

MIKROFLUIDIKA

MATIC NOČ

Fakulteta za matematiko in fiziko
Univerza v Ljubljani

V članku je opisano področje mikrofluidike. Najprej so opisani osnovni fizikalni zakoni, ki veljajo za tekočine majhnih volumnov, nato je opisano delovanje osnovnih komponent mikrofluidičnih vezij - mikročrpalke, T člen, H člen, mikroventili. Opis je podan s fizikalnimi pojavi na katerih temeljijo - difuzija, elektro - osmotski tok, površinska napetost. Predstavljena je mehka litografija, osnovna tehnika izdelave mikrofluidičnih vezij, na koncu so opisani primeri uporabe mikrofluidičnih konceptov v medicinski diagnostiki.

MICROFLUIDICS

The article is about microfluidics. It begins with physics of fluids at the small scale. Further on, it presents a detailed description of the basic components of microfluidic chips and the physics behind - diffusion, electro - osmosis, surface tension. The article includes description of soft lithography, the basic technique for the construction of the microfluidic chips. In the conclusion, examples of microfluidic concepts for practical applications in medical diagnosis, pharmaceutical industry and micro assays are presented.

1. Uvod

Mikrofluidika je v nasprotju z mikroelektroniko, ki je že dodobra razvita in stara, precej v povojih. Podobno kot v mikroelektroniki je tudi pri mikrofluidiki ideja, da se (kemični) proces opravi na skali nanolitrov, kar močno zmanjša čas procesa, hkrati pa omogoča veliko drugih manipulacij tekočin pri procesih analitske in sintetske kemije, bioloških analiz DNK (DNK sekvenciranje), medicinske diagnostike, bioreaktorji [1]. Za mikrofluidične vzorce, ki tečejo po miniaturnih vezjih so značilna nizka Reynoldsova števila, difuzijsko mešanje, dominantnost efektov površinske napetosti in kapilarnih sil nad gravitacijskimi [2]. Zaradi teh značilnosti, lahko izdelamo različne mikro komponente in člene (filtracija, separacija delcev, mešanje, črpanje), ki jih združimo v mikrofluidična vezja.

2. Fizika tekočin na mikroskali

Da bi znali koncepte mikrofluidike uporabiti v praktične namene, je potrebno dobro znanje obnašanja tekočin na majhnih skalah. Gibanje opišemo v kontinuumski limiti Newtonovega zakona. Za snov ki ima hitrost \mathbf{u} in tlak p , viskoznost η in gostoto ρ , na katero deluje gostota zunanjih sil \mathbf{f} velja:

Navier-Stokesova enačba:

$$\rho\left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla)\mathbf{u}\right) = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \mathbf{f}. \quad (1)$$

Velja tudi ohranitveni zakon, ki povezuje hitrost in gostoto tekočine (kontinuitetna enačba)

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0. \quad (2)$$

Tekočino na majhni skali lahko obravnavamo kot nestisljivo, kar pomeni, da se tudi za velike spremembe pritiska gostota le malo spremeni oziroma se enačba (2) poenostavi v :

$$\nabla \cdot \mathbf{u} = 0. \quad (3)$$

Sedaj nas zanima ali se da enačbo (1) poenostaviti, ko so hitrosti in dimenzije kontinua majhne.

2.1 Reynoldsovo število

Razmerje vztrajnih sil v primerjavi z viskozniimi nam opiše Reynoldsovo število

$$Re = \frac{F_{vztrajnostne}}{F_{viskozne}} = \frac{\rho_0 \frac{U^2}{L}}{\frac{\eta U}{L^2}} \quad (4)$$

$$Re = \frac{UL\rho_0}{\eta}, \quad (5)$$

kjer sta U in L karakteristična hitrost in karakteristična dolžina toka. Na mikroskali so tipični radiji cevk majhni (1-100 μm) in hitrosti majhne (1 $\mu\text{m/s}$ – 1 cm/s), zato v nasprotju z velikimi tokovi (letala, oceani) velja, da je $Re \ll 1$, tok pa se obnaša laminarno oz. usmerjeno, brez turbulenc. Ker so pri majhnih Re vztrajnostne sile majhne proti viskozniim, lahko v enačbi (1) zanemarimo nelinearen člen

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \mathbf{f}, \quad (6)$$

kot tudi vztrajnost tekočine $\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t}$ (lahko jo zanemarimo ali pa obravnavamo kot majhno perturbacijo), ostane pa nam Stokesova enačba, ki opisuje Laminarni tok tekočine.

$$-\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \mathbf{f} = \mathbf{0}. \quad (7)$$

Seveda je za enoličnost rešitev enačb (5) in (3) potrebno upoštevati robne pogoje na stenah, ki jih imenujemo »no slip condition«, to pa pomeni, da je hitrost tekočine na robu vedno enaka hitrosti roba v tej točki

$$\mathbf{u}(rob) = 0. \quad (8)$$

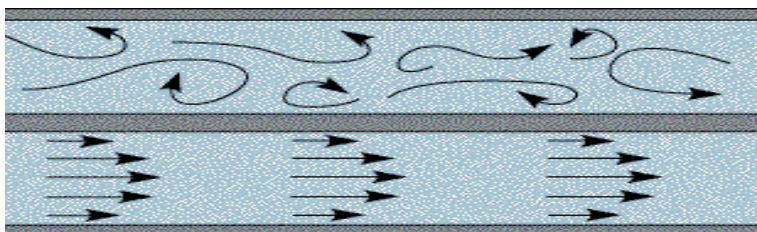
Laminaren tok se vzpostavi v času τ_i , ko se vzpostavi ravnovesje med viskozniimi in vztrajnostnimi silami, ocenjeno kot

$$f_{vztr} = f_{vis} \quad (9)$$

$$\frac{\eta U}{L^2} = \frac{\rho U}{\tau_i} \quad (10)$$

$$\tau_i \sim \frac{\rho L^2}{\eta}. \quad (11)$$

Čas vzpostavitve stacionarnih razmer v 100 μm kanalu znaša $\tau_i \sim 10$ ms [1].



