

UNIVERZITET U NOVOM SADU PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET DEPARTMAN ZA FIZIKU



Realizacija mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini na principu uštinutog toka

-master rad-

Mentor: dr Vesna Bengin Komentor: dr Vasa Radonić Kandidat: Ivana Podunavac

Novi Sad, 2019

Veliku zahvalnost za izradu ovog master rada dugujem prof. dr Vesni Bengin, dr Nikolini Janković i institutu BioSens gde sam svakodnevno imala priliku da radim i učim od vrhunskih stručnjaka u oblasti mikrofluidike.

Svojim mentorima na institutu, dr Vasi Radoniću i Sanji Kojić, zahvaljujem se na zanimljivoj temi koja me je uvela u svet nauke i omogućila da vidim kako izgleda samostalno istraživanje i eksperimentalni rad. Zahvaljujem im se na posvećenosti, pruženom znanju, strpljenju, korisnim savetima, sugestijama i idejama.

Veliku zahvalnost dugujem i dr Norbertu Cselyuszka na velikoj pomoći pri modelovanju mikrofluidičnog čipa i savladavanju softvera Comsol Multiphysics.

Ovaj rad posvećujem porodici, momku i prijateljima.

Ivana Podunavac

Sadržaj

1	Uvo	d	1
2	Mik	rofluidika	3
	2.1	Pojam mikrofludike i njene primene	3
	2.2	Fizika mikrotoka	5
		2.2.1 Karakteristike mikrotoka	5
		2.2.2 Navijer-Stoksova jednačina	11
		2.2.3 Hidraulična otpornost	12
	2.3	Tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova	14
3	Teh	nika uštinutog toka	18
	3.1	Princip rada	19
	3.2	Tehnika uštinutog toka sa pregradom	20
	3.3	Tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama	21
	3.4	Unapređena tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama	24
	3.5	Tehnika uštinutog toka sa efektom inercije	24
	3.6	Elasto-inercijalna tehnika uštinutog toka	27
	3.7	Tehnika uštinutog toka sa optičkim dejstvom	28
	3.8	Tehnika uštinutog toka sa akustičnim mehurom	30
	3.9	Tehnika uštinutog toka sa regulatornim ventilom	31
	3.10	Gravitaciona separacija čestica po veličini	32
4	Pro	jektovanje mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica	33
	4.1	Dizajn mikrofluidičnog čipa	34
	4.2	Optimizacija parametara strukture	35
5	Izra	da mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica	41
	5.1	Postupak izrade mikrofluidičnog čipa	41
	5.2	Karakterizacija slojeva mikrofluidičnog čipa	45
	5.3	Finalni izgled mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica	47

6	Verifikacija i testiranje mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica	48
7	Zaključak	52
Li	teratura	54

Glava 1

Uvod

Razvoj savremenih tehnologija uslovio je pojavu novih, multifunkcionalnih sistema, koji sadrže veliki broj integrisanih funkcija. Multifunkcionalni sistemi (mehanički, fluidični, elektromehanički, termalni itd.) se minijaturizuju u cilju dobijanja portabilnih uređaja višestruke namene. Osamdesetih godina ova istraživanja rezultuju novom oblašću poznatom kao MEMS¹ (mikroelektro-mehanički sistemi). Razvijanjem ove oblasti se pojavljuju niz primena u hemijskim, biološkim i biomedicinskim istraživanjima kada manipulacija tokom fluida dovodi do izdvajanja nove discipline - mikrofluidike.

Predmet istraživanja mikrofluidike je manipulacija malim količinama tečnosti u jednom ili više mikrokanala. Savremena mikrofluidika prerasta u koncept laboratorije-načipu jer u sebi integriše veliki broj funkcija - od mešanja tečnosti, izdvajanja čestica, amplifikacije DNK, biosenzora do prateće elektronike i optike za detekciju. Ovakvi sistemi unose značajne promene u hemijskim i mikrobiološkim istraživanjima, kao i u medicinskim i farmaceutskim analizama.

Cilj istraživanja master rada je realizacija mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini primenom tehnike uštinutog toka korišćenjem nove hibridne tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova.

Master rad u uvodnom delu sadrži kratak istorijski razvoj mikrofluidike, pregled aktuelnih tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova i opis fizičkih veličina neophodnih za razumevanja principa rada realizovanog mikrofludičnog čipa. Druga glava master rada posvećena je tehnici uštinutog toga, njenom principu rada, mogućim primenama, kao i načinama kojim se mogu unaprediti njene separacione performanse. U ovom delu dat je i detaljan pregled svih tehnika za separaciju čestica primenom uštinutog toka predloženih u literaturi, uključujći tehniku uštinutog toka sa pregradom, tehniku uštinutog toka sa asimetričnim granama i njenim unapređenim verzijama, tehniku uštinutog toka sa efektom inercije, elasto-inercijalnu tehniku uštinutog toka, tehniku uštinutog toka sa optičkim dejstvom, tehniku uštinutog toka sa akustičnim mehurom, tehniku uštinutog

¹engl. *microelectro-mechanical systems*

GLAVA 1. UVOD

toka sa regulatornim ventilom kao i gravitacionu separaciju čestica po veličini.

Realizacija mikrofluidičnog čipa podrazumeva nekoliko koraka: projektovanje, gde se geometrija čipa dizajnira primenom nekog od softverskih alata i ispituje uticaj različitih parametara na njegove performanse, zatim izrada optimizovanog čipa, karakterizacija i testiranje.

Optimizacija parametara mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica urađena je u softveru Comsol Multiphysics. Ispitan je uticaj različitih geometrijskih parametara kao i uticaj brzine fluida na ulazima u mikrofluidični čip na separacione performanse.

Odabirom parametara za koje su separacione performanse mikrofluidičnog čipa najbolje, čip je realizovan primenom nove hibridne tehnologije izrade. Hibridna tehnologija izrade podrazumeva lasersko sečenje dizajna čipa u nesinterovanim LTCC trakama, koje je sastavni deo LTCC tehnologije izrade čipova i sečenje odgovarajućeg dizajna PVC folija kao u procesu ksirografije. Dobijeni slojevi se u procesu laminacije spajaju i formiraju mikrofluidični čip. Fabrikovan čip je testiran na razdvajanje čestica polena po veličini, a rezultati testiranja pokazuju da se čestice različitih dimenzija mogu razdvojiti po veličini u mikrofluidičnom čipu napravljenom u ovoj novoj jeftinoj tehnologiji.

Istraživanja za master rad sprovedena su na institutu BioSens u Novom Sadu u grupi za nano i mikroelektroniku. Rezultati master rada daju dobru osnovu za dalji rad, otklanjanje utvrđenih nedostataka i poboljšanje separacionih performansi ovog mikrofluidičnog čipa. Nakon dodatnih istraživanja i testiranja uspešnosti realizacije mikrofluidičnog čipa za separaciju polena u novoj hibridnoj tehnologiji izrade čipova očekuje se publikacija svih rezultata prikazanih u master radu u međunarodnom časopisu.

Glava 2

Mikrofluidika

2.1 Pojam mikrofludike i njene primene

Mikrofluidika je mlada oblast nauke i tehnologije čiji je predmet istraživanja manipulacija malim količinama tečnosti kako unutar mikrokanala, tako i na otvorenom prostoru. Malim zapreminama tečnosti, reda mikro, nano i pikolitra manipuliše se unutar mikrokanala čija je jedna dimenzija mikrometarske veličine. Velika primena mikrofluidike u farmaciji, medicini i biologiji dovodi do ubrzanog razvoja ove oblasti i menjanja standardnih postupaka različitih analiza kompaktnijim i bržim minijaturizovanim sistemima [1–5].

Prva primena mikrofluidike datira iz 1977. godine kada su mlaznice sa mastilom otvora 10-100 μ m iskorišćene za poboljšanje preciznosti i brzine rada ink-jet štampača. Mlaznice sa mastilom oblika piramida sa otvorima na vrhu fabrikovane su ecovanjem na substratu silicijuma [6,7]. U okviru hemijskih istraživanja prva primena mikrofluidičnih sistema se javlja pri minijaturizaciji sistema za primenu u molekularnoj analizi. Metode gasne hromatografije, tečne hromatografije visokih performansi i kapilarne elektroforeze prave revoluciju u hemijskoj analizi jer kombinovane sa laserskom detekcijom omogućavaju istovremenu visoku osetljivost i veliku rezoluciju merenja. Kako su se ove metode pokazale kao veoma uspešne, javlja se potreba za kompaktnim i višenamenskim sistemima za širu primenu u hemijskim i biološkim istraživanjima. Jedan od prvih pokušaja stvaranja minijaturizovanog sistema za ove analize urađen je 1979. godine, kada je realizovan minijaturni sistem za analizu gasa, čiji se rad zasniva na principu gasne hromatografije [8]. Veliki doprinos razvoju mikrofluidike dao je i ubrzani razvoj savremenih tehnologija i mikroelektronike. Prvi mikrofluidični sistemi realizovani su u silicijumskoj tehnologiji koja se pokazala kao uspešna u mikroelektronici i pravljenju MEMS uređaja. Međutim, ispostavilo se da ovi materijali nisu pogodni za biološka istraživanja sa živim ćelijama, a ujedno i nepogodni za primenu konvencionalnih optičkih metoda ispitivanja zbog neprozirnosti silicijuma za vidljivo i UV zračenje. Zato je dalji razvoj mikrofludike

bio usmeren na razvoj novih tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova i upotrebu novih materijala [9,10].

Mikrofluidični sistemi za različite primene se prave u formi mikrofluidičnih čipova. Mikrofluidični čip sadrži jedan ili više mikrokanala, koji su u zavisnosti od tehnologije izrade i primene čipa ukalupljeni ili ugravirani u različite materijale [11]. Mikrofluidični čipovi poseduju otvore koji omogućavaju ulaz i izlaz tečnosti, a odgovarajućim dizajnom mikrokanala omogućeni su različiti vidovi manipulacije fluidom u njegovoj unutrašnjosti. Različiti vidovi manipulacije fluidom u unutrašnjosti čipa dovele su do razvoja različitih komponenti mikrofluidičnih čipova kao što su mikro-pumpe [12], mikro-ventili [13], mikromešači [14], separatori čestica [15] itd.

Velika prednost primene mikrofluidičnih sistema u hemijskim i biološkim istraživanjima su upotreba malih količina reagenasa za eksperimente, a razvojem složenijih mikrofluidičnih sistema omogućena je i veća osetljivost detekcije. Primera radi, ukoliko se linearne dimenzije sistema smanje 10³ puta, zapremina sistema se smanji 10⁹ puta, tako da se umesto 1 l ili 1 ml uzorka, u mikrofluidičnim sistemima koristi 1 nl ili 1 pl. Ovako male zapremine omogućavaju brzu analizu, efikasnu detekciju i ne zahtevaju veliku količinu uzorka pri upotrebi. S druge strane, mikrofluidični sistemi su pogodni za prenošenje i zbog jeftine proizvodnje pogodni za masovnu upotrebu. Na slici 2.1.1 predstavljeno je postepeno usložnjavanje mikrofluidičnih sistema, od jednostavnog kanala (a), mikro-mešača (b), do složenog sistema koji sadrži integrisane mikrofluidične kanale i elektronske komponente (c).



