POLITECNICO DI TORINO
Repository ISTITUZIONALE

DISPOSITIVI MICROFLUIDICI PER APPLICAZIONE IN CAMPO BIOMEDICALE, FABBRICATI IN MATERIALE POLIMERICO COMPOSITO

Original
DISPOSITIVI MICROFLUIDICI PER APPLICAZIONE IN CAMPO BIOMEDICALE, FABBRICATI IN MATERIALE POLIMERICO COMPOSITO / Pirri, C., Quaglio, M., Bianco, S., Cocuzza, M., Tagliaferro, A.. - (2010).

Availability:
This version is available at: 11583/2861092 since: 2021-01-14T12:09:35Z

Publisher:

Published
DOI:

Terms of use:

This article is made available under terms and conditions as specified in the corresponding bibliographic description in the repository

Publisher copyright

(Article begins on next page)

11 October 2026

ITALIA - BREV. DI INVENZIONE

Domanda N. TO2010A000196

depositata il 16 Marzo 2010

a nome: POLITECNICO DI TORINO;CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE

Domanda di Brevetto per Invenzione Industriale

Richiedente/i

Denominazione: **POLITECNICO DI TORINO;**
Natura Giuridica: ***PG*** *(Persona Giuridica);*
Codice Fiscale: **00518460019;**
Indirizzo: **CORSO DUCA DEGLI ABRUZZI, 24;** *Localita' Residenza:* **;** *Comune:* **TORINO;** *Cap:* **10129;**
Provincia Residenza: **TORINO (TO);** *Stato:* **ITALIA ();**

Denominazione: **CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE;**
Natura Giuridica: ***PG*** *(Persona Giuridica);*
Codice Fiscale: **02118311006;**
Indirizzo: **PIAZZALE ALDO MORO 7;** *Localita' Residenza:* **;** *Comune:* **ROMA;** *Cap:* **00185;** *Provincia Residenza:* **ROMA (RM);** *Stato:* **ITALIA ();**

Recapito

Cognome/Denominazione: **;** *Nome:* **;**
Indirizzo recapito: **;** *Localita' Recapito:* **;** *Comune:* **;** *Provincia:* **();** *Cap:* **;**

Titolo

Descrizione: **DISPOSITIVI MICROFLUIDICI PER APPLICAZIONE IN CAMPO BIOMEDICALE, FABBRICATI IN MATERIALE POLIMERICO COMPOSITO**

Inventori Designati

Cognome: **PIRRI;** *Nome:* **CANDIDO FABRIZIO;** *Nazionalita':* **ITALIANA**

Cognome: **QUAGLIO;** *Nome:* **MARZIA;** *Nazionalita':* **ITALIANA**

Cognome: **BIANCO;** *Nome:* **STEFANO;** *Nazionalita':* **ITALIANA**

Cognome: **COCUZZA;** *Nome:* **MATTEO;** *Nazionalita':* **ITALIANA**

Cognome: **TAGLIAFERRO;** *Nome:* **ALBERTO;** *Nazionalita':* **ITALIANA**

Classi Proposte

Sezione: **B;** *Classe:* **01;** *Sottoclasse:* **L;** *Gruppo:* **3;**

Mandatario abilitato presso UIBM

Numero Iscrizione Albo: **00435**
Cognome: **RAMBELLI** *Nome:* **PAOLO**

Denominazione Studio: **JACOBACCI & PARTNERS S.P.A.**
Indirizzo: **CORSO EMILIA, 8**
Comune: **TORINO** *Cap:* **10152** *Provincia:* **TORINO**
Numero Domicilio Professionale: **032**

Annotazioni Speciali

Descrizione: ***I titolari partecipano ai diritti sul brevetto nelle seguenti misure: (segue)**
Descrizione: ***(cont.) 80% POLITECNICO DI TORINO, 20% CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE.**
Descrizione: ***Lettera di incarico segue.**
Descrizione: ***Traduzione inglese delle rivendicazioni segue.**

