisteme electrice, termice sau optice, în funcție de variațiile cantităților fizice măsurate [3] .

În cadrul cercetărilor privind biosenzorii, un element important este electrodul de lucru. Electrocul de lucru acționează drept interfața prin care un câmp electric poate fi aplicat eșantionului de studiu, permițând interacțiunea cu componentele biologice și, de asemenea, este utilizat pentru măsurarea și transmiterea semnalelor electrice detectate.

Caracteristicile semnalelor electrice obținute sunt influențate de tipul de biosenzor și de specificul aplicației: diagnostic medical, monitorizarea mediului, siguranța alimentară sau monitorizarea sănătății personale. Se pot efectua măsurători de rezistență sau de capacitate, precum și de spectroscopie de impedanță electrică într-o anumită plajă de frecvențe [10] . În cadrul măsurătorilor variației impedanței electrice pentru determinarea concentrației anumitor biomolecule dintr-un analit, se poate stabili o relație de proporționalitate între impedanța electrică măsurată și concentrația biomoleculelor din analit. Această relație de proporționalitate este reprezentată prin intermediul unei curbe standard [8] , care este o reprezentare matematică a corelației dintre impedanța electrică măsurată și concentrația cunoscută a biomoleculelor din analit.

Câmpul electromagnetic se modifică semnificativ în interiorul țesuturilor în comparație cu mediul extern. Adâncimea de pătrundere a câmpului electromagnetic în țesuturi este influențată de frecvență și caracteristicile acestor țesuturi. Adâncimea de pătrundere poate varia considerabil, de la câțiva milimetri la centimetri sau chiar mai mult, în funcție de frecvența câmpului electromagnetic și de tipul specific al țesutului [12] .

2.3. BIOSENZOR INTEGRAT ÎN PLATFORMĂ MICROFLUIDICĂ

Studiul interacțiunii dintre câmpurile electromagnetice și procesele biochimice, în condiții similare mediului natural în care se desfășoară aceste procese, oferă informații relevante pentru înțelegerea mecanismelor prin care câmpurile electromagnetice influențează aceste procese la nivel molecular și celular. Integrarea mai multor analize de laborator într-un "laborator pe chip" (LOC) este o evoluție importantă în domeniul biosenzorilor. Acest concept permite efectuarea unor teste și experimente diverse cu cantități mici de probe biologice și reactivi, având aplicații în medicina personalizată, diagnosticul rapid și monitorizarea sănătății.

În procesul de investigare, speciile necunoscute sunt direcționate în apropierea peretelui microcanalului utilizând diverse metode precum difuzia sau curgerea electroosmotică, acest lucru permițând interacțiunea lor cu suprafața de detecție reprezentată în Fig. 2.2, ceea ce facilitează detectarea și caracterizarea acestora [14] .

Transferul de masă prin difuzie și osmoză se bazează pe ecuațiile de difuzie și descrie mișcarea substanțelor în funcție de gradientul de concentrație sau presiune.

Pentru transferul de căldură, se utilizează legea conservării energiei. În cazul unui dispozitiv LOC, aceasta înseamnă că transferul de energie între fluid și câmpul electric poate afecta comportamentul global al sistemului, dar energia totală a sistemului se conservă.

Transferul de energie electromagnetică este strâns legat de ecuațiile lui Maxwell, deoarece aceste ecuații descriu comportamentul câmpurilor electromagnetice și propagarea undelor electromagnetice, iar transferul de energie electromagnetică are loc prin intermediul acestor câmpuri și unde.

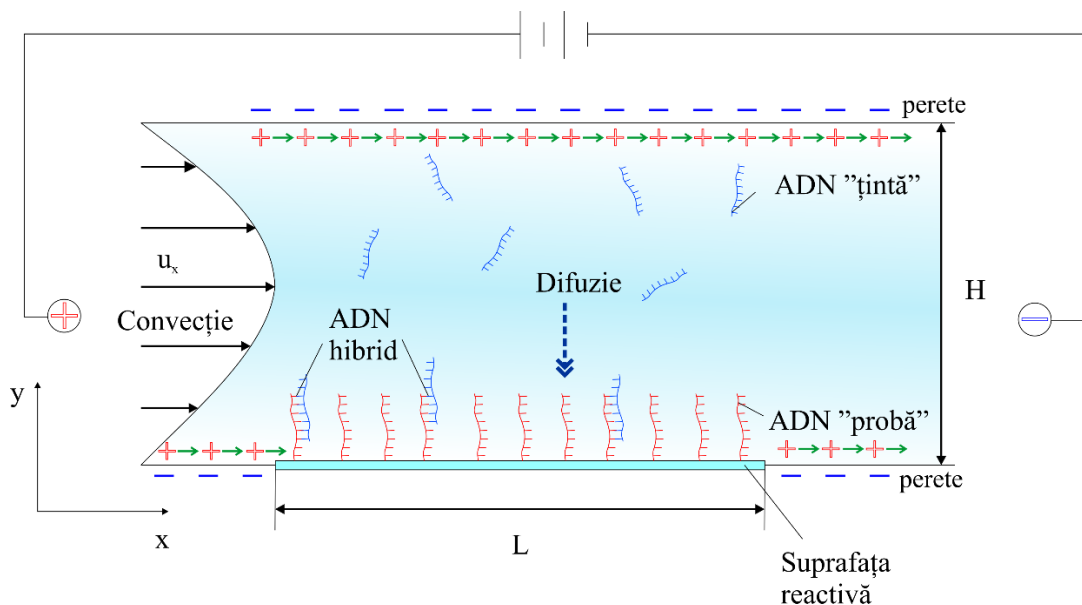


Fig. 2.2. Mișcarea speciilor de ADN în vecinătatea peretelui microcanalului

2.4. BIOSENZORI IMPEDIMETRICI IMPRIMAȚI 3D

Biosenzorii detectează substanțe biologice prin generarea de semnale detectabile, iar spectroscopia de impedanță electrochimică este o metodă comună pentru analizarea acestor sisteme de biodetecție. Modificările în zona activă conduc la variații ale impedanței măsurate, reflectând schimbările în procesele electrochimice și interacțiunile de la interfața electrozilor cu electrolitul [16].

Pentru a simplifica fenomenele electrice complexe din biosenzori și a permite înțelegerea funcționării acestora, se folosesc modele de circuite echivalente. Modelul de circuit Randles-Sevcik reprezintă electrozii biosenzorului și comportamentul lor electrochimic în timpul reacției de transfer de electroni, conform Fig. 2.3.

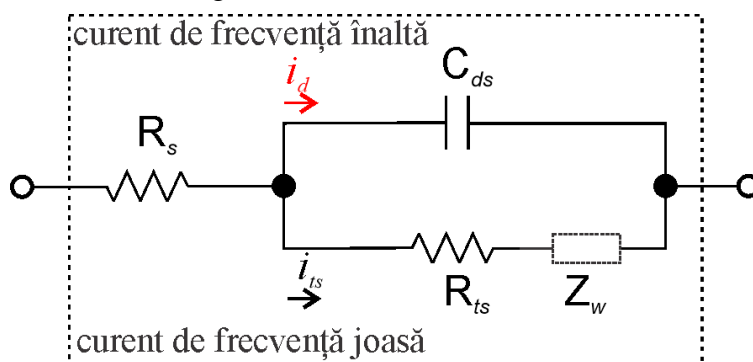


Fig. 2.3. Model de circuit echivalent Randles-Sevcik [17]

În decursul ultimilor ani, tehnologiile de imprimare 3D au dobândit o importanță semnificativă în dezvoltarea și fabricarea biosenzorilor. În special, aceste tehnologii au fost larg utilizate pentru obținerea electrozilor cu forme și geometrii complexe, esențiali pentru o serie de aplicații de biodetecție și în sistemele microfluidice. Electrozii cu forme complexe pot fi optimizați pentru a îmbunătăți sensibilitatea și selectivitatea detectării biomoleculor specifice.

CAPITOLUL 3 - INTERACȚIUNI ȘI PROCESSE ELECTRICE ÎN SISTEMELE DE BIODETEȚIE BAZATE PE BIOSENZORI

3.1. BIOSENZORI CU EFECTE DE CÂMP ELECTROMAGNETIC – DISPOZITIVE DE ANALIZĂ A MATERIALULUI BIOLOGIC

Biosenzorii sunt capabili să detecteze cu precizie și să măsoare cantități foarte mici ale unor substanțe specifice, ceea ce le oferă o sensibilitate crescută pentru analiza biomoleculor și diverse aplicații medicale.

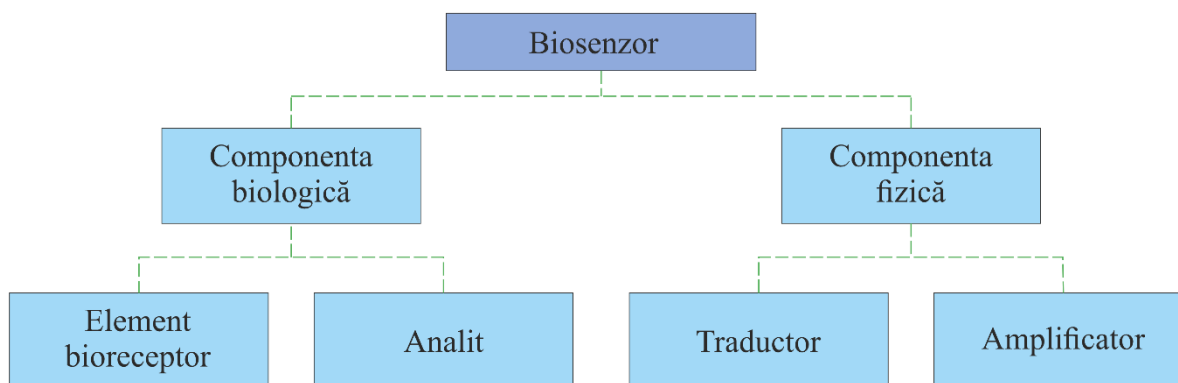


Fig. 3.1. Schema componentelor unui biosenzor

Biosenzorii utilizează elemente de recunoaștere biologică precum enzimele, anticorpilor sau ADN-ul, care se pot atașa de molecule specifice numite analiți, generând o interacțiune biochimică între cele două componente principale, Fig. 3.1. [18-19].

Metodele de detecție pot fi electrice, mecanice sau optice, măsurând schimbările în proprietățile eșantionului datorate prezenței unor specii moleculare necunoscute [21].

Spectroscopia de impedanță electrochimică constă în aplicarea unei tensiuni sinusoidale la diferite frecvențe și măsurarea curentului rezultat. Prin varierea frecvenței, se obține un spectru de impedanță care cuprinde informații despre rezistența și capacitatea interfeței [24].

3.2. BIOSENZOR CU EFECT DE CÂMP

Specificitatea detecției, adică capacitatea biosenzorului de a identifica și detecta un singur tip de moleculă dorită, poate fi îmbunătățită prin funcționalizarea suprafeței senzoriale cu o specie moleculară complementară cu specia moleculară necunoscută ce urmează a fi detectată [27-28].

Transformarea interacțiunii biochimice în semnale măsurabile este crucială pentru cuantificarea concentrației sau prezenței moleculelor țintă într-un eșantion, utilizând curbe de calibrare sau parametri de referință pentru precizie [29].

3.3. COMPONENTELE UNUI BIOSENZOR

Biosenzorul este un dispozitiv alcătuit din două componente esențiale și interconectate. Receptorul și traductorul fizico-chimic, menționate anterior în Fig. 3.1, formează sistemul de recunoaștere moleculară.

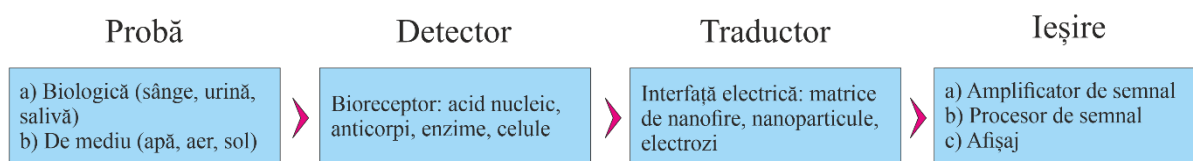


Fig. 3.2. Sistemul de recunoaștere moleculară al unui biosenzor [30]

Traductorul transformă semnalul biochimic rezultat din reacția dintre analit și bioreceptor într-un semnal electric măsurabil, care poate fi utilizat pentru a determina concentrația sau prezența analitului în probă, Fig. 3.2.

Procesarea semnalului în biosenzori presupune amplificarea semnalului utilizând un amplificator și apoi transformarea acestuia într-un semnal. Acest semnal poate fi înregistrat sau afișat pentru a furniza informații despre concentrația sau prezența analitului detectat.

3.4. CLASIFICARE GENERALĂ

Clasificarea biosenzorilor se bazează pe diferite criterii, precum tipul moleculelor bioreceptoare sau mecanismul de transducție a semnalului, Fig. 3.3.