Slika 1. Primerjava hitrostnega profila turbulentnega (zgoraj) in laminarnega toka (spodaj); laminaren tok se v primeru tlačne razlike v cevi obnaša po Poiseuillovem zakonu in ima paraboličen profil hitrosti po preseku [10].

2.2 Poiseuilleov zakon

Tok, ki ga dobimo v cevi s tlačno razliko Δp , lahko opišemo z Stokesovim tokom, pri čemer predpostavimo, da je hitrost le v smeri širjenja tekočine $-z$ in da nanjo ne delujejo zunanje sile \mathbf{f} , tako da se enačba (7) poenostavi v

$$0 = -\frac{\partial p}{\partial z} + \eta \nabla_{\perp}^2 v_z, \quad (12)$$

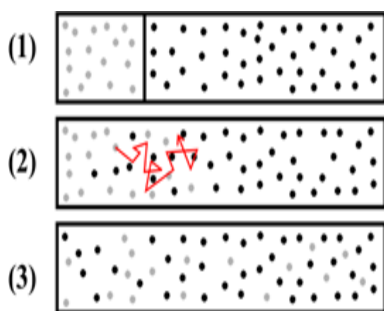
če enačbo (12) rešujemo v cilindričnih koordinatah in predpostavimo, da je rešitev neodvisna od polarne kota, h pa radij cevi, lahko rešitev zapišemo kot:

$$v_z(r) = -\frac{1}{4\eta} \frac{\partial p}{\partial z} (h^2 - r^2) \quad (13)$$

Hitrostni profil toka po cevi ima parabolično obliko, kar imenujemo Poiseuilleov zakon.

2.3 Difuzija in Pecletovo število

V laminarnem režimu sta termična konvekcija in mešanje zanemarljiva. Dva tokova, ki tečeta drug ob drugem, se namreč ne bosta mešala s konvekcijo, ampak je glavni proces (počasna) difuzija oziroma prehajanje molekul.



Slika 2. Osnovna shema difundiranja molekul po prostoru: (1) območji različnih koncentracij molekul sta pregrajeni z membrano, (2) molekule začnejo difundirati po prostoru, (3) molekule so razporejene po celem prostoru, difuzija se preneha, ko ni več gradienta koncentracij [9].

Definirajmo brezdimenzijski parameter za primer, ko tekočina teče po cevi z dolžino L , značilno hitrostjo U , D pa je njena difuzijska konstanta.

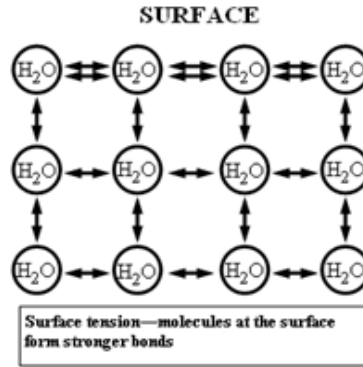
$$Pe = \frac{LU}{D} \quad (14)$$

Pe nam opisuje razmerje med adveksijskem in difuznim mešanjem. Za mikrofluidičen sistem $Pe \gg 1$ pomeni, da je difuzija zanemarljiva in da velike spremembe koncentracij delcev v sistemu ne bodo imele efekta, medtem ko $Pe \ll 1$ pomeni, da difuzija prevladuje in se spremembe koncentracij v sistemu hitro stabilizirajo.

Difuzijo izkoriščata dve mikrofluidični komponenti, ki omogočata filtracijo molekul (H člen) in merjenje koncentracije delcev (T člen), ki sta bili eni prvih aplikacij v mikrofluidiki, v 90. letih prejšnjega stoletja [1].

2.4 Površinska napetost

Površinska napetost je posledica medmolekulskih van der Waalsovih sil v tekočini [2]. Na molekule na površini tekočine deluje večji medsebojni privlak (slika 3), zato se pojavi površinska napetost, ki želi minimizirati površino na stiku tekočine in druge površine.



Slika 3. Molekule vode imajo na stiku s zrakom večji neto privlak [12].

Delo, ki ga opravimo za povečanje površine tekočine, lahko zapišemo kot

$$dW = \gamma dA, \quad (15)$$

kjer je γ koeficient površinske napetosti in dA diferencial površine.

Energija kapljice tekočine radija R je torej enaka $E_s = 4\pi R^2\gamma$. Če kapljica leži na podlagi, ki jo vzamemo za ničlo potencialne energije, znaša njena gravitacijska energija $E_g = mgh = \rho Vgh = 4/3\pi R^3\rho g(R) = 4/3\pi\rho gR^4$. Tako je $\frac{E_g}{E_s} = \rho g \frac{R^2}{6\gamma} = \frac{Bo}{6}$, kjer je Bo - Bondovo število, ki predstavlja razmerje gravitacijskih učinkov proti učinkom površinske napetosti tekočine.

$$Bo = \rho g \frac{R^2}{\gamma} \quad (16)$$

Pri tekočini na mikroskali je Bondovo število majhno, kar pomeni, da so bolj kot gravitacijske, dominantne sile površinske napetosti [2]. Te sile lahko uporabljamo za spreminjanje tekočine v kapljice, ki jih lahko premikamo in z njimi manipuliramo v mikrofluidičnem vezju.

