

Prezentarea proiectului: DEZVOLTARI PRIVIND NOI TEHNICI DE INVESTIGATIE IN MICROSCOPIA OPTICA CU BALEIAJ SI APLICATII ALE ACESTORA, Cod CNCSIS 1566

Director de proiect : Prof. Dr. G.A. Stanciu
Centrul de Microscopie – Microanaliza si Procesarea Informatiei

1.. Importanta si relevanta continutului stiintific

Este cunoscut ca limitarile microscopiei optice conventionale sunt date de rezolutie (limitata de difractie) si de puterea de patrundere (limitata de lungimea de unda a radiatiei utilizate). Descoperirea microscopiei confocale[1] bazata pe excitatia cu radiatie laser a reprezentat un urias salt in microscopia optica datorita imbunatatirii rezolutiei si cresterii adancimii de patrundere in proba a radiatiei. La momentul de fata microscopia cu baleaj laser reprezinta o metoda de investigatie plasata in topul metodelor optice. Microscopia confocala cu baleaj laser este o metoda foarte raspandita si utilizata cu mare succes in cazul probelor de natura diferita (semiconductorare, biologice, polimeri etc). Marele avantaj al acesteia este legat de posibilitatea de a obtine “seciuni” optice intr-un mod nedistructiv, prin utilizarea unei aperturi plasata in fata detectoarului pentru a elibera lumina care provine din afara planului focal. Metoda prezinta un dezavantaj major, acela al efectelor nedorite ale radiatiei laser asupra probei, in special probe biologice, deoarece tot volumul probei strabatut de radiatia laser este excitat pe durata baleajului. Acest lucru poate fi inlaturat de excitatia cu doi fotoni care apare numai in punctul unde raza laser este focalizata, fiind astfel excitat un volum mult mai mic. Aceleasi avantaje le prezinta si tehnicile microscopice care ar utiliza generarea de armonici, putand oferi informatii suplimentare legate de interfete si suprafete (armonica a treia) sau discontinuitati in volum (armonica a doua).

Pentru a imbunatati rezolutia, metodele neliniare sunt bazate pe o alta abordare decat utilizarea unei aperturi. Astfel excitatia apare numai la absorbtia a mai mult de un foton. Aceste fenomene neliniare au proprietatea de a excita volume foarte mici, ceea ce duce la imbunatatirea rezolutiei spatiale[1].

Procesele optice neliniare sunt procese legate de interactiunea luminii laser de mare intensitate cu materia. Procesele optice neliniare care se vor afla la baza studiilor ce vor fi efectuate in cadrul proiectului pe care il propunem sunt excitatia cu doi fotoni (TPE - *Two Photon Excitation*), generarea armonicilor a doua (SHG – *Second Harmonic Generation*), respectiv generarea armonicilor a treia (THG – *Third Harmonic Generation*).

Interesul pentru aceste tehnici survine din faptul ca au o adancime de patrundere mai mare (posibilitatea folosirii lungimilor de unda din infraroșu apropiat), eficienta de interactie ridicata daca se folosesc laseri cu pulsuri foarte scurte si eficienta imbunatatita a detectiei optice care provine din faptul ca nu este necesara o apertura suplimentara. Toate aceste avantaje apar insa si in cazul fluorescentei excitate cu fotoni multiplii, (*MPF – Multi-Photon excited Fluorescence*) din care face parte TPE, aceasta este insa un proces rezonant care implica absorbtia simultana a mai multi fotoni cu energie mica ceea ce duce la excitare electronica urmata de emisie fluorescenta depinzand de configuratia moleculara (simetrie si orientare) si cu un timp de intarziere dependent de timpul de viata al starii excitate. SHG si THG au natura electronica si deci nu sunt procese rezonante. In cazul generarii de armonici, mai multi fotoni (doi sau trei) de aceeasi frecventa se unesc prin stari virtuale pentru a forma un foton cu exact dublul/triplul frecventei initiale. Fotonul astfel generat prin armonica a doua/treia apare aproape instantaneu

(intarziere de ordinul femtosecundelor), astfel incat semnalul generat este coherent si este emis in general in aceeasi directie cu unda incidenta.

TPE este o tehnica de imagistica prin care se detecteaza fluorescenta produsa de excitatia probei cu doi fotoni care se cupleaza. Probabilitatea de cuplare a doi fotoni este foarte mica si din aceasta cauza este necesara o intensitate ridicata a radiatiei laser incidente, lucru realizabil prin utilizarea unui laser in pulsuri. Mai mult acest fenomen are loc in punctul de focalizare al laserului, unde numarul de fotoni este ridicat, ceea ce duce totodata la excitarea unui volum mic din proba, inlaturandu-se astfel efecte nedorite.

Conceptul a fost introdus pentru prima data de Maria Goppert-Mayer in teza sa de doctorat din 1931. Primele idei legate de microscopia cu excitatie cu doi fotoni au aparut in anii '90, fiind introduse de Winfried Denk de la Universitatea Cornell[2].

Tehnicile conventionale de fluorescenta excitata cu un singur foton folosesc lungimi de unda mici (deobicei ultraviolet, albastru, verde) pentru a excita fluoroforii din celulele marcate care emit sub forma de fluorescenta o radiatie cu lungimea de unda mai mare care formeaza imaginea. Acest lucru prezinta o serie de dezavantaje care restrictioneaza aplicabilitatea acestei tehnici si anume: radiatia cu lungime de unda mica duce la decolorare, prezentand fototoxicitate – efecte nedorite asupra probei. Mai mult, din cauza imprastierii lumинii, adancimea de patrundere este redusa la cativa zeci de microni.

Folosirea excitatiei cu doi fotoni inlatura aceste dezavantaje, ducand la cresterea adancimii de patrundere cu pana la un ordin de marime si totodata permite expunerea indelungata la radiatie, efectele nedorite fiind minime.

Microscopia cu excitare cu doi fotoni ofera posibilitatea de obtinere a sectiunilor optice similar cu microscopia confocala, doar ca sectionarea este obtinuta diferit. Daca in microscopia confocala este excitat intreg volumul probei si cu ajutorul unei aperturi este inlaturata radiatia care nu provine din focar, in cazul excitarii cu doi fotoni nu exista semnal din afara planului focal, cuplarea fotonilor avand loc tocmai aici.