Documentazione Allegata o con Riserva di Presentazione

Tipo Documento: **Tavole Disegno**; *N. Es. All. :* **1**; *N.Es.Ris.:* **0**; *N. Pag. per Esemplare:* **2**;

Tipo Documento: **Descrizione/Rivendicazione**; *N. Es. All. :* **1**; *N.Es.Ris.:* **0**; *N. Pag. per Esemplare:* **20**;

Attestato di Versamento

Esente Versamento

Del Presente Atto si Richiede Copia Autentica

Data Compilazione: **2010-03-16**

I0138585

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo: "Dispositivi microfluidici per applicazione in campo biomedicale, fabbricati in materiale polimerico composito"

Di POLITECNICO DI TORINO, nazionalità italiana, Corso Duca degli Abruzzi, 24, 10129 TORINO

CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE, nazionalità italiana, Piazzale Aldo Moro, 7, 00185 ROMA

Inventori designati: Candido Fabrizio PIRRI, Marzia QUAGLIO, Stefano BIANCO, Matteo COCUZZA, Alberto TAGLIAFERRO

Depositata il: 16 Marzo 2010

***

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce a sistemi e/o dispositivi miniaturizzati di tipo microfluidico, in particolare del tipo denominato con il termine lab-on-a-chip (nel seguito LOC), utilizzati per applicazioni biomedicali e simili.

Tipicamente, tali dispositivi comprendono almeno un primo ed un secondo substrato, collegati l'uno all'altro in relazione affacciata lungo rispettive superfici complementari di reciproco contatto e definenti congiuntamente una camera o un condotto fluidico interno al dispositivo, con almeno un in-

gresso ed un'uscita comunicante con detta camera o condotto per l'introduzione e, rispettivamente, il prelievo di un campione sottoposto a processo internamente al dispositivo.

Nella produzione industriale di tali microdispositivi, trovano larga applicazione i materiali polimerici, in particolare materiali polimerici trasparenti, tra cui in particolare polimeri elastomerici, in quanto il loro impiego consente la realizzazione del microdispositivo con tecnologie di lavorazione semplici ed economiche, quali replica moulding, colata e stampaggio ad iniezione.

Tuttavia, i materiali polimerici attualmente impiegati presentano in generale una bassa conducibilità termica. L'inerzia termica di questi materiali è un importante fattore limitante nella dinamica di esecuzione di protocolli termici complessi, utilizzata ad esempio in dispositivi per applicazioni biomedicali.

Lo scopo primario della presente invenzione è quello di fornire dispositivi microfluidici del tipo sopra citato che presentano migliori proprietà termiche, ma che possono essere ottenuti con l'impiego di materiali polimerici, utilizzando così per la loro produzione le convenzionali tecniche di

processo e di lavorazione dei materiali plastici.

In particolare, uno scopo dell'invenzione è quello di fornire dispositivi microfluidici aventi migliori caratteristiche di conducibilità termica, senza che siano negativamente alterate le caratteristiche chimico-fisiche dei materiali plastici tipicamente impiegati e che li rendono vantaggiosi in questo tipo di applicazione, quale in particolare la compatibilità chimico/fisica con le sostanze con cui il dispositivo deve entrare in contatto, le caratteristiche di bagnabilità, senza causare inibizioni di reazioni chimiche e senza sostanzialmente modificare le caratteristiche di lavorazione dei materiali.

In vista di tali scopi, costituisce oggetto dell'invenzione un dispositivo microfluidico avente le caratteristiche definite nelle rivendicazioni che seguono.

L'invenzione supera il problema della bassa conducibilità termica dei materiali polimerici, modificando le caratteristiche di tali materiali grazie all'introduzione di nanotubi di carbonio, proponendo così l'impiego di un materiale composito a matrice polimerica rinforzato con nanotubi di carbonio.