Ob stiku tekočine z drugo površino ali tekočino se pojavi tlačna razlika med njima, ki je odvisna od ukrivljenosti na tekočino na stiku. Tekočina ima ukrivljenost $\frac{1}{R_x}$ in $\frac{1}{R_y}$ v smereh x in y , tlačna razlika Δp pa po Young - Laplacevi enačbi znaša

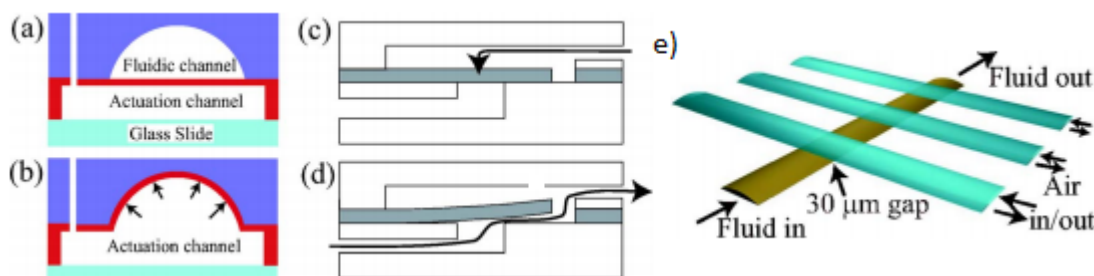
$$\Delta p = \gamma \left(\frac{1}{R_x} + \frac{1}{R_y} \right). \quad (17)$$

3. Komponente mikrofluidičnih vezij

Mikrofluidično vezje sestavljajo pasivne komponente – kanali, komore, topografske strukture in aktivne komponente – ventili, črpalke, senzorji za detekcijo [1]. Skupaj morajo generične komponente omogočati metode vbrizganja vzorcev (npr. kri) in reagentov. Reagenti so snovi, ki ob dodatku k vzorcu kemično reagirajo, spremenijo vzorec in s tem podajo informacijo o sestavi vzorca (npr. pH, koncentracija kakšne snovi v vzorcu). Komponente morajo omogočati tudi premikanje tekočin po vezju, mešanje in separacijo delcev v tekočinah ter detekcijo njihovih reakcij. Glavne raziskave potekajo na demonstracijah teh konceptov z različnimi komponentami [1].

3.1 Mikroventili

V mikrofluidiki se ventili uporabljajo za nadzorovanje toka po vezju. Poznamo aktivne in pasivne ventile (slika 4). Pasivni ventili nimajo zunanjšega pogona, kontrola toka je odvisna od tlačne razlike med vmesnima prostoroma (slika 4, c in d), tok pa lahko teče le v eno smer. Pri aktivnih ventilih so prisotni aktivni elementi, ki odpirajo in zapirajo kanale s pomočjo zunanjšega pogona.



Slika 4. (a,b) delovanje aktivnega ventila, ki izkorišča elastičnost materiala PDMS. Mikrofluidičen kanal je pregrajen s prostorom zraka, ki ga lahko razširimo in tako zapremo prehod tekočine po kanalu. Iz treh takih členov lahko zgradimo peristaltično črpalko (e). (c,d) delovanje pasivnega ventila, ki prepušča tok le v smeri iz leve proti desni, če je pritisk tekočine dovolj velik. e) peristaltična črpalka, ki jo naredimo z visokofrekvenčnim menjavanjem zraka v treh zaporednih ventilih. Povzeto po [1].

3.2 Mikročrpalke

Mikročrpalke so poleg pasivnega črpanja (kapilarni in elektro-osmotski efekti) glavna komponenta mikrofluidičnih vezij za pretakanje tekočin. Še posebno pomembne so v aplikacijah za dostavljanje zdravil oz. terapevtskih agentov v biomedicini. Minimalni pretoki toka, ki so potrebni za takšne aplikacije, so reda $\mu\text{l}/\text{min}$ [7]. Običajno so sestavljene iz: membrane, pogona, mikrokanalov in mikroventilov, shrambe za tekočino, dovoda in odvoda. Ločimo jih na mehanske in nemehanske mikročrpalke

3.2.1 Mehanske mikročrpalke

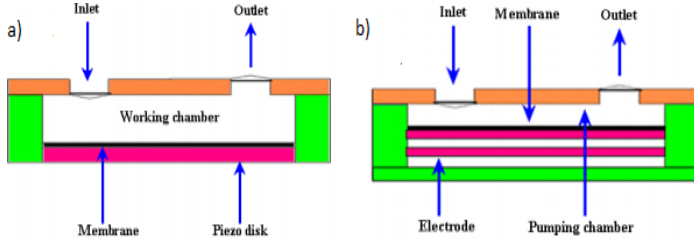
Mehanska mikročrpalka premika tekočino v mikrokanalu z mehanskim gibanjem membrane, ki ustvari razliko v tlaku, ki je potrebna za potisk tekočine po vezju. Tok, ki teče po kanalih zaradi ustvarjene tlačne razlike, ima po (13) parabolično obliko. Mehanske mikročrpalke imajo različne mehanizme premikanja membrane, zato so lahko piezoelektrične, elektrostatske, termopnevmatske, bimetalne, elektromagnetne, lahko pa tudi izkoriščajo fazne prehode [7].

Pri **piezoelektrični mikročrpalci** se prek piezokristala električna energija pretvarja v mehansko. Izkoristek je določen z razmerjem med izhodno mehansko močjo in vhodno električno močjo. Piezoelektrične črpalke dosegajo različne pretoke od $15 \mu\text{l}/\text{min}$ do $1500 \mu\text{l}/\text{min}$ [7]. Glavni problem takšnih črpalok je predvsem zahtevnost obdelave piezoelektričnih materialov za majhna mikrofluidična vezja.

Elektrostatske mikročrpalke delujejo podobno, kot piezoelektrične, le da namesto piezoelektričnega kristala uporabimo dve plošči in na njiju priključimo električno polje, ki ustvari elektrostatsko silo $F = 1/2(\epsilon_0\epsilon S \frac{V^2}{d^2})$, kjer je ϵ_0 influenčna konstanta, ϵ dielektrična konstanta, V napetost na ploščah, d razmik med ploščama in S površina plošč. Elektrostatske mikročrpalke se v mikrofluidiki pogosto uporabljajo, saj je njihova izdelava preprosta in cenovno ugodna. Problem takšnih mikročrpalke je, da omogočajo le relativno majhne odmike membrane, tipično $10 \mu\text{m}$, zaradi česar so pretoki manjši ($\sim 100 \mu\text{l}/\text{min}$) [7].