Slika 2.1.1: Stepen razvoja mikrofluidičnih čipova (a) Mikrofluidični kanal (b) Mikro-mešač (c) Laboratorija-na-čipu

Savremeni mikrofluidični čipovi integrišu mikro-pumpe, mikro-ventile, mikro-mešače, separatore čestica, elektronske i optičke komponente u složene sisteme nazvane Laboratorijana-čipu (LOC)¹. Kompaktnost i male dimenzije LOC sistema omogućavaju korišćenje malih količina uzoraka i precizno kontrolisanje uslova u kojima se uzorak nalazi. Ovi uslovi su pogodni za istraživanja biologije ćelije, gde istraživači mogu posmatrati uticaj injektovanih supstanci na uzgajane ćelijske kulture pod strogo kontrolisanim uslovima. Dimenzije kanala unutar LOC sistema su reda veličine dimenzija nekih ćelija, tako da

 $^{^1 \}mathrm{engl.}\ Lab-on-a-chip$

GLAVA 2. MIKROFLUIDIKA

se po prvi put u biološkim istraživanjima javlja mogućnost manipulacije i detekcije na nivou pojedinačnih ćelija. U okviru biomedicinskih istraživanja tehnike separacije čestica u mikrofluidici imaju značajnu primenu u preciznoj dijagnostici i praćenju bolesti. Tako se na primer srpasta anemija može detektovati usled specifičnog oblika crvenih krvih zrnaca, a moguća je primena i u detekciji metastaze raka izolovanjem cirkulišućih ćelija tumora od drugih hematoloških ćelija. Prednost ovakvog razdvajanja bolesnih od zdravih ćelija je izbegavanje uobičajeno korišćenih antitela za njihovu detekciju. Na taj način je obezbeđena dovoljno precizna metoda, a i smanjeni su troškovi skupih reagenasa. LOC sistemi nalaze primenu i u preciznom doziranju lekova za pacijenta jer se u okviru jednog čipa može obezbediti platforma i za sintezu leka i za njegov transport do obolelog mesta. Složeniji mikrofluidični sistemi omogućavaju i POC² analize odnosno trenutnu dijagnostiku pomoću prenosivih sistema [16].

Novija istraživanja su usmerena i na pravljenje tzv. Organ-na-čipu³ sistema [17]. Kako su mikrofluidični kanali istih dimenzija kao i krvni sudovi, moguće je napraviti sistem mikrofluidičnih kanala čija je uloga oponašanje određenih organa. U okviru aktuelnih istraživanja napravljeni su sistemi koji imitiraju pluća [18], bubrege [19], jetru [20], kožu [21], srce [22] itd. Motiv ovih istraživanja je primena mikrofluidičnih sistema za testiranje lekova, tako da se u budućnosti prestane sa testiranjem lekova na životinjama. Primenom Organ-na-čipu sistema omogućilo bi se testiranje dejstva lekova na sistemu koji je sličniji ljudskom od životinjskog.

2.2 Fizika mikrotoka

2.2.1 Karakteristike mikrotoka

Pri analizi fizičkih svojstava mikrosistema veliki broj informacija se može dobiti bez ulaženja u detalje matematičkog opisa koristeći skaliranje. Različiti efekti, npr. zapreminske i površinske sile, skaliraju se sa dijametrom kanala ili veličinom posmatranog sistema. Pri skaliranju se posmatra promena fizičke veličine sa promenom dimenzija sistema L, dok su ostale veličine kao što su pritisak, temperatura itd. konstantne. Na osnovu ove analize može se zaključiti koje pojave utiču na ponašanje sistema, a koje pojave se mogu zanemariti. Osnovna razlika između makro i mikrotokova se ogleda u dominaciji površinskih sila u odnosu na zapreminske. Za razliku od makrotokova kod mikrotokova je sila inercije zanemarljiva u odnosu na površinske efekte. Efekti trenja, elektrostatička sila i viskozne sile rastu sa smanjenjem veličine mikrofluidičnog uređaja. Svojstva fluida koja su funkcije površine imaju veći uticaj na fluid nego svojstva koja

²engl. Point-of-care

³engl. Organ-on-a-chip

zavise od zapremine fluida. Ova osobina se može predstaviti odnosom:

$$\frac{\text{Površina}}{\text{Zapremina}} \propto \frac{L^2}{L^3} = \frac{1}{L} \xrightarrow[L \to 0]{} \infty$$
(2.2.1)

gde je L karakteristična dimenzija mikrosistema, uglavnom reda veličine 1 μ m. Izraz (2.2.1) ilustruje značaj površinskih efekata pri smanjivanju dimenzija sistema. Uređaji dimenzija od 1 mm do 1 μ m se nazivaju mikrofluidičnim, dok se uređaji manji od 1 μ m nazivaju nanofluidičnim. Na nanoskali dinamika fluida i interakcije unutar nanosistema sa površinama suda su drugačije u odnosu na makrosisteme pa se tok tečnosti posmatra kao granularni tok, a tok gasa kao razređeni. Pri toku fluida uz zid suda ne mogu se zanemariti površinska hrapavost zida, elektrokinetička interakcija, viskozno zagrevanje, anomalna difuzija, pa čak i kvantni hemijski efekti između čestica fluida i čestica suda. Kao rezultat, kontinualna hipoteza, koja je osnova pri modelovanju makrotokova, više se ne može primeniti [23].

Intermolekularne sile u tečnosti uključuju kvantnu i električnu prirodu s obzirom na to da je svaki molekul okružen drugim molekulima na atomskom rastojanju. Interakcija između para molekula u tečnosti se može opisati Lenard-Džonsovim potencijalom⁴:

$$V_{LJ}(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r}\right)^6 \right]$$
(2.2.2)

gde je r rastojanje između molekula, a ε i σ parametri koji karakterišu interakciju, gde je ε maksimalna energija privlačenja, a σ kolizioni dijametar. Odgovarajuća intermolekularna sila je:

$$F_{LJ}(r) = -\frac{\mathrm{d}V_{LJ}}{\mathrm{d}r} \tag{2.2.3}$$

Za mala rastojanja između molekula, $r < r_0 \approx 0.3$ nm sila interakcije između molekula je odbojna (osenčena regija na slici 2.2.1), dok je na velikim rastojanjima $r > r_0$ sila privlačna, s tim da teži nuli u beskonačnosti, slika 2.2.1 [24].

Slika 2.2.1b prikazuje zavisnost izmerene fizičke veličine (npr. gustine) i radne zapremine mernog instrumenta. Ukoliko je radna zapremina instrumenta mikroskopskih dimenzija (leva osenčena površ) primećuju se velike fluktuacije izmerene veličine. Za mezoskopske veličine radne zapremine mogu se izmeriti dobro definisane lokalne vrednosti fizičke veličine, dok se kod makroskopskih radnih zapremina blage varijacije fizičke veličine mogu primetiti usled dejstva spoljašnjih sila. Hipoteza konitnuuma vodi do koncepta fluidne čestice, koja igra značajnu ulogu u teoriji fluida. Fluidna čestica, za razliku od tačkastih čestica u mehanici, ima konačne dimenzije. Da bi se odredile dimenzije te čestice, posmatra se slika 2.2.1b i mikroskopske dimenzije radne zapremine instrumenta.

 $^{^{4}}$ Lennard-Jones



Slika 2.2.1: a) Lenard-Džonsov potencijal u zavisnosti od rastojanja r između molekula; b) Izmerena fizička veličina tečnosti kao funkcija radne zapremine instrumenta [24]

Kao što je rečeno, izmerena fizička veličina će sadržati velike fluktuacije usled molekularne strukture fluida, ali sa porastom dimenzija radne zapremine instrumenta merena veličina postaje dobro definisana. Ovo se dešava kada je radna zapremina dovoljno velika da sadrži dovoljno velik broj molekula, toliki da se dobijaju dobro definisane vrednosti merene veličine sa malim statističkim fluktuacijama. Procena dimenzija fluidne čestice tečnosti je:

$$\lambda^* = 10 \text{ nm} \tag{2.2.4}$$

Ovakva čestica sadrži oko 4×10^4 molekula. U mezoskopskom delu se čestici pripisuju dimenzije λ^* koje moraju biti veće od mikroskopskih dimenzija ($\simeq 0.3$ nm) da bi sadržale dovoljan broj molekula i moraju biti manje od makroskopskih dimenzija ($\simeq 10 \ \mu$ m) iznad kojih spoljašnje sile menjaju svojstva fluida. Kako ova veličina nije egzatno definisana, u mehanici fluida se uglavnom koriste veličine usrednjene po zapremini kao što su gustina, gustina energije, gustina sile i gustina impulsa. U takvim razmatranjima zapremina se uzima kao mala i konačna, a ne infinitezimalna zapremina. Kontinualna hipoteza ne važi kada se posmatrani sistem približi molekularnoj skali, kao što je rečeno, u nanofluidici [24].

Fundamentalna razlika između mikro i makrotoka se može posmatrati preko uticaja zidova na tok fluida. Zidovi kanala se mogu okarakterisati određenim vrednostima brzine, temperature i koncentracije. Fluid oseća uticaj zida u tankom sloju blizu zida suda. Izvan te oblasti fluid je okarakterisan veličinama za unutrašnji deo toka - njegovom brzinom i temperaturom. Ukoliko fluid teče preko ravne ploče, sa porastom udaljenosti od njenog početka raste i uticaj zida na kretanje fluida. Dominantan uticaj zidova u mikrotokovima se može iskoristiti za kontrolu i manipulaciju toka neuporedivno više u odnosu na makrotokove.

Slikovit primer za određivanje karakteristika toka preko strukture zida je tok preko površine koja sadrži mikroskopske žlebove. Ukoliko se fluid kreće pod uticajem gradijenta pritiska preko površine koja sadrži paralelne žlebove, slika 2.2.2 [25], otpor koji stvaraju zidovi suda je manji ukoliko je gradijent pritiska paralelan žlebovima nego ukoliko je ortogonalan na žlebove. Kao posledica toga, ukoliko su gradijent pritiska i orijentacija



Slika 2.2.2: Granični sloj prelazi preko ravne ploče u spoljašnjem toku (gornja slika); granični sloj između dve paralelne ploče (donja slika) [25]

žlebova pod oštrim uglom, tok blizu površine teži da prati žlebove i nije u pravcu gradijenta pritiska. Ovaj efekat se može iskoristiti za kreiranje helikoidnih tokova u kanalu koji su u najjednostavnijoj verziji postavljeni paralelno u odnosu na površinu koja sadrži žlebove. Slika 2.2.3 predstavlja površinu sa šarom oblika riblje kosti od mikroskopskih žlebova. Kada je gradijent pritiska u ravni sa trakama, strujne linije se reflektuju od međusobno paralelnih traka i površine gornjeg zida i formiraju helikoidalni tok. Ovaj helikoidalni tok se proteže duž cele dužine između dve paralelne ploče.



Slika 2.2.3: Šematski prikaz strukture zida sa žlebovima koji služi za mešanje unutar mikrokanala [25]

U mikrostukturama ovakve konstrukcije mogu da utiču na brže mešanje tečnosti. Sa povećanjem rastojanje između ploča (postepeni prelazak od mikro do makrotoka) dostiže se trenutak kada žlebovi utiču samo na deo toka uz zidove. Sa daljim povećanjem dimenzija kanala više nije moguće primetiti uticaj zida. Ukoliko se dimenzije kanala sve više smanjuju i dijametar kanala dostigne vrednosti od nekoliko nanometara molekularna struktura tečnosti se pojavljuje u formi oscilacija gustine [25].