In particolare, nei dispositivi secondo l'invenzione, i substrati che nel dispositivo microfluidico definiscono congiuntamente il canale (o i canali) e la camera (camere) microfluidiche sono realizzati integralmente con i suddetti materiali compositi.

Il materiale composito a matrice polimerica rinforzato con nanotubi di carbonio mostra proprietà di trasporto di calore migliori di quello del polimero di partenza. Tale miglioramento si riflette in una maggior velocità del dispositivo (LOC) nel raggiungimento delle temperature desiderate in cicli di riscaldamento/raffreddamento rispetto a quanto ottenuto con il polimero puro.

L'entità del cambiamento indotto è correlato alla quantità di nanotubi di carbonio introdotti ed alla quantità e qualità della dispersione del rinforzante nella matrice. Il miglioramento del comportamento del materiale riguarda inoltre anche la migliore uniformità di riscaldamento e raffreddamento del materiale, con un aumento della stabilità e del controllo del comportamento termico del dispositivo (o sistema) microfluidico finale.

Di conseguenza, il comportamento termico complessivo del materiale composito consente benefici

rilevanti in applicazioni termiche statiche (grazie alla migliore uniformità di riscaldamento e raffreddamento) e dinamiche (grazie alla migliore conducibilità termica).

Il miglioramento nel comportamento termico in condizioni dinamiche si traduce direttamente in una maggiore rapidità di esecuzione dei protocolli richiesti (ad esempio in ambito biomedicale), soprattutto nel caso di termociclature e/o nell'aumento dell'efficienza delle reazioni chimiche/biologiche previste, grazie alla riduzione dei tempi di permanenza delle soluzioni a temperature intermedie rispetto a quelle di attivazione delle reazioni.

La migliore uniformità termica consente un maggior livello di precisione nel gestire le fasi di mantenimento delle temperature di termostatazione, con la riduzione dei gradienti termici ed un miglior controllo delle reazioni chimiche/biologiche/biomedicali in LOC.

La matrice polimerica di partenza può essere un qualunque polimero che mostri:

- compatibilità chimico/fisica con le sostanze con cui il dispositivo deve entrare in contatto;
- compatibilità chimico/fisica con i nanotubi di carbonio che in essa vengono inseriti;

- buon livello di bagnabilità della superficie (pura o trattata) dei nanotubi di carbonio, tale da garantire una sufficiente continuità nella trasmissione del calore all'interno del materiale composito risultante;
- di non inibire reazioni chimiche di fondamentale importanza per l'esecuzione dell'attività per la quale il dispositivo è stato ideato;
- di avere temperature caratteristiche di lavorazione (temperatura di transizione vetrosa, temperatura di *softening*, temperatura di fusione, temperatura di degradazione, ecc.) compatibili con le temperature previste dall'attività per la quale il dispositivo è stato ideato e con i nanotubi di carbonio che in esso vengono inseriti (anche eventualmente trattati in superficie e/o funzionalizzati).

In particolare, i materiali polimerici preferiti per la matrice comprendono elastomeri ed elastomeri termoplastici, tra cui in particolare polidimetilsilossano, perfluoroetilene, poliisoprene, polibutadiene, poliisobutilene, poliisoprene alogenato, polibutadiene alogenato, poliisobutilene alogenato, termopolimeri EPDM (etilene-propilene-diene), copolimeri stirenici a blocchi o leghe elastomeri-

che; sono tuttavia altresì contemplati materiali plastici non elastomerici, come ad esempio PMMA (PoliMetilMetAcrilato), COC (Copolimero di Olefine Cicliche), PVDF (PoliVinildenFluoruro), PEO (PoliOssiEtilene), PEDOT (PoliEtilenDiOssiTiofene), PEDOT:PSS (lega di PoliEtilenDiOssiTiofene e PoliStirenSulfonato), PANI (Polianilina), PC (PoliCarbonato), PS (PoliStirene).