3.2.2 Nemehanske mikročrpalke: elektro - osmotski tok

Nemehanske mikročrpalke ne potrebujejo fizičnih komponent, ki bi poganjale tok, zaradi česar je njihova izdelava precej preprosta. Ko imamo tekočino z raztopljenimi ioni (npr. sol v vodi), se ob stiku tekočine s stenami ustvari površinska gostota naboja, ki privlači nasprotno nabite ione in odbija enako nabite ione. Tako se v ustvari tako imenovana dvojna plast ("double layer") s pozitivnimi in negativnimi ioni (odvisno od predznaka površinske gostote naboja na steni). Razdalja od stene



Slika 5. Shema piezoelektrične črpalke a) in elektrostatske mikročrpalke b). Njuna razlika je v tem da za tlačno razliko in pogon toka po vezju v a) uporabimo piezoelektrični disk, v b) pa uporabimo dve plošči, ki jih priključimo na izmenično napetost. Povzeto po [7].

do mesta, kjer je elektrostatska potencialna energija enaka termični energiji, se imenuje Debyeova razdalja λ_D . Da bi dobili tok, ki ga ustvari dvojna plast moramo najprej določiti električno polje oziroma potencial, ki ga ta ustvari.

Ioni s številsko gostoto n_{\pm} in nabojem $\pm e$ ustvarijo elektrostatski potencial ϕ , ki zadošča Poissonovi enačbi

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho_e}{\epsilon \epsilon_0} = \frac{e(n_+ - n_-)}{\epsilon \epsilon_0}. \quad (18)$$

Ioni so hitri in gibljivi, zato se hitro odzovejo na lokalni električni potencial ψ , pri čemer so boltzmanovo razporejeni po temperaturi

$$n_{\pm} = n_0 \exp\left(\mp \frac{e\psi}{k_B T}\right). \quad (19)$$

Združimo enačbi (18) in (19) ter dobimo

$$\nabla^2 \left(\frac{e\phi}{k_B T} \right) = \kappa^2 \sinh\left(\frac{e\phi}{k_B T} \right). \quad (20)$$

Če (20) lineariziramo, pridemo do zveze

$$\nabla^2 \phi = \kappa^2 \phi, \quad (21)$$

kjer velja, da je Debyeova razdalja $\lambda_D = \kappa^{-1}$, κ pa imenujemo Debye-Huckel parameter

$$\kappa^{-1} = \lambda_D = \left(\frac{\epsilon \epsilon_0 k_B T}{2n_0 e^2} \right)^{1/2}. \quad (22)$$

Tipične Debyeve razdalje, kjer ima električno polje dvojnega sloja še vpliv, so nekajkrat manjše od širine kanalov v mikrofluidičnih vezjih [6]. Tako dobimo rešitev za potencial električnega dvojnega sloja $\phi \sim \zeta e^{-\kappa y}$, kjer je y koordinata od tene proti notranjosti kanala in ζ velikost potenciala na stenah (slika 6). Če delujemo z Laplacovim operatorjem nazaj na potencial, dobimo lokalno električno gostoto, v prostoru s Debyeovo dolžino.

$$\rho_e = -\epsilon \epsilon_0 \kappa^2 \zeta e^{-\kappa y} \quad (23)$$

Če z elektrodama priključimo električno polje vzporedno s kanalom E_{\parallel} , ta ustvari na gostoto dvojnega sloja ρ_e , gostoto sile $\mathbf{f} = \rho_e E_{\parallel} \hat{z}$, ki jo lahko vstavimo v Stokesovo enačbo (7), poleg tega upoštevamo da tlačnih razlik v sistemu ni, in dobimo

$$0 = \eta \nabla^2 u_{\parallel} - \epsilon \epsilon_0 \kappa^2 \zeta e^{-\kappa y} E_{\parallel}. \quad (24)$$

Rešitev te enačbe ob upoštevanju robnega pogoja, da je hitrost na robu nič, pa je

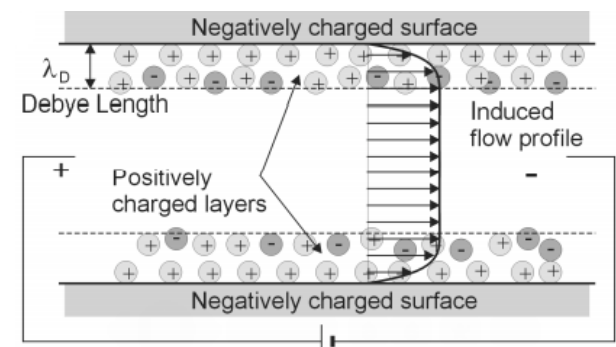
$$u = \frac{\epsilon\epsilon_0\zeta}{\mu} E_{\parallel} (1 - e^{-\kappa y}). \quad (25)$$

Rešitev je linearno odvisna od električnega polja in se eksponentno približuje konstantni hitrosti Smoluchowskega

$$u_s = \frac{\epsilon\epsilon_0}{\eta} E_{\parallel}, \quad (26)$$

kar pomeni, da je tok skoraj konstanten povsod po kanalu, v primeru če je Debyeova razdalja majhna proti širini kanala $\lambda_D \ll h$ (slika 6). Po obliki čepa, ga imenujemo "plug profile". Pretok črpalk na elektro-osmotski tok je manjši $\sim 15 \mu\text{l}/\text{min}$ [7].

Če gledamo isto sliko bolj široko, lahko zapišemo da je električna gostota po cevi kar sorazmerna s potencialom dvojne plasti, $\rho_e = -\epsilon\epsilon_0\kappa^2\zeta$, kar nam da v primeru električnega polja v smeri kanala konstantno rešitev povprečne hitrosti po kanalu.