Observata pentru prima data de Franken si colaboratorii in 1961[3], SHG este un efect neliniar care apare in materiale polarizabile (materialul nu trebuie sa aiba centru de simetrie), prin care doi fotoni incidenti proveniti de la sursa laser se cupleaza si duc la formarea unui foton cu frecventa dubla fata de cea incidenta. In 1968 Bloembergen a formulat principiile optice neliniare si in special ale SHG. Imagistica folosind armonica a doua a avut aplicatii limitate in microscopie pana nu s-a descoperit o modalitate de a intensifica interactia fasciculului laser cu materia. Acest lucru a fost realizat o data cu aparitia laserilor cu moduri cuplate in anii '80. Puterea ridicata in puls a acestor laseri maximizeaza intensitatea armonicii a doua pentru o putere medie de intrare data.

In 1978 grupul de la Oxford al lui Sheppard[4] a demonstrat modul in care un fenomen optic neliniar ar putea fi incorporat in microscopia cu baleaj laser de inalta rezolutie.

In microscopia cu generare a armonicii a treia (THG este un efect optic neliniar prin care trei fotoni cu aceeasi frecventa se cupleaza si formeaza un foton cu frecventa tripla), lumina aferenta armonicii a treia este generata in punctul focal al unui fascicul laser focalizat. Cand mediul din jurul punctului focal este omogen, undele armonicii a treia generate inainte si dupa punctul focal interfiera in mod distructiv, deci nu exista semnal de armonica a treia. In caz contrar, cand exista un mediu neomogen in apropierea punctului focal, cum ar fi interfata a doua medii, simetria de-a lungul axei optice se sparge si sunt generate unde masurabile de armonica a treia. Datorita naturii neliniare, semnal de armonica a treia este generat doar in proximitatea punctului focal. In consecinta, se obtine un nivel ridicat al rezolutiei laterale, permitand microscopiei THG

sectionarea probei si constructia imaginilor tridimensionale ale unor probe transparente. Din moment ce toate materialele prezinta susceptibilitati optice de ordin trei, microscopia THG poate fi utilizata ca o tehnica microscopica cu numeroase aplicatii[5].

Ca tehnici microscopice de investigare, microscopia SHG si THG poate fi folosita atat pentru a stabili comportarea optica neliniara a unei probe, prin detectia unui semnal de armonica a doua (sau a treia) provenit de la aceasta in urma iluminarii cu radiatie laser de intensitate mare si totodata, cunoscand caracterul optic neliniar al probei, se pot extrage informatii suplimentare din semnalul de armonicii.

Semnal de armonica a doua detectabil a putut fi obtinut de la o gama larga de probe cum ar fi filme subtiri organice, suprafete metalice[6]. THG este sensibila la campul electric de la suprafata, tensiuni, defecte induse de radiatii, contaminari, rugozitatea interfetei, ceea ce face aceasta tehnica sa fie potrivita pentru a investiga materiale structurate in starturi cum ar fi interfata dintre dielectricul de poarta si semiconductor sau structuri siliciu pe izolator (SOI)[7].

Microscopia cu baleaj in combinatie cu armonica a doua se dovedeste astfel a fi o tehnica potrivita pentru studii ale structurilor mezoscopice. Acest lucru se datoreaza sensibilitatii puternice a armonicii a doua la intreruperea simetriei locale a unei anumite probe. Acesta este si cazul nanocristalelor semiconductoare[8], astfel ca folosind microscopia si armonica a doua se poate pune in evidenta prezenta nanocristalelor in proba investigata prin intreruperea simetriei locale la nivelul probei sau lipsa simetriei in fascicul provenit de la proba.

Investigatiile pe nanocristale de CdS:Mn utilizand un laser cu Cr:fosterite in microscopia cu baleaj au pus in evidenta o puternica generare a armonicii a treia[9].

Generarea de armonici poate fi folosita ca modalitate de detectare a nanoparticulelor metalice si caracterizarea lor din punct de vedere al neliniaritatii optice. Prin modificarea puterii laserului incident se poate demonstra dependenta cubica intre aceasta si intensitatea radiatiei de armonica a treia detectata, evidentiind astfel un comportament optic neliniar. In cazul nanoparticulelor metalice, semnalul de armonica a treia este dependent de dimensiunea nanoparticulelor si de matricea polimerica in care sunt incapsulate.

Utilitatea microscopiei cu generare de armonici nu se limiteaza la stiinta materialelor, ci se extinde si in domeniul stiintelor biologice si medicale. Probele biologice sunt puternic polarizabile si sunt foarte bune pentru a obtine semnale de armonica a doua. SHG nu necesita excitarea moleculelor fluorescente; cum nu sunt implicate stari moleculare excitate, nu apar fenomene de decolorare datorata lumинii (*photobleaching*) sau deteriorare in urma iradierii cu fascicul laser (*phototoxicity*). In concluzie, SHG este avantajoasa in comparatie cu alte metode de imagistica prin fluorescenta in investigarea tesuturilor vii si a celulelor[10].

Pe de alta parte, microscopia THG este o metoda de incredere pentru obtinerea informatiilor structurale pe o varietate extinsa de probe biologice. Natura sa permite imagistica si studiul neomogenitatilor din volum (interfete) fara a avea nici o informatie preliminara despre mediile omogene inconjuratoare.

Rezultatele obtinute la nivel international sunt in marea lor majoritate lipsite de interpretarea rezultatelor, in sensul ca diversele grupuri de cercetare au reusit sa obtina rezultate folosind separat tehnici microscopice prezентate in unele cazuri doar pentru a demonstra caracterul neliniar al probei (investigatiile cu microscopie cu generare de armonici) fara insa a incerca sa puna in valoarea avantajele acestora ca tehnici de imagistica.

Mai mult nu s-a incercat coroborarea rezultatelor obtinute separat fie prin excitatie cu doi fotoni, fie prin generare de armonici pentru a realiza o imagine mai cuprinsatoare asupra probei investigate daca privim cele trei tehnici ca tehnici microscopice ce pot oferi informatii

complementare.

Rezultatele investigatiilor realizate prin intermediul tehniciilor microscopice pot fi imbunatatite prin analiza computationala a datelor achizitionate in format digital. La momentul actual exista doua directii in procesarea imaginilor obtinute in microscopie. O prima categorie de aplicatii incadreaza pe cele ce au ca scop imbunatatirea imaginilor obtinute cu ajutorul tehniciilor microscopice, respectiv eliminarea zgomotului, imbunatatirea unor caracteristici precum luminozitatea sau contrastul[11], inlaturarea efectelor de iluminare parazita, inlaturarea aberatiilor cromatice, imbunatatirea rezolutiei si alte scopuri de aceasi natura. O a doua categorie se refera la detectia, recunoasterea si clasificarea unor componente din imaginile obtinute cu ajutorul microscopelor cu baleaj[11,12]. De multe ori, unele componente continute de imagini pot fi clasificate cu dificultate sau chiar deloc de catre ochiul uman, din cauza formei componentelor, scalei de culori, dimensiunii si asa mai departe.