Rejnoldsov broj

Rejnoldsov broj se koristi za kvantitativni opis toka fluida i definisan je kao:

$$Re = \frac{u \rho l}{\eta}$$
(2.2.5)

gde je u karakteristična brzina (brzina toka fluida), l karakteristična dužina sistema (prečnik kanala ili cevi), ρ gustina fluida i η dinamička viskoznost. Na osnovu vrednosti Rejnoldsovog broja tok fluida se može okarakterisati kao:

- 1. laminaran stalan i uređen tok;
- 2. turbulentan tok sadrži haotične fluktuacije brzine;

Za male vrednosti Rejnoldsovog broja tok je laminaran i svi procesi kretanja fluida se uglavnom dešavaju na relativno malim brzinama, dok se impuls, toplota i masa šire procesom difuzije. Kada se dostigne kritična vrednost Rejnoldsovog broja Re_{crit}, tok postaje turbulentan i haotične fluktuacije brzine znatno ubrzavaju procese transporta. Različite geometrije cevi kroz koje se kreće fluid su okarakterisane različitim Rejnoldsovim brojevima, pa je na primer za tok fluida u kružnoj cevi kritična vrednost Rejnoldsovog broja $\operatorname{Re}_{crit} \approx 2300$. Pri dizajniranju makroskopskih sudova i uređaja za rad sa fluidima, mora se imati u vidu da će u velikom broju slučajeva tok biti turbulentan. Prednost turbulentnog toka je mnogo veća brzina prenosa toplote i mase u odnosu na laminarni režim. Na mikroskopskoj skali tokovi su uglavnom laminarni i zato je jedan od zadataka mikrofluidike da pronađe način realizacije mešanja na mikroskali. Za mikrofluidične sisteme redovi veličina prečnika hidrauličnih kanala su 100 μ m, tipične brzine toka fluida su reda 1 $\frac{\rm cm}{\rm s},$ a viskoznost reda 10⁻³ Pa \cdot s. Zamenom navedenih vrednosti za slučaj vode $(\rho = 1000 \ \frac{\text{kg}}{\text{m}^3})$ u izraz (2.2.5) dobija se vrednost Rejnoldsovog broja jednaka jedinici. Ova vrednost ukazuje da se tok u mikrokanalima ponaša laminarno. Sa povećanjem dimenzija kanala i/ili brzine toka Rejnoldsov broj može da dostigne i vrednost 10, gde pored viskoznih sila na značaju dobijaju i sile inercije. Laminarni karakter mikrotoka ima bitne posledice na dizajn i izgled mikrofluidičnih sistema [25]. Mikrofluidični kanali često nemaju kružni poprečni presek pa se za izračunavanje Rejnoldsovog broja u kanalima sa nekom drugom geometrijom poprečnog preseka uvodi veličina hidraulični dijametar, definisana kao:

$$D_h = 4 \frac{A}{P_{wet}} \tag{2.2.6}$$

gde D_h predstavlja hidraulični dijametar, A površinu poprečnog preseka, a P_{wet} obim kanala koji je u dodiru sa tečnošću. Za kružni poprečni presek, hidraulični dijametar definisan izrazom (2.2.6) ima vrednost $D_h = d$ [26].

GLAVA 2. MIKROFLUIDIKA

U mikrofluidici se posmatra laminaran tok fluida, sa malim Rejnoldsovim brojem, a pored njega, kao karakteristika toka daju se i Veberov⁵ broj, Bondov⁶ broj i kapilarni broj, koji će biti opisani u nastavku.

Veberov broj

Veberov broj poredi prisustvo sila inercije i sila površinskog napona unutar sistema i definisan je kao:

$$We = \frac{\rho \ u^2 \ l}{\sigma} \tag{2.2.7}$$

gde je u brzina fluida, ρ gustina fluida, l karakteristična dužina, σ koeficijent površinskog napona. Veberov broj ima male vrednosti u mikrofluidici, jer se sile inercije zanemaruju. Efekti inercije dolaze do izražaja u slučaju tokova velikih brzina.

Bondov broj

Dejstvo gravitacije je često zanemarljivo, izuzev u specifičnim slučajevima (poglavlje 3.10) u mikrofluidičnim sistemima. Bondov broj poredi gravitacione efekte sa efektima površinskog napona koji dominiraju na mikroskali i dat je izrazom:

$$Bo = \frac{\Delta \rho \ g \ l^2}{\sigma} \tag{2.2.8}$$

gde je $\Delta \rho$ razlika u gustinama fluida, g gravitaciono ubrzanje i l karakteristična dužina sistema.

Pekletov broj

Za različite uslove i geometrije mikrofluidičnih sistema mogu dominirati direktni ili statistički transportni procesi. Pekletov broj je bezdimenzioni broj dat izrazom:

$$Pe = \frac{v \, d}{D} \tag{2.2.9}$$

gde je d karakteristična dužina mikrofluidičnog sistema, D difuziona konstanta, a v prosečna brzina molekula. Pekletov broj daje odnos direktnog toka i difuzije. Dobijena informacija je od značaja za dizajn mikrofluidičnih sistema za koje je bitna kontrola difuzije, što često ima primenu u hemijskim separacionim sistemima. Poznavajući Pekletov broj pri dizajnu mikrofluidičnih sistema može se birati između dve situacije. Ukoliko je

 $^{^5\}mathrm{Weber}$

⁶Bond

GLAVA 2. MIKROFLUIDIKA

Pekletov broj manji od jedinice, tada difuzija dominira u mikrofluidičnom toku i direktan transport spada u sekundarne. U drugom slučaju ukoliko je Pekletov broj veći od jedinice molekuli se kreću pod uticajem spoljašnje pokretačke sile i difuzija ima mnogo manji uticaj. Na vrednost Pekletovog broja najviše utiče dužina kanala. Za velike dužine kanala Pekletov broj je uvek veći od jedinice i tada je tok direktan [26].

Poznavajući osnovne veličine koje opisuju fluid (gustina, brzina toka itd.), kao i veličine karakteristične za geometriju kanala kroz koju se fluid kreće, na osnovu navedenih parametara, može se izvesti zaključak o osobinama fluida i silama koje dominiraju u toku. Svi gore navedeni parametri su pogodni za primenu jer se izbegava eksperimentalno utvrđivanje opisanih osobina i mogu se koristiti pri dizajnu fluidičnih sistema. U primeni mikrofluidičnih sistema uglavnom se koriste tečnosti, tako da će u nastavku biti predstavljen kratak pregled korišćenih jednačina na primeru nestišljivih fluida.

2.2.2 Navijer-Stoksova jednačina

Navijer-Stoksova je jedna od osnovnih jednačina za opis toka viskoznog fluida. To je parcijalna diferencijalna jednačina čijim rešavanjem dolazi do pojave nekoliko konstanti. One se određuju iz odgovarajućih graničnih uslova koji zavise od postavke problema. Jedan od često korišćenih graničnih uslova je tzv. *no-slip* granični uslov, koji govori da je brzina fluida uz zid suda jednaka kao i brzina kretanja zida. Dakle, ukoliko je zid nepokretan smatra se i da je brzina fluida koji teče uz zid jednaka nuli ili ukoliko se zid pomera i fluid se kreće jednakom brzinom. Kako fluidi predstavljaju kontinualne sredine, umesto diskretnih veličina kao što su masa ili sila koja deluje na fluid, koriste se gustina ρ i gustina sile **f**, definisane po jedinici zapremine fluida. Po analogiji sa diskretnom mehanikom koristi se koncept elementarne zapremine. Sile koje deluju na elementarne zapremine potiču od pritiska fluida na površinu elementa kao i od sile **f** koja je definisana po jedinici zapremine elementa. Vektorsko polje brzina za Njutnov fluid se ponaša prema Navijer-Stoksovoj jednačini koja u suštini predstavlja kontinualnu verziju II Njutnovog zakona po jedinici zapremine. Pri kretanju nestišljivog fluida važi jednačina kontinuiteta:

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0 \tag{2.2.10}$$

gde je \mathbf{v} vektorsko polje fluida. Navijer-Stoksova jednačina za nestišljive fluide je:

$$\rho \left[\partial_t \mathbf{v} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v}\right] = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{v} + \mathbf{f}$$
(2.2.11)

gde se članovi koji opisuju inercijalno kretanje nalaze sa leve strane, a sile koje deluju na desnoj strani. Ukoliko na tok fluida deluje gravitaciona sila i primenjeno električno polje, sila **f** koja predstavlja ukupnu gustinu spoljašnje sile koja deluje na fluid, sadržaće dva člana.

$$\rho \left[\partial_t \mathbf{v} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v}\right] = -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{v} + \rho \mathbf{g} + \rho_{el} \mathbf{E}$$
(2.2.12)

Poslednja dva člana na desnoj strani opisuju spoljašnje sile koje deluju na fluid. Clan $\rho \mathbf{g}$ opisuje dejstvo gravitacione sile, gde je ρ gustina fluida, a $\rho_{el} \mathbf{E}$ predstavlja interakciju sa spoljašnjim električnim poljem, gde je ρ_{el} gustina naelektrisanja fluida. Nelinearni član $\rho[(\mathbf{v} \cdot \nabla)\mathbf{v}]$ se može zanemariti u slučaju tokova malih brzina, što ujedno omogućava analitičko rešavanje jednačine. Prva dva člana sa desne strane jednačine opisuju uticaj razlike pritisaka i uticaj viskoznih efekata na kretnje fluida. Za male vrednosti Rejnoldsovog broja (Re \ll 1) jednačina (2.2.12) prelazi u Stoksovu jednačinu datu izrazom (2.2.13).

$$\nabla p = \eta \nabla^2 \mathbf{v} \tag{2.2.13}$$

Stoksova jednačina opisuje tok viskoznog fluida usled razlike pritisaka na krajevima cevi, zanemarujući gravitacione i inercijalne efekte, što je ujedno i razlog primene za opis mikrofluidičnih sistema [23, 24].

2.2.3 Hidraulična otpornost

U okviru rada biće predstavljena tehnika uštinutog toka koja služi za separaciju čestica različitih veličina, ali i poboljšane verzije koje uklanjaju neke od primećenih nedostataka matične tehnike. Za razumevanje jedne od poboljšanih tehnika - tehnike uštinutog toka sa asimetričnih granama (poglavlje 3.3), od velikog značaja je razumevanje veličine hidraulične otpornosti.

Iz Poazejevog zakona, datog izrazom 2.2.14, poznato je da konstantan pad pritiska Δp dovodi do konstantnog protoka fluida Q:

$$\Delta p = R_{hid} \ Q \tag{2.2.14}$$

gde je faktor proporcionalnosti R_{hid} poznat kao hidraulična otpornost. Poazejev zakon zapisan u formi (2.2.14) je potpuno analogan Omovom zakonu, $\Delta V = RI$ koji povezuje jačinu struje I koja protiče kroz provodnik čija je otpornost R sa padom potencijala na krajevima provodnika ΔV . Analogno vezi između oslobođene Džulove toplote usled električnog provođenja i otpornosti R, postoji veza između hidraulične otpornosti i oslobađanja toplote usled unutrašnjeg trenja u tečnosti.

Pri toku tečnosti kroz prav kanal postoji translatorna invarijantnost i ovaj vid simetrije dovodi do iščezavanja nelinearnog člana $(\mathbf{v} \cdot \nabla)\mathbf{v}$ u Navijer-Stoksovoj jednačini. Ispostavlja se da pri postojanju ove simetrije postoji idealan Poazejev tok, a njegovo postojanje aproksimativno važi za Re $\ll 1$.

Ukoliko su dva kanala različitih dimenzija spojena, slika 2.2.4, jasno je da u tom



Slika 2.2.4: Strujnice dobijene kao rešenje Navijer-Stoksove jednačine a) Slučaj $Re = 0.01 \ll 1$ tako da važi $\Delta p \approx (R_1 + R_2)Q$; b) Slučaj $Re = 100 \gg 1$ gde se pojavljuje vrtlog u uglu šireg kanala. Linearna zavisnost ne postoji usled uticaja sila inercije $\Delta p \neq (R_1 + R_2)Q$ [24]

slučaju ne postoji translatorna simetrija i da izraz za idealan Poazejev tok nije primenljiv. Međutim, moguće je aproksimativno opisati ovaj slučaj ukoliko Rejnoldsov broj ima dovoljno malu vrednost. Tada će doprinos nelinearnog člana u Navijer-Stoksovoj jednačini biti zanemarljiv. Ukoliko se smatra da u oba kanala postoji Poazejev tok nakon njihovog rednog povezivanja dobija se analogan slučaj rednoj vezi otpornika. Kako su protoci u rednoj vezi jednaki u oba kanala $Q_1 = Q_2 = Q$, a pojedinačan pad pritiska u oba kanala se sabira u pad pritiska na krajevima kanala $\Delta p = \Delta p_1 + \Delta p_2$, koristeći Poazejev zakon dobija se:

$$R_{hid}Q = R_1Q_1 + R_2Q_2 = (R_1 + R_2)Q (2.2.15)$$

odakle se dobija redna veza hidrauličnih otpornosti, prikazan na slici 2.2.5:

$$R_{hid} = R_1 + R_2 \tag{2.2.16}$$

$$\begin{array}{c} \widehat{A} \\ \widehat{A} \\ + \\ \ast \widehat{a} \\ \hline \Delta p_1 = R_1 Q_1 \\ \Delta p_1 = R_1 Q_1 \\ \hline \Delta p_2 = R_2 Q_2 \\ \widehat{A} \\ + \\ \ast \widehat{a} \\ \hline \end{array} \begin{array}{c} R = R_1 + R_2 \\ \overrightarrow{A} \\ + \\ \ast \widehat{a} \\ \hline \end{array} \begin{array}{c} R_1, Q_1 \\ - \\ R_1, Q_1 \\ Q \\ - \\ A \\ \end{array} \begin{array}{c} R_2, Q_2 \\ P^* \\ \hline \end{array} \begin{array}{c} A \\ P \\ \ast \widehat{a} \\ \hline \end{array} \begin{array}{c} A \\ R_2, Q_2 \\ P^* \end{array} \begin{array}{c} P^* \\ A \\ R_2, Q_2 \\ P^* \end{array}$$

Slika 2.2.5: Redna veza hidrauličnih otpornosti R_1 i R_2 koji važi samo ukoliko $Re \rightarrow 0$, za uske i duge kanale [24]

Analogno važi i za paralelan tok, slika 2.2.6 [24].