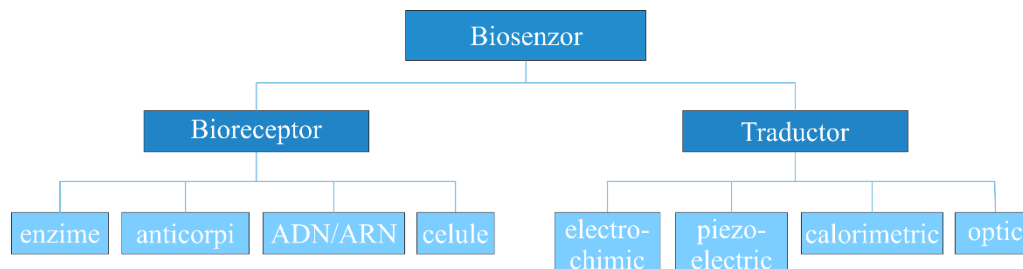


Fig. 3.3. Clasificare biosenzori [30]

În funcție de bioreceptor, biosenzorii se împart în biosenzori catalitici și biosenzori de afinitate.

În funcție de elementul traductor care convertește semnalul detectat din mediul fizic într-o formă de energie măsurabilă, biosenzorii se clasifică în biosenzori optici, mecanici și biosenzori electrochimici.

3.4.1. Biosenzori optici

Biosenzorii optici utilizează proprietățile optice ale analitului pentru a genera semnale luminoase sau schimbări în absorbție, emisie sau reflexie a luminii. Pentru a obține rezultate precise este necesară o calibrare riguroasă și o întreținere adecvată a echipamentului, ceea ce poate implica costuri suplimentare [31].

3.4.2. Biosenzori piezoelectrics

Detectarea variațiilor proprietăților unei suprafețe receptor ca urmare a unei legări între biomolecule poate fi realizată prin înregistrarea tensiunii sau frecvenței de oscilație a suprafeței respective. Utilizarea platformelor piezoelectrice sau cristalelor piezoelectrice ca traductori în biosenzori se bazează pe variația oscilațiilor generate de depunerea unei mase specifice pe suprafața cristalului [32].

3.4.3. Biosenzori termometrici

Biosenzorii termometrici măsoară modificările de pH rezultate din eliberarea sau absorbția de căldură produsă de procesele enzimatică. Cantitatea de căldură generată într-o reacție enzimatică este proporțională cu concentrația analitului [33].

3.4.4. Biosenzori electrochimici

Biosenzorii electrochimici sunt cea mai utilizată categorie de biosenzori.

Acești biosenzori sunt utilizați frecvent în aplicații precum detecția hibridizării ADN-ului sau determinarea concentrației glucozei. Ei combină sensibilitatea înaltă a traductorilor electrochimici cu specificitatea proceselor de biorecunoaștere, generând semnale electrice corelate cu concentrația analitului și permit monitorizarea proceselor celulare și determinarea concentrației analitului în diverse aplicații [22].

Acești biosenzori se remarcă prin utilizare simplă, sensibilitate ridicată și posibilitatea de miniaturizare în comparație cu alte dispozitive de analiză [31].

3.5. DETECȚIA ELECTROCHIMICĂ

Electrochimia se ocupă de studiul fenomenelor electrochimice care implică transferul de sarcină electrică (electroni) între diverse specii chimice. Aceste reacții pot avea loc la interfața dintre un electrod și o soluție. Biosenzorii electrochimici utilizează specii electrochimice care sunt consumate sau generate în timpul proceselor biochimice între componenta biologică activă și substratul imobilizat pe suprafața electrozilor [34].

Deteția electrochimică măsoară schimbările electrice generate de reacțiile electrochimice pentru a determina concentrația analiților în eșantioane biologice, folosind electrozi ca intermediari. Această tehnică transformă semnalele biochimice în semnale electrice [34] .

3.5.1. Biosenzori de tensiune

Biosenzorii de tensiune măsoară diferența de potențial care apare între electrodul de lucru și electrodul de referință în timpul unei reacții redox care are loc pe suprafața electrodului de lucru. Aceste măsurători se efectuează în condiții de echilibru, fără curgerea de curent prin celula electrochimică. Metoda de măsurare a tensiunii este frecvent utilizată pentru evaluarea concentrațiilor ionice la suprafața electrodului [35].

3.5.2. Biosenzori de curent

Biosenzorii de curent sunt dispozitive sensibile care detectează și măsoară speciile electroactive prezente într-o probă biologică. Acești biosenzori funcționează pe baza generării unui curent electric în timpul unei reacții electrochimice, la aplicarea unei diferențe de potențial constante între doi electrozi. Intensitatea curentului variază în funcție de reacția de oxidare sau reducere a speciilor electroactive din analit. Un exemplu de biosenzor de curent este biosenzorul de glucoză [35].

3.5.3. Biosenzori de impedanță

Biosenzorii de impedanță măsoară variația rezistenței electrice a unei soluții în care se găsește analitul. Această variație este rezultatul unei reacții biochimice specifice între analit și componenta biologică activă a biosenzorului. Măsurătorile se realizează prin aplicarea unui semnal de curent alternativ de mică intensitate către o celulă electrochimică.

Impedanța măsurată reflectă în mod direct această interacțiune și furnizează informații despre prezența și concentrația analitului în probă [36].

CAPITOLUL 4 - INFLUENȚA CÂMPULUI ELECTRIC ASUPRA CURGERII FLUIDULUI ÎN MICROCANALE: CONTRIBUȚII ȘI APLICAȚII ÎN CONTEXTUL BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI

4.1. APLICAȚII ALE BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI PENTRU DETECȚIA ȘI IDENTIFICAREA HIBRIDIZĂRII ADN-ULUI

Biosenzorii electrici utilizați pentru studiul hibridizării ADN-ului sunt dispozitive analitice care utilizează principiile electrochimiei și interacțiunilor biochimice pentru detectarea și măsurarea specifică a procesului de hibridizare a monocatenelor de ADN cu secvențele complementare.

Hibridizarea ADN-ului prin reacția clasică de polimerizare în lanț se desfășoară în trei etape distincte: denaturarea, hibridizarea și stabilizarea. Această etapă ajută la stabilizarea structurii dublu-catena și amplificarea ulterioară a ADN-ului [37].

Utilizarea unor efecte de câmp electric și a microfluidicii, permite deplasarea controlată a moleculelor ADN, facilitând transportul acestora și interacțiunea lor cu moleculele immobilizate pe suprafața de detecție a biosenzorului [38] .

Influența câmpului electric extern asupra transportului componentelor de ADN ”țintă” în dublul strat electric este un fenomen complex și important în domeniul electrocineticii. Helmholtz a caracterizat pentru prima oară acest transport electrocinetic, stabilind o legătură între parametrii electrici și mișcarea fluidelor [40] .

Legea Navier-Stokes este o ecuație fundamentală în mecanica fluidelor și descrie comportamentul fluidelor în mișcare [41] . Pentru a modela mișcarea fluidelor sub influența câmpurilor electrice și a interacțiunilor cu particule încărcate electric, este nevoie de ecuații suplimentare care să țină cont de aceste aspecte, precum cele care descriu conceptele de electroosmoză și electroforeză, în cadrul electrocineticii [42] .

Reacțiile cinetice se referă la viteza și rata proceselor biochimice implicate în hibridizarea moleculelor de ADN pe suprafața biosenzorului. Acestea includ adsorbția, legarea și disocierea moleculelor de ADN, iar viteza reacțiilor este direct proporțională cu concentrația moleculelor de AND immobilizate și cu a celor din electrolit [38] ,[39] .

4.2. DESIGN-UL UNUI BIOSENZOR ADN INTEGRAT ÎNTR-UN DISPOZITIV MICROFLUIDIC

Dispozitivele Lab-On-Chip (Loc) reprezintă o soluție integrată care permite realizarea tuturor activităților unui laborator de analiză și diagnostic într-un singur dispozitiv miniaturizat.

În canalul microfluidic, curgerea este unidirecțională și laminară, asigurând mișcarea ordonată a moleculelor țintă. Lichidul este incompresibil, iar forța electroosmotică și mecanismele de difuzie și convecție sunt esențiale în mișcarea speciilor moleculare în microcanal, cu suprafața de reacție situată pe peretele inferior al acestuia, format din plăci paralele.

Într-un canal microfluidic sub influența unei diferențe de potențial, are loc interacțiunea dintre câmpul electric și sarcinile electrice ale particulelor din fluid. În apropierea peretelui canalului se formează un dublu strat electric datorită încărcărilor electrice din fluid. Acest fenomen creează un gradient de potențial la suprafața peretelui, contribuind la transportul electrocinetic al moleculelor încărcate în canalul microfluidic, Fig. 4.1.

Dublul strat electric dezvoltă un potențial de suprafață denumit potențial Zeta, care reprezintă tensiunea electrică dintre mediul de dispersie (lichidul în care sunt suspendate particulele) și stratul staționar al fluidului din imediata vecinătate a particulelor [37] . Conform studiilor, potențialul Zeta mediu are o valoare medie de 25 mV, pentru valori ale pH-ului între 3-11, [41] .

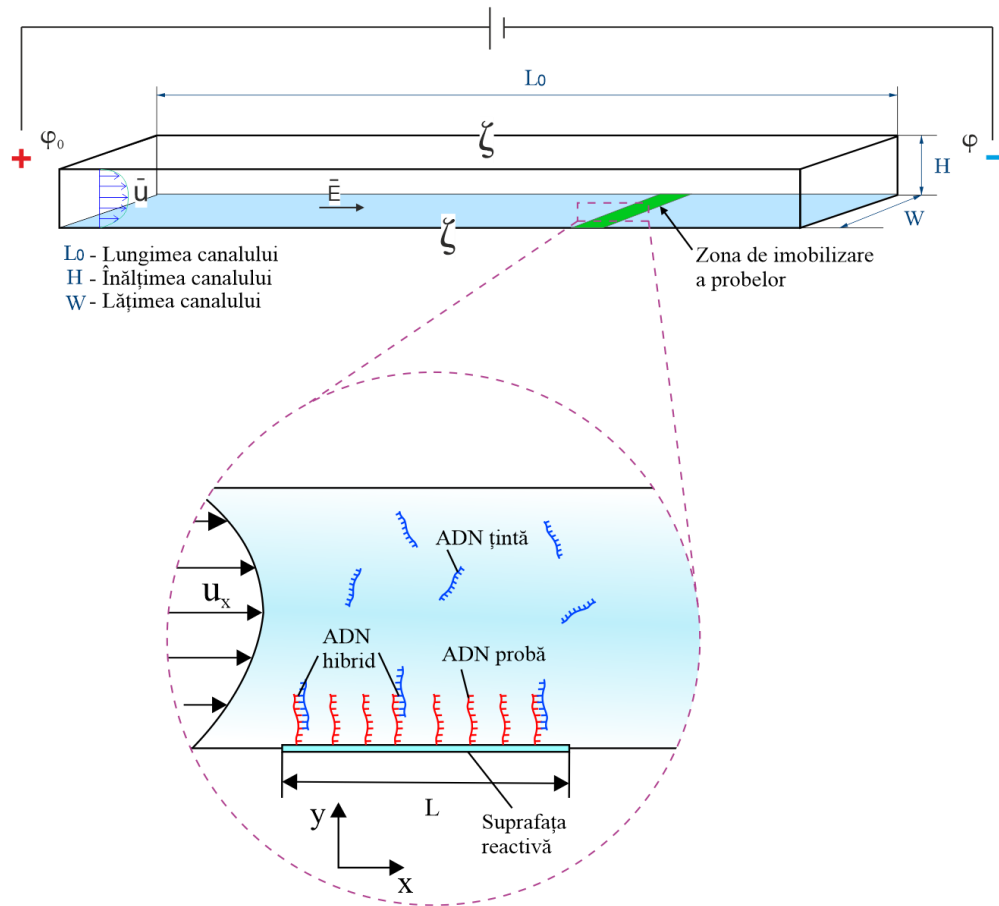


Fig. 4.1. Schema de principiu a unui microcanal fluidic [37]

Grosimea dublului strat electric, descrisă de lungimea Debye, poate varia de la o scală foarte mică (angstromi, care sunt unități de măsură pentru lungimi subatomice) până la o dimensiune ce se măsoară în zeci sau sute de nanometri (nanometrul reprezentând o miliardime dintr-un metru) [43]. Valoarea lungimii Debye poate fi cu mult mai mică în comparație cu dimensiunile microcanalelor. În acest studiu, înălțimea microcanalului variază între 25 și 50 de micrometri [45].

4.3. MODELAREA CURGERII UNUI FLUID ÎNTR-UN MICROCANAL CONTROLATĂ PRIN CÂMP ELECTRIC

4.3.1. Modelul fizic

Modelul fizico-matematic propus exprimă fenomene electrocinetice care apar în curgerea fluidelor conductoare, în special în cazul fluidelor heterogene care conțin particule de dimensiuni micrometrice sau în curgerea pe o suprafață plană sub influența unui câmp electric. Electroosmoza și electroforeza sunt două fenomene electrocinetice distincte, care apar în sistemele cu lichide la aplicarea unui câmp electric.