Tehnicile de microscopie optica neliniara reprezinta elemente inovative in domeniul microscopiei, o consecinta a acestui fapt fiind lipsa tehniciilor de procesare a imaginilor obtinute prin aceste noi metode. Exista la momentul actual rezultate semnificative in domeniul procesarii imaginilor obtinute prin microscopie, rezultate de multe ori vitale in procesul de analiza al elementelor continute in imagine. Aceste metode constituie punctul de plecare, trebuind adaptate la tehniciile pe care dorim sa le dezvoltam.

Pentru a evidenția relevanța acestor tehnici, vom prezenta o serie de rezultate raportate în literatura de specialitate. Aceste rezultate nu sunt obtinute pe imagini obtinute prin tehnici microscopice propuse, pentru a le implementa însă se poate observa cu usurință potentialul enorm pe care l-ar avea adaptarea unor tehnici similare în domeniul care face interesul acestei proponeri. Metode de procesare a imaginilor au fost dezvoltate pentru corecția erorilor continute în imaginile obtinute în microscopia confocală. Aceste erori pot fi introduse în timpul procesului de achiziție a imaginii și a reconstrucției tridimensionale subsecvențe. Gama de corecții ce pot fi implementate prin intermediul algoritmilor software include corecții datorate aberatiilor provenite de la o corelare eronată a indicelui de refracție, atenuarea iluminării în volumul probei, intensitatea discrepanță pe straturile imaginii, sau alinierii defectuase a probei. În literatura de specialitate s-au raportat beneficiile aduse de procedeele de procesare a imaginilor în cazul microscopiei confocale. S-a observat că astfel de procedee pot corecta o gama largă de erori continute în imaginile 2D reprezentând secțiuni pe axa z. Având la bază imaginile corectate se pot construi cu ajutorul acestora imagini tridimensionale compozite care se pretează evaluării obiective a caracteristicilor tridimensionale continute în volumul de interes[13]. Reconstrucția tridimensională realizată software se desfășoară automatizat și rapid. Are loc o procesare a stivelor de imagini și a valorilor pixelilor pentru fiecare strat în parte, iar ulterior o incorporare a acestora într-un obiect tridimensional în funcție de pozițiile lor spațiale. Intensitatea pixelilor dintre două straturi adiacente a fost interpolată pentru ca structura 3D să prezinte un aspect neted. Imaginile tridimensionale astfel reconstruite pot fi rotite pentru a putea fi vizualizate din orice unghi pentru ca structurile morfológice incluse să poată fi observate clar din perspectiva unor proiecții diferite.

O alta tehnică deosebit de importantă raportată în literatura de specialitate se referă la achiziționarea unor imagini a caror calitate să depășească limitările geometrice impuse de dimensiunea pixelilor din cadrul detectorului care realizează achiziția[14]. Acest concept implica proiecția unor modele sablon periodice pe suprafața probei investigate cu ajutorul microscopului. Se combină baleajul spatial cu un algoritm de post-procesare digitală rezultatul fiind o

imbunatatire in rezolutia geometrica. Aceasta metoda se afla la inceput de drum insa reprezinta un element major de interes in domeniul super-rezolutiei geometrice. Aceasta se datoreaza faptului ca in microscopie in multe cazuri rezolutia detectorului este mai mica decat rezolutia necesara pentru a observa elementele de interes datorita limitarilor impuse de fenomenul de difractie. Rezultatele raportate se refera la aplicatii in microscopia cu fluorescenta si in transmisie, obtinandu-se o rezolutie spatiu imbunatatita in cazul in care factorul care impune limitarea este dimensiunea pixelului pusa la dispozitie de detector.

Au fost obtinute rezultate si in domeniul procesarii imaginilor in vederea extragerii informatiilor de interes din imagine. In literatura de specialitate s-au prezentat procedee de extragere a elementelor de interes avand la baza o imagine tridimensională reprezentand vasculatura unui sobolan. S-au extras informatii cantitative precum ar fi skeletonul, lungimea cailor sanguine, diametrul, raportul vas de sange/tesut pentru vase de sange din diferite regiuni precum si pentru ramificatiile acestora. De asemenea s-au generat vizualizari tridimensionale a vaselor de sange din perspectiva posibilitatii vizualizarii caracteristicilor anatomice de interes precum ar fi diametrul vaselor de sange sau conectivitatea in volum. Tehnicile folosite in aceasta metoda sunt : (1) pre-procesarea, (2) analiza dimensională a elementelor structurale, (3) etichetarea si clasificarea elementelor morfologice, (4) cuantificarea, (5) vizualizarea. Informatiile despre structura geometrica a cailor sanguine reflecta o serie de mecanisme fiziologice care au un impact crucial asupra morfologiei vaselor de sange. S-au experimentat acesti algoritmi pe imagini simulate reprezentand cai sanguine ramificate si pe imagini reale obtinute prin intermediul microscopie confocale pe probe reprezentand caile sanguine din creierul sobolanilor. Metodele utilizate au infatisat o puternica rezistenta in fata zgomotelor si a distorsiunilor de hotar datorata faptului ca nu se bazeaza pe sabloane locale ci iau in considerare structura globala a obiectului. Rezultatele experimentale au ilustrat performantele unor astfel de metode si importanta acestora in cadrul analizei imaginilor de interes medical in principal in cazul observarii raspunsului la tratament. In contextul in care tehnici de microscopie care reprezinta subiectul de interes al acestei propuneri au intre aplicatiile directe si studiul probelor biologice, se poate cu usurinta preconiza impactul dezvoltarii unor astfel de tehnici de procesare a imaginii dedicate acestui domeniu.