Slika 2.2.6: Paralelna veza dva kanala sa hidrauličnim otpornostima R_1 i R_2 [24]

Analogno slučaju električnih kola mogu se primeniti Kirhofovi zakoni. Kanali sa hidrauličnom otpornošću R_{hid} se predstavljaju kao otpornici, kanali sa hidrauličnom popustljivošću postaju kondenzatori C_{hid} , jačina struje postaje protok Q, a pumpe koje obezbeđuju razliku pritisaka Δp postaju generatori. Zakoni analogni Kirhofovim koji važe za Poazejev tok tečnosti:

- 1. Zbir svih protoka koji ulazi u čvor je jednak nuli.
- 2. Zbir svih razlika pritisaka u jednoj zatvorenoj petlji je jednak nuli [24].

Kao što se moglo videti iz opisanih osobina, tok fluida na mikroskali se dosta razlikuje u odnosu na tok fluida na makroskali. Zadatak mikrofluidike je da pored razumevanja fizike fluida na mikroskali, pronađe način realizovanja manipulacije fluida istih kao na makroskali. Separacija čestica različitih veličina je postignuta primenom tehnike uštinutog toka, čiji će prinicip rada i primena biti opisani u glavi 3.

2.3 Tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova

Sa razvojem novih tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova i upotrebom novih materijala proširuju se mogućnosti primene mikrofluidičnih sistema. Zbog toga je velika pažnja usmerena na razvoj novih tehnologija izrade čipova u cilju pronalaženja jeftine, jednostavne i pouzdane tehnologije.

Tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova uglavnom nose naziv prema materijalu u kom se mikrofluidični čip izrađuje. Trend razvoja savremenih tehnologija dovodi do napretka u proizvodnji i izradi mikrofluidičnih čipova. Najčešće korišćene tehnologije izrade su: PDMS (PoliDiMetilSiloksan) tehnologija, LTCC⁷(Niskotemperaturna pečena keramika) tehnologija, 3D štampa, ksirografija⁸ i različite hibridne tehnologije nastale

⁷engl. Low Temperature Co-fired Ceramic

⁸engl. xurography

GLAVA 2. MIKROFLUIDIKA

kombinacijom navedenih tehnologija. Razvoj novih tehnologija izrade je usmeren ka smanjenju troškova, kraćem vremenu izrade mikrofluidičnih sistema i širokoj mogućnosti primene čipova. Prve tehnologije izrade koristile su staklo za mikrofluidične čipove gde se primenom fotolitografskog procesa pravi mikrofluidična struktura. Ove tehnologije su se ispostavile kao jako skupe, a sam proces fotolitografije eksperimentalno zahtevan. U istraživanjima su vremenom isprobavani novi materijali za izradu čipova, pa se danas prave i mikrofluidični čipovi od papira [28–31].



Slika 2.3.1: Tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova a) PDMS; b) LTCC; c) 3D štampa; d) ksirografija

Najdugotrajniji mikrofluidični čipovi se prave u PDMS tehnologiji, slika 2.3.1a. Izrada mikrofluidičnih čipova u ovoj tehnologiji podrazumeva izlivanje PDMSa u tečnom stanju u kalupe sa željenim dizajnom. Dobijeni sloj PDMSa sa mikrokanalima se spaja sa drugim slojem PDMSa ili sa drugim potpornim materijalima u cilju zatvaranja mikrokanala. Odgovarajući kalupi se prave u procesu fotolitografije, a novija istraživanja koriste i jeftine tehnologije izrade za kreiranje potpornih slojeva poput tehnologije 3D štampe [33]. Mikrofluidični čipovi, napravljeni u ovoj tehnologiji su optički transparentni, što omogućava praćenje tečnosti unutar čipa, a takođe su i fleksibilni što omogućava realizaciju struktura kao što su mikro-pumpe i mikro-ventili. PDMS je permeabilan za gas čime je omogućen dovod kiseonika i ugljen-dioksida u unutrašnjost čipa, što predstavlja veliku prednost za uzgajanje ćelija u njegovoj unutrašnjosti [34]. Sve ove osobine doprinose otvaranju novih mogućnosti primene mikrofludičnih čipova napravljenih u PDMS tehnologiji. PDMS tehnologija spada u skupe tehnologije jer zahteva veliku opremu i rad u čistoj sobi. Ujedno, sam proces litografije je kompleksan, a i ograničen na mikrokanale

GLAVA 2. MIKROFLUIDIKA

sa pravougaonim poprečnim presekom. Ovaj nedostatak ograničava primenu mikrofluidičnih čipova napravljenih u ovoj tehnologiji za biološka istraživanja jer oštre ivice ne odgovaraju realnim strukturama poput krvnih sudova. Razvojem PDMS tehnologije pronađen je način formiranja mikrokanala sa kružnim poprečnim presekom [35], ali je i dalje njihova izrada vremenski i eksperimentalno zahtevna.

Cest izbor tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova je LTCC tehnologija, slika 2.3.1b. Ova tehnologija omogućava jednostavno pravljenje kompleksnih višeslojnih struktura. Laserskim sečenjem LTCC traka omogućeno je dobijanje željene geometrije mikrokanala, a slojevita struktura čipa se dobija laminacijom više LTCC slojeva. Velika prednost ove tehnologije je mogućnost kontrole ispravnosti svakog sloja posebno pre laminacije. U procesu laminacije LTCC slojevi se međusobno spajaju, a zatim i sinteruju pažljivo odabranim termalnim profilom. Mane ove tehnologije su optička netransparentnost čipova, kao i promena dimenzija mikrokanala pri sinterovanju. U novijim istraživanjima problem netransparentnosti LTCC čipova je rešen kombinovanjem drugih materijala sa LTCC trakama kao što su staklo [36] i PDMS [37], tako da se obezbedi transparentnost mikrofluidičnog čipa.

Razvoj 3D štampe nalazi primenu i za izradu mikrofluidičnih čipova, slika 2.3.1c. Ova tehnologija koristi termoplastične materijale (ABS, PLA...) za slojevito pravljenje strukture mikrokanala pomoću 3D štampača. Veliki nedostatak ove tehnologije je loša rezolucija kanala, a često se u eksperimentima javljaju problemi sa curenjem čipa. Ova tehnologija spada u tehnologije za brzu i jeftinu izradu mikrofluidičnih čipova [38].

Ksirografija je jednostavna, jeftina i brza tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova, slika 2.3.1d. Izrada mikrofluidičnog čipa u ovoj tehnologiji se sastoji od sečenja željenog dizajna u PVC foliji pomoću *Ploter Cutter*-a sa preciznim nožićem, gde se mogu podesiti brzina sečenja PVC folije, kao i pritisak nožića pri sečenju. PVC folije sadrže sloj lepka sa jedne strani koji se pod dejstvom temperature otpušta i omogućava lepljenje folije za drugi sloj. Isečene PVC folije se u procesu laminacije spajaju i formiraju mikrofluidični čip koji je potpuno transparentan. Na taj način se može pratiti tok fluida unutar mikrofluidičnog čipa, što daje veliku prednost ovoj tehnologiji. Nedostaci ove tehnologije, koji dovode do malog procenta uspešno napravljenih čipova, su neujednačeno isečeni mikrokanali kao posledica nedovoljne preciznosti nožića za sečenje mikrostruktura i zapušavanje kanala lepkom u procesu laminacije [39].

Mikrofluidični čip za separaciju mikročestica na principu uštinutog toka napravljen je primenom nove hibridne tehnologije fabrikacije, koja kombinuje LTCC tehnologiju i ksirografiju. Lasersko sečenje dizajna mikrokanala zadržano je iz LTCC tehnologije, dok su gornji i donji sloj čipa isečeni u PVC foliji pomoću *Ploter Cutter*-a. U procesu laminacije PVC folije otpuštaju lepak i omogućavaju lepljenje za LTCC trake. Dobijeni mikrofluidični čipovi su elastični kao i korišćeni materijali. LTCC trake tek nakon pečenja postaju krte, a PVC folije ne menjaju svoje elastične osobine nakon laminacije. Jedna od velikih prednosti ove tehnologije je i mogućnost uvida u unutrašnjost mikrofluidičnog čipa jer transparentnost PVC folija omogućava praćenje toka fluida unutar mikrofluidičnog čipa. Ova tehnologija spada u jeftine i jednostavne tehnologije i usled biokompatibilnosti korišćenih materijala daje veliki spektar mogućnosti primene [27].

U tabeli 2.1 dat je pregled osobina, prednosti i mana aktuelnih tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova.

Tehnologija izrade	Osobine čipa	Prednosti tehnologije	Mane tehnologije
PDMS	\bullet transparentni	•dugotrajni čipovi	•kompleksan postu-
	•elastični čipovi	∙veliki troškovi izrade	pak litografije ●kompleksna izrada složenih struktura
	●fleksibilni i istegljivi	ulletbiokompatibilni	●korišćenje čiste sobe
	čipovi		
	•do 200°C PDMS ne menja osobine		
LTCC	\bullet netransparentni	•mogućnost kontrole	•promena oblika i di-
	čipovi	ispravnosti svakog	menzija mikrokanala
	•krti čipovi	sioja posebno ●biokompatibilni	tokom pecenja
	•mogu se koristiti	•mogućnost integrisanja	
	na temperaturama	elektroda tehnikom sito-	
	većim od 1000°C	štampe	
3D štampa	•loša transparentnost čipova	●jeftina tehnologija	●loša rezolucija dobi- jenih mikrokanala
	•neelastični čipovi	•biokompatibilni čipovi	•curenje čipova
	●primena do 160°C	•kratko vreme izrade	U 1
		čipa	
Ksirografija	•odlična transparent-	•izrada i testiranje	●neujednačene ivice
	nost čipova	svakog sloja posebno	mikrokanala
	•elastični čipovi	•jeftina tehnologija	•jednokratna upotreba
	•primena do 120°C	•Kratko vreme izrade	•zapusavanje miluokanala lonkom
Hibridna	•dobra transparont	cipa eizrada i tostiranio	ejodnokratna upotroba
monuna	nost čipova	svakog sloja posebno	-Jeanokraina upotieba
	•elastični čipovi	●mogućnost nanošenia	
	- r · - · -	tankih slojeva sito- ili	
		ink-jet štampom na	
		LTCC sloj	

Tabela 2.1: Poređenje tehnologija izrade mikrofluidičnih čipova

Glava 3

Tehnika uštinutog toka

Mikrofluidični čipovi za separaciju čestica se mogu klasifikovati u tri grupe: pasivna grupa, aktivna grupa, kombinacija aktivne i pasivne grupe. Aktivne tehnike separacije uključuju dejstvo spoljašnjeg polja na čestice koje treba razdvojiti, pa se primenom električnog polja [40, 41], magnetnog polja [42] i optičkim metodama [43] mogu razdvojiti čestice različitih dimenzija, provodljivosti, magnetne susceptibilnosti itd. S druge strane pasivne tehnike koriste interakciju između čestica, mikrokanalne strukture i toka fluida i ne zahtevaju dejstvo spoljašnjeg polja. Primeri pasivnih tehnika su tehinka uštinutog toka [44], tehnika bočnog izmeštanja [45], hidrodinamički filteri [46] i separatori inercije [47]. Prednost pasivnih tehnika sortiranja je to što ne zahtevaju dodatnu prateću opremu i za separaciju čestica koriste samo osobine fluida na mikroskali. S druge strane, aktivne tehnike separacije imaju veću efikasnost sortiranja i pouzdanije su.