Mișcarea fluidului și a particulelor sub influența câmpului electric este descrisă în modelul fizico-matematic utilizând trei fenomene principale: curgerea fluidului, difuzia și electroosmoza. Un câmp electric static aplicat particulelor încărcate, precum cele dispersate într-un fluid, generează efecte semnificative asupra mișcării lor datorită forțelor electrice care depind de valoarea câmpului și de sarcina particulelor. Această legătură între migrația particulelor și difuzie constă în faptul că migrația particulelor poate influența gradientii de concentrație și, implicit, procesul de difuzie.

Problema curgerii fluidului într-un mediu microfluidic implică studiul mișcării fluidului într-un canal sau pe o suprafață sub influența unor forțe externe, cum ar fi presiunea sau gradientul de viteză. Problema electrostatică este asociată cu influența câmpului electric asupra particulelor încărcate prezente în fluid. Aceste probleme sunt interconectate și se influențează reciproc în cadrul modelului:

1. **În problema de electrostatică**, aplicarea unui câmp electric uniform, generează o curgere electroosmotică care determină o curgere a fluidului conductiv în direcția câmpului electric.

Se rezolvă ecuația Poisson pentru a determina distribuția sarcinilor electrice în fluid, având în vedere câmpul electric extern determinat de ecuația Laplace. Pe baza acestei distribuții și a potențialului electric, se calculează forțele masice de natură electrică [37].

2. **Problema curgerii fluidului** descrie transportul electrocinetic al speciilor încărcate.

Ecuatia de continuitate și ecuațiile Navier-Stokes pentru conservarea impulsului descriu curgerea laminară, incompresibilă și staționară a fluidului [37].

Difuzia este un fenomen fizic prin care particulele, moleculele sau ionii se deplasează de la o zonă cu concentrație ridicată la una cu concentrație mai scăzută conform gradientului de concentrație al soluției, conform legii lui Fick [42].

4.3.2. Modelul matematic

Pentru a analiza curgerea fluidului într-un microcanal, se utilizează o geometrie bidimensională, luându-se în considerare doar două dimensiuni spațiale în conformitate cu forma și condițiile fizice ale canalului (lungime, înălțime, materialul peretelui canalului, starea suprafeței acestuia) [37].

Modelul matematic al unui sistem electrocinetic implică stabilirea ecuațiilor care descriu atât *potențialul electric* φ , cât și *concentrațiile speciilor locale* c_i .

A. Câmpul electric extern

În curgerea electrocinetică, potențialul electric într-un microcanal este compus din două componente: unul generat de *câmpul electric extern*, φ , și altul, cauzat de *sarcinile electrice de lângă pereții canalului* ψ [37]:

$$\Phi = \varphi + \psi \quad (4.1)$$

Forța motrice care determină curgerea fluidului în microcanal, este rezultatul aplicării unui potențial electric extern φ , care este determinat de ecuația lui Laplace [37]:

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla \varphi) = 0 \quad (4.2)$$

Potențialul electrostatic în microcanal, poate fi calculat folosind ecuația de tip Poisson, care exprimă relația dintre potențialul electric φ și densitatea de sarcină electrică ρ_e :

$$\nabla \cdot (\varepsilon \nabla \psi) = \frac{\rho_e}{\varepsilon_0} \quad (4.3)$$

Constanta dielectrică ε , este permitivitatea electrică a electrolitului și poate varia în funcție de temperatură [37] :

$$\varepsilon = 305.7 \exp\left(-\frac{T}{219}\right) \quad (4.4)$$

Densitatea totală de sarcină, se calculează cu ecuația:

$$\rho_e = -2n_0 e z \sinh\left(\frac{e z \psi}{k_b T}\right) \quad (4.5)$$

Densitatea de ioni n_0 este exprimată în unități molare și este determinată de echilibrul dintre sarcinile pozitive și cele negative în sistemul electrocinetic [44] :

$$n_0 = \frac{\varepsilon k_b T}{8\pi e^2 z^2 \lambda^2} \quad (4.6)$$

Astfel, prin includerea acestor parametri în ecuația (4.5), putem obține o descriere mai detaliată a densității totale de sarcină electrică în sistemul electrocinetic, luând în considerare influența valenței particulelor, a temperaturii și a dimensiunilor geometrice ale dublului strat electric.

B. Curgerea în microcanal sub influența gradientului de presiune

Interacțiunea dintre densitatea netă de sarcină a dublului strat electric și câmpul electric extern aplicat generează o forță masică care determină curgerea electroosmotică în sistemul microfluidic.

- *Ecuația de conservarea masei* în sistemul considerat și poate fi scrisă ca:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) \rho = 0 \quad (4.7)$$

- *Ecuația Navier-Stokes* descrie conservarea impulsului și poate fi exprimată ca:

$$\rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = -\nabla p + \nabla \cdot (\eta \nabla \mathbf{u}) + \mathbf{f}_{el} \quad (4.8)$$

unde \mathbf{u} [m/s] este viteza fluidului în direcția curgerii în canal, ρ [kg/m³] este densitatea fluidului, η [Pa·s] este viscozitatea dinamică și \mathbf{f}_{el} [N/m³] este densitatea de forță masică, calculată astfel [38] ,[38] :

$$f_{el_x} = -\rho_e \frac{\partial \phi}{\partial x} \quad (4.9)$$

$$f_{el,x} = -\rho_e \frac{\partial \phi}{\partial y} \quad (4.10)$$

În cadrul modelului unui fluid newtonian, viscozitatea dinamică η a fluidului depinde de temperatură în conformitate cu relația [37] :

$$\eta = 2.761 \times 10^{-6} \exp\left(\frac{1713}{T}\right) \quad (4.11)$$

În această analiză, viscozitatea dinamică η este considerată o constantă, iar temperatura este fixată la o valoare specifică de 300K. Pentru a modela componentele forței masice de natură electrică, se iau în considerare condițiile la frontieră, care includ contribuția câmpului electric extern și potențialul zeta [37] :

$$\mathbf{u} = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r \zeta_0}{\eta} \nabla \varphi \quad (4.12)$$

ζ_0 reprezintă potențialul Zeta la peretele canalului, ε_0 reprezintă permitivitatea electrică a vidului, iar ε_r este permitivitatea electrică a electrolitului care poate fi exprimată în funcție de temperatură utilizând relația:

$$\varepsilon_r = 305.7 \exp\left(-\frac{T}{219}\right) \quad (4.13)$$

4.3.3. Modelarea numerică

În cadrul acestei lucrări, analiza detaliată a fenomenelor care apar la interfața perete canal – electrolit este realizată prin utilizarea software-ului Comsol Multiphysics 5.6 [47] .

În particular, metodele cu elemente finite bazate pe ecuațiile (4.2), (4.7), (4.8) și (4.11) - (4.13) sunt aplicate pentru modelarea și simularea detaliată a comportamentului fluidelor în cadrul canalului și interacțiunii acestora cu electrolitul, furnizând informații esențiale despre vitezele și profilurile de presiune, distribuția de sarcini electrice și alte caracteristici relevante ale sistemului.

Rețeaua de discretizare a fost realizată cu aproximativ 250.000 de elemente pătratică Lagrange [37] . Se impun următoarele condiții inițiale la momentul inițial ($t = 0$): viteza în direcția x este $\mathbf{u} = 0$, viteza în direcția y este $\mathbf{v} = 0$, temperatura este $T = T_\infty$ și concentrația inițială a moleculelor AND este $c_i = 0$.

Problema câmpului electric extern dată prin relația (4.2) care exprimă ecuația Laplace, împreună cu condițiile pe frontieră menționate în tabelul 4.1, respectiv potențial electric constant la intrarea în microcanal, potențial electric 0[V] la ieșirea din microcanal și izolație electrică pe peretele de sus și de jos al microcanalului, permite obținerea unei soluții analitice, în care potențialul electric este $\phi(x) = \frac{\phi_0}{L}$.

O stabilizare rapidă a sistemului permite realizarea rapidă și precisă a reacțiilor biochimice și ghidarea adecvată a particulelor către zonele de detecție [46] .

Tabelul 4.1 este utilizat pentru a stabili condițiile de frontieră, acesta prezentând următoarele condiții:

Tabelul 4.1. Condiții pe frontieră [38]

Nr.		Intrare ($x=0$)	Ieșire ($x=L_0$)	Peretele de jos ($y=0$)	Peretele de sus ($y=2H$)
1	Probl. câmpului electric extern (ec. 4.2)	$\varphi = \varphi_0$	$\varphi = 0$	$\frac{\partial \varphi}{\partial y} = 0$	$\frac{\partial \varphi}{\partial y} = 0$
2	Probl. câmpului electric Poisson-Boltzmann (ec. 4.3)	$\psi = 0$	$\frac{\partial \psi}{\partial x} = 0$	$\psi = \zeta$ (potențial zeta)	$\psi = \zeta$ (potențial zeta)
3	Probl. de curgere (ec. 4.7, 4.8)	$\mathbf{u} = \mathbf{u}_{in}$ $\mathbf{v}=0$	$\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial x} = 0$ $\mathbf{v}=0$	$\mathbf{u}=0$ $\mathbf{v}=0$	$\mathbf{u}=0$ $\mathbf{v}=0$

Rezolvarea problemelor specifice, cum ar fi ecuația Poisson-Boltzmann pentru dublul strat electric (ec. (4.2), (4.3)) și analiza curgerii fluidului (ec. (4.7), (4.8)) în cadrul sistemului, reprezintă un pas important în formularea și validarea modelului matematic al dispozitivelor microfluidice.

4.4. MODELAREA TRANSFERULUI DE MASĂ

A. Curgerea electroosmotică în microcanal

Curgerea electrocinetică într-un microcanal, care se bazează pe teoria dublului strat electric și este investigată simultan cu curgerea sub gradient de presiune, poate fi eficient calculată prin soluționarea ecuațiilor Navier-Stokes și Poisson-Boltzmann pentru distribuția potențialului la suprafața canalului. Această abordare modelează o curgere care combină efectul electrocinetic cu cel sub gradient de presiune sub influența forțelor masice de natură electrică [37].

Conservarea energiei este descrisă de ecuația [46] :

$$\rho C_p \left[\frac{\partial}{\partial t} T + (\nabla \cdot \mathbf{u}) T \right] = \nabla \cdot (k \nabla T) + \varphi + \dot{q}. \quad (4.14)$$

În ecuația (4.14.) k reprezintă conductivitatea termică a electrolitului, care poate fi scrisă în funcție de temperatură astfel [38] :

$$k(T) = 0.6 + 2.5 \times 10^{-5} T. \quad (4.15)$$

Căldura generată ca urmare a disipării energiei electrice într-un mediu conductor poate fi scrisă ca [46] :

$$\dot{q} = \mathbf{J}^2 / \sigma. \quad (4.16)$$

unde, \mathbf{J} [A/m^2] reprezintă densitatea totală a curentului electric.

B. Transferul de masă

Ecuția conservării speciilor, arată că acestea vor realiza hibridizarea pe suprafața patch-ului, conform relațiilor (4.2)-(4.5), [46] :

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} + (\nabla \cdot \mathbf{u})c_i = \nabla \cdot (D_n \mathbf{J}_m) + \mu_{os} z_i F \nabla \cdot (c_i \nabla \phi) + R_i. \quad (4.17)$$

Termenul sursă R_i este suma ratei de reacție R_3 și R_2 . Acești termeni vor fi convertiți în condiții pe frontieră. R_3 și R_2 reprezintă derivatele temporale ale concentrațiilor specifice, $c_{2,s}$ [mol] și nespecifice, $c_{2,ns}$ [mol] ale moleculelor țintă adsorbite pe suprafața patch-ului. Aproximarea lui $c_{2,s}$ poate fi realizată folosind aproximația liniară din seria Taylor [38] :

$$c_{2,s} = \frac{P}{Q} (1 - e^{-Qt}). \quad (4.18)$$

unde coeficienții P și Q sunt calculați cu ajutorul parametrilor $k_3^1, k_3^{-1}, k_2^1, k_2^{-1}$ din tabelul 4.2 și al relațiilor:

$$P = k_3^1 c_{3,m} \cdot c_{2,s,max} + k_2^1 c_{2,ns} \cdot c_{2,s,max}. \quad (4.19)$$

$$Q = k_3^1 c_{3,m} + k_3^{-1} + k_2^1 c_{2,ns} + k_2^{-1}. \quad (4.20)$$

Tabelul 4.2. Constantele cinetice folosite în simulările numerice [46]

Mărime [unitate de măsură]	Simbol	Valoare
Constanta de asociere cinetică pentru hibridizarea directă [1/M·s]	k_3^1	$1 \cdot 10^6$
Constanta de disociere cinetică pentru hibridizarea directă [1/s]	k_3^{-1}	0.49
Constanta de asociere cinetică pentru hibridizarea indirectă a țintelor adsorbite non-specific [1/M·s]	k_2^1	$1 \cdot 10^6$
Constanta de disociere cinetică pentru hibridizarea indirectă a țintelor adsorbite non-specific [1/s]	k_2^{-1}	0.51
Concentrația maximă a eșantioanelor imobilizate pe suprafața patch-ului [mol/m ²]	$c_{2,s,max}$	$2.0 \cdot 10^{-7}$
Concentrația maximă a moleculelor adsorbite non-specific pe suprafața patch-ului [mol/m ²]	$c_{2,ns,max}$	$1.98 \cdot 10^{-7}$
Constanta de asociere cinetică pentru hibridizarea directă [1/M·s]	k_3^1	$1 \cdot 10^6$
Constanta de disociere cinetică pentru hibridizarea directă [1/s]	k_3^{-1}	0.49

4.5. EXPERIMENTE NUMERICE

Ecuțiile Navier-Stokes și Poisson descriu curgerea incompresibilă sub gradient de presiune și influența sarcinii statice de pe pereții microcanalului, calculată prin ecuația Poisson-Boltzmann. Figura 4.2 ilustrează câmpul de curgere într-un canal cu fluid curgând de la *stânga la dreapta*, sub influența unui câmp electric de 200 V și unei diferențe de presiune de 1000 Pa. Liniile de curgere evidențiază direcția curgerii fluidului și modul în care acesta reacționează la combinația câmpului electric și gradientului de presiune [46] .