- [1] C.J.R. Sheppard, A. Choudhury, *Optica Acta*, **24**, 1051-1073 (1977)
- [2] Denk W, Strickler J, Webb W (1990), *Two-photon laser scanning fluorescence microscopy*, Science 248 (4951): 73-6, 1990.
- [3] Franken, P. A., Hill, A. E., Peters, C.W., and Weinreich, G., *Generation of Optical Harmonics*, Phys. Rev. Lett. **7**, p. 118–119 (1961)
- [4] Sheppard C.J.R., Kompfner R., *Resonant scanning optical microscope*, Appl Opt 17:2879–2882 1978
- [5] D. Yelin and Y. Silberberg, *Laser scanning third-harmonic-generation microscopy in biology*, Optics Express, vol. 5, Issue 8, p.169 Publication Date: 10/1999
- [6] F.R.Ausseneegg, A.Leitner and H.Gold, *Optical second-harmonic generation of metal-island films*, 1994
- [7] N.H.Tolk, M.L.Alles, R.Pasternak, X.Lu, R.D.Schrimpf, D.M.Fleetwood, R.P.Dolan, R.Standley, *Oxide interface studies using second harmonic generation*, Microelectronic Engineering 84 (2007) 2089–2092
- [8] Napoleon Thantu, *Second harmonic generation and two-photon luminescence upconversion in glasses doped with ZnSe nanocrystalline quantum dots*, Jurnal of Luminescence 111 (2005), 17-

24, [9]

- [9] *Scanning probe microscopy, luminescence and third harmonic generation studies of elongated CdS:Mn nanostructures developed by energetic oxygen-ion-impact* D. Mohanta, G.A. Ahmed, A. Choudhury, F. Singh, D.K. Avasthi, G. Boyer and G.A. Stanciu, *Eur. Phys. J. Appl. Phys.* 35, 29-36 (2006)
- [10] Lalayan, Asatur A.; Janunts, Edgar A., *Two-photon fluorescence and second harmonic generation phenomena in the ordered tissue*, Proc. SPIE Vol. 4633, p. 69-73, 2003
- [11] Razdan, A., Patel, K., Farnin, G. E., & Capco, D. G. (2001). *Volume visualization of multicolor laser confocal microscope data*. *Computers and Graphics*, 25, 371–382
- [12] Z. Chen, S. Molloi, *Vascular tree object segmentation by deskeletonization of valley courses*, *Comput. Med. Imaging Graphics* 26 (2002) 419
- [13] S. Ko, S. Gunasekaran, *Error correction of confocal microscopy images for in situ food microstructure evaluation*, *Journal of Food Engineering* 79 (2007) 935–944
- [14] Dror Fixler et al., *Pattern projection for subpixel resolved imaging in microscopy*, *Micron* 38 (2007) 115–120

2. Obiectivele proiectului(se specifica clar obiectivele proiectului in contextul stadiului cunoasterii in domeniu, elementele originale vizate si importanta pentru domeniu, impactul estimat al proiectului; daca este cazul se va avea referire la caracterul interdisciplinar)

Scopul proiectului propus este de a utiliza noi tehnici de investigatie bazate pe microscopia cu baleaj laser de inalta rezolutie, care vor fi dezvoltate in cadrul CMMPI, pentru studii in domenii ca: optoelectronica (materiale si nanocristale semiconductoare folosite pentru dispozitive optoelectronice), biologie (probe biologice markate sau autofluorescente, probe biologice care genereaza armonici), biomateriale (se va studia interfata biomaterial- tesut biologic). Pentru atingerea acestui scop propunem utilizarea efectelor neliniare produse de radiatia laser.

Ne propunem ca utilizand o combinatie intre tehniciile curente de investigatie cu baleaj laser si efectele neliniare (excitatie cu doi fotoni, generarea de armonici) sa obtinem noi tehnici de investigare nedistructive, superioare celor actuale in ceea ce priveste adancimea de patrundere, rezolutia optica, cantitatea si calitatea informatiei.

Daca la momentul actual s-a reusit obtinerea de imagini provenite din semnal de armonica a doua sau a treia de la diverse tipuri de probe lipseste cu desavarsire o interpretare cantitativa a acestora. Acestea sunt prezentate ca alternative la modalitatatile curente de fluorescenta, nemaifiind necesara marcarea probelor, insa nu s-a exploatat in totalitate informatia oferita de semnalul neliniar provenit de la proba. Dupa cum am mai spus acest semnal poate oferi detalii legate de proprietatile de material, studii la interfete inaccesibile prin alte metode microscopice nedistructive. Urmam totodata folosirea in paralel a celor trei metode care sa ofera o imagine de ansamblu a probei odata investigata prin toate trei; astfel microscopia cu excitatie cu doi fotoni poate oferi informatii legate de fluorescenta (analiza spectrala) probei cu o rezolutie mai buna decat metodele traditionale, cu o putere de patrundere mai mare si o imprastiere a radiatiei laser mai mica, microscopia cu generarea armonicii a doua ofera informatii legate de discontinuitatile din volumul probei, iar microscopia cu generarea armonicii a treia informatii legate de interfete. Se pot obtine, dupa cum se vede o gama larga de informatii dintr-o singura investigatie, gama care nu a fost exploata pana acum.

Obiectivele proiectului in contextul stadiului cunoasterii in domeniu:

Obiectivul 1: Studii teoretice si experimentale privind utilizarea excitatiei cu doi fotoni in microscopia cu baleaj laser. Studiile efectuate vor viza in special analiza cantitativa a informatiei, in momentul de fata rezultatele fiind legate de analiza calitativa.

Obiectivul 2: Studii si dezvoltari teoretice asupra generarii armonicilor a doua si a treia si asupra posibilitatii folosirii in microscopia cu baleaj laser. Desi teoria privind generarea de armonici este bine pusa la punct, aceasta este slab dezvoltata in cazul utilizarii armonicilor in microscopia cu baleaj laser. Teoria de inceput elaborata de C. Sheppard (ref.4: 8.1) a ramas singulara, astfel incat nu a fost abordata o analiza cantitativa a acesteia.

Obiectivul 3. Sudii teoretice si experimentale asupra materialelor si nanocristalelor semiconductoare utilizand microscopia cu generare de armonici .Rezultatele obtinute pe plan mondial in acest domeniu se rezuma la cateva incercari, cele prezentate de noi (ref. 9: 8.1) fiind de pionierat.

Obiectivul 4. Sudii teoretice si experimentale asupra probelor biologice si a interactiei biomaterial-tesutul biologic, utilizand microscopia cu generare de armonici. Pana in momentul de fata au fost obtinute rezultate legate de aspectul calitativ in cazul probelor biologice, fara a se trece la o analiza cantitativa a informatiei. In ceea ce priveste studiul interfetei bio-nonbio, este necesara o detectie in spate a armonicilor a treia., ceea ce nu s-a obtinut pana in prezent decat in cazul armonicilor a doua.