Koristeći osobine laminarnog toka tečnosti na mikroskali, tehnika uštinutog toka¹ se primenjuje za separaciju čestica različite veličine. Pored principa rada, u okviru ove glave biće predstavljeni različiti realizovani mikrofluidični čipovi koji rade na ovom principu, kao i njihova primena.

Kod mikrotokova kada je Re $\ll 1$ i Pe $\gg 1$ može se vršiti manipulacija prostornih pozicija čestica u rastvoru koristeći osobine laminarnog toka. Tokovi sa malim Rejnoldsovim brojem u mikrokanalima su laminarni, te tečnosti unutar kanala teku paralelno jedna drugoj ne mešajući se. Na slici 3.0.1 [49] su prikazana dva kanala kroz koja ulaze različite tečnosti protocima Q_1 i Q_2 u kanal širine d. Usled laminarnog toka, tečnosti se pri susretu u mikrokanalu ne mešaju, tako da je njihov tok duž kanala paralelan. Širina koju tečnosti zauzimaju unutar kanala zavisi od odnosa njihovih protoka. Tečnost koja ulazi protokom Q_1 zauzima deo kanala $d\frac{Q_1}{Q_1+Q_2}$, a tečnost koja ulazi protokom Q_2 zauzima $d\frac{Q_2}{Q_1+Q_2}$. Ove relacije važe daleko od spojeva kanala i u slučaju uniformne dubine kanala.

 $^{^{1}}$ U stranoj literaturi se ova tehnika sreće pod nazivom *Pinched Flow Fractionation* ili skraćeno *PFF*.



Slika 3.0.1: Laminarni tok unutar mikrokanala [49]

U ovakvim uslovima se može kontrolisati distribucija čestica u kanalu kontrolisanjem samo odnosa protoka na ulazu. Ta osobina je iskorišćena za razdvajanje čestica po veličini u tehnici uštinutog toka [48,49].

3.1 Princip rada

Jedan od načina razdvajanja čestica različite veličine unutar mikrofluidičnih sistemima je korišćenjem tehnike uštinutog toka. Ova metoda omogućava kontinulanu separaciju suspendovanih čestica unutar tečnosti. Mikrofluidični čip koji radi na ovom principu sadrži dva ulazna kanala, jedan za suspenziju i drugi za tečnost. Pri ulazu ove dve tečnosti u uštinuti kanal, širine kanala koje tečnosti zauzimaju zavise od odnosa njihovih protoka. Da bi došlo do razdvajanja čestica, neophodno je da tečnost bez suspednovanih čestica zauzme veći deo kanala, tako da tečnost sa suspendovanim česticama bude fokusirana uz gornji zid kanala, slika 3.1.1. Na taj način će se čestice različite veličine unutar uštinutog kanala nalaziti na različitim strujnicama i nastavljajući kretanje biti razdvojene prema veličini u proširenom kanalu.

Ovaj koncept razdvajanja čestica u mikrofluidičnim sistemima predlaže M. Yamada [44]. Primenom tehnike uštinutog toka u [44] uspešno su razdvojene polistirenske čestice prečnika 15 μ m i 30 μ m i ispitan je uticaj protoka i oblika kanala na separacione performanse. Za ispitivanje uticaja širine uštinutog kanala na separacione performanse čipa, korišćeni su kanali sa širinom uštinuća 47 μ m, 56 μ m i 82 μ m. Ispostavlja se da je razdvajanje čestica najbolje za najmanju širinu kanala i pokazano da se najbolje razdvajanje čestica po veličini dobija kada je širina uštinute tečnosti manja od prečnika manjih čestica. Naime, tada su sigurno čestice različitih veličina poravnate uz gornji zid suda uštinutog kanala, što je glavni preduslov za separaciju čestica po veličini. M. Yamada predlaže jednostavan model opisa uštinutog toka. Ovaj model se izvodi iz linearne



Slika 3.1.1: Šematski prikaz kanala sa uštinućem; fluid 1 je tečnost sa suspendovaninm česticama različite veličine; fluid 2 je tečnost bez čestica [50]

Stoksove jednačine i zakona održanja mase i njihove veze sa rastojanjem centra čestice i zida kanala u proširenom kanalu (y_{PFF}) . Položaj čestica na "ekranu" dat je izrazom:

$$y_{PFF} = \frac{w_b}{w_p} r_p \tag{3.1.1}$$

gde su w_b širina proširenog dela kanala, w_p širina uštinuća. Na ovaj način je pokazano da je položaj čestica u proširenom kanalu direktno proporcionalan poluprečniku čestice odakle sledi da će čestice različitih dimenzija imati različit položaj u proširenom kanalu. Iz izraza (3.1.1) se vidi i da je razdvajanje čestica različite veličine direktno proporcionalno razlici njihovih poluprečnika [44].

Opisana tehnika uštinutog toga, koju predlaže M. Yamada daje dobre rezultate ukoliko je širina uštinutog kanala bliska dimenzijama čestica većeg prečnika. Pored poteškoća vezanih za realizaciju malih širina kanala, pri upotrebi ovih mikrofluidičnih čipova, često dolazi do zapušavanja kanala. Iz tog razloga razvijene su različite poboljšane tehnike uštinutog toka, koje omogućavaju separaciju čestica manjih dimenzija i otklanjaju eksperimentalne poteškoće.

3.2 Tehnika uštinutog toka sa pregradom

Poboljšanje razdvajanja čestica po veličini se dobija ubacivanjem pregrade u prošireni kanal, slika 3.2.1. Ovu ideju predlažu A. L. Vig i A. Kristensen [51] i vrše numeričko poređenje između efikasnosti razdvajanja tehnike uštinutog toka i uštinutog toka sa pregradom. Ispostavlja se da je razdvajanje čestica po veličini sa pregradom bolje i do 70%.

Na slici 3.2.1 je prikazana pregrada u proširenom delu kanala čija je uloga povećanje međusobnog rastojanja između čestica, tj. njihovo dodatno razdvajanje. Ova tehnika se



Slika 3.2.1: a) Šematski prikaz principa rada uštinutog toka; b) Šematski prikaz principa rada uštinutog toka sa pregradom. Pregrada unutar proširenog dela kanala služi za bolje razdvajanje čestica po veličini [51]

zasniva na pretpostavkama da je tok laminaran, da su čestice potpuno fokusirane uz zid kanala pre ulaska u prošireni kanala, kao i da je odnos između širine i visine uštinutog kanala i proširenog dela ($w_p \ll h$ i $w_b \ll h$). Međusobne interakcije između čestica, čestica i fluida kao i zida i čestica su zanemarljive. Koristeći ove pretpostavke dobija se veza između položaja centra mase čestice u proširenom delu kanala (y_{EPFF}) i prečnika čestica (d_p) i data je izrazom:

$$y_{EPFF} = \left(\frac{R_E}{R_S} + 1\right) \frac{d_E}{w_p} r_p \tag{3.2.1}$$

gde d_E predstavlja širinu proširenog dela pregrade, R_E ukupna hidraulična otpornost pregrade, a R_S ukupna hidraulična otpornost ostalog dela kanala [51].

A. L. Vig i A. Kristensen postižu razdvajanje polistirenskih zrna veličine 0.25 μ m do 0.5 μ m, a velika primena preciznog razdvajanja čestica ovako malih dimenzija se nalazi u hemijskim i biološkim istraživanjima.

3.3 Tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama

Još jedno unapređenje tehnike uštinutog toka predlaže J. Takagi [52], uvođenjem asimetričnih grana u prošireni deo kanala². Termin asimetrična grana se odnosi na postojanje razlike u hidrauličnoj otpornosti različitih kanala u proširenom kanalu, slika 3.3.1.

 $^{^2\}mathrm{U}$ stranoj literaturi se ova tehnika sreće pod nazivom Asymmetric Pinched Flow Fractionation (AsPFF)

GLAVA 3. TEHNIKA UŠTINUTOG TOKA

Ovom metodom je moguće razdvajanje čestica manjih dimenzija, pa je primenom ove metode uspešno realizovano izdvajanje eritrocita iz krvi dimenzija 1-5 μ m.

Kao što je rečeno u poglavlju 3.1, separacione performanse mikrofluidičnog čipa su bolje ukoliko je širina uštinutog kanala manja, ali s druge strane zapušavanje kanala česticama ometa pravilan rad čipa. Ovaj problem je eliminisan korišćenjem veće širine uštinutog kanala, a razdvajanje čestica poboljšano kontrolisanjem hidrauličnog otpora izlaznih kanala. Dodatna prednost ove tehnike je izbegavanje poteškoće vezanih za izradu kanala jako malih dimenzija.

Na slici 3.3.1a je prikazana tehnika uštinutog toka gde je hidraulični otpor u svim kanalima jednak, tako da je i raspodela protoka u svim kanalima jednaka. Sa slike se vidi da se čestice različite veličine razdvajaju u granama 1 i 2, a prema izrazu (3.1.1) čestice čiji je dijametar jednak širini uštinutog kanala prolaze kroz granu 3, tako da grane 4 i 5 ostaju neiskorišćene. Preciznija separacija u ovom slučaju se postiže povećanjem broja grana ili suženjem uštinutog kanala.



Slika 3.3.1: Poređenje između tehnike uštinutog toka i uštinutog toka sa asimetričnim granama kanala [52]

Tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama raspoređuje tok u blizini bočnog zida 1 unutar uštinutog kanala po granama kanala. Stoga se rastojanje između pozicija čestica u blizini bočnog zida 1 može povećati. Da bi se kontrolisao protok tečnosti kroz kanale, kontroliše se hidraulična otpornost promenom dimenzija kanala. Pri konstantnom padu pritiska Δp dobija se konstantan protok u mikrokanalima, opisan izrazom:

$$\Delta p = \frac{32v\mu L}{D^2} \tag{3.3.1}$$

gde je v srednja brzina toka fluida, μ viskoznost tečnosti, L dužina mikrokanala, D karakteristični dijametar mikrokanala. Karakterističan dijametar kanala pravougaonog

poprečnog preseka je definisan izrazom:

$$D = \frac{2wd}{w+d} \tag{3.3.2}$$

gde su w i d širina i dužina mikrokanala, respektivno. Protok je definisan sledećim izrazom:

$$Q = v \ d \ w \tag{3.3.3}$$

Protok se može na osnovu izraza (3.3.1) i (3.3.3) izraziti:

$$Q = \Delta p \times \frac{D^2 w d}{32\mu L} = \Delta p \times \frac{1}{R}$$
(3.3.4)

gde je R hidraulična otpornost. Razlika pritisaka na ulazu i izlazu iz kanala jednaka je za sve grane, dubina kanala je jednaka za sve grane, kao i viskoznost tečnosti u svim granama. Stoga, protok je određen dijametrom D, širinom kanala w i dužinom kanala L:

$$Q \propto \frac{1}{R} \propto \frac{D^2 w}{L} \tag{3.3.5}$$

Na osnovu izraza (3.3.5) se mogu odrediti neophodne dimenzije kanala. Širina uštinutog kanala fabrikovanog čipa je 20 μ m, a dubina mikrokanala 20 μ m. Fabrikovani čip, slika 3.3.2, sadrži 13 grana u proširenom kanalu povezanih na kanal sa uštinućem. Jedna od grana je grana B, koja služi kao odvod, dok ostalih 12 su grane A, koje služe za separaciju i skupljanje čestica različitih dimenzija. Grana A se sastoji od dva kanala širina 200 i 50 mm i dužina 3 i 10.6 mm, respektivno. Širina grane B je 200 mm, a dužina 1.5 mm. Primenom izraza (3.3.5) dobija se odnos protoka u granama A i B, 1:48. Zbog toga se očekuje oko 80% ukupne tečnosti u odvodnom kanalu.



Slika 3.3.2: Šematski prikaz fabrikovanog čipa sa asimetričnim granama [52]

GLAVA 3. TEHNIKA UŠTINUTOG TOKA

Primenom čipa sa asimetričnim granama izvršena je separacija eritrocita iz krvi. Ovo je ujedno bila i primena tehnike uštinutog toka na separaciju čestica koje nemaju sferičan oblik (eritrociti su oblika diska) [52].