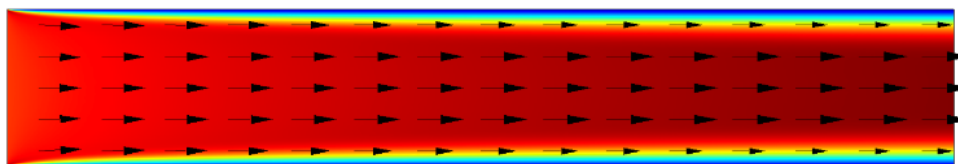


Fig. 4.2. Curgerea în canal pentru $H/L = (5 \cdot 10^{-4} \text{ m}) / (3 \cdot 10^{-3} \text{ m})$, $\Delta p = 1000 \text{ Pa}$ (de la stânga la dreapta), $V = 200 \text{ V}$ (de la stânga la dreapta) [37].

Figura 4.3 prezintă profilul de curgere din canal sub diferite căderi de presiune, menținând celelalte condiții neschimbate. Se observă că profilul de curgere în canal respectă modelul Hagen-Poiseuille [38], care descrie curgerea laminară a unui fluid într-un canal. Profilul de viteză este prezentat la 2.5 mm în interiorul canalului de curgere. Aici, profilul de viteză este stabil și bine definit, cu un factor de formă (AR) de 0.12, indicând o distribuție uniformă a vitezelor în canal, fără variații semnificative ale acestora.

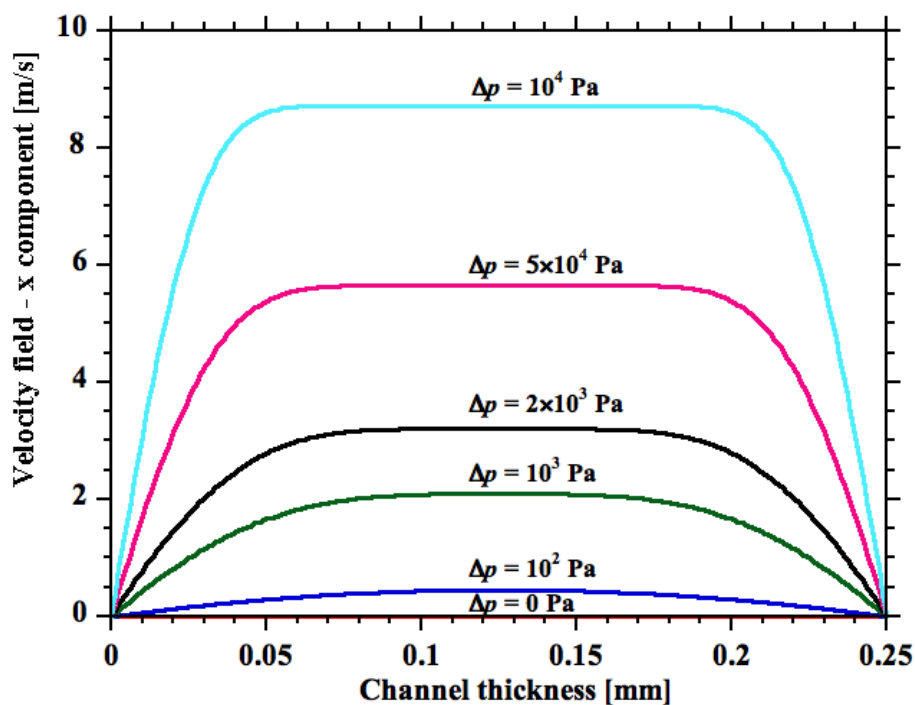


Fig. 4.3. Profilul de viteze pentru creșterea Δp la $x = 2.5 \text{ mm}$ (de-a lungul curentului), în regiunea formată complet, $AR = 0.12$ [37]

În figura 4.4, se prezintă profilurile de viteză în același canal, considerând două influențe simultane: diferența de presiune de la dreapta la stânga și direcția neschimbată a câmpului electric de la stânga la dreapta. Acesta oferă o comparație a modului în care acești doi factori influențează distribuția vitezelor în canal.

În acest caz, direcția curgerii fluidului s-a inversat față de primul caz, datorită diferenței de presiune care acționează în direcția dreapta-stânga, generând o mișcare a fluidului de la dreapta la stânga. Astfel, atât câmpul electric, cât și diferența de presiune contribuie la curgerea fluidului în direcția opusă.

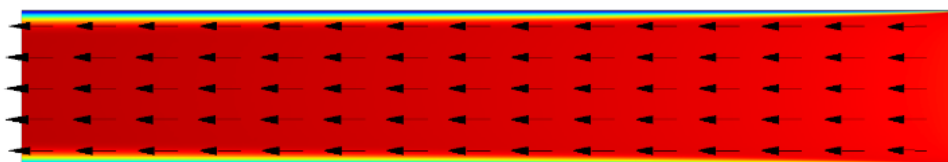


Fig. 4.4. Curgerea pentru $H/L = (5 \cdot 10^{-4} \text{ m}) / (3 \cdot 10^{-3} \text{ m})$,
 $\Delta p = 1000 \text{ Pa}$ (de la dreapta la stânga), $V = 200 \text{ V}$ (de la stânga la dreapta) [37]

În Fig. 4.5, sunt examinate profilele de viteză în același canal, în condițiile în care diferite diferențe de presiune acționează de la *dreapta spre stânga*, în timp ce direcția câmpului electric rămâne tot de la *stânga spre dreapta*.

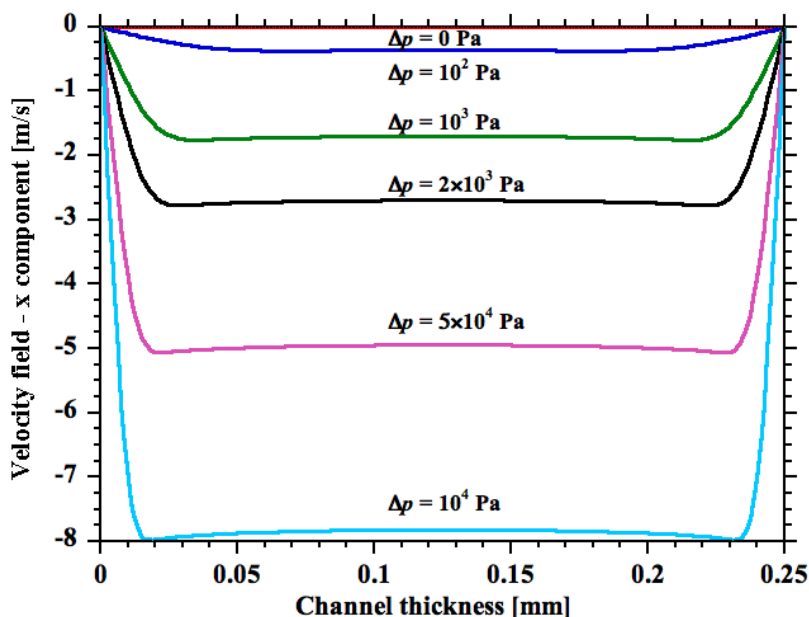


Fig. 4.5. Profilele de viteză pentru creșterea Δp la $x = 2.5 \text{ mm}$ (de-a lungul curentului),
 în regiunea complet formată pentru $AR = 0.04$;
 $V = 150 \dots 200 \text{ V}$ (stânga la dreapta) [37].

Comparând harta de culoare din Fig. 4.4, care arată curgerea de la *dreapta la stânga* și menține direcția câmpului electric de la *stânga la dreapta*, cu harta de culoare din Fig. 4.2, care indică curgerea de la *stânga la dreapta*, observăm o inversare generală a direcției curgerii fluidului în cele două cazuri. Cu toate acestea, *direcția câmpului electric rămâne constantă*, de la *stânga la dreapta*, în ambele situații [37].

Rezultatele numerice au confirmat concordanța cu datele din literatură, de ex. [44] și au relevat importanța regiunilor adiacente pereților în curgerea electroosmotică. Profilurile de viteză au fost conforme cu teoria Hagen-Poiseuille în canale, iar presiunile și vitezele au fost similare cu datele experimentale.

Concentrațiile celor două tipuri de hibridizare, specifică și nespecifică, se stabilizează în timp datorită atingerii unui echilibru între procesele de asociere și disociere, unde ratele acestor procese se egalează treptat. Acest echilibru duce la stabilizarea concentrațiilor, indicând că sistemul

a ajuns la un punct de echilibru [46]. Hibridizarea specifică și nespecifică a fost analizată prin studiul cinetic [38], în special în contextul "epuizării" moleculelor țintă la nivelul suprafeței patch-ului. Cele două mecanisme de hibridizare, specifică și nespecifică, sunt evidențiate în Figura 4.6 la suprafața patch-ului [46].

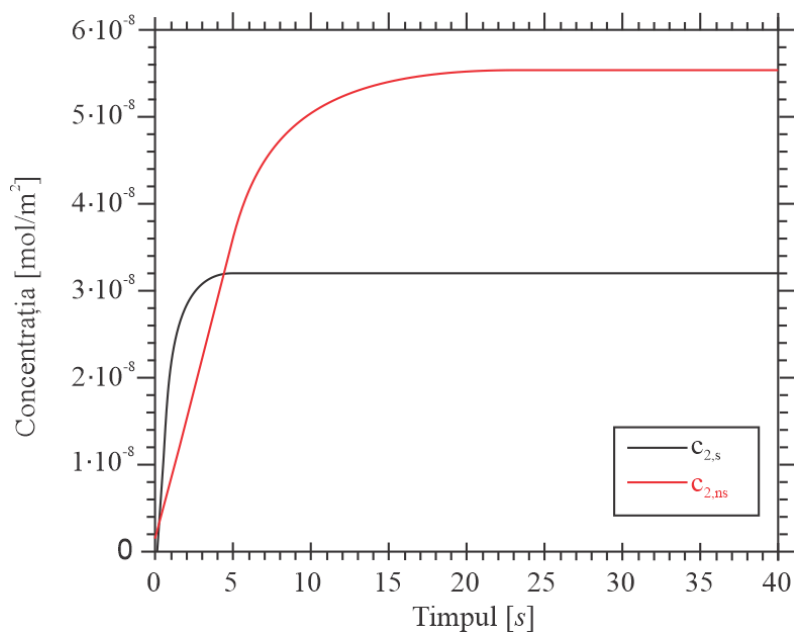


Fig. 4.6. Concentrațiile specifice și nespecifice ale moleculelor țintă adsorbite la suprafața patch-ului [46] .

4.6. CONCLUZII REZULTATE ÎN URMA SIMULĂRILOR

Lucrarea aduce contribuții semnificative în studiul hibridizării ADN-ului într-un microcanal și al controlului acestui proces prin intermediul unui câmp electric aplicat și a debitului fluidului de lucru. Studiul efectuat explorează influența acestor factori asupra eficienței procesului de hibridizare a ADN-ului.

Simulările numerice au dezvăluit detalii importante despre comportamentul fluidelor în dispozitivele de laborator pe chip sub influența gradientului de presiune și câmpului electric. Hibridizarea se produce eficient și rapid, iar concentrațiile se stabilizează rapid, ceea ce indică un proces favorabil în sistemul microfluidic.

CAPITOLUL 5 - CARACTERIZAREA PROPRIETĂȚILOR ELECTRICE ALE ELECTROZILOR IMPRIMAȚI 3D: CONTRIBUȚII ÎN DEZVOLTAREA BIOSENZORILOR ELECTROCHIMICI

5.1. PROIECTAREA ȘI FABRICAȚIA ELECTROZILOR IMPRIMAȚI 3D

Biosenzorii electrochimici sunt instrumente avansate pentru detectarea și monitorizarea analiților cu importanță biologică sau de mediu. În ultimii ani, biosenzorii au câștigat o importanță tot mai mare în domeniul diagnosticului clinic, fiind folosiți în special pentru detectarea bolilor infecțioase și monitorizarea sănătății [48].