Obiectivul 5. Dezvoltarea unor metode complexe de investigatii asupra probelor cu diferite simetrii, pe baza complementaritatii metodelor elaborate. Pana in prezent au fost efectuate investigatii bazate pe armonici in mod separat, fara a se studia complementaritatea tehniciilor.

Obiectivul 6. Studii teoretice si experimentale asupra metodelor software de imbunatatire a rezultatelor obtinute in format digital prin intermediul tehniciilor de microscopie neliniara cu baleaj laser. Acest domeniu este total neabordat in literatura.

Obiectivul 7. Diseminarea rezultatelor.

Obiectivele derivate ale proiectului :

- finantarea tinerilor doctoranzi si formarea acestora intr-un domeniu de mare actualitate;
- elaborararea a trei teze de doctorat;
- dezvoltarea legaturilor existente cu partenerii din tara(IMT,INSB, INFPLR, INOE, OPTOELECTRONICA, UB, ICPE)
- rezolvarea unor probleme similare in cadrul grantului european FP7 (aflat in negociere) in cadrul caruia CMMPI este partener, fiind implicat in rezolvarea unor noi probleme de microscopie bazate pe TPE, SHG si THG.**

- dezvoltarea colaborarii cu Institutul de Biofotonica (care va livra probele sol-gel dopate), Laboratoire des Propriétés Optiques des Matériaux et Applications (care va livra probele de DNA), intarirea colaborarii cu Laboratoire cu care CMMPI colaboreaza la investigatii asupra probelor de DNA, cu **Department of Physics of University of Balikesir, care va livra filmele semiconductoare si Department of Physics (Tezpur University-India), care va furniza nanocristale semiconductoare;**

- publicatii in reviste cotate ISI;

Literatura prezentata la 8.1 si lucrările prezentate in CV-ul directorului de proiect evidențiază într-un mod clar situația în lume, care relevă faptul că în momentul de fata cercetările în domeniile abordate sunt la nivel de analiză calitativă.

Elementele originale vizate si importanta pentru domeniu

Sunt vizate a se obține **elemente originale** in cateva domenii.

- Primul element cel al tehniciilor de investigație. Se urmărește elaborarea de noi metode de

detectie a efectelor neliniare. Astfel se va incerca detectia armonicilor in radiatia intoarsa (detectia pe drumul razei incidente), ceea ce ar fi foarte folositor in cazul probelor groase.

• In ceea ce priveste materialele investigate avem doua tinte: a) sa gasim noi materiale care sa genereze armonici in mod eficient (materiale si nanocristale semiconductoare) si b) sa stabilim metode de investigatie asupra structurii materialelor pe baza analizei armonicilor generate de radiatia laser.

• Un alt domeniu vizat este cel al procesarii imaginilor. Vom urmari obtinerea de informatii suplimentare asupra structurii materialelor prin procesarea imaginilor (a se vedea activitatile ob.1 din 2011, care pot fi considerate in totalitate elemente originale).

Consideram ca realizarea obiectivelor propuse, ar avea o deosebita importanta in domeniile: fizica aplicata (elaborarea de noi tehnici de investigatie asupra proprietatilor materiei si descoperirea a unor noi materiale cu aplicatii in fotonica), optoelectronica (studii asupra proprietatilor optice de suprafata si volum ale materialelor si nanocristalelor semiconductoare), biologie (studii asupra structurii celulare pe baza efectelor neliniare), tehnologiei informatiei (elaborarea de noi tehnici de analiza a imagilor).

Impactul proiectului.

Proiectul se adreseaza cercetatorilor care lucreaza in domeniile: optoelectronica, fizicii aplicate, fotonica, biologiei, materialelor si nanomaterialelor semiconductoare, domenii aflate intr-un continuu.

Impact asteptat

- Solutiile gasite vor deasupra a ceea ce se cunoaste in momentul de fata, astfel:
 - Se vor gasi noi metode de investigatie bazate pe efecte optice neliniare in Microscopia cu baleaj si vor fi elaborate noi modele fizice;
 - Vor fi gasite noi materiale si nanocristale semiconductoare geneartoare de armonici, cu aplicatii in optoelectronica si fotonica;
 - Vor fi evaluate proprietatile structurale ale materialelor si nanocristalelor semiconductoare si a probelor biologice pe baza studiului efectelor neliniare;
 - Vor fi elaborate mai multe lucrari stiintifice care vor contribui la cresterea prestigiului CMMPI si al UPB;
 - vor fi atrasi mai multi studenti in activitate de cercetare;
 - Vor fi create bazele extensiei cercetarilor la domenii precum: biosensori, biofotonica, aplicatii medicale (studii de celule);
 - Vor fi create legaturi stranse cu laboratoarele din tara (care vor furniza probe) si cu cele din afara, care vor contribui la realizarea proiectului;

Impactul proiectului asupra CMMPI:

- se vor finaliza tezele de doctorat ale doctoranzilor implicați în proiect;
- va crește atractivitatea CMMPI, pentru studentii din anii terminali și la master;
- va crește prestigiul CMMPI;
- pe baza noilor metode elaborate și a rezultatelor legate de utilizarea armonicilor în studii asupra proprietăților materialelor, va fi posibilă elaborarea de noi proiecte de cercetare și va crește atractivitatea CMMPI în ceea ce privește participarea la consorții în programele naționale sau europene.

Proiectul are un evident caracter interdisciplinar, pentru realizarea sa fiind nevoie de cunostinte solide de fizica, electronica cuantica (laseri), optoelectronica, fotonica, biologie. Potentialele rezultate ar fi importante pentru toate aceste domenii.