Slika 6. Prikaz negativno nabite površine, ki privlači pozitivno nabite ione in s tem ustvari dvojni sloj z značilno Debayevo razdaljo. Ko priključimo napetost v smeri kanala, ustvarimo skoraj konstantni profil hitrosti po njem. Tok teče s hitrostjo Smoluchowskega $u_s = \frac{\epsilon\epsilon_0}{\eta} E_{\parallel}$. Povzeto po [2].

3.2.3 Nemehanske mikročrpalke: magneto hidrodinamske črpalke (MHD)

V prevodni tekočini s prevodnostjo σ lahko tok tekočine sprožimo z magnetnim poljem. To naredimo tako, da pravokotno na stene kanala priključimo napetost, ki povzroči električno polje E_y med njima, zaradi česar teče med njima gostota električnega toka $\mathbf{j}_e = \sigma E_y \mathbf{e}_y$. Zapišimo volumsko gostoto Lorentzove sile na prevodno tekočino v kanalu

$$\mathbf{f} = \mathbf{j} \times \mathbf{B}. \quad (27)$$

Če vklopimo magnetno polje pravokotno na električni tok, v x smeri B_x , ima gostota Lorentzove sile komponento le vzdolž kanala v z smeri, in sicer $f_z = j_y B_x$, sila na tekočino v kanalu dolžine L in presekom S je tako

$$F_z = \iiint f_z dV = j_y B_x S L, \quad (28)$$

posledično pa je ustvarjena tlačna razlika enaka

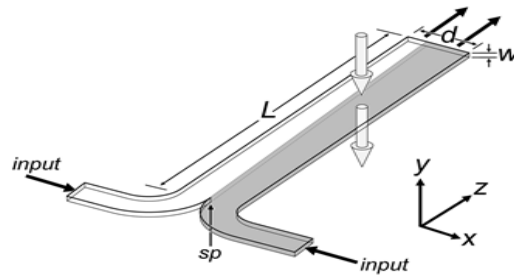
$$\Delta p = \frac{F_z}{S} = j_y B_x L. \quad (29)$$

Pri MHD črpalkah smo omejeni z magnetnim poljem velikosti 1 T za miniaturne permanentne magnete ali pa 0.1 T za miniaturne elektromagnetne tuljave. Pretoki črpalk so reda $\sim 100 \mu\text{l}/\text{min}$ [7].

4. Pasivne komponente mikrofluidičnih vezij

4.1 T člen

T senzor je mikrofluidični člen oblike T ali Y, ki združi vzorec z reagentom, ki ima velik Pe , da tečeta drug ob drugem in se pri tem se ne zmešata. Med njima poteka difuzija. Medtem ko vzorec difundira, se meša in ustvari meddifuzijski prostor, ki se ga da videti z mikroskopi in kamerami (npr. CCD) [1], saj lahko vezave molekul vzorca z reagentom povzročijo fluorescenco. Reagenti so lahko protitelesa, pH indikatorji, fluorescentni indikatorji. Prek odvisnosti širine difuzijskega prostora od z koordinate (slika 7), lahko izračunamo koncentracijo določenih molekul v vzorcu ali njihov difuzijski koeficient. Takšna komponenta deluje v režimu srednjih Pe , saj je potrebno, da se vzorec širi difuzivno v času, ki zadošča dolžini T člena.



Slika 7. T člen ima dva vhoda, za vzorec (siva) in reagent (bela); sredinski meddifuzijski prostor se širi z difuzijskim časom, zato lahko prek kamere dobimo informacijo o širini meddifuzijskega prostora v odvisnosti od časa oziroma razdalje vzdolž kanala - $x(z)$. [13]

Osnovni približek za čas difundiranja po širini x je po rešitvi enodimenzionalne difuzijske enačbe

$$x = \sqrt{2Dt}, \quad (30)$$

čas difundiranja delcev je tako enak $\tau_d \sim x^2/D$, kjer je x širina kanala in D difuzijska konstanta. Medtem se tekočina premakne za $z \sim U\tau_d \sim Ux^2/D$, zato je razmerje dolžine z in širine x meddifuzijskega prostora reda Pe

$$\frac{z}{x} \sim \frac{Ux}{D} = Pe. \quad (31)$$

Odvisnost širine difuzijske širine x od razdalje z vzdolž cevi za tekočino, ki se giblje s hitrostjo U pa je

$$x = \sqrt{\frac{2Dz}{U}}. \quad (32)$$

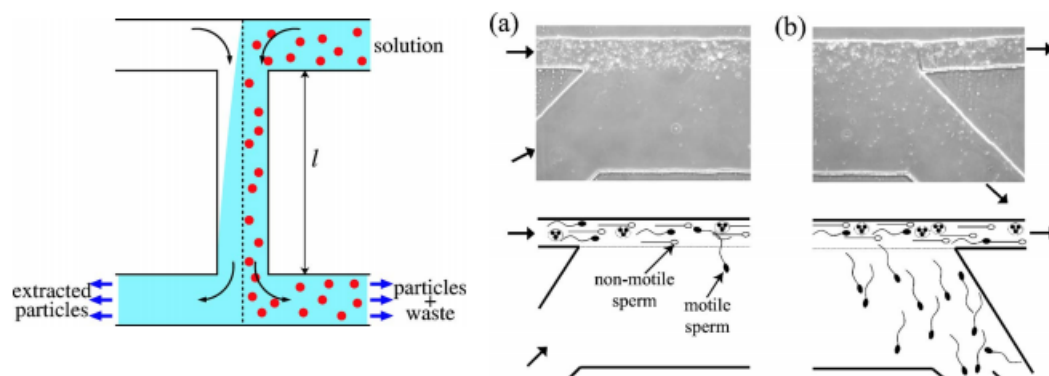
Tabele vrednosti difuzijskih konstant različnih snovi nam povejo, da ima majhen protein $D \sim 40 \mu\text{m}^2/\text{s}$. Če se giblje skozi 100 mikrometerski kanal s hitrostjo 100 $\mu\text{m}/\text{s}$ ima $Pe \sim 250$ kar pomeni, da je dolžina poti za popolno mešanje 250 širin kanala, kar znaša 2.5 cm in traja 4 min [1].