Fabricarea electrozilor se bazează tradițional pe tehnici convenționale precum serigrafia și fotolitografia, care implică o muncă laborioasă, necesită procesare într-un mediu controlat în care se menține un nivel ridicat de curățenie și puritate și implică mai multe etape utilizând materiale toxice [50].

În imprimarea 3D a electrozilor, sunt utilizate mai multe tehnici specifice pentru realizarea electrozilor, precum: imprimarea pe bază de extrudare, imprimarea pe bază de jet de cerneală, imprimarea asistată de laser [58].

5.1.1. Proiectarea geometriei electrozilor

Dezvoltarea tehnologiilor de imprimare 3D a permis crearea de electrozi cu geometrii personalizate și performanțe îmbunătățite, amplificând astfel capacitatea de detecție și precizia analitică a biosenzorilor [56].

Electrozii cu un perimetru mai mare prezintă o creștere semnificativă a zonei de interacțiune cu analiții, ceea ce mărește șansele de capturare a unui număr mai mare de molecule într-un interval scurt de timp, de exemplu, biosenzorii utilizați pentru detectarea rapidă a infecțiilor bacteriene în probele de sânge. Aceasta se datorează câmpului electric generat de electrozi, care se extinde în proximitatea perimetrului și influențează zona înconjurătoare.

Sunt realizate diverse configurații ale electrozilor de lucru, care includ o gamă variată de forme, geometrii și dimensiuni diferite: forma circulară, forma pătrată, forma de angrenaj, forma stelată, forma S, forma Fibonacci [57].

5.1.2. Metoda de fabricație

Se pot utiliza mai multe tehnici de imprimare 3D pentru electrozi și anume, imprimarea pe bază de extrudare, imprimarea pe bază de jet de cerneală și imprimarea asistată de laser [58]. Procesul de fabricație utilizat pentru realizarea electrozilor este prezentat în [59].

a. Substratul

Pentru fabricarea electrozilor, s-a utilizat o folie adezivă de poliamidă (Kapton®) [59] cu o grosime de 50 μm. Pentru a asigura aplicarea foliei de Kapton fără bule de aer sau cute, este necesar să se utilizeze o suprafață plană și uniformă ca suport solid [60].

b. Cerneala pe bază de carbon

Cerneala pe bază de carbon este un excelent conductor electric, menține forma și aderența în imprimarea 3D, și este biocompatibilă, fiind potrivită pentru utilizare în contact cu organismul fără riscul de reacții adverse [60].

c. Parametrii de printare

Presiunea de extrudare (p) determină forța aplicată asupra materialului în timpul procesului de extrudare. *Viteza de imprimare a capului* se referă la viteza cu care se deplasează capul de imprimare în timpul procesului de depunere a materialului. *Înălțimea stratului* se referă la grosimea fiecărui strat imprimat în cadrul procesului de extrudare.

d. Crearea fișierului G-code

Procesul de proiectare a configurațiilor electrozilor se realizează prin intermediul unui software de proiectare asistată de calculator (CAD), cu ajutorul căruia sunt generate modele 3D ale acestora.

e. Post-procesare

Pentru a îmbunătăți conductivitatea și stabilitatea electrozilor imprimați, se aplică un tratament termic uniform la 140°C timp de 30 de minute, eliminând umezeala și consolidând materialul, îmbunătățind totodată proprietățile conductoare.

f. Funcționalizarea suprafeței electrozilor. Imobilizarea anticorpilor

Receptorii biologici pot fi imobilizați pe suprafața traductorului folosind diverse proceduri, inclusiv imobilizarea în spatele unei membrane permeabile pentru analit, într-o matrice polimerică, în monostraturi sau membrane lipidice, adsorbție directă, legare covalentă sau legare încrucișată [62].

5.2. CARACTERIZAREA PARAMETRILOR ELECTRICI CU AJUTORUL SPECTROSCOPIEI DE IMPEDANȚĂ ELECTRICĂ

5.2.1. Setarea aparaturii

Un potențostat este un dispozitiv utilizat în electrochimie pentru a controla și monitoriza procesele electrochimice care au loc pe suprafața electrozilor. Acesta permite aplicarea unui potențial controlat între electrozi și măsurarea curentului rezultat în timpul reacțiilor electrochimice.

În cadrul experimentului, s-au testat șase variante diferite de electrozi imprimați, așa cum sunt prezentate în Figura 5.1. Scopul acestui experiment a constat în determinarea parametrilor electrice optimi pentru fiecare configurație de electrod. Realizarea traseelor electrice și a suprafeței electrozilor s-a realizat utilizând o cerneală pe bază de carbon, caracterizată de o bună conductivitate electrică ce asigură un transfer eficient al curentului electric între electrozi.

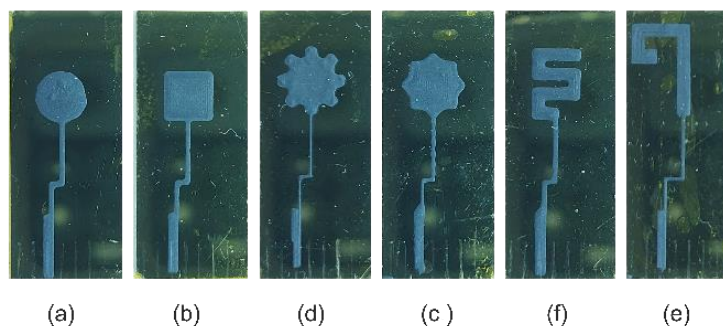


Fig. 5.1. Configurații ale electrozilor de lucru: a) Cerc; b) Pătrat; c) Roată dințată; d) Stea; e) Formă “S”; f) Fibonacci [54] .

Figura 5.2 prezintă o configurație cu 3 electrozi utilizată în cadrul experimentului: un electrod de lucru (WE) imprimat în 3D, un electrod de referință standard (RE) Metrohm LL-Ag/AgCl și un electrod auxiliar (CE) fabricat dintr-o foiță subțire de platină. Această configurație permite controlul și măsurarea precisă a potențialului electrodului de lucru în raport cu electrodul de referință, în timp ce electrodul auxiliar furnizează în mod constant electroni pentru susținerea reacției electrochimice.



Fig. 5.2. Suport pentru celula cu 3 electrozi: a) Electrod (WE) imprimat 3D; b) Soluție redox; c) Electrod auxiliar/counter (CE); d) Electrod de referință (RE) [54] .

5.2.2. Condiții experimentale pentru caracterizarea electrozilor imprimați 3D

Experimentele s-au desfășurat pe electrozi de lucru imprimați 3D, plasați într-un electrolit conținând ferocianură de potasiu ($K_4[Fe(CN)_6]$). Acest compus a servit drept analit, permitând desfășurarea reacțiilor electrochimice la suprafața electrozilor și generând un curent electric măsurabil în acest mediu electrochimic.

Atunci când se evaluează comportamentul electrochimic al unui sistem într-un anumit mediu reactiv, temperatura are un rol important, deoarece proprietățile electrochimice pot varia odată cu ea [54] .

5.2.3. Măsuratori electrice

Voltametria ciclică furnizează informații despre comportamentul electrozilor în funcție de potențialul aplicat, inclusiv potențialele de oxidare și reducere, viteza de transfer de electroni și caracteristicile suprafeței. Spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS) măsoară răspunsul electrochimic la diferite frecvențe [54].

Parametrii mășurați în spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS) includ mărimea și faza impedanței, care reflectă caracterul rezistiv sau capacitiv al sistemului electrochimic. De asemenea, se pot determina și componentele reale și imaginare ale impedanței, care indică proprietăți specifice ale interfeței electrod-electrolit, cum ar fi rezistența de transfer de sarcină, capacitatea dublului strat și impedanța Warburg, care reflectă difuzia ionilor în soluție.

Impedanța Warburg este un element de circuit asociat cu procesul de difuzie a speciilor electroactive și deplasarea acestora către suprafața unui electrod [66].

5.3. REZULTATE EXPERIMENTALE

Spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS) a fost utilizată pentru a examina influența geometriei electrozilor de lucru asupra performanței biosenzorilor cu trei electrozi.

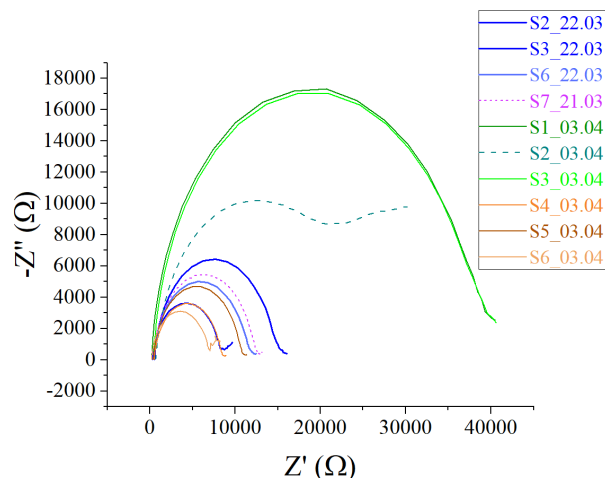


Fig. 5.3. Reprezentarea graficului Nyquist pentru răspunsul de impedanță - Tabelul 5.1

Experimentele au acoperit un interval de frecvențe de la 0,1 Hz la 100 kHz, iar datele electrochimice au fost înregistrate prin intermediul unei conexiuni între electrodul de lucru, electrolit și un potențiostat. Răspunsul impedanței a fost investigat utilizând ferocianura de potasiu ca electrolit. S-au testat șase suprafețe active diferite ale electrozilor de lucru pentru a analiza efectul variației ariei active a acestora. Răspunsul impedanței a fost analizat prin intermediul unui grafic Nyquist, prezentat în Fig. 5.3. Graficul relevă competiția dintre procesele de difuzie la suprafață și în volum, cuplate cu procesele de transfer de sarcină electrică [61, 64].

Unghiul de fază este diferența de fază între două semnale sau forme de undă. Acesta poate fi exprimat în grade sau în radiani și reflectă diferența de fază a unui semnal sau a unei forme de undă în comparație cu un semnal sau o formă de undă de referință. În cazul biosenzorilor

electrochimici, unghiul de fază poate indica schimbări în interacțiunile dintre analit și bioreceptorul imobilizat pe suprafața electrozilor [67] .

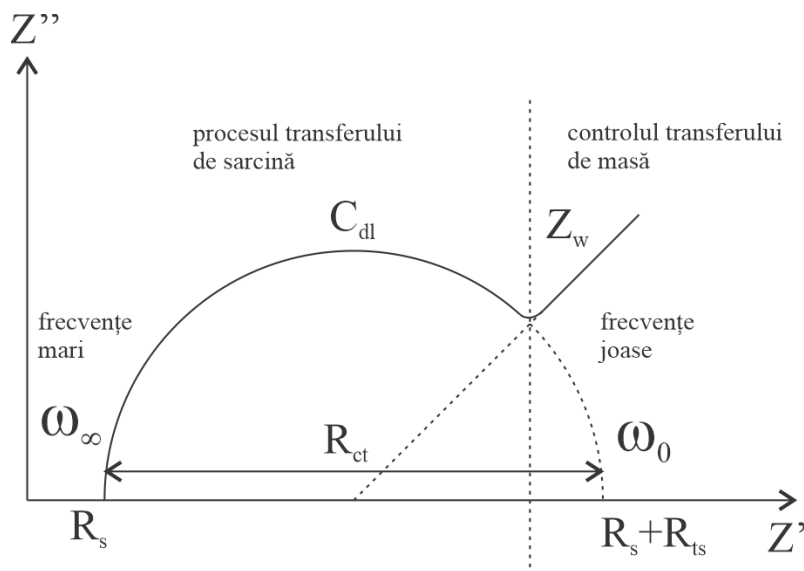


Fig. 5.4. Reprezentarea diagramei Nyquist

În cadrul fiecărei configurații, s-au determinat parametrii electrochimici. Rezistența de transfer de sarcină (R_{ct}) rezultă din transferul de electroni între electrod și soluție. Rezistența transferului de sarcină, reprezentată în diagrama Nyquist din fig. 5.4., reprezentată de diametrul semicercului, apare în zona de frecvențe joase fiind folosită pentru a evalua eficiența procesului de transfer al electronilor la interfața electrod– electrolit [67] .

Elementele de fază constantă (CPEs) sunt modele matematice utilizate pentru a descrie comportamentul neideal al suprafeței electrozilor în electrochimie. Acestea sunt reprezentate prin termenii Q și n , unde Q este constanta de fază și n este exponentul de fază.