I nanotubi di carbonio inseribili nella matrice devono permettere di migliorare la conducibilità termica della matrice. Dal punto di vista chimico/fisico:

- possono essere a parete singola (SWCNTs), a parete multipla (MWCNTs), oppure appartenere (ma non limitatamente) alle altre catalogazioni correlate riportate in letteratura (double-wall carbon nanotubes, buckytubes, fullerene tubes, tubular fullerenes, graphite fibrils, ecc.);
- possono essere cresciuti mediante qualsiasi tecnica, quale ad esempio (ma non limitatamente) crescita ad arco, sintesi da fiamma, ablazione tramite laser, oppure attraverso decomposizione chimica da fase vapore, sia assistita tramite plasma che non; i processi di crescita utilizzati possono sfruttare o meno la presenza di un catalizzatore

metallico;

- possono avere caratteristiche elettriche sia metalliche che di semiconduttore;
- possono essere soggetti a trattamenti post-crescita ad alta temperatura (*annealing*) per ottimizzarne le proprietà;
- possono essere o meno processati per ottenere una specifica dimensione media, sia in termini di lunghezza che di diametro;
- possono essere eventualmente (ma non necessariamente) funzionalizzati o trattati in superficie (alle estremità dei tubi e/o sulle pareti laterali) per via fisica e/o chimica al fine di ottimizzarne proprietà e/o ottimizzare la bagnabilità;
- possono essere o meno trattati tramite surfattante per migliorarne la dispersione;
- possono essere dispersi in forma di polvere, oppure inseriti sotto forma di crescite orientate (tappeti, colonne, *bundles*, ecc.);
- possono essere inseriti direttamente nel polimero o preventivamente in un solvente o altra sostanza, compatibile con la chimica del polimero, e poi inseriti nell'elastomero finale.

Tipicamente, i nanotubi di carbonio sono utilizzati nella matrice polimerica in quantità da

0,1% a 10% in peso, preferibilmente da 0,1% a 5% in peso.

Il composito può essere preparato secondo la metodologia più idonea in base alle caratteristiche del polimero che costituisce la matrice. Il materiale composito può essere preparato mescolando manualmente (con passaggio in mortaio) o con strumentazione apposita i nanotubi di carbonio con il polimero, in base alla qualità finale della dispersione che si vuole ottenere, oppure infiltrando con polimero le strutture di nanotubi di carbonio su supporto.

In particolare, nel caso di matrici di materiali elastomerici o di resine bicomponenti, in particolare per PDMS, la preparazione del materiale composito e del substrato di composito polimerico prevede preferibilmente la procedura seguente:

a) inserimento dei nanotubi di carbonio nella percentuale di interesse nell'agente reticolante (miscelazione manuale mediante spatola o con ultrasuoni);

b) inserimento del polimero nella prima miscela (miscelazione manuale mediante spatola o con ultrasuoni);

c) dispersione mediante miscelazione (e. g. manua-

le), mediante pestelli e mortaio o altri sistemi di mescolamento/dispersione meccanici che facciano uso di ultrasuoni o altro sistema noto nello stato della tecnica;

d) degasaggio (eventualmente in vuoto) del composito;

e) colatura in stampo;

f) degasaggio (eventualmente in vuoto);

g) reticolazione, condotta in temperatura in forno o su piastre e permanenza alla temperatura di reticolazione per un tempo sufficiente all'ottenimento del materiale reticolato, o a temperatura ambiente se la composizione dell'elastomero lo consente. La reticolazione finale potrà altresì avvenire con modalità differenti da quella indotta termicamente (ad es. reticolazione foto-assistita nel caso di polimeri foto-reticolanti).

Possono essere o meno utilizzate strumentazioni o procedure che consentano, dopo l'eventuale mescolamento, di conservare o ulteriormente migliorare la dispersione dei CNTs nella matrice sino al completamento del processo di preparazione del composito finale, nonché procedure per l'allineamento fisico dei nanotubi stessi.