Naivno bi pričakovali, da se med difuzijski prostor povsod širi sorazmerno s $z^{1/2}$ (30). Eksperimentalno so takšno odvisnost izmeril le v sredini cevke, blizu sten pa je odvisnost zaradi počasnejše hitrosti sorazmerna s $z^{1/3}$.

4.2 H člen

Klasično filtriramo snovi skozi membrane, v mikrofluidiki pa lahko na podlagi nizkih Pecletovih števil in difuzije filtriramo tudi brez membrane. Dva vzorca združimo skozi T člen. Eden je testni reagent, kamor se bodo filtrirali delci vzorca, drugi pa vsebuje različno velike molekule ali delce,

ki imajo med seboj različno difuzijsko konstanto oziroma Pecletevo število in zaradi tega različno difundirajo. Difuzijska konstanta je obratno sorazmerna s polmerom delcev [1]. Pri pravi izbiri dolžine l (slika 8), bodo na eni strani izhajali le reagent z majhnimi delci iz vzorca, ki so hitro difundirali, na drugi pa ostanejo veliki delci ali molekule, ki niso imele dovolj časa za difuzijo na drugo stran kanala in jih po navadi zavržemo.



Slika 8. H člen je združitev dveh T členov (levo). Dolžina komponente l je takšna, da majhni delci z manjšimi difuzijskimi konstantami uspejo difundirati v reagent, ostale delce v tekočini pa ponavadi zavržemo. Na desni je prikazana variacija H člena, ki meri gibljivost spermijev za oceno plodnosti moških. Izkorišča dejstvo, da se gibljivi spermiji bolj širijo prečno po kanalu, kot negibljivi (ti se širijo zgolj difuzivno) in jih zato lahko ločimo. Priložena je tudi fotografija mikrofuidičnega člena v laboratoriju. Povzeto po [1].

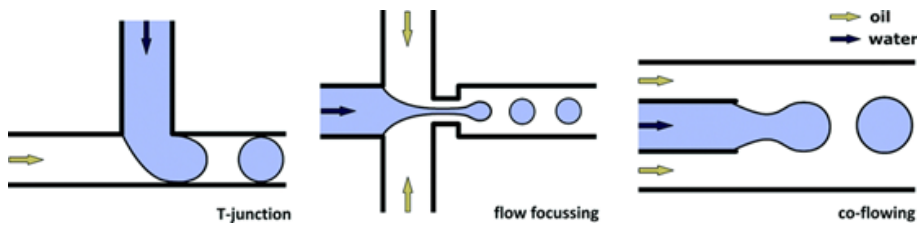
4.3 T združitven člen - izdelava kapljic

»Digitalna mikrofluidika« namesto zveznih vzorcev uporablja diskretne vzorce – kapljice, zato potrebujemo dodatne komponente, ki ustvarjajo in premikajo kapljice. Prednost tega je, da se količina vzorca iz nanolitrov lahko zmanjša še bolj, na piko litre, kar pomeni še hitrejše pridobivanje informacij v mikrofuidičnih vezjih, saj lahko v kapljico zajamemo kar individualne molekule [1].

Pri majhen toku dveh snovi, ki se ne moreta mešati (npr. olje in voda), v T združitveni člen ali kakšno podobno variacijo (slika 9), tekmujeta med sabo viskozna sila, ki želi tekočini širiti in ju potiskati naprej po cevi ter površinska napetost, ki želi zmanjšati površino stične ploskve dveh tokov, zaradi česar nastanejo drobne kapljice radija R [8]. Oceno za radij kroglice dobimo z izenačenjem kapilarnega pritiska prek Young - Laplaceve enačbe in viskoznega tlaka. Privzamemo da sta radija ukrivljenosti v x, y smeri enaka, oziroma da po (17) velja $\Delta p = 2\gamma/R$, na stiku tekočin pa je viskozni tlak $\Delta p_{vis} \sim \frac{\eta U}{h}$. Tako je ocena za radij $R \sim \frac{\gamma}{\eta U} h = \frac{h}{Ca}$, kjer je kapilarno število

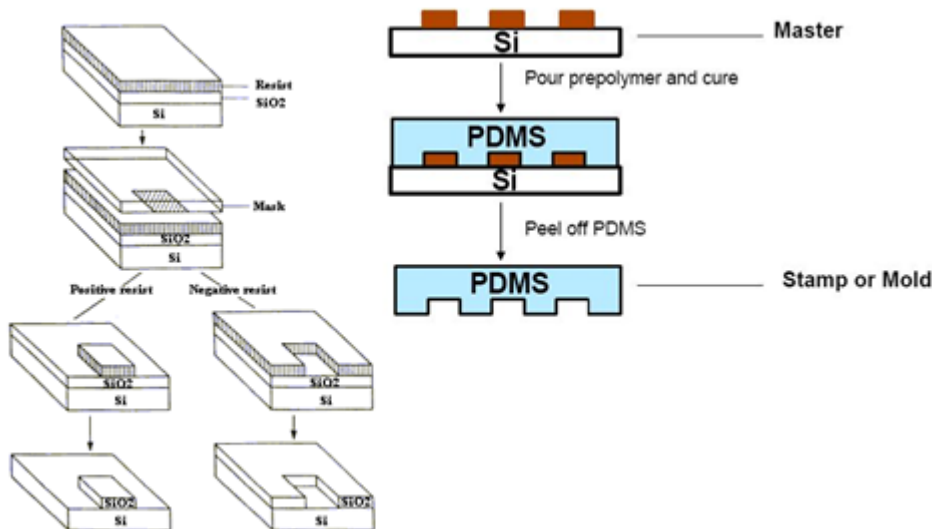
$$Ca = \frac{\eta U}{\gamma}, \quad (33)$$

brezdimenzijski parameter, ki opisuje red velikosti kapilarnih efektov z viskozniimi [1].