3.4 Unapređena tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama

Unapređena tehnika uštinutog toka sa asimetričnim granama³ sadrži vertikalno fokusirane kanale i nagnute zidove kanala. Pored povećanja separacione rezolucije, ova tehnika omogućava i smanjenje širine distribucije pozicija čestica na ekranu.

Na slici 3.4.1 [53] je prikazan poprečni presek uštinutog kanala sa vertikalno fokusiranim i nagnutim zidovima kanala , slika B-3, u poređenju samo sa nagnutim zidom AsPFF, slika B-2 i normalnim AsPFF, slika B-1. Kao što je prikazano na slici 3.4.1 separaciona rastojanja u uštinutom kanalu u normalnom AsPFF uređaju su definisana razlikom između poluprečnika čestica. S druge strane, u slučaju sa slike B-2, kada je nagnut zid u uštinutom kanalu rastojanje između čestica je određeno sa $\Delta r_{m,n}/\tan(\alpha/2)$, gde je α ugao između nagnutog zida i donjeg sloja. Odatle se može zaključiti da se značajno povećanje može dobiti smanjenjem ugla α . S obzirom na to da je pozicija čestica u proširenom kanalu zavisna od pozicija čestica u uštinutom kanalu, može se očekivati da separaciona efikasnost poraste ukoliko se napravi nagnut zid u AsPFF uređaju.

Pomoću ove tehnike uspešno su razdvojene polistirenske čestice sfernog i diskoidalnog oblika, kao i eritrociti i trombociti iz krvi [54].

3.5 Tehnika uštinutog toka sa efektom inercije

F. P. Bretherton pokazuje da na sferne čestice unutar fluida, pri toku okarakterisanim malim Rejnoldsovim brojem, ne deluju sile ortogonalne na pravac toka kretanja fluida⁴ [55]. Za vrednosti Rejnoldsovog broja reda veličine 100, tok fluida je i dalje laminaran ali se pojavljuju i efekti inercije. S obzirom na to da brzina fluida duž poprečnog preseka kanala kroz koji fluid teče nije uniformna, već ima paraboličan oblik u slučaju Poazejevog toka, gradijent brzine toka $\partial v/\partial r$ ima veliku vrednost u mikrokanalima i može uticati na pojavu nelinearnih sila.

Jedan od efekata koji nalazi primenu u tehnici uštinutog toka sa efektom inercije je pojava preuređivanja čestica duž poprečnog preseka kanala, kao na slici 3.5.1 [47]. Ova pojava je prvi put primećena na makroskopskim tokovima i poznata je u dinamici fluida

 $^{^{3}}$ U stranoj literaturi se ova tehnika sreće pod nazivom AsPFF device with a tilted sidewall and vertical focusing channels ili skraćeno t-AsPFF-v

⁴Ova teorema se u stranoj literaturi sreće pod nazivom Mirror-Symmetry Time Reversal Theorem.



Slika 3.4.1: A) Poprečni presek t-AsPFF-v dizajna B) Položaji čestica u uštinutom kanalu u slučajevima: (B-1) AsPFF; (B-2) t-AsPFF; (B-3) t-AsPFF-v [53]

kao Segre-Silberbergov efekat [56]. Naime, u kanal ulazi suspenzija čije su čestice potpuno nasumično raspoređene duž poprečnog preseka kanala. Nakon pređenog određenog rastojanja duž kanala, primećeno je njihovo preuređivanje, kao na slici 3.5.1d. Objašnjenje ove pojave je zahtevalo veliki trud naučnika.

Pri toku fluida duž kanala dolazi do radijalnog kretanja čestica ka ekvilibrijumskim pozicijama kao na slici 3.5.1d, gde dolazi do uravnotežavanja sila koje deluju na čestice duž kanala. Ravnoteža se javlja između sile uzgona koja potiče od zakrivljenosti profila brzine toka F_S i sile uzgona kao posledice interakcije čestice i zida kanala F_W . Sila uzgona koja nastaje usled zakrivljenosti profila brzine je data izrazom:

$$F_S = \frac{C_S \ \rho \ U_{max}^2 a^3}{D_h} \tag{3.5.1}$$

gde je C_S koeficijent koji je funkcija Rejnoldsovog broja i rastojanja između centra kanala i pozicije čestice, D_h hidraulički dijametar kanala, ρ gustina fluida, U_{max} maksimalna brzina toka i *a* dijametar čestice. S obzirom na to da čestica u toku sa paraboličnim profilom brzine sa gornje i donje strane nema jednaku brzinu fluida formira se razlika pritisaka što usmerava silu uzgona uvek ka većoj vrednosti relativne brzine. Ova pojava

GLAVA 3. TEHNIKA UŠTINUTOG TOKA

je analogna pojavi sile uzgona kod avionskog krila, kada se usled oblika krila aviona javlja razlika pritisaka sa gornje i donje strane i dovodi do poletanja. Ovu pojavu nezavisno objašnjavaju Ho i Leal [57], i Cox [58].



Slika 3.5.1: a) Dve sile uzgona deluju ortogonalno na pravac toka fluida; b) U kanalima kvadratnog poprečnog preseka čestice imaju 4 ekvilibrijumske pozicije; c) Primer kako se ova pojava može iskoristiti za fokusiranje čestica; d) Šematski prikaz migracije čestica; [47]

Sila koja deluje na čestice ortogonalno na pravac toka data je izrazom:

$$F_W = \frac{C_W \rho \ U_{max}^2 a^6}{D_h^4} \tag{3.5.2}$$

gde je C_W bezdimenzioni koeficijent koji zavisi od rastojanja između pozicije čestice i zida kanala. Kada se čestica kreće u blizini zida usled interakcije sa zidom dolazi do zaostajanja čestica za fluidom. Pored toga, dolazi i do deformacije strujnica oko čestice i javlja se razlika pritisaka koja usmerava silu uzgona suprotno od zida. S obzirom da u blizini zidova kanala dolazi do međusobnog poništavanja sila koje deluju na česticu, koja zaostaje za fluidom, dolazi do rotacije čestice. Rubinow i Keller [59] definišu silu uzgona na sferne čestice koje rotiraju u fluidu izrazom:

$$\mathbf{F}_{\Omega} = \pi a^3 \rho \ \mathbf{\Omega} \times \mathbf{U} \tag{3.5.3}$$

Ukoliko čestica rotira uga
onom brzinom Ω , a brzina dolazećeg fluida je U, onda se te brzine superponi
raju u smeru rotiranja čestice, a oduzimaju kada su brzine suprotno

GLAVA 3. TEHNIKA UŠTINUTOG TOKA

usmerene. Na ovaj način se javlja razlika pritisaka sa suprotnih strana čestice koja stvara silu uzgona normalno na pravac prostiranja fluida. Pokazano je i da je intenzitet ove sile mnogo manji u odnosu na sile koje nastaju usled postojanja gradijenta brzine fluida i usled interakcije sa zidom kanala, te se ovaj vid migracije čestica ka ekvilibrijumu naziva spora migracija, slika 3.5.2 [47].



Slika 3.5.2: Šematski prikaz mikrokanala korišćen za poboljšanu separaciju čestica po veličini. [60]

Opisana pojava je primenjena i za poboljšanje tehnike razdvajanja čestica po veličini. Kao i kod običnog kanala sa uštinućem tečnost sa česticama različite veličine biva fokusirana usled većeg protoka tečnosti koja ulazi kroz drugi ulaz (bez čestica). Sile uzgona duž kanala sa pravougaonim poprečnim presekom utiču na položaj čestica unutar kanala. S obzirom da su sile uzgona funkcije prečnika čestice, čestice različite veličine će imati različita odstupanja od zidova kanala, što značajno utiče na krajnje razdvajanje čestica po veličini [60].

3.6 Elasto-inercijalna tehnika uštinutog toka

Do sada opisane tehnike korišćene su za primenu sa Njutnovskim fluidima. Kod ne-Njutnovskih fluida viskoznost se menja primenom sile na fluid, tj. ne postoji linerana zavisnost između stope smicanja i primenjenog tangencijalnog napona. U poređenju sa tehnikom uštinutog toka sa efektom inercije, pokazano je da elasto-inercijalna tehnika može da razdvoji mnogo manje čestice, pa čak i čestice manje od mikrometra.

Elasto-inercijalna tehnika uštinutog toka koristi dejstvo elastičnih i efekta inercije sile uzgona unutar viskozno-elastičnog fluida za bolju separaciju čestica po veličini. U ovoj tehnici fokusirana tečnost sa česticama može imati širinu veću od maksimalne dozvoljene u tehnici uštinutog toka, $w_{p,max} = r_1 + r_2$, gde su r_1 i r_2 poluprečnici čestica koje se razdvajaju. Na slici 3.6.1 [61] je prikazan smer delovanja elastične sile uzgona definisane izrazom:

$$F_{eL} \sim r_p^3 Wi \ G^2 \tag{3.6.1}$$

gde je r_p poluprečnik čestice, Wi Vajsenbergov broj koji predstavlja meru elastičnih



Slika 3.6.1: Šematski prikaz delovanja sila na čestice unutar elasto-inercijalne tehnike uštinutog toka [61]

efekata u fluidu i G stopa smicanja. Elastična sila usmerava čestice duž centralne linije toka i prema uglovima u slučaju pravougaonog poprečnog preseka. Kao što je rečeno u poglavlju 3.5 efekat inercije sile uzgona ima dve komponente, jednu koja potiče od interakcije čestice i zida kanala koja je usmerena suprotno od zida kanala i druge koja nastaje kao posledica zakrivljenosti profila brzine toka i usmerava čestice ka ekvilibrijumskim pozicijama. Kao što se može videti sa slike 3.6.1 ove dve sile su usmerene tako da utiču na udaljavanje čestica i usmerene su prema centralnoj liniji kanala.

Ova tehnika je primenjena za separaciju sferičnih čestica i čestica oblika kikirikija jednake zapremine. Separacija čestica prema obliku nalazi primenu u medicini jer oblik ćelije može biti indikator bolesti. Naime, crvena krvna zrnca menjaju svoj oblik ukoliko postoji srpasta anemija ili malarija, tako da se primenom ove metode one mogu dijagnostifikovati [61,62].

3.7 Tehnika uštinutog toka sa optičkim dejstvom

Uticaj optičke sile na mikročestice je primećen od strane Ashkin-a [63] i nakon toga ovo dejstvo je iskorišćeno i za unapređenje razdvajanja čestica po veličini u tehnici uštinutog toka. Ova tehnika spada u kombinaciju aktivnih i pasivnih tehnika separacije čestica.

Kada čestica prolazi kroz laserski snop, sile rasejanja deluju na česticu u smeru prostiranja laserskog zraka i na taj način utiču na izmeštanje iz njihovog položaja normalno na tok fluida. Ovo izmeštaje je poznato kao retenciona dužina i zavisi od veličine čestica i parametara laserskog snopa. Retenciona dužina se može izračunati iz teorijskog proračuna Kim-a [64]. Pretpostavljajući da su sila rasejanja i širina laserskog snopa konstantne, izveden je izraz za retencionu dužinu:

$$w_r = \frac{n_0 P}{3\pi\mu c U} \frac{d_p}{2\omega_0} Q^* \sqrt{\frac{\pi}{2}} \operatorname{erf}(\sqrt{2})$$
(3.7.1)

gde je n_0 indeks prelamanja sredine, P je snaga laserskog izvora, μ dinamička viskoznost

GLAVA 3. TEHNIKA UŠTINUTOG TOKA

fluida, U konstantna brzina fluida, c brzina svetlosti, ω_0 širina laserskog snopa, Q^* konstanta koja zavisi od indeksa prelamanja medijuma, a "erf" predstavlja funkciju greške⁵. Iz izraza (3.7.1) se vidi da je retenciona dužina proporcionalna dijametru čestice, odakle se može zaključiti da talasna dužina laserskog zračenja mora biti manja od prečnika čestice da bi mogla uticati na njeno izmeštanje. U radu je korišćeno lasersko zračenje talasne dužine 532 nm za razdvajanje čestica 2, 5 i 10 μ m.