3. Planul de realizare al proiectului

An *	Obiective (Denumirea obiectivului)	Activitati asociate
2009	<p>Studii teoretice si experimentale privind utilizarea excitatiei cu doi fotoni in microscopia cu baleaj laser.</p>	<p>1.1. Abordare teoretica a utilizarii excitatiei cu doi fotoni in microscopia cu baleaj laser si stabilirea avantajelor fata de metodele curente (excitatie cu un foton).</p> <p>1.2. Utilizarea microscopiei cu baleaj laser bazata pe excitatia cu doi fotoni pentru studii pe materiale semiconductoare.</p> <p>1.3. Investigatia nanostructurilor semiconductoare prin microscopia cu baleaj bazata pe excitatia cu doi fotoni.</p> <p>1.4. Investigatii asupra probelor biologice marcate sau autofluorescente.</p> <p>1.5. Investigatii asupra materialelor poroase (sol-gel), in vederea stabilirii unei metode de identificare a localizarii 3D si a comportamentului substantelor fluorescente.</p> <p>1.6. Evaluare rezultatelor experimentale in vederea stabilirii avantajelor metodei pentru domeniile abordate (materiale si nanocristale semiconductoare, probe biologice).</p> <p>1.7. Dezvoltarea unor tehnici optime de procesare digitala a imaginilor obtinute prin excitatie cu doi fotoni.</p> <p>1.8 Participari la conferinte in domeniu</p> <p>1.9 Stagiul de pregatire si de cercetare doctoranzi in LAMBS: Laboratory Advanced Microscopy Bioimaging Spectroscopy, University of Genoa</p> <p>1.10 Stagiul de cercetare-documentare de o saptamana la Laboratoire des Proprietes Optiques des Materiaux et Applications (POMA), Universitatea din Angers</p> <p>1.11 Stagiul de pregatire si cercetare, Departamentul de Optica, Universitatea din Valencia</p>
	<p>1</p> <p>2</p> <p>Studii si dezvoltari teoretice asupra generarii armonicilor a doua si a treia si asupra posibilitatii folosirii in microscopia cu baleaj laser.</p>	<p>2.1. Studiu teoretic asupra generarii armonicilor in diverse materiale corespunzatoare din punct de vedere al simetriei.</p> <p>2.3. Realizarea unui sistem de investigatie cu generare de armonici folosind un microscop cu baleaj laser si un laser in IR cu impulsuri ultrascurte (femtosecunde).</p>

		<p>2.4 Stagiu de pregatire si cercetare, Universitatea din Tezpur</p> <p>2.5 Stagiu de cercetare la Departamentul de Fizica din Universitatea din Balikesir</p> <p>2.6 Documentare-cercetare la Institutul de Biofotonica Universitatea Nationala Yang-Ming, Taiwan</p> <p>2.7 Participari la conferinte in domeniu</p> <p>2.8 Initierea paginii web a proiectului.</p> <p>2.9. Diseminarea rezultatelor etapei.</p>
2010	1	<p>Sudii teoretice si experimentale asupra materialelor si nanocristalelor semiconductoare utilizand microscopia cu generare de armonici.</p> <p>3.1 Utilizarea armonicilor generate de radiatia laser in microscopia cu baleaj pentru studii asupra materialelor semiconductoare urmarind neomogenitatii in structura probelor in volum si la interfete.</p> <p>3.2 Utilizarea armonicilor generate de radiatia laser in microscopia cu baleaj pentru studii asupra nanocristalelor semiconductoare plasate in filme polimerice</p> <p>3.3 Compararea rezultatelor obtinute prin investigatii folosind armonicile a doua si a treia cu cele obtinute prin excitatie cu doi fotoni; evidențierea avantajelor metodelor.</p>
		3.4 Participari la conferinte in domeniu
		3.5 Stagiu de pregatire si de cercetare doctornazi in LAMBS: Laboratory Advanced Microscopy Bioimaging Spectroscopy, University of Genoa
		3.6 Stagiu de cercetare-documentare de o saptamana la Laboratoire des Proprietes Optiques des Materiaux et Applications (POMA), Universitatea din Angers
		3.7 Stagiu de pregatire si cercetare, Universitatea din Valencia

		Sudii teoretice si experimentale asupra probelor biologic si a interactiei biomaterial-tesutul biologic, utilizand microscopia cu generare de armonici.	4.1 Utilizarea armonicilor generate de radiatia laser in microscopia cu baleaj pentru studii asupra probelor biologice
	2		4.2 Utilizarea armonicilor generate de radiatia laser in microscopia cu baleaj pentru studii asupra interactiei biomaterial-tesut (nonbio-bio).
			4.3 Compararea rezultatelor obtinute prin investigatii folosind armonicile a doua si a treia cu cele obtinute prin microscopie confocala si microscopie bazata pe excitatie cu doi fotoni; evidențierea avantajelor si dezavantajelor metodelor.
			4.4. Dezvoltarea unor tehnici optime de procesare digitala a imaginilor obtinute prin microscopie cu generare de armonici.
			4.5 Stagiu de pregatire si cercetare, Universitatea din Tezpur
			4.6 Stagiu de cercetare la Departamentul de Fizica din Universitatea din Balikesir
			4.7 Documentare-cercetare la Institutul de Biofotonica, Universitatea Nationala Yang-Ming, Taiwan
			4.8. Diseminare: elaborare publicatii, participari la conferinte, seminar.
			4.9. Actualizarea paginii web.
2011	1	Dezvoltarea unor metode complexe de investigatii asupra probelor cu diferite simetrii, pe baza complementaritatii metodelor elaborate.	5.1. Analiza teoretica si experimentalala a complementaritatii metodelor bazate pe efecte nelineare.
			5.2 Analiza comparativa a utilizarii metodelor complementare in investigatii pe probe semiconductoare (materiale si nanocristale).
			5.3. Analiza comparativa a utilizarii metodelor complementare in investigatii pe probe biologice si interactiile acestora cu biomaterialele (suprafete, interfete si volum).
			5.4 Stagiu de pregatire si de cercetare doctornazi in LAMBS: Laboratory Advanced Microscopy Bioimaging Spectroscopy, University of Genoa
			5.5 Stagiu de cercetare-documentare de o saptamana la Laboratoire des Propriet es Optiques des Materiaux et Applications (POMA), Universitatea din Angers