Slika 9. Različne variacije členov za izdelavo kapljic. Olje (bela) in vodo (modra), stikamo v različnih oblikah: (1) T- združitven člen, (2) fokusiranje toka pravokotno na viskozno tekočino, (3) vzporedni tok dveh tekočin. Pri vseh treh se izenačujejo kapilarni pritiski z viskozni, tako da se voda oblikuje v kapljice. [11]

5. Izdelava mikrofluidične topografije – mehka litografija



Slika 10. Postopek fotolitografije (leva). Najprej nanese plast fotorezista na substrat (silicijev dioksid), nato masko za željeno topografijo, ki povzroči, da po razvijanju ostane del fotorezista, ki ni izpostavljen UV svetlobi - pozitivni fotorezist ali pa del, ki je bil izpostavljen UV - negativni fotorezist. Desno je prikazan postopek mehke litografije na izdelanem substratu. Povzeto po [5].

Izdelava vezij je najprej sledila mikroelektroniki in uporabi stekla ter silicija, saj so bile prve raziskave oprte na elektro-kinetične pojave tekočin. Kmalu pa so začeli vezja izdelovati iz mehkih polimerov, kot je PDMS (Polydimethylsiloxane). Proizvodnja PDMS vezij je lažja in cenejša, kot iz silicija ali stekla. PDMS je biološko kompatibilen in prozoren za valovne dolžine > 230 nm. Elastičnost PDMS ne povzroča problemov, ki jih imajo trdi materiali (npr. ostri robovi ob razbitju) in omogoča pnevmatsko črpanje in pnevmatske ventile.

Za izdelavo mikrofluidičnega sistema uporabljamo tehniko mehke litografije. Sistem kanalov je zrisan v programu (npr. CAD) in natisnjen s visoko ločljivostjo (5000 dpi). Nato nastopi izdelava kalupa, tipično s fotolitografijo (slika 10), ki je glavna tehnologija za izdelavo integriranih vezij. Na substrat (npr. silicijev dioksid na kosu silicija) nanese fotorezist, ki ga izpostavimo UV svetlobi, prej pa ga pokrijemo z masko za željen vzorec. Ko potem fotorezist razvijemo z razvijalcem lahko ostane del fotorezista, ki je bil pokrit z masko (pozitivni fotorezist) ali pa ostane osvetljeni del fotorezista (negativni fotorezist). Na koncu še speremo vršne dele substrata, ki niso zaščiteni s ostankom fotorezista ter tako ustvarimo kanale v substrat (tudi nanometerske za integrirana vezja). Sledi še mehka litografija - izdelan kalup prelijemo s polimerom (PDMS), ki ga lahko po strditvi dvignemo s substrata in tako dobimo dvodimenzionalno mikrofluidično vezje, na katerega pritrđimo krovno

steklo, ter ga povežemo s komponentami za željeno aplikacijo.

6. Aplikacije, vloga in prihodnost mikrofluidike

Primarni cilj mikrofluidične skupnosti je razvoj tehnologij, ki bi povečale zmogljivosti raziskovalnih metod v biologiji in medicini [3]. Veliko število raziskav je bilo izvedenih na področju izboljšanja tradicionalnih makroskopskih analiz v medicini, predvsem imunologiji in hematologiji (diagnostičiranje krvi). Raziskave pa potekajo tudi na področju optike, kemijskih analiz in informacijskih tehnologij [1].

6.1 Medicinska diagnostika

Moderne diagnostične metode so dobro razvite, toda zahtevajo laboratorijsko opremo, ki je za manj razvit svet izjemno draga. Za diagnostične teste in analize (npr. HIV ali druge bolezni) mikrofluidika predstavlja rešitev, saj lahko teste opravimo s cenovno ugodnejšimi majhnimi čipi, katerih izdelava ni draga, poleg tega jih lahko masovno kloniramo (mehka litografija). V bližnji raziskavi so naredili vezje za analizo prisotnosti HIV (ELISA test) iz krvi majhne rane, ki traja 20 minut [3]. Analiza ne zahteva zunanega črpalnega sistema, ampak izkorišča pasivno črpanje, za detekcijo signala pa uporablja poceni fotodetektor. Od 70 vzorcev v Ruandi so pri vseh razen enem uspešno diagnosticirali virus HIV [3].

Analiza poteka tako, da v mikročip vbrizgamo kri, H filter jo dodatno očisti in izloči protitelesa od ostalih celic. Na njih nato vbrizgamo encim (ELISA), ki spremeni barvo vzorca ob prisotnosti virusa HIV. Glavna lastnost mikrofluidike v diagnostiki je torej nizka cena izdelave, toda tudi tradicionalne makroskopske diagnostične analize se ves čas izboljšujejo in predstavljajo visok standard novim pristopom.