Ottenuto il materiale composito, la fabbrica-

zione del dispositivo utilizzando tale materiale segue la tecnologia e i passi di processo più idonei per la realizzazione. Il dispositivo LOC viene realizzato nella forma voluta, ad esempio (ma non necessariamente) attraverso casting in stampi per compositi in matrice in resina, termoindurente o elastomero o lavorazione mediante *Hot Embossing* o altra tecnica basata su applicazione di pressione con o senza riscaldamento.

Le geometrie delle strutture di nanotubi di carbonio infiltrati con polimero su supporto possono essere definite tramite tecniche di litografia (ma non necessariamente). Il distacco delle strutture dal supporto può essere successivo alla definizione delle geometrie.

Nei disegni annessi:

- la fig. 1 è una fotografia che illustra due esempi di dispositivo LOC per l'esecuzione di un protocollo biologico esemplificativo (si sceglie la reazione di amplificazione di DNA denominata *Polymerase Chain Reaction* - PCR) con struttura a camera di reazione connessa a due fori di alimentazione e di estrazione;
- la fig. 2 è un diagramma che riporta il confronto dell'andamento in temperatura su un campione

in PDMS puro (10:1), due campioni in composito PDMS/CNTs con 0,1% e 0,5% di CNTs, comparati con l'andamento della temperatura misurata direttamente sul termociclatore; e

- la fig. 3 è una fotografia che illustra l'esito della corsa elettroforetica condotta sui campioni trattati nella sperimentazione che segue, in cui:

    1) condizioni standard (riferimento);

    2) in dispositivo LOC fabbricato in PDMS;

    3) e 4) in dispositivi LOC fabbricati in composito PDMS/CNTs con concentrazioni pari a 0,5% e 0,1% in peso, rispettivamente, di CNTs.

Si intende che la rappresentazione della fig. 1 è puramente esemplificativa in relazione ad un LOC formato da due substrati accoppiati, realizzati con il materiale secondo l'invenzione definenti una camera microfluidica.

Il principio secondo l'invenzione è naturalmente applicabile a dispositivi microfluidici di altra conformazione ed eventualmente anche a dispositivi che comprendono una pluralità di substrati impilati, definenti circuiti microfluidici o camere di reazione a diversi livelli.

Al fine di dimostrare l'ottimale comportamento termico di dispositivi microfluidici fabbricati con

compositi caricati con nanotubi di carbonio, è stata condotta a titolo di esempio un'analisi in due fasi, in seguito riportate come punto 1 e punto 2.

Nella prima fase (punto 1) si è verificato il comportamento del materiale scelto e si è poi analizzato (punto 2) l'applicazione in un protocollo biologico specifico.

1. Scelta, a solo scopo dimostrativo, di compositi polimero-CNTs a diversa percentuale di carica e valutazione del comportamento termico quando sottoposti a termociclatura; confronto con il comportamento del polimero puro:

- la scelta ricade su un composito avente come matrice polimerica il polidimetilsilossano (PDMS) e, come rinforzante, MWCNTs inseriti in percentuale in peso pari allo 0,1% e allo 0,5%; la scelta è legata alla relativa semplicità del processo di casting dell'elastomero e alla sua ottima compatibilità biologica e chimica in impieghi in campo biomedicale;
- il protocollo di termociclatura prevede il passaggio attraverso tre temperature e una ripetizione per 15 cicli;
- la prova è considerata di esito positivo se i compositi caricati con CNTs mostrano un miglior

raggiungimento delle temperature di regime e/o un minor tempo nel compimento del numero totale di cicli, rispetto al materiale in PDMS puro.