Primena dejstva optičke sile se uvodi da bi se poboljšalo razdvajanje čestica po veličini u tehnici uštinutog toka. Prema ovoj metodi optička sila deluje na čestice u uštinutom kanalu tako da je njeno dejstvo normalno na pravac toka, slika 3.7.1 [65]. Laserom koji emituje zračenje iz vidljivog dela spektra na čestice unutar uštinutog kanala dolazi do izmeštanja čestica iz prvobitnih strujnica tako da se kao rezultat dobija veće razdvajanje po veličini u proširenom kanalu. Pored dejstva optičke sile, poboljšano razdvajanje čestica po veličini je obezbeđeno i zakrivljenjem proširenog kanala.



Slika 3.7.1: Šematski prikaz tehnike uštinuog toka sa dejstvom optičke sile [65]

Ovakav sistem ne zahteva dodatni transport razdvojenih čestica jer su one već usmerene ka zoni analize tokom fluida zbog zakrivljenosti proširenog dela kanala. Još jedna od prednosti ovako poboljšane tehnike uštinutog toka je mogućnost izrade veće širine uštinutog kanala. Na taj način su sprečene eksperimentalne poteškoće sa zapušavanjem kanala i izrade malih dimenzija mikrokanala. Kao mogući problem primene ove tehnike jeste uticaj laserskog snopa na održivost ćelija, a samim tim i primenu u biološkim i biomedicinskim istraživanjima. Održivost ćelije zavisi od energije koju apsorbuje od laserskog snopa, tako da se mora koristiti slabo fokusirani laserski snop ($\omega_0 > \lambda$) i veliki protok da ne bi došlo do njenog oštećenja [66,67].

⁵Funkcija greške je neelementarna funkcija i definiše se kao: $\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\pi} e^{-t^2} dt$

3.8 Tehnika uštinutog toka sa akustičnim mehurom

Još jedna tehnika koja unapređuje razdvajanje čestica po veličini je tehnika uštinutog toka sa akustičnim mehurom. Predloženi dizajn čipa sadrži akustični mehur u uštinutom kanalu koji lokalno utiče na ponašanje toka. Pomoću piezoelektričnog transduktora pritiskom se deluje na mehur koji unutar uštinutog kanala stvara strujanje i menja profil toka. Iako dejstvo akustičkog mehura brzo iščezava, lokalno jako dejstvo na tok može efektivno da poboljša razdvajanje čestica, slika 3.8.1 [68].



Slika 3.8.1: Akustični mehur kojim se lokalno deluje na tok unutar uštinuća [68]

Posmatrajući pojedinačno Poazejev tok i deformisanje strujnica pri oscilovanju akustičnog mehura na slici 3.8.2 [68] može se zaključiti da pri njihovom kombinovanju treba naći optimalna vrednost ukupnog protoka tako da separacione performanse čipa porastu. Naime, sa porastom ukupnog protoka poremećaj strujnica koji stvara akustični mehur postaje slabiji u odnosu na Poazejev tok, tako da u ekstremnom slučaju, kada je protok mnogo veći od formiranog toka, efekat akustičnog mehura postaje zahemarljiv.



Slika 3.8.2: Slika predstavlja pojedinačne strujnice u slučaju Poazejevog toka, pri dejstvu akustičnog mehura kao i njihovu kombinaciju [68]

R. Zhou i C. Wang pomoću fabrikovanog mikrofluidičnog čipa uspešno razdvajaju čestice prečnika 2 i 10 μ m sa širinom uštinutog kanala 60 μ m. Kao što je rečeno u poglavlju 3.1, u konvencionalnoj tehnici uštinutog toka bolje razdvajanje čestica po veličini se postiže manjom širinom uštinutog kanala tj. širina uštinutog kanala mora biti što bliža dimenzijama čestica. R. Zhou i C. Wang pokazuju da se unapređenom tehnikom sa akustičnim mehurom mogu koristiti veće širine uštinuća. Na taj način je izbegnut problem zapušavanja kanala [68].

3.9 Tehnika uštinutog toka sa regulatornim ventilom

Y. Sai i M. Yamada [69] razvijaju poboljšanu, tehniku uštinutog toka sa regulatornim ventilom⁶. Ova tehnika omogućava precizno kontrolisanje pozicija čestica u fluidu, kontrolisanjem distribucije protoka u granama proširenog kanala, koristeći ventil.

Tečnosti sa i bez čestica kontinualno ulaze u mikrokanale kroz ulaze 1 i 2, slika 3.9.1 [69]. Kao i kod matične tehnike uštinutog toka, uz odgovarajući odnos protoka čestice bivaju pribijene uz gornji zid uštinutog kanala tako da pri ulasku u prošireni kanal bivaju razdvojene prema veličini. Kada je mikroventil, povezan na izlaz 1 otvoren, tada se tečnost koja ulazi u prošireni kanal iz uštinutog segmenta ravnomerno raspoređuje po svim granama proširenog kanala. U ovom slučaju, razlika u pozicijama čestica je nedovoljna za njihovu separaciju, tako da se i manje i veće čestice kreću ka izlazu 1, slika 3.9.1a. Međutim, kada je mikroventil delimično zatvoren, protok čestica ka izlazu 1 je smanjen što dovodi do pomeranja kretanja većih čestica ka izlazu 2, dok kretanje manjih čestica ostaje nepromenjeno, slika 3.9.1b. Opisani mehanizam omogućava separaciju čestica i submikronskih dimenzija odnosno nanočestica.



Slika 3.9.1: Princip rada tehnike uštinutog toka sa regulatornim ventilom [69]

⁶U stranoj literaturi se ova tehnika sreće pod nazivom *Tunable Pinched Flow Fractionation*.

3.10 Gravitaciona separacija čestica po veličini

Mikrofluidični čip za sortiranje sa hidrodinamičkim separacionim pojačanjem sastoji se od tri ulaza, dva međusobno povezana mikrokanala za fokusiranje i separaciju i kolektora, slika 3.10.1 [70]. Cestice koje ulaze kroz srednji kanal bivaju hidrodinamički fokusirane do centra fokusirajućeg kanala pomoću dva noseća toka injektovana kroz dva bočna ulaza. Nakon skretanja od približno 90° fokusiran tok čestica ulazi u separacioni kanal, čiji je gornji zid postavljen normalno na pravac dejstva gravitacione sile, dok se donji zid postepeno širi, slika 3.10.1. Kako brzina glavnog toka postaje manja pri širenju geometrije kanala, gravitacija uzrokuje sedimentaciju čestica brzine $U_{sed} = \frac{2r^2g\Delta\rho}{9\mu}$, gde je r poluprečnik čestice, g gravitaciono ubrzanje, $\Delta \rho$ razlika gustine između čestica i nosećih tečnosti, a μ je viskoznost tečnosti. Za čestice jednake gustine brzina sedimentacije većih čestica je veća od brzine sedimentacije malih čestica što rezultuje razlikom u vertikalnim pozicijama između većih i manjih čestica. Istovremeno geometrija asimetričnog širenja kanala generiše profil toka tako da je brzina toka u smeru gravitacije manja u blizini horizontalnog gornjeg zida i postaje veća u oblasti širenja donjeg zida. Na taj način dolazi do porasta širenja strujnog toka koji se kreće ka dole. Veće čestice se brže približavaju donjem kanalu, zbog većih brzina sedimentacije i kao rezultat razlika u pozicijama, koja inicijalno generiše sedimentaciju, postaje veća. Hidrodinamičko pojačanje omogućava efikasniju separaciju čestica. Sortiranje čestica je kompletirano na kraju separacionog kanala gde male i velike čestice teku ka gornjem i donjem kolektoru [70].



Slika 3.10.1: Šematski prikaz mikrofluidičnog čipa koji koristi gravitaciju za separaciju čestica po veličini [70]

Glava 4

Projektovanje mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica

Projektovanje mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica po veličini podrazumeva pravljenje dizajna mikrofluidičnih kanala čija geometrija utiče na tok fluida i ispitivanje uticaja različitih geometrijskih parametara na separacione performanse mikrofluidičnog čipa.

Pravljenje dizajna i simulacija rada mikrofluidičnog čipa rađena je primenom softvera Comsol Multiphysics. Softver Comsol Multiphysics nudi mnoštvo mogućnosti za simulacije različitih struktura odabirom odgovarajućeg fizičkog modela (akustika, optika, tok fluida, prenos toplote, elektrohemija, fizika plazme itd.) u okviru kojih sadrži ugrađene fundamentalne jednačine i rešava ih za zadatu strukturu koristeći metod konačnih elemenata. U okviru modela mikrofluidike tok fluida se opisuje Navijer-Stoksovom jednačinom i softver je rešava u cilju simuliranja ponašanja određene mikrofluidične strukture.

Za simulaciju rada mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini korišćena su dva modela fizike: model laminarnog toka i model kretanja čestica u toku fluida. Na taj način se simulira laminaran tok koji je dominantan na mikroskali i omogućeno je praćenje putanje čestica koje se nalaze u fluidu. Simulacije su rađene u vremenskom domenu da bi se omogućio ulazak čestica u strukturu u željenom trenutku i praćenje ponašanja čestica i fluida tokom vremena.

Početak pravljenja modela u softveru Comsol Multiphysics podrazumeva odabir dimenzionalnosti strukture, odabir odgovarajućeg modela fizike, a zatim crtanje strukture, podešavanja parametara potrebnih za odabrani model fizike (prečnici čestica, gustine čestica i fluida, dinamički koeficijent difuzije, koeficijent viskoznosti fluida itd.) kao i odabir ulaznih i izlaznih kanala za čestice u strukturi.

Mikročestice korišćene u eksperimentu su čestice polena. S obzirom na to da dimenzije polena variraju i da nemaju idealno sferičan oblik, u simulacijama se pravi pojednostavljenje u odnosu na realan slučaj. Simulacije u softveru Comsol Multiphysics rađene su

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

za čestice sferičnog oblika jer softver nema mogućnost definisanja čestica nesferičnog oblika i za čestice uniformne veličine. U simulacijama su odabrane vrednosti za veće i manje čestice od 50 μ m i 20 μ m, respektivno, što predstavlja najveće izmerene prečnike polena korišćenog za razdvajanje u eksperimentu. Za gustinu polena je uzeta vrednost $\rho_p = 1218 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$ koja odgovara gustini hidriranog polena prema [71]. Fluid u kom se nalaze čestice je voda, $\rho_f = 1000 \frac{\text{kg}}{\text{m}^3}$, a čestice polena se kreću unutar mikrostrukture jednakom brzinom kao i fluid u kome se nalaze. S obzirom na to da je struktura mikrofluidičnog čipa realizovana u jednom sloj omogućeno je pravljenje 2D simulacionog modela. Na taj način je omogućena značajna ušteda vremena za simulacije.

4.1 Dizajn mikrofluidičnog čipa

Tehnika uštinutog toka je pasivna tehnika razdvajanja čestica i zato je neophodno napraviti dizajn koji će omogućiti razdvajanje čestica korišćenjem laminarnog toka tečnosti na mikroskali. Dizajn čipa je napravljen u skladu sa literaturom u kojoj su rađena razdvajanja čestica primenom ove tehnike [44].

Geometrija mikrofluidičnog čipa se sastoji iz dva ulazna kanala, uštinutog kanala i proširenog kanala. Uštinut kanal i prošireni kanal se crtaju u vidu pravougaonika i kvadrata, a ulazni kanali kao trapezi. Slika 4.1.1 predstavlja nacrtanu strukturu mikrofluidičnog čipa u softveru Comsol Multiphysics i odgovarajuće geometrijske parametre strukture. Dizajn se sastoji od dva ulazna kanala opisana parametrima l_i , l_t i θ . Parametar l_i predstavlja dužinu ulaznog kanala, θ ugao između ulaznih kanala, a parametar l_t određuje širinu ulaznog kanala u zavisnosti od ugla θ između ulaznih kanala.