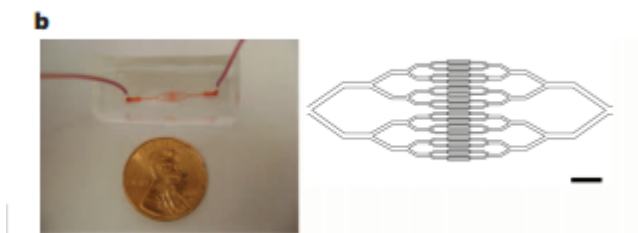
6.2 Farmacevtska industrija

V farmacevtski industriji so trenutne raziskave in pridobitev dovoljenja za zdravila izjemno drage, zato se pojavljajo nove strategije razvoja zdravil, ki bi izboljšale produktivnost. Mikrofluidične tehnologije lahko uporabimo v farmaciji, npr. analitični sistemi za spremljanje in optimizacijo izdelave proteinskih zdravil, zadnje leta pa so začeli izdelovati nov razred mikrofluidičnih naprav, ki jih imenujemo organi na čipu (organ-on-chip), ki integrirajo osnovne mikrofluidične komponente v naprave, ki simulirajo in vivo funkcije v normalnih in bolezenskih stanjih. Razvoj je še vedno v začetni fazi, a so v raziskavah že izdelali simulacije funkcij črevesja, pljuč, krvnih celic in raka na vezju [3]. Teoretično bi jih lahko povezali in izdelali človeka na čipu (human-on-a-chip), kar bi pomenilo, da bi farmacevtske firme lahko testirale in napovedovale učinkovitost zdravil na vezjih pred samim testiranjem na ljudeh in živalih.

Kot primer organa na čipu je bila izdelana simulacija krvne celice in sicer njenega krvnega pretoka, biokemičnih aktivacijskih stanj in celičnega pritiska, z namenom zaznavanja srpaste celične anemije (slika 11). Glavna prednost mikrofluidičnega sistema je bila visoka ločljivost sprememb v sistemu in natančna kontrola krvnega toka po mikročipu [3].

6.3 Analiza mikrovzorcev

Mikrofluidika zaradi svoje narave omogoča uporabo ultra majhnih vzorcev, ki jih lahko hitro in praktično analiziramo. Zelo dobro lahko spremljamo vmesna stanja vzorca (pH, koncentracije določenih snovi). Še posebno dobro delujejo metode ločevanja določenih celic ali proteinov iz vzorca,



Slika 11. Prikaz simuliranja krvne celice na čipu (levo) in kompleksnost kapilarnih kanalov, ki jo sestavljajo (desno). Povzeto po [3].

saj se časi analize krvi lahko zmanjšajo iz dobre ure na nekaj minut zaradi uporabe manjših vzorcev [3].

6.4 Prihodnost mikrofluidike

Mikrofluidika prave komercialne uporabe še ni dosegla. Nekatere prednosti, ki jih je imela v začetku razvoja pred 20 leti danes niso več tako velike zaradi tehnološkega napredka tradicionalnih analiz. Usmerjenost mikrofluidičnih tehnologij bo zato zagotovo v iskanju problemov v biologiji in medicini [4]. Problematičnost mikrofluidike je tudi v pripravi vzorcev in detekciji sprememb, saj so vzorci so pogosto kompleksni, zato jih je pred uporabo v mikrofluidičnih vezjih potrebno predelati v obliko, primerno analizi. Ta predelava je pogosto pogojena s vzorcem in ni "mikro". Glavni premislek v razvoju mikrofluidičnih metod akademsko - raziskovalnega sveta bi zato moral biti, ali določena metoda resnično omogoča boljšo funkcionalnost v primerjavi s trenutnimi metodami, kar bi omogočilo večjo uporabnost in povišalo možnosti preboja tehnologije [4].

7. Zaključek

Mikrofluidika se razvija že kar nekaj let, njene glavne karakteristike so laminarni tok, majhna Reynoldsova števila, difuzijsko mešanje in kapilarni efekti. Predstavljene so bile različne komponente mikrofluidičnih vezij in njihova izdelava vezij. Raziskave na tem področju so zelo aktivne, toda do zares pravega tehnološkega preboja še ni prišlo. V prihodnosti se bo zagotovo poskušalo najti vedno več aplikacij mikrofluidičnih konceptov, s katerimi bi lahko doživeli velik napredek k cenovno ugodnim napravam, ki simulirajo naprave in procese v dragih laboratorijih ter tako izdelali prave miniaturne laboratorije na čipu - "Lab on a chip".

8. Zahvala

Za pomoč in nasvete pri pisanju članka se iskreno zahvaljujem mentorju dr. Natan Ostermanu.

LITERATURA

- [1] T. M. Squires, S. R. Quake, *Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale*, Review of Modern Physics **77** (2005), 977.
 - [2] S. Ghosal, *Microfluidics*, Encyclopedia of Complexity and Systems Science, Springer (2009), 5573-5588.
 - [3] E. K. Sackmann, A. L. Fulton, David J. Beebe *The present and future role of microfluidics in biomedical research*, Nature **507** (2014), 181–189.
 - [4] G. M. Whitesides, *The origins and the future of microfluidics*, Nature **442** (2006), 368-373.
 - [5] S. K.Y. Tang, G. M. Whitesides, *Basic Microfluidic and Soft Lithographic Techniques*, New Technical 6x9 - Optofluidics: Fundamentals, Devices, and Applications (2009).
 - [6] M. J. Kim, A. Beskok, *Electro-osmosis-driven micro-channel flows*, Experiments in Fluids **33** (2002), 170–180.
 - [7] M.W. Ashraf, *Micro Electromechanical Systems (MEMS) Based Microfluidic Devices for Biomedical Applications*, Int. J. Mol. Sci. **12** (2011), 3648–3704.
 - [8] M. G. Simon, A. P. Lee, *Microfluidic Droplet Manipulations and Their Applications*, Springer New York (2012), 23-50.
- Sluke iz interneta:
- [9] http://www.wikiwand.com/fr/Diffusion_de_la_mati%C3%A8re, 20.1.2017.
 - [10] <http://www.b17queenofthesky.com/paintball/guides/firststrike.html>, 20.1.2017.
 - [11] http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2015/LC/c51c00614g/c51c00614g-f2_hi-res.gif, 23.1.2017.
 - [12] <https://water.usgs.gov/edu/graphics/surfacetension-diagram.gif>, 23.1.2017.
 - [13] http://m.eet.com/media/1108897/mems_2.gif, 20.1.2017.