2. Preparazione di un dispositivo microfluidico a scopo esemplificativo, utilizzando i compositi di cui al punto 1. Verifica del miglioramento delle prestazioni rispetto a un dispositivo simile fabbricato con polimero non rinforzato:

- la scelta ricade sulla fabbricazione di un dispositivo microfluidico del tipo LOC;
- si sceglie di fabbricare un LOC adatto a realizzare amplificazione di DNA secondo la reazione *Polymerase Chain Reaction* (PCR); questo protocollo biologico è uno dei meglio studiati tra quelli che richiedono passaggi termici complessi e costituisce un riferimento affidabile e commercialmente interessante per la fase di verifica;
- il profilo termico richiesto nella termociclatura della reazione PCR richiede il passaggio attraverso tre temperature e una ripetizione per 45 cicli;
- la prova è considerata di esito positivo se i compositi caricati con CNTs mostrano un risultato migliore (aumento di efficienza del dispositivo e/o riduzione dei tempi richiesti) nell'amplificazione

di DNA rispetto al materiale in PDMS puro. La verifica avviene attraverso corsa elettroforetica.

Il PDMS è un polimero elastomerico, disponibile commercialmente come prodotto bi-componente. La preparazione del dispositivo avviene attraverso i seguenti passi:

- miscelazione del polimero con un agente reticolante;
- primo degasaggio;
- passaggio in stampo, in cui si versa la miscela in uno stampo con geometria duale rispetto a quella dell'oggetto che si vuole ottenere;
- secondo degasaggio;
- riscaldamento in stampo per reticolazione ad una temperatura compatibile con quella del materiale che forma lo stampo stesso (usualmente 75°C per 45 minuti).

Nella preparazione del composito a scopo dimostrativo con matrice in PDMS si procede all'inserimento dei nanotubi di carbonio. La quantità di CNTs viene calcolata come percentuale in peso. La miscelazione avviene prima nell'agente reticolante (1 parte in peso dell'elastomero finale) e successivamente nel polimero (10 parti in peso dell'elastome-

ro finale).

La miscelazione è eseguita per via manuale in modo da promuovere componenti meccaniche di taglio che favoriscano la dispersione dei nanotubi di carbonio (ad esempio mediante pestello e mortaio), per un totale di un'ora circa di trattamento. Il composito così ottenuto viene colato negli stampi, sottoposto ad un secondo degasaggio e infine ad eventuale riscaldamento per promuovere la reazione di reticolazione che altrimenti viene condotta a temperatura ambiente. Il campione è quindi estratto dallo stampo e può essere utilizzato.

I campioni preparati nel punto 1 hanno forma quadrata di lato 1 cm e spessore pari a 1 mm. La caratterizzazione avviene utilizzando un termociclatore, in cui si imposta la sequenza termica riportata nel punto 1 e si misura in tempo reale l'effettiva temperatura del materiale.

La misura di temperatura avviene attraverso una termocoppia, posta sulla superficie del campione (non a contatto con il riscaldatore).

Si sceglie di variare la temperatura del materiale secondo il profilo termico riportato nella Tabella 1, con il passaggio attraverso tre temperature e la ripetizione per quindici cicli. Si con-

frontano i profili termici ottenuti per un campione di PDMS puro (composizione 10:1), un campione con una carica di CNTs dello 0,1% in peso ed un campione con una carica di CNTs dello 0,5% in peso.

Il profilo termico del riscaldatore è misurato ponendo la termocoppia direttamente a contatto con il termociclatore. Il risultato dell'analisi è mostrato in Fig. 3.

Tabella 1: protocollo termico adottato per l'amplificazione del gene ABL.

Mantenimento	95°C	300 s	
Step 1	95°C	20s	15 cicli
Step 2	55°C	20s	
Step 3	72°C	20s	
Final elongation	72°C	60 s	

RIVENDICAZIONI

1. Dispositivo microfluidico comprendente almeno un primo ed un secondo substrato, definenti congiuntamente un canale microfluidico, caratterizzato dal fatto che uno o entrambi di detti substrati sono formati integralmente da un materiale plastico composito, includente una matrice polimerica in cui sono dispersi nanotubi di carbonio.