Slika 4.1.1: Parametri dizajna mikrofluidičnog čipa

Geometrijski parametri mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini:

- l_i dužina ulaznog kanala za fluid;
- θ ugao između ulaznih kanala za fluid;
- l_t dužina pomoćnog trapeza; veza ovog parametra sa širinom kanala je $l_t \cos \frac{\theta}{2}$;
- l_p dužina uštinutog kanala;
- w_p širina uštinutog kanala;
- b_w širina proširenog kanala;
- b_h visina proširenog kanala.

4.2 Optimizacija parametara strukture

Pri optimizaciji parametara mikrofluidičnog čipa menjani su geometrijski parametri koji se odnose na dimenzije strukture i brzine fluida na ulazima u mikrofluidični čip. Iz rezultata simulacija dobijen je optimizovani dizajn čipa čije su separacione performanse najbolje i taj dizajn je iskorišćen za izradu mikrofluidičnog čipa.

Početni korak za optimizaciju performansi je pravilan odabir mreže (engl. *mesh*). Softver rešava sistem jednačina za zadate deliće strukture, a gustina tih delića, a samim tim i pouzdanost rezultata simulacija zavisi od odabira mesh-a. Sa povećanjem gustine mesh-a vreme simulacija se produžava, tako da je neophodno pronaći optimalan odnos između vremena potrebnog za simulacije i zadovoljavajuće preciznosti rezultata. Svi rezultati simulacija koji će biti predstavljeni odgovaraju odabranom *Normal mesh*-u, slika 4.2.1.



Slika 4.2.1: Normal mesh korišćen u simulacijama

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

Da bi se postiglo razdvajanje mikročestica primenom tehnike uštinutog toka, neophodno je da širina tečnosti koju suspenzija zauzima u uštinutom kanalu bude manja od prečnika manjih čestica. Na taj način su čestica različitih dimenzija sigurno poravnate uz gornji zid uštinutog kanala i njihovi centri masa se nalaze na različitim strujnicama fluida. Širinom tečnosti koju zauzima suspenzija u uštinutom kanalu se može manipulisati podešavanjem odgovarajućeg odnosa protoka na ulazima. Iz navedenog sledi da mora da važi:

$$\frac{Q_1}{Q_1 + Q_2} \ w_p \le d_p \tag{4.2.1}$$

gde su Q_1 i Q_2 protoci tečnosti sa česticama i bez čestica, respektivno, w_p širina uštinutog kanala i d_p dijametar čestica manjih dimenzija koje se razdvajaju po veličini. Iz izraza (4.2.1) se može dobiti odnos protoka tečnosti sa česticama i bez čestica na ulazima u mikrokanale za odabranu širinu uštinutog kanala. U simulacijama je dijametar manjih čestica $d_p = 20 \ \mu$ m, tako da se unošenjem odgovarajućih vrednosti u izraz (4.2.1) dobija da odnos protoka tečnosti na ulazima mora biti jednak ili veći od 3.

S obzirom na to da je dijametar većih čestica 50 μ m za širinu uštinutog kanala odabrana je vrednost 60 μ m. Zavisnost ugla između ulaznih kanala, dimenzija ulaznih kanala i dimenzija proširenog kanala ispitan je u simulacijama i predstavljen u vidu toplotne mape. Toplotna mapa prikazuje rezultate rastojanja između čestica na ekranu za različite vrednosti geometrijskih parametara strukture. Geometrijski parametri su menjani u opsezima: b_w u opsegu od 1.5 do 2.1 mm sa korakom 0.2 mm, θ u opsegu od 30° do 150° sa korakom 30° i l_t u opsegu od 200 do 350 μ m sa korakom 50 μ m.. Parametri b_w i b_h su odabrani da budu jednaki jer će se u realnom slučaju na "ekran" definisan u simulacijama nastavljati kanali koji će razdvojene mikročestice voditi ka različitim izlazima.

Rezultati na toplotnoj mapi pokazuju porast razdvajanja čestica po veličini sa porastom dimenzija proširenog kanala, tj. parametra b_w . Granica od 2.1 mm je odabrana zbog eksperimentalnih ograničenja izrade u novoj hibridnoj tehnologiji koja je opisana u glavi 5. Promena ugla između ulaznih kanala ne pokazuje jasnu zavisnost od rastojanja čestica na ekranu, ali se vidi tendencija porasta rastojanja između čestica na ekranu sa porastom ugla između ulaznih kanala u većini slučajeva do ugla 120°. Parametar l_t koji određuje širnu ulaznih kanala za veće vrednosti utiče na slabije razdvajanje čestica. Iz odrađenih simulacija nađeno je da se najveće razdvajanje čestica na ekranu dobija za vrednosti parametara $b_w = 2.1$ mm, $\theta = 120^\circ$, $l_t = 250 \ \mu$ m i iznosi 210 $\ \mu$ m. Parametri koji su bili fiksni u pomenutim simulacijama su: $w_p = 60 \ \mu$ m, $l_p = 100 \ \mu$ m, $l_i = 1200 \ \mu$ m. Ovi parametri su dalje menjani u cilju ispitivanja njihovog uticaja na separacione performanse čipa.

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA



Slika 4.2.2: Toplotna mapa

Slika 4.2.3 prikazuje razdvajanje čestica za različite vrednosti dužine uštinutog kanala. Rezultati pokazuju da dužina uštinutog kanala ne utiče na razdvajanje čestica po veličini i može se menjati u značajnom opsegu. Male varijacije u vrednosti razdvojenih čestica mogu se pripisati grešci koju unosi korišćeni mesh.



Slika 4.2.3: Razdvajanje mikročestica po veličini u zavisnosti od dužine uštinutog kanala

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

Uticaj širine uštinutog toka za različite odnose brzina fluida na ulazima 1 i 2 ispitan je za vrednosti $w_p = 60,70,80 \ \mu$ m, a odnos brzina fluida $\frac{Q_2}{Q_1}$ ispitan je za vrednosti 3, 4 i 5. Rezultati parametarskih simulacija predstavljeni su na slici 4.2.4. Rezultati jasno pokazuju da se najbolje separacione performanse čipa dobijaju za najmanju širinu uštinutog kanala, a da je najbolji odnos brzina fluida (protoka) na ulazima jednak 4. Sa daljim porastom širine uštinutog kanala separacione performanse slabe, bez obzira na odnos brzina fluida na ulazima.



Slika 4.2.4: Razdvajanje mikročestica za različite vrednosti w_p i $\frac{Q_2}{Q_1}$

Simulacije separacije čestica po veličini unutar optimizovanog mikrofluidičnog čipa prikazane su na slici 4.2.5. Slika 4.2.5 prikazuje putanje mikročestica prečnika 50 μ m i 20 μ m, a različite boje čestica ukazuju da se čestice kreću različitim brzinama unutar ulaznih kanala, unutar uštinutog kanala i u proširenom kanalu. Zbog smanjenja dimenzija kanala, unutar uštinutog kanala čestice imaju najveću brzinu, koja dostiže i do 0.09 $\frac{\text{m}}{\text{s}}$. Slika 4.2.5 pokazuje da se čestica najvećom brzinom kreću unutar uštinutog kanala, a na izlazu iz uštinuća nastavljaju svoje putanje u zavisnosti od veličine povučene različitim tokovima tečnosti.

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA



Slika 4.2.5: Putanje mikročestica nakon uštinutog kanala; Različite boje čestica odgovaraju njihovim brzinama

Pojava razdvajanja mikročestica po veličini na principu uštinutog toka se može razumeti i pomoću strujnica tečnosti u kojoj se nalaze, slika 4.2.6. Mikročestice nošene tokom fluida prate odgovarajuću strujnicu pri svom prolasku kroz sistem kanala i nakon uštinutog kanala nastavljaju svoju putanju prateći različite strujnice koje ih ujedno i odvajaju po veličini.



Slika 4.2.6: Strujnice fluida unutar mikrofluidičnog čipa i mikročestice koje se razdvajaju po veličini prateći ih

Rezultati razdvajanja mikročestica mogu se predstaviti preko grafika zavisnosti broja mikročestica na određenom položaju čestica na ekranu. U simulacijama je pušteno 600 čestica (300 manjih i 300 većih) kroz sistem kanala. Dobijeni rezultati razdvajanja mikročestica od 50 i 20 μ m prikazani su na slici 4.2.7. Rezultati pokazuju razdvajanje čestica 210 μ m sa uskom raspodelom mikročestica na ekranu. Simulacije su i u ovom pogledu pojednostavljeni slučaj realnog jer je inicijalna pozicija čestica uniformna, tj.

GLAVA 4. PROJEKTOVANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

mikročestice jedna za drugom ulaze u kanal krećući se po njegovoj sredini. U realnom slučaju može doći do međusobnog sudaranja čestica, zapušavanja uštinutog kanala i usled različite pozicije mikročestica u ulaznom kanalu do šire raspodele čestica na ekranu.



Slika 4.2.7: Histogram broja čestica na različitim mestima na ekranu

U simulacijama je dobijen set parametara koje obezbeđuje najbolje separacione performanse za koji će biti realizovan mikrofluidični čip primenom nove hibridne tehnologije. Dobijeni finalni set parametara u simulacijama je: $w_p = 60 \ \mu m$, $l_p = 500 \ \mu m$, $l_t = 250 \ \mu m$, $b_w = b_h = 2.1 \ mm$, $\theta = 120^\circ$ i $\frac{Q_2}{Q_1} = 4$, a dobijeno rastojanje između čestica na ekranu 213 μm .

Realna struktura mikrofluidičnog čipa je prilagođena sistemu za testiranje čipova. Dimenzije celog čipa odgovaraju predmetnom mikroskopskom staklu, a sama simulirana struktura zauzima mali deo čipa. Ostatak čipa su sistemi kanala koji povezuju ulazni kanal za čestice i fluid i izlazne kanale za razdvojene čestice. Detaljan postupak izrade mikrofluidičnog čipa biće predstavljen u glavi 5.

Glava 5

Izrada mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica

Mikrofluidični čip za separaciju mikročestica po veličini fabrikovan je primenom nove, hibridne tehnologije [27] koja kombinuje procese laserskog sečenja keramičkih traka i njihovu laminaciju sa PVC folijama. Kao što je opisano u poglavlju 2.3 ova tehnologija se bazira na korišćenju dva materijala, PVC folija koje se koriste za enkapsulaciju srednjeg sloja napravljenog od nesinterovanih keramičkih traka, koje se koriste za izradu u LTCC tehnologiji. U ovoj glavi biće dat detaljan proces izrade optimizovanog mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini, kao i karakterizacija dobijenih slojeva u procesu laserskog sečenja LTCC trake.

5.1 Postupak izrade mikrofluidičnog čipa

Hibridna tehnologija, iskorišćena za realizaciju čipa koristi PVC folije i LTCC trake za pravljenje mikrofluidičnih čipova primenom kombinacije ksirografije i laserskog sečenja LTCC traka. Za realizaciju mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini korišćen je materijal Heraeus CT800 (*Heraeus Electronics LTCC Materials, Germany*) - nesinterovana keramika dostupna u vidu fleksibilne folije. PVC folije (MBL® 80MIC, Serbia) debljine 80 μ m, korišćene su za izradu gornjeg i donjeg sloja čipa. Hibridna tehnologija izrade podrazumeva slojevito pravljenje čipa i sastoji se od nekoliko koraka, slika 5.1.1.

Gornji sloj mikrofluidičnog čipa sadrži otvore za ulaz i izlaz tečnosti i dobija se sečenjem PVC folije pomoću *Ploter Cutter*-a sa preciznim nožićem (metod ksirografije), slika 5.1.2a. Donji sloj mikrofluidičnog čipa je takođe PVC folija, s tim da donji sloj služi za zatvaranje čipa i PVC folija ne sadrži otvore, slika 5.1.2b. Prednost korišćenja PVC folija u izradi mikrofluidičnih čipova je njihova savitljivost i transparentnost što omogućava praćenje toka fluida unutar mikrofluidičnog čipa. PVC folije sadrže sloj lepka na jednoj



Slika 5.1.1: Slojevita struktura mikrofluidičnog čipa

strani, koji se pri dejstvu temperature topi i omogućava lepljenje PVC folije i LTCC trake.

Ploter Cutter (*CE6000-60 PLUS*®, *Graphtec America*