Impedanța elementului de fază constantă Z_{CPE} , este dată de ecuația [65] :

$$Q = Z_{CPE(\omega)} = [C(j\omega)^n]^{-1} \quad (5.1.)$$

Unde j este un număr imaginar și ω [$\text{rad}\cdot\text{s}^{-1}$] este frecvența unghiulară.

Rezistența de polarizare, R_p reprezintă opoziția sistemului electrochimic la variația de tensiune, reflectând cât de eficient răspunde sistemul la aceste schimbări.

Impedanța imaginara maximă (Z''_{max}) este o componentă importantă a impedanței electrochimice, care indică punctul în care capacitățile de stocare a energiei sunt maxime la o anumită frecvență.

Capacitatea dublului strat electric, C_{dl} , reprezintă capacitatea de stocare a sarcinii electrice la intefața dintre electrod și electrolit [67] .

Tabelul 5.1 Proprietățile electrice ale electrozilor de lucru

	φ_{max}	Z''_{max} [Ω]	R_{ct} [Ω]	R_p [Ω]	C_{dl} [mF]	Y_0 [CPE]	N
S1_03.04 Cerc	77.48	17308	20660	40474	3.07	1.51E-06	0.94
S3_03.04 Cerc	73.65	17035	17279	40600	2.91	1.51E-06	0.94

S2_03.04 Cerc	64.30	10189	11933	20722	6.69	3.61E-06	0.91
S2_22.03 Fibonacci	63.62	6434	7677	15451	2.61	1.40E-06	0.94
S7_21.03 RoatăDințată	64.68	5460	6453	13020	1.96	1.04E-06	0.95
S5_03.04 Pătrat	62.90	4670	6027	11187	1.67	8.77E-07	0.95
S6_22.03 Stea	63.06	5014	5658	12400	2.81	1.53E-06	0.94
S3_22.03 Formă-S	63.88	3609	4434	8457	1.80	9.57E-07	0.93
S4_03.04 Pătrat	57.52	3573	4014	8760	1.58	9.13E-07	0.95
S6_03.04 Pătrat	65.13	3118	3579	7056	1.77	9.50E-07	0.96

Pe baza datelor obținute din reprezentarea graficului Nyquist, este creat un model de circuit echivalent pentru un biosenzor, conform Figurii 5.5 [54].

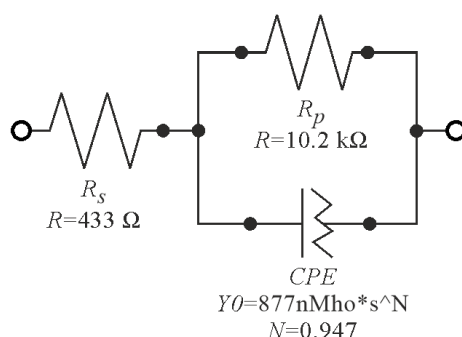


Fig. 5.5. Circuitul Randles pentru electrozii S5_03.04.2023 [54]

Relația dintre intensitatea curentului și tensiunea aplicată celor 10 electrozi de lucru testați este ilustrată în fig. 5.6, într-un grafic de voltametrie ciclică. Se poate observa că în voltamograma ciclică apar atât vârfuri de oxidare, cât și de reducere.

Diferența de fază (φ), admitanța elementului de fază constantă Y_{CPE} și numărul N sunt mărimi care reflectă comportamentul electrochimic al sistemului (prezentate în tabelul 5.1.) și sunt influențate de modificările parametrilor sistemului. Au fost efectuate măsurători de voltametrie ciclică (CV) utilizând o gamă de potențiale de la -0,4 V la 0,4 V și o viteză de scanare de 100 mV/s.

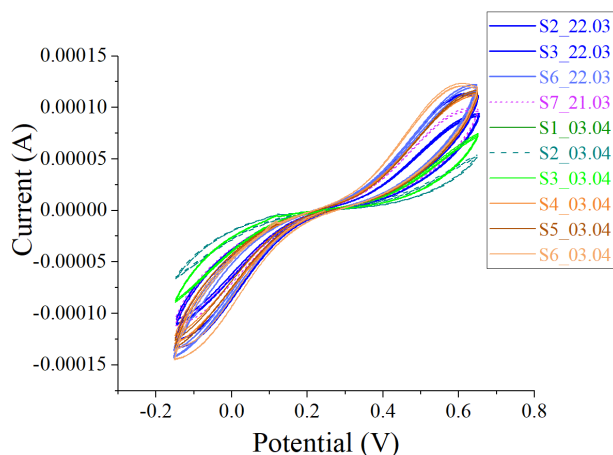


Fig. 5.6. Graficul de voltametrie ciclică pentru senzorii enumerați în Tabelul 5.2 [54].

Conform rezultatelor experimentale, electrozii cu formă circulară au înregistrat cele mai mari valori ale rezistenței de transfer de sarcină R_{ct} , conform Figurii 5.7, ceea ce indică un transfer mai lent al sarcinii în comparație cu electrozii cu formă pătrată, care au prezentat cele mai mici valori ale R_{ct} .

Această încetinire a transferului de sarcină poate afecta capacitatea de detectare și răspunsul la variații ale unor proprietăți specifice precum temperatura, concentrația analitului și pH-ul soluției electrolitice. Pentru detectarea în astfel de condiții, pot fi necesare potențiale mai mari sau timpi de măsurare mai lungi.

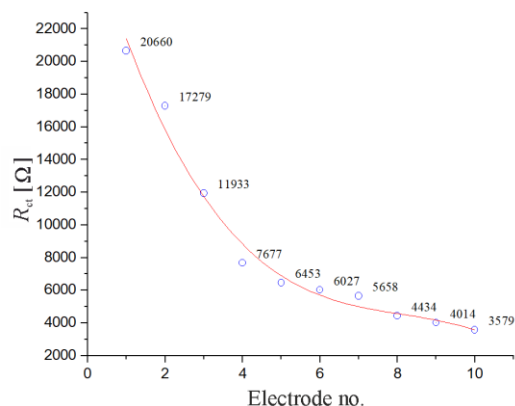


Fig. 5.7. Graficul variației R_{ct} pentru senzorii enumerați în Tabelul 5.1 [54] .

Măsurătorile de voltametrie ciclică generează vârfuri distincte în graficul curentului înregistrat, reprezentând procese electrochimice specifice precum oxidarea și reducerea speciilor chimice la electrozi. Înălțimea vârfului reprezintă valoarea maximă a curentului înregistrat în timpul reacțiilor electrochimice, reflectând astfel intensitatea și importanța acestor procese [65] .

Analiza datelor din Tabelul 5.2 indică faptul că geometriile cu perimetru mai mare prezintă o rezistență de transfer de sarcină mai mică și un curent maxim mai mare în comparație cu cele cu un perimetru mai mic. Aceasta sugerează că perimetrul este un factor esențial în determinarea performanței electrochimice a sistemului.

Tabelul 5.2 Suprafața, perimetrul și curentul maxim al electrozilor de lucru în funcție de geometrie

Denumire electrod	Aria [mm^2]	Perimetrul [mm]	Vârful i_a [A]
S6_22.03_Stea	18.7	18.746	4.3347E-05
S3_22.03_Formă-S	10.5	36.4	3.8249E-05
S2_22.03_Fibb	12.8	33.8	3.5004E-05
S5_03.04_Pătrat	16	16	3.4988E-05
S4_03.04_Pătrat	16	16	3.4847E-05
S7_21.03_RoatăDințată	16.4	25.462	3.4625E-05
S6_03.01_Pătrat	16	16	2.5894E-05
S3_03.04_Cerc	12.5	12.566	5.6728E-06
S1_03.04_Cerc	12.5	12.566	5.5674E-06
S2_03.04_Cerc	12.5	12.566	4.2851E-06

5.4. CONCLUZII

Acest studiu se concentrează pe caracterizarea proprietăților electrice ale biosenzorilor imprimați 3D, cu accent pe diverse configurații ale electrozilor de lucru. Folosind tehnici precum spectroscopia de impedanță electrică și voltametria ciclică, am investigat influența caracteristicilor geometrice asupra performanței electrochimice a acestor electrozi. Simplificând procesul de fabricație prin imprimarea doar a electrozilor de lucru și a traseelor electrice asociate, am redus costurile și am utilizat resursele mai eficient. Electrozii de lucru sunt responsabili de reacțiile electrochimice și generarea curentului electric în cadrul proceselor electrochimice, în timp ce traseele electrice asigură conexiunea între electrozi și potențostat.

Forma electrozilor are un impact semnificativ asupra distribuției câmpului electric și a interacțiunii cu analitul. Forme complexe, cum ar fi roata dințată sau forma Fibonacci, pot crea distribuții neuniforme ale câmpului electric, în timp ce forme simple, cum ar fi cercurile sau pătratele, favorizează o distribuție uniformă. Aceste diferențe în distribuția câmpului electric pot influența modul în care analitul interacționează cu suprafața electrozilor, având un impact asupra eficienței detecției analitului.

Procesul de imprimare 3D introduce variații în porozitatea și compoziția electrozilor. Densitatea pastei de carbon, grosimea stratului activ, uniformitatea depunerii pastei și metoda de fixare a electrozilor au un impact asupra răspunsului electrochimic. Erorile de măsurare pot apărea din mai multe motive, iar recunoașterea și luarea în considerare a acestor surse de eroare în cadrul experimentului sunt importante pentru obținerea unei înțelegeri cuprinzătoare a rezultatelor [54].

În concluzie, designul electrozilor cu formă pătrată prezintă avantaje evidente în ceea ce privește performanța electrochimică, în special valoarea rezistenței de transfer de sarcină (R_{ct}). Electrozii cu formă pătrată oferă un transfer de sarcină mai eficient între electrozi și soluția analitului, ceea ce îmbunătățește performanța biosenzorilor.

CAPITOLUL 6 - CONCLUZII ȘI PERSPECTIVE

6.1. CONCLUZII

În ultimii ani, conceptul de laborator-pe-chip, inițial dezvoltat în mediul academic, a cunoscut o evoluție remarcabilă și a fost implementat cu succes în produse comerciale.

Această teză se concentrează pe analiza modului în care metodele electromagnetice avansate sunt aplicate în cercetarea proceselor biomedicale, cu o atenție specială acordată dezvoltării biosenzorilor electromagnetici utilizați pentru detectarea particulelor biochimice. Scopul principal al tezei a constat în studiul interacțiunilor câmpului electromagnetic cu mediul biologic, pentru detecția și analiza proprietăților particulelor biochimice.

Cercetarea s-a orientat pe două domenii principale de analiză: modelarea efectelor aplicării unui câmp electric asupra modului de curgere a fluidelor în structurile microfluidice și proiectarea și fabricarea unor electrozi folosiți în construcția biosenzorilor electrochimici.

Modelarea interacțiunilor dintre câmpurile electromagnetice și comportamentul fluidelor în structurile microfluidice a dezvăluit fenomene complexe și interacțiuni subtile care sunt dificil

de observat experimental. Acest demers a contribuit semnificativ la înțelegerea proceselor fizice din biosenzorii integrați în platforme microfluidice, cum ar fi deplasarea fluidelor în microcanale, transportul de molecule și interacțiunile biomoleculilor cu suprafețele funcționale ale dispozitivelor microfluidice în contextul reacțiilor electrochimice.

Prin proiectarea și fabricarea electrozilor pentru biosenzorii electrochimici folosiți în detecția concentrației ionilor dintr-o soluție, s-au obținut electrozi cu geometrii precise și adaptate cerințelor experimentale specifice biosenzorilor electrochimici.

6.2. ÎNDEPLINIREA OBIECTIVELOR CERCETĂRII

În Capitolul 1, se face o introducere în tematica tezei, prezentând conceptele de bază legate de utilizarea metodelor electromagnetice în cercetarea proceselor biomedicale.

Capitolul 2 se concentrează pe analiza stadiului actual al cercetărilor din domeniul biosenzorilor, integrării lor în platforme microfluidice și evoluției tehnologiei de imprimare 3D pentru a realiza electrozi avansați.

Capitolul 3, prezintă problematica biosenzorilor, acordând o atenție deosebită aspectelor legate de clasificarea, structura și funcționarea acestora. Metodele de detecție electrică sunt prezentate ca o componentă centrală a biosenzorilor, evidențiind cum acestea transformă interacțiunile biochimice în semnale electrice măsurabile.

Capitolul 4 este dedicat modelării fizico-matematice și analizei interacțiunilor și cuplajelor complexe dintre câmpul electromagnetic, curgerea fluidului și particulele încărcate electric aflate într-un mediu microfluidic, subliniind influența câmpului electric asupra electroosmozei și a altor fenomene.

Rezultatele principale ale acestui studiu includ identificarea impactului câmpului electric asupra curgerii sub gradient de presiune, observarea profilurilor de viteză în funcție de variația presiunii, sublinierea importanței regiunilor adiacente pereților canalului, validarea eficacității procesului de hibridizare și confirmarea rezultatelor obținute prin comparație cu datele experimentale relevante din literatură.