2. Dispositivo microfluidico secondo la rivendicazione 1, caratterizzato dal fatto che detto materiale composito comprenda dallo 0.1% al 10% in peso di nanotubi di carbonio.

3. Dispositivo microfluidico secondo le rivendicazioni 1 o 2, caratterizzato dal fatto che detto materiale polimerico di matrice è scelto dal gruppo che consiste di elastomeri termoplastici, tra cui in particolare polidimetilsilossano, perfluoroetilene, poliisoprene, polibutadiene, poliisobutilene, poliisoprene alogenato, polibutadiene alogenato, poliisobutilene alogenato, termopolimeri EPDM (etilene-propilene-diene), copolimeri stirenici a blocchi o leghe elastomeriche.

4. Dispositivo microfluidico secondo la rivendicazione 3, caratterizzato dal fatto che è formato integralmente da polidimetilsilossano includente da

0,1% a 10% in peso di nanotubi di carbonio.

5. Impiego di un dispositivo microfluidico secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 4, per la realizzazione di saggi comprendenti operazioni di termociclatura.

6. Impiego secondo la rivendicazione 5, per la realizzazione di saggi di PCR (Polymerase Chain Reaction).

I0138585

RIASSUNTO

Un dispositivo microfluidico comprende almeno un primo ed un secondo substrato, definenti congiuntamente un canale microfluidico. Detti substrati sono formati integralmente da un materiale plastico composito, includente una matrice polimerica in cui sono dispersi nanotubi di carbonio.