		5.6 Stagiu de pregatire si cercetare, Departamentul de Optica, Universitatea din Valencia
		5.7 Participari la conferinte in domeniu
2	Studii teoretice si experimentale asupra metodelor software de imbunatatire a rezultatelor obtinute in format digital prin intermediul tehnicilor de microscopie neliniara cu baleaj laser.	<p>6.1 Stabilirea unor corespondente intre metodele de procesare a imaginilor folosite in cadrul tehnicilor clasice de microscopie si cele dezvoltate in cadrul proiectului.</p> <p>6.2 Stabilirea unor seturi optime de decizii pentru algoritmii de procesare a imaginilor dedicati tehnicilor microscopice dezvoltate in cadrul proiectului.</p> <p>6.3 Dezvoltarea, adaptarea si optimizarea metodelor de filtrare spatiala a imaginilor pentru convolutia imaginilor obtinute prin intermediul tehnicilor microscopice dezvoltate in cadrul proiectului.</p> <p>6.4. Dezvoltarea, adaptarea si optimizarea unor tehnici de filtrare frecventiala bazate pe metode Fourier in vederea procesarii imaginilor obtinute prin intermediul tehnicilor microscopice dezvoltate in cadrul proiectului.</p> <p>6.5. Dezvoltarea unor metode de procesare digitala a imaginilor in vederea depasirii limitelor de rezolutie impuse de arhitectura sistemelor microscopice dezvoltate in cadrul proiectului. (Super-rezolutie)</p> <p>6.6. Dezvoltarea unor metode computerizate de detectie a informatiilor de interes incluse in datele de format digital obtinute prin intermediul tehnicilor microscopice dezvoltate in cadrul proiectului.</p>
		<p>6.7 Stagiu de pregatire si cercetare, Universitatea din Tezpur</p> <p>6.8 Stagiu de cercetare la Departamentul de Fizica din Universitatea din Balikesir</p> <p>6.9 Documentare-cercetare la Institutul de Biofotonica Universitatea Nationala Yang-Ming, Taiwan</p> <p>6.10 Participari la conferinte</p>
3	Diseminarea rezultatelor obtinute in cadrul proiectului	<p>7.1. Diseminarea rezultatelor: seminar, workshop, publicatii, participari la conferinte, CD de prezentare.</p> <p>7.2. Publicarea unui volum (carte) de prezentare a rezultatelor teoretice si experimentale obtinute.</p> <p>7.3 Actualizarea paginii web.</p>

PN-II-ID-PCE-2008-2**2009***Codul CNCSIS al proiectului finantat
Se completeaza de catre directorul de proiect**Anul raportarii*

RAPORT ANUAL DE ACTIVITATE

1. Date personale ale directorului de proiect :

1.1. Nume:	STANCIU
1.2. Prenume:	GHEORGHE
1.3. Telefon:	021 4029110
1.4. E-Mail:	stanciu@physics.pub.ro

2. Institutia gazda a proiectului:

2.1. Denumire Institutie:	UNIVERSITATEA POLITEHNICA BUCURESTI
2.2. Facultate/ Department:	CENTRUL DE MICROSCOPIE-MICROANALIZA SI PRELUCRAREA INFORMATIEI
2.3. Telefon:	021 4029110
2.4. E-Mail:	stanciu@physics.pub.ro

3. Titlul proiectului:**(Max 200 caractere)**

DEZVOLTARI PRIVIND NOI TEHNICI DE INVESTIGATIE IN MICROSCOPIA CU BALEIAJ LASER SI APlicatii ALE ACESTORA

4. Incadrarea proiectului in domeniile de expertiza:

COD COMISIE	COD SUBCOMISIE	COD DOMENIU
2	2C	32

5. Durata proiectului (3 ani) :**36**

de luni

6. Anul pentru care se face raportarea:**1****7. Valoarea aprobată pentru finanțarea proiectului în anul de raportare:****80094**

lei

8. Modul de utilizare a bugetului:
 (cheltuieli reale efectuate din devizul postcalcul)

NR. CRT	DENUMIRE CAPITOL BUGET	VALOARE 2009 (LEI)
1.	CHELTUIELI DE PERSONAL - max. 60%	53675
2.	CHELTUIELI INDIRECTE (regie)	13419
3.	MOBILITATI (se asigură participarea la stagii de documentare-cercetare în tara și în strainatate, participă la manifestări științifice naționale și internaționale)	7968
4.	CHELTUIELI DE LOGISTICA pentru derularea proiectului (infrastructura de cercetare, cheltuieli materiale, diseminare etc.)	5032
	TOTAL	80093

9. Obiectivele proiectului pentru anul de raportare:

Obiective prevazute (Anexa IIa/Contractul de finanțare)		Obiective realizate	Gradul de realizare*	Observații**
1	Studii teoretice și experimentale privind utilizarea excitării cu doi fotoni în microscopia cu baleaj laser.	Studii teoretice și experimentale privind utilizarea excitării cu doi fotoni în microscopia cu baleaj laser.	total	
2	Sudii teoretice și experimentale asupra materialelor și nanocristalelor semiconductoare utilizând microscopia cu generare de armonici	Sudii teoretice și experimentale asupra materialelor și nanocristalelor semiconductoare utilizând microscopia cu generare de armonici	total	
3				

* total / parțial / nerealizat

** Pentru obiectivele realizate parțial sau nerealizate se argumentează

10. Activitatile proiectului pentru anul de raportare:

Activitati prevazute (Anexa IIa/Contractul de finanțare)		Activitati realizate	Gradul de realizare*	Observatii**
1	Abordare teoretica a utilizarii excitării cu doi fotoni în microscopia cu baleaj laser și stabilirea avantajelor fata de metodele curente (excitație cu un foton). Mobilitati la Romopto (SIBIU)	Abordare teoretica a utilizarii excitării cu doi fotoni în microscopia cu baleaj laser și stabilirea avantajelor fata de metodele curente (excitație cu un foton).	parțial	S-a transmis o lucrare la Romopto, dar din lipsa de fonduri participarea a fost anulată.

2	Utilizarea microscopiei cu baleaj laser bazata pe excitatia cu doi fotoni pentru studii pe materiale semiconductoare, urmarind spectrele de fluorescenta.	Utilizarea microscopiei cu baleaj laser bazata pe excitatia cu doi fotoni pentru studii pe materiale semiconductoare, urmarind spectrele de fluorescenta.	total	
3	Elaborarea paginii web a proiectului. Diseminarea rezultatelor. Mobilitati la ICTON 2009. Mobilitate Albero Diaspro la Bucuresti	Elaborarea paginii web a proiectului. Diseminarea rezultatelor. Mobilitate la ICTON 2009.	partial	Lipsa de fonduri
4	Investigatia nanostructurilor semiconductoare prin microscopia cu baleaj laser bazata pe excitatia cu doi fotoni. Studiul spectrului de emisie	Investigatia nanostructurilor semiconductoare prin microscopia cu baleaj laser bazata pe excitatia cu doi fotoni. Studiul spectrului de emisie	total	
5	Investigatii asupra probelor biologice markate sau autofluorescente, pentru a evidenta avantajele metodei fata de microscopia confocala. Mobilitati la conferinta Microscopy and Analysis (SUA), INDLAS 2009 (Sibiu)	Investigatii asupra probelor biologice markate sau autofluorescente, pentru a evidenta avantajele metodei fata de microscopia confocala.	partial	Mobilitatile nu s-a efectuat din lipsa de fonduri
6	Investigatii asupra materialelor poroase (sol-gel), in vederea stabilirii unei metode de identificare a localizarii 3D si a comportamentului substantelor. Mobilitate la LAMBS (Universitatea din Genoa)	Investigatii asupra materialelor poroase (sol-gel), in vederea stabilirii unei metode de identificare a localizarii 3D si a comportamentului substantelor.	partial	Moilitatea nu s-a efectuat din lipsa de fonduri
7	Evaluarea rezultatelor experimen-tale in vederea stabilirii avantajelor metodei pentru domeniile abordate (materiale si nanocristale semiconductoare, probe biologice).	Evaluarea rezultatelor experimentale in vederea stabilirii avantajelor metodei pentru domeniile abordate (materiale si nanocristale semiconductoare, probe biologice).	total	
8				
9				