În capitolul 5 a fost analizat potențialul spectroscopiei de impedanță ca metodă de cercetare pentru identificarea compușilor biochimici. Această metodă oferă date semnificative despre comportamentul diferitelor biomolecule dintr-un sistem, prin monitorizarea variației unor parametri fizici caracteristici componentelor sistemului studiat.

6.3. CONTRIBUȚII ORIGINALE

Am analizat câmpul electric generat de sarcinile electrice apropiate de pereții canalului, cunoscut sub denumirea de potențialul dublului strat electric, care apare la interfața dintre peretele canalului și electrolit. Am determinat cum acest câmp electric, aplicat de-a lungul canalului, interacționează cu densitatea de sarcină electrică.

Pe de altă parte, această interacțiune generează apariția unor forțe de natură electrică, ce determină o curgere electroosmotică în sistemul microfluidic.

Un alt aspect important al cercetării se concentrează pe modelarea transferului de masă într-un microcanal cu curgere electroosmotică. Acest studiu combină curgerea electrocinetică, care se bazează pe teoria dublului strat electric, cu curgerea sub gradient de presiune într-un microcanal, folosind ecuațiile Navier-Stokes și ecuațiile Poisson-Boltzmann pentru a analiza fenomene subtile și interacțiuni complexe care nu pot fi ușor observate experimental.

S-a observat că aplicarea unui câmp electromagnetic poate influența variația proprietăților dublului strat electric, ceea ce, la rândul său, afectează interacțiunile dintre particulele din electrolit și suprafața electrodului. Aceste modificări pot avea un impact semnificativ asupra comportamentului particulelor, deschizând posibilitatea de a controla selectiv mișcarea și capturarea acestora în diverse zone ale microcanalelor.

În cadrul cercetării a fost analizat, de asemenea, echilibrul termic al sistemului, folosind ecuația de căldură. S-a constatat că sursele de căldură generate de vâscozitate și efectul Joule sunt suficient de mici pentru a menține sistemul la o temperatură constantă de 300 K.

Studiile numerice realizate au adus o perspectivă îmbunătățită asupra mecanismelor care stau la baza comportamentului fluidelor și proceselor de transport în medii microscopice.

Contribuțiile semnificative în sfera practică s-au concretizat prin optimizarea procesului de fabricație a electrozilor pentru biosenzori, prin intermediul tehnologiei de imprimare 3D utilizând materiale pe bază de carbon. Această abordare a permis obținerea de electrozi cu "geometrii" precise, adaptate cerințelor experimentale din cadrul biosenzorilor.

Caracterizarea proprietăților electrochimice ale electrozilor s-a realizat prin spectroscopia de impedanță electrochimică (EIS), o tehnică ce oferă informații detaliate despre comportamentul electrozilor în interacțiune cu mediul biologic sau analiții.

6.4. DISEMINAREA REZULTATELOR

Rezultatele cercetării au fost diseminate prin publicarea a trei lucrări științifice. Două dintre aceste lucrări au fost prezentate în cadrul conferinței ATEEE. A treia lucrare a fost publicată în RRST-EE (Revue Roumaine des Sciences Techniques, Série Électrotechnique et Énergétique), o revistă recunoscută cu o vizibilitate largă în comunitatea academică.

Prin combinarea cunoștințelor din ingineria electrică aplicate în tehnologiile microfluidice și cercetarea biomedicală, s-a deschis o perspectivă inovatoare în domeniul detecției și analizei moleculare. Pe de o parte, ingineria electrică a adus în prim-plan metode care permit manipularea fluidelor la scară micrometrică sub influența unui câmp electric extern. Cercetările viitoare pot integra simularea matematică pentru a completa studiile experimentale obținute în practică asupra electrozilor imprimați 3D, oferind o perspectivă mai cuprinzătoare asupra comportamentului electrozilor și a potențialului lor în diferite aplicații.

GLOSAR DE TERMENI SPECIFICI

1. Adsorbția - reprezintă procesul prin care moleculele, ioni sau atomi se atașează și se adună pe suprafața unui material solid sau lichid. Aceasta are loc atunci când speciile chimice din mediul înconjurător (numite adsorbați) se leagă sau "aderă" la suprafața materialului (numit adsorbent) prin intermediul forțelor intermoleculare.
2. Bistrat lipidic - reprezintă o structură formată din două straturi de molecule lipide, cu capetele polare orientate spre exterior și cozi nepolare orientate spre interior. Această structură este esențială în biologie și medicină, oferind o barieră fizică și chimică între mediul intern și extern al celulei.
3. Canal ionic - este un tip special de proteine care formează pori sau canale în membranele celulelor. Aceste canale permit ionilor să treacă prin membrană și sunt selective pentru anumiți ioni fiind reglate de diferiți factori, cum ar fi variațiile de tensiune sau concentrația de ioni în mediu.
4. Canale activ - este un tip de canal ionic care necesită energie pentru a funcționa și a permite trecerea ionilor prin membrană. Acest tip de canal este reglat și controlat de către celulă și poate fi deschis sau închis în funcție de diferite semnale sau stimuli.
5. Canale pasiv - este un tip de canal ionic care permite trecerea ionilor prin membrană în mod pasiv, fără a necesita o consumare de energie din partea celulei. Acest tip de canal se deschide și se închide în funcție de diferențele de potențial electric sau de concentrația de ioni în mediul înconjurător, permițând astfel trecerea ionilor într-o manieră determinată de condițiile externe.
6. Complex dublu-catenar – este o structură moleculară formată din două catene complementare de acizi nucleici (ADN/ARN) care se atașează una de cealaltă prin intermediul legăturilor de bază complementare.
7. Curgere electroosmotică – este un fenomen electrochimic care are loc în sistemele microfluidice sau capilare. Este generată de aplicarea unui câmp electric asupra unui fluid conductiv într-un microcanal inducând un flux net de lichid, care se deplasează în direcția opusă migrației ionilor.
8. Desorbția - este procesul opus adsorbției și se referă la eliberarea adsorbaților (molecule, ioni sau atomi) de pe suprafața adsorbentului. În timpul desorbției, speciile chimice care s-au legat sau au fost adsorbite pe suprafața adsorbentului sunt eliberate și revin în mediu. Acest proces poate fi declanșat prin schimbarea condițiilor externe, cum ar fi modificarea temperaturii, presiunii sau concentrației de substanță adsorbantă.
9. Hibridizarea - reprezintă procesul de asociere a două molecule de acizi nucleici (ADN sau ARN) complementare între ele, formând astfel o structură cunoscută sub numele de dublă catenă sau dublă elice. În timpul hibridizării, bazele azotate de pe cele două catene se leagă prin perechi de bază complementare (adenină cu timină în cazul ADN-ului sau adenină cu uracil în cazul ARN-ului și guanină cu citozină), stabilind legături chimice puternice.
10. Mediul extracelular - reprezintă spațiul din jurul celulelor organismelor vii, care le înconjoară și le separă.
11. Mediul intracelular – este spațiul din interiorul celulei.
12. Membrana celulară - reprezintă o structură fundamentală a celulelor vii, care delimitează conținutul celular de mediul extracelular în care se află. Este o membrană subțire, flexibilă și elastică, compusă dintr-un dublu strat lipidic și proteine, care îndeplinește diverse funcții esențiale pentru viața celulară.

13. Microarray - este un dispozitiv analitic utilizat pentru a detecta și cuantifica simultan prezența și cantitatea unor molecule biologice specifice, cum ar fi fragmente de ADN, ARN, proteine sau alte molecule biologice, într-o probă biologică. Acest dispozitiv constă într-o suprafață solidă (de obicei o lamelă de sticlă sau silicon) pe care sunt fixate în mod controlat și ordonat mii sau chiar milioane de microsonde. Aceste microsonde conțin secvențe specifice de ADN sau ARN, cunoscute sub numele de probe, care sunt proiectate pentru a căuta molecule specifice din proba analizată.
14. Moleculă monocatenară – reprezintă o singură catenă de acizi nucleici (ADN/ARN) care nu este asociată cu o a doua catenă complementară prin legături de bază.
15. Secvențierea - este un proces complex și esențial în biologie moleculară, care constă în determinarea ordinii precise a bazelor azotate (adenină, timină, citozină și guanină) dintr-o moleculă de acizi nucleici (ADN sau ARN). Aceasta implică citirea și înregistrarea secvenței nucleotidelor dintr-o catenă monocatenară de ADN sau ARN, permițând identificarea exactă a ordonării acestor nucleotide.
16. Stare conformațională - reprezintă o configurație sau structură specifică în care se găsește o moleculă, proteină sau alt tip de macromoleculă, în funcție de interacțiunile și legăturile dintre atomii și grupările sale.
17. Proteine - sunt molecule complexe esențiale pentru viață, alcătuite din lanțuri de aminoacizi conectați în secvențe unice. Ele reprezintă una dintre cele mai diverse și importante clase de macromolecule din organismele vii.
18. Rata de hibridizare – reprezintă viteza cu care moleculele monocatenare de ADN/ARN formează perechi de baze complementare între ele pentru a forma structura dublu-catenară de acizi nucleici. Această rată măsoară cât de rapid se realizează procesul de legare între moleculele monocatenare cu secvențele lor complementare.
19. Transport celular - se referă la mișcarea substanțelor în și din celule în cadrul organismelor vii. Există două tipuri principale: transportul pasiv și transportul activ.

Referințe bibliografice:

- [1] Ramos, A., & Suzuki, D. O. H., “*Computational Approach for Electrical Analysis of Biological Tissue Using the Equivalent Circuit Model*”, Handbook of Electroporation, 1–21, 2016, DOI:10.1007/978-3-319-26779-1_12-1.
- [2] Y. Liu, “*Mathematical and Computational Modelling for Biosensors: a Modular Approach. Doctoral Thesis*”. Technological University Dublin, 2012, DOI:10.21427/D7XS3N.
- [3] S. Gogoneata, “*Biosenzor electrochimic pentru detectia hibridizarii AND-ului*”, Teza de Disertatie, Universitatea Politehnica Bucuresti, Facultatea de Inginerie Medicala, 2020.
- [4] S. Radke, E. Alocilja, “*Design and fabrication of a microimpedance biosensor for bacterial detection*”, IEEE Sens. J. 2004, 4, 434–440.
- [5] J. Chen, Z. Fang, J. Liu, L.A. Zeng, “*A simple and rapid biosensor for ochratoxin based on a structure-switching signaling aptamer*”. Food Control 2012, 25, 555–560.
- [6] X. Zeng, Z. Shen, R. Mernaugh, “*Recombinant antibodies and their use in biosensors*”, Anal. Bioanal. Chem. 2012, 402, 3027–3038.
- [7] C. Savran, S. Knudsen, “*Micromechanical detection of proteins using aptamer-based receptor molecules*”, Anal. Chem. 2004, 76, 3194–3198.
- [8] N.S. Mazlan et all., “*Interdigitated electrodes as impedance and capacitance biosensors: A review*”, AIP Conference Proceedings 1885, 020276 (2017), DOI: 10.1063/1.5002470.
- [9] J.C. Vanegas Acosta, “*Electric fields and biological cells : numerical insight into possible interaction mechanisms*”, Technische Universiteit Eindhoven, 2015.
- [10] A. Yúfera, G. Huertas, and A. Olmo. "A Microscopy Technique based on Bio-impedance Sensors" Procedia Engineering, vol. 47, 2012. DOI:10.1016/j.proeng.2012.09.330
- [11] E. Sieni, “*Biomedical Applications of Electromagnetic Fields: Human Exposure, Hyperthermia and Cellular Stimulation*”, University of Padova, 2011.
- [12] R. Bansal, “*Handbook of Engineering Electromagnetics*”, University of Connecticut, 2004
- [13] Q. Wang, “*Mathematical Methods for Biosensor Models. Doctoral Thesis*”, Technological University Dublin, 2011. DOI:10.21427/D7BS3C.
- [14] S. K. Mitra, S. Chakraborty, “*Microfluidics and Nanofluidics Handbook. Fabrication, Implementation and Application*”, Taylor & Francis Group, 2012.
- [15] Manocha, Puneet & Chandwani, Gitanjali & Das, Soumen. (2020). “*Characterization of Dielectrophoresis Based Relay Assisted Molecular Communication Using Analogue Transmission Line*”. IEEE Access. PP. 1-1. 10.1109/ACCESS.2020.2974067.
- [16] Ahmed, Riaz, and Reifsnider, Kenneth L. “*Study of Influence of Electrode Geometry on Impedance Spectroscopy*”. United States: N. p., 2011. Web. doi:10.1115/FuelCell2010-33209.
- [17] Wang, Z.; Murphy, A.; O’Riordan, A.; O’Connell, I. “*Equivalent Impedance Models for Electrochemical Nanosensor-Based Integrated System Design*”. Sensors 2021, 21, 3259. <https://doi.org/10.3390/s21093259>.
- [18] Conroy P. J., Hearty S., Leonard P. & O’Kennedy R. J., “*Antibody production, design and use for biosensor-based applications*”, Seminars in Cell & Developmental Biology (2009), 20(1), 10–26. doi:10.1016/j.semcd.2009.01.010
- [19] Yang X., Qian J., Jiang L., Yan Y., Wang K., Liu Q. & Wang K., “*Ultrasensitive electrochemical aptasensor for ochratoxin A based on two-level cascaded signal amplification strategy*”, Bioelectrochemistry (2014), 96, 7–13. doi:10.1016/j.bioelechem.2013.11.006