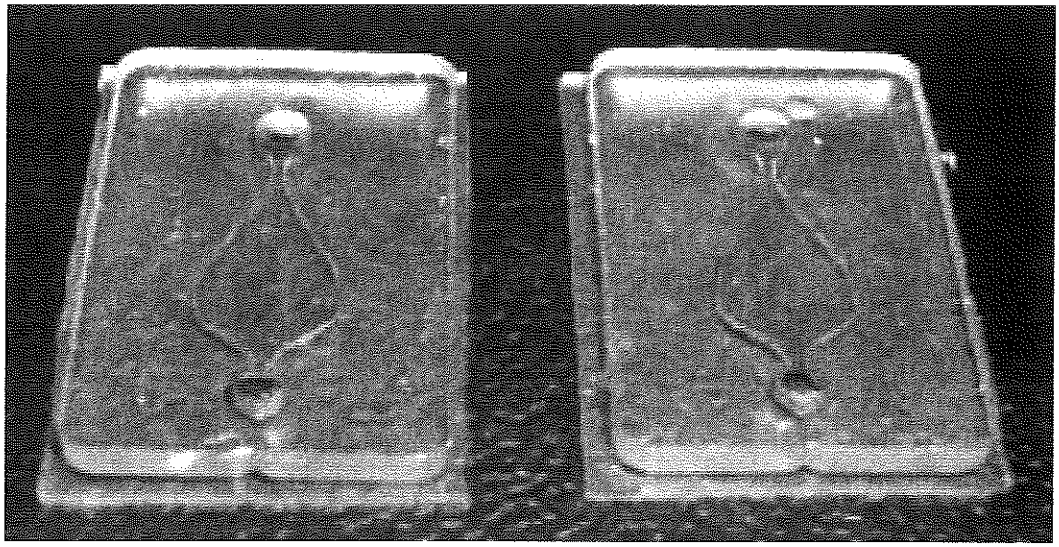

fig. 1

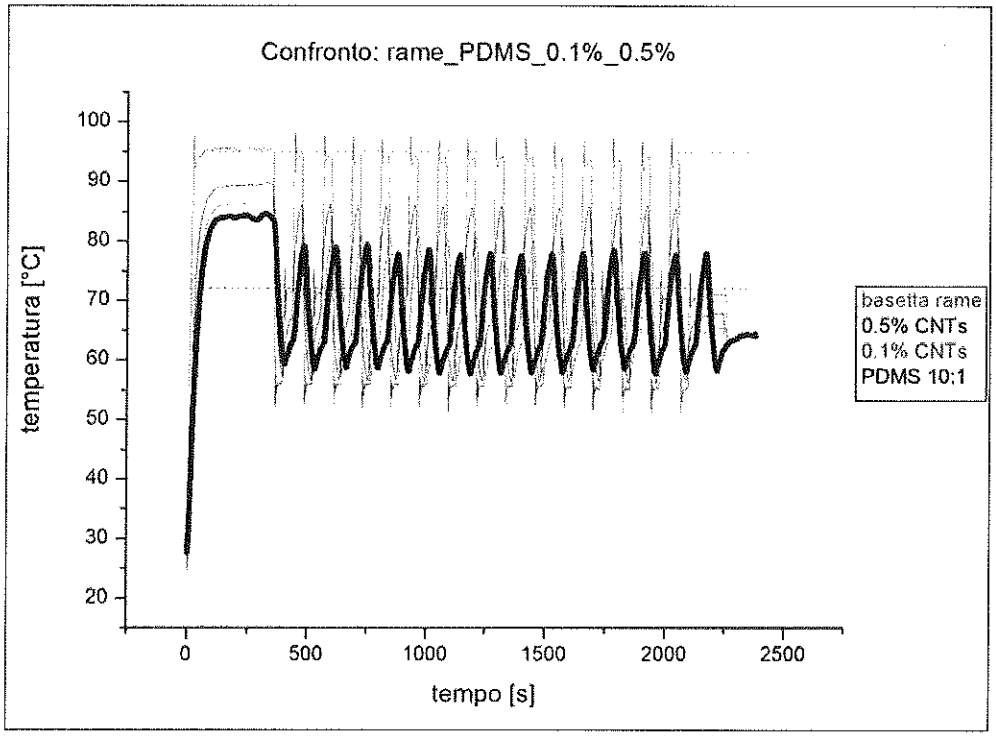
Confronto: rame_PDMS_0.1%_0.5%
temperatura [°C]
100
90
80
70
60
50
40
30
20
0
500
1000
1500
2000
2500
tempo [s]
basetta rame
0.5% CNTs
0.1% CNTs
PDMS 10:1

fig. 2

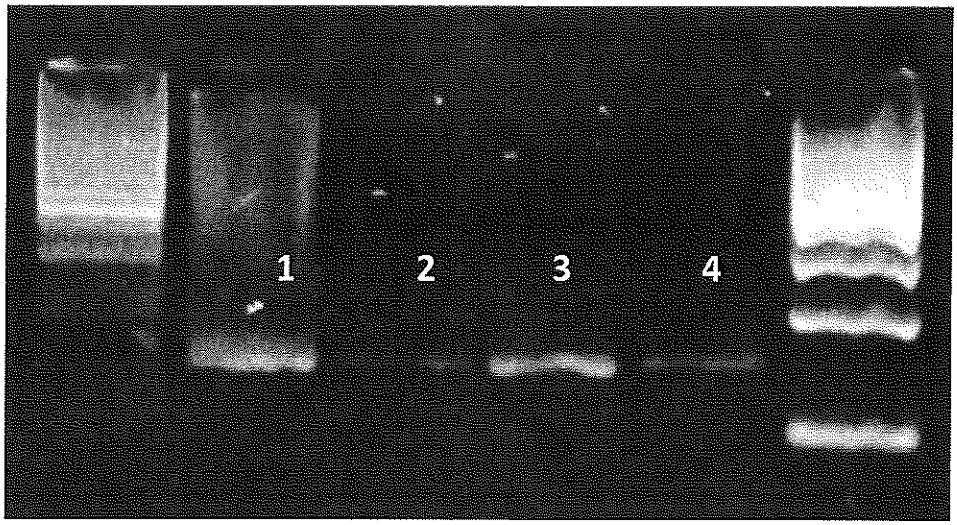

fig. 3