* total / partial / nerealizat

** Pentru obiectivele realizate parțial sau nerealizate se argumenteaza

11. Rezultate livrate in anul de raportare :

Rezultate prevazute (Anexa IIa/Contractul de finantare)		Rezultate livrate	Gradul de realizare*	Observatii**
1	Metode de investigatie prin microscopia cu doi fotoni (probe semiconductoare si biologice)	Metode de investigatie prin microscopia cu doi fotoni (probe semiconductoare si biologice)	total	

2	Procesari digitale ale imaginilor obtinute prin tehnici de imagistica bazate pe excitatia cu fotoni multipli si pe armonica a doua in microscopia cu baleaj laser - Comparatie intre metodele ce utilizeaza excitatia cu doi fotoni si respectiv armonica a doua in microscopia cu baleaj laser.	Procesari digitale ale imaginilor obtinute prin tehnici de imagistica bazate pe excitatia cu fotoni multipli si pe armonica a doua in microscopia cu baleaj laser	total	
3	Publicare de lucrari stiintifice. Infiintarea paginii web a proiectului	Publicare de lucrari stiintifice. Infiintarea paginii web a proiectului	total	

* total / parcial / nerealizat

** Pentru obiectivele realizate parcial sau nerealizate se argumenteaza

12. Criterii de performanta:

Criterii de performanta	NUMAR (Prevazut)	NUMAR (Realizat)	Denumire*	Observatii**
Articole acceptate spre publicare în reviste indexate ISI	3	3	<p>Stefan G. Stanciu , George A. Stanciu Dinu Coltuc, Automated compensation of light attenuation in confocal microscopy by exact histogram specification, MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE 10, (2009), ISSN: 1097-0029, OCLC: 37997433- publicata</p> <p>Stefan Stanciu, Radu Hristu, Radu Boriga and George Stanciu, On the invariance of local features to image modifications introduced by specific acquisition parameters of CSLM, Microscopy and Microanalysis, - acceptata cu refacere minora</p> <p>M. Elisa, B. Savu, S. Peretz and G.A. Stanciu, Cadmium sulphide nanoparticles embedded in polymeric matrices, JOURNAL OF OPTOELECTRONICS AND ADVANCED MATERIALS, Vol. 11, No. 12, December 2009, p. 2098 - 2104</p>	Din lipsa de fonduri colaborarea cu partenerul italian a fost practic inexistentă, astfel incat numarul preconizat de lucrari s-a redus.
Articole acceptate spre publicare în reviste indexate în baze de date internaționale	2	5	<p>G. A. Stanciu, C. Stoichita, S.G. Stanciu, Scanning Laser Microscopy: From Far Field to Near Field, Proceedings of the International Conferences on Transparent Optical Networks, ICTON2009, Ponte Delgada, ISBN978-1-4244-4826-5</p> <p>Stefan G. Stanciu, Radu Hristu, Radu Boriga and George Stanciu, Feature Based Recognition of Photonic Devices in Images Obtained by Confocal Scanning Laser Microscopy, Proceedings of the ICTON2009, ISBN978-1-4244-4826-5</p> <p>C. Stoichita, R. Hristu, S. G. Stanciu and G. A. Stanciu, Near field investigations based on a new apertureless near field optical</p>	

			microscope, Proceedings of the ICTON - MW' 2009, S.G. Stanciu, D. Coltuc, R. Hristu, C. Stoichita, G.A. Stanciu, Image fusion for photonic quantum ring laser structures investigated by confocal scanning laser microscopy, Proceedings of the ICTON - MW' 2009,	
Cereri de brevete nationale depuse	0	0		
Cereri de brevete internationale depuse	0	0		

* Structura informatiilor pentru articole: autor, titlu, revista, an, pagina

** Pentru criteriile de performanta nerealizate se argumenteaza

13. Publicatiile sau rezultatele aparute si raportate in urma cercetarii finantate de la bugetul de stat prin UEFISCSU au mentionat numele finantatorului si numarul de contract:

(Selectati)

14. Adresa paginii de internet realizate, privind proiectul in derulare:

www.cmmip.ro

15. Au fost prevazute in Cererea de finantare pozitii vacante pentru cercetatorii in formare, in anul 2009:

Lista noilor membri ai echipei de cercetare: (daca locurile vacante au fost ocupate in anul de raportare)

Nr. crt.	Nume si prenume	Anul nasterii	Titlul didactic/stiintific *	Doctorat **	Semnatura
1					
2					
3					
4					

* La “Titlu didactic/stiintific” selectati una din variantele:

Profesor / Conferentiar / Lector / Asistent / CS I / CS II / CS III / Cercetator

** La “Doctorat” selectati una din variantele: DA /NU / Doctorand

In situatia in care Directorul de proiect nu este si coordonatorul lor de doctorat, trebuie sa existe acordul coordonatorilor de doctorat.

16. Nerealizari/dificultati intampinate in derularea proiectului, in anul de raportare:

Nerealizarile si dificultatile intampinate in anul de raportare au fost legate de reducerea semnificativa a fondurilor, in rapport cu suma alocata initial.

17. Sugestii privind raportarea:

--

**PRIN ACEASTA SE CERTIFICA LEGALITATEA SI CORECTITUDINEA
DATELOR CUPRINSE IN PREZENTUL RAPORT ANUAL DE ACTIVITATE**

DATA: 4.12.2009

RECTOR/DIRECTOR,

Nume, prenume: Prof. Andronescu Ecaterina
Semnatura:
Stampila

DIRECTOR EC./CONTABIL SEF

Nume, prenume: Ec. Adamescu Dorina
Semnatura:

DIRECTOR DE PROIECT,

Nume, prenume: PROF. GHEORGHE STANCIU
Semnatura

* **Va rugam sa nu folositi caracterul ghilimele in completarea formularului.**