- [20] Suehiro J., Yatsunami R., Hamada R. and Hara M., “*Quantitative estimation of biological cell concentration suspended in aqueous medium by using dielectrophoretic impedance measurement method*”, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 32(21), 2814–2820. doi:10.1088/0022-3727/32/21/31.
- [21] Zheng D., Zou R. & Lou X., “*Label-Free Fluorescent Detection of Ions, Proteins, and Small Molecules Using Structure-Switching Aptamers, SYBR Gold, and Exonuclease I*”, *Analytical Chemistry* (2012), 84(8), 3554–3560. doi:10.1021/ac300690r
- [22] Chalklen T., Jing Q. & Kar-Narayan S., “*Biosensors Based on Mechanical and Electrical Detection Techniques*”, *Sensors* (2020), 20(19), 5605. doi:10.3390/s20195605
- [23] Bakker, E. (2004). “*Electrochemical Sensors*”. *Analytical Chemistry*, 76(12), 3285–3298. doi:10.1021/ac049580z
- [24] Daniels J. S., & Pourmand N., “*Label-Free Impedance Biosensors: Opportunities and Challenges*”, *Electroanalysis* (2007), 19(12), 1239–1257. doi:10.1002/elan.200603855
- [25] D. Janasek, J. Franzke and A. Manz, "Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems", *Nature*, vol. 442, no. 7101, pp. 374-380, 2006. Available: 10.1038/nature05059 [Accessed 15 October 2021].
- [26] Watson, L. D., Maynard, P., Cullen, D. C., Sethi, R. S., Brettle, J., & Lowe, (1987). “*A microelectronic conductimetric biosensor. Biosensors*”, 3(2), 101–115. doi: 10.1016/s0265-928x(87)80003-2.
- [27] Nishizawa, M., Matsue, T., & Uchida, I. (1992). “*Penicillin sensor based on a microarray electrode coated with pH-responsive polypyrrole*”. *Analytical Chemistry*, 64(21), 2642–2644. doi:10.1021/ac00045a030.
- [28] Pohanka, M. (2015). “*Biosensors containing acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase as recognition tools for detection of various compounds*”. *Chemical Papers*, 69(1). doi:10.2478/s11696-014-0542-x.
- [29] Baronas, Romas; Kulys, Juozas; Lančinskas, Algirdas; Žilinskas, Antanas (2014). “*Effect of Diffusion Limitations on Multianalyte Determination from Biased Biosensor Response*”. *Sensors*, 14(3), 4634–4656. doi:10.3390/s140304634
- [30] Ramesh, M.; Janani, R.; Deepa, C.; Rajeshkumar, L., “*Nanotechnology-Enabled Biosensors: A Review of Fundamentals, Design Principles, Materials, and Applications*”. *Biosensors* 2023, 13, 40. <https://doi.org/10.3390/bios13010040>
- [31] Leva-Bueno, J., Peyman, S. A., & Millner, P. A. (2020). “*A review on impedimetric immunosensors for pathogen and biomarker detection*”. *Medical Microbiology and Immunology*. doi: 10.1007/s00430-020-00668-0.
- [32] Pohanka, M. (2018). “*Overview of Piezoelectric Biosensors, Immunosensors and DNA Sensors and Their Applications. Materials*”, 11(3), 448. doi: 10.3390/ma11030448.
- [33] Hundek, H. G., Weiß, M., Scheper, T., & Schubert, F. (1993). “*Calorimetric biosensor for the detection and determination of enantiomeric excesses in aqueous and organic phases*”. *Biosensors and Bioelectronics*, 8(3-4), 205–208. doi: 10.1016/0956-5663(93)85034-L.
- [34] MEHRVAR, M., & ABDI, M. (2004). “*Recent Developments, Characteristics, and Potential Applications of Electrochemical Biosensors*”. *Analytical Sciences*, 20(8), 1113–1126. doi:10.2116/analsci.20.1113.
- [35] Chaubey, A., & Malhotra, B. D. (2002). “*Mediated biosensors*”. *Biosensors and Bioelectronics*, 17(6-7), 441–456. doi:10.1016/s0956-5663(01)00313-x

- [36] Yang, L. & Guiseppi-Elie, A. (n.d.). “*Impedimetric Biosensors for Nano- and Microfluidics*”. Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics, 811–823. doi: 10.1007/978-0-387-48998-8_686.
- [37] **Gogoneata, S.**, Sandoiu-Ilie, A., & Morega, A. (2021). “*Numerical Simulations of the Pressure-Driven and Electrokinetic Transport in DNA Hybridization*“, 2021 12th International Symposium on Advanced Topics in Electrical Engineering (ATEE), 1-4.
- [38] S. Das, T. Das, S. Chakraborty, “*Modeling of coupled momentum, heat and solute transport during DNA hybridization in a microchannel in the presence of electro-osmotic effects and axial pressure gradients*”, Microfluid Nanofluid, 2, pp. 37–49, 2006.
- [39] D. Erickson, D. Li, U.J. Krull, “*Modeling of DNA hybridization kinetics for spatially resolved biochips*”, Anal. Biochem. 317, pp. 186–200, 2003.
- [40] Vaidyanathan R, Dey S, Carrascosa LG, Shiddiky MJ, Trau M. “*Alternating current electrohydrodynamics in microsystems: Pushing biomolecules and cells around on surfaces*“. Biomicrofluidics. 2015 Dec 8;9(6):061501. doi: 10.1063/1.4936300. PMID: 26674299; PMCID: PMC4676781.
- [41] Mercado-Borrayo, B.M. (2014). Water Reclamation and Sustainability || “*Metallurgical Slag as an Efficient and Economical Adsorbent of Arsenic*“, 95–114. doi:10.1016/B978-0-12-411645-0.00005-5.
- [42] Das T, Chakraborty S., Bio-Microfluidics: Overview. “*Coupling Biology and Fluid Physics at the Scale of Microconfinement*“. Microfluidics and Microfabrication. 2009 Nov 28:131–79. doi: 10.1007/978-1-4419-1543-6_4. PMCID: PMC7119918.
- [43] Israelachvili N.J., “*Intermolecular and Surface Forces*”, Third Edition, University of California, Santa Barbara, California, USA, 2011, ISBN 978-0-12-391927-4.
- [44] P. Dutta, A. Beskok, “*Analytical Solution of Combined Electroosmotic/Pressure Driven Flows in Two-Dimensional Straight Channels: Finite Debye Layer Effects*”, Anal. Chem. 2001,73, 1979-1986.
- [45] Luo, Yong & Qin, Jianhua & Lin, Bingcheng. (2009). “*Methods for pumping fluids on biomedical lab-on-a-chip*“. Frontiers in bioscience : a journal and virtual library. 14. 3913-24. 10.2735/3500.
- [46] **S. Gogoneată**, Y. Veli and A. M. Morega, “*Numerical Analysis of Electric Field Interactions Associated with DNA Hybridization in A Microfluidic Device*“, 2023 13th International Symposium on Advanced Topics in Electrical Engineering (ATEE), Bucharest, Romania, 2023, pp. 1-4, doi: 10.1109/ATEE58038.2023.10108386.
- [47] Schlegel F., ”*Modeling Electroosmotic Flow and the Electrical Double Layer*“, october 28, 2013, <https://www.comsol.com/blogs/modeling-electroosmotic-flow-electrical-double-layer/>
- [48] H.A. Abdulbari, E.A.M. Basheer, “*Electrochemical biosensors: electrode development, materials, design, and fabrication*”, ChemBioEng Rev., 4, 2, pp. 92–105 (2017).
- [49] J.I.A. Rashid, N.A. Yusof, “*The strategies of DNA immobilization and hybridization detection mechanism in the construction of electrochemical DNA sensor: A review*”, Sens. Bio-Sensing Res., 16, pp. 19–31 (2017).
- [50] D. Dăscălescu, C. Apetrei, “*Development of a novel electrochemical biosensor based on organized mesoporous carbon and laccase for the detection of serotonin in food supplements*”, Chemosensors, 10, 9, 365 (2022).

- [51] J. Contreras, V. Perez-Gonzalez, M. Mata, O. Aguilar, “*3D-printed hybrid-carbon-based electrodes for electroanalytical sensing applications*”, *Electrochem. Commun.*, 130, p. 107098 (2021).
- [52] Jovic, Thomas H.; Kungwengwe, Garikai; Mills, Adam C.; Whitaker, Iain S. (2019). “*Plant-Derived Biomaterials: A Review of 3D Bioprinting and Biomedical Applications*”. *Frontiers in Mechanical Engineering*, 5, 2019 – doi:10.3389/fmech.2019.00019
- [53] L.R. Silva, A. Gevaerd, L. Marcolino Jr., M. Bergamini, T. Almeida Silva, B. Janegitz, “*3D-printed electrochemical devices for sensing and biosensing of biomarkers, Advances in Bioelectrochemistry*”, 2, pp. 121–136 (2022).
- [54] **S. Gogoneață**, C. Mărculescu, A. Morega, “*Characterization of electrical properties of 3D printed biosensors with various electrode geometries*”, *Roum. Sci. Techn. – Électrotechn. et Énerg.* Vol.68, 2, pp. 241–246, Bucarest, 2023
- [55] L.R.G. Silva, J.S. Stefano, L.O. Orzari, L.C. Brazaca, E. Carrilho, L.H. Marcolino-Junior, M.F. Bergamini, R.A. A. Munoz, B.C. Janegitz, “*Electrochemical biosensor for SARS-CoV-2 cDNA detection using aups-modified 3D-printed graphene electrodes*”, *Biosensors*, 12, p. 622 (2022).
- [56] S. Handaja, H. Susanto, H. Hermawan, “*Electrical conductivity of carbon electrodes by mixing carbon rod and electrolyte paste of spent battery*”, *Int. J. Renew. Energy Dev.*, 10, 2, pp. 221–227 (2021).
- [57] S.J. Bharathi, S.H. Thilagar, V. Jayasurya, “*Design of electrochemical sensor and determining the peak current of ions in solution*”, *IEEE International Conference on Intelligent Techniques in Control, Optimization and Signal Processing (INCOS)*, (pp. 1-4) IEEE, (2019)
- [58] Guo, R. Lv, S. Bai, “*Recent advances on 3D printing graphene-based composites*”, *Nano Mater. Sci.*, 1, 2, p. 101-115 (2019).
- [59] C. Marculescu, P. Preda, T. Burinaru, E. Chiriac, B. Tincu, A. Matei, O. Brincoveanu, C. Pachiu, M. Avram, “*Customizable fabrication process for flexible carbon-based electrochemical biosensors*”, *Chemosensors*, 11, 4, 204 (2023).
- [60] M. Xu, D. Obodo, V.K. Yadavalli, “*The design, fabrication, and applications of flexible biosensing devices, Biosens. Bioelectron*”, 124–125, pp. 96–114 (2019).
- [61] B. Tincu, T. Burinaru, A.-M. Enciu, P. Preda, E. Chiriac, C. Marculescu, M. Avram, A. Avram, “*Vertical graphene-based biosensor for tumor cell dielectric signature evaluation*”, *Micromachines*, 13, 10, 1671 (2022).
- [62] Verma, Neelam; Bhardwaj, Atul (2015). “*Biosensor Technology for Pesticides—A review. Applied Biochemistry and Biotechnology*”, 175(6), 3093–3119. doi:10.1007/s12010-015-1489-2.
- [63] Yang, L., & Guiseppi-Elie, A. (n.d.). “*Impedimetric Biosensors for Nano- and Microfluidics. Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*”, 811–823. doi:10.1007/978-0-387-48998-8_686.
- [64] T. A. Burinaru, B. Tincu, M. Avram, P. Preda, A.-M. Enciu, E. Chiriac, C. Mărculescu, T. Constantin, M. Militaru, “*Electrochemical impedance spectroscopy based microfluidic biosensor for the detection of circulating tumor cells*”, *Mater. Today Commun.*, 32, p. 104016 (2022).

- [65] Raistrick, I.D. and J. Macdonald, “*Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications*”. A. John Wiley & Sons. Vol. Second Edition. 2005, New Jersey: A John Wiley & Sons. 1-20.
- [66] Metrohm Autolab B.V., *NOVA 2.1.2. User Manual*, (2017), [https://nlab.pl/uploads/edytor/User manual NOVA 2.1.pdf](https://nlab.pl/uploads/edytor/User_manual_NOVA_2.1.pdf)
- [67] H. Herrera Hernández et al., “*Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): A Review Study of Basic Aspects of the Corrosion Mechanism Applied to Steels*”, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*. IntechOpen. (2020). doi: 10.5772/intechopen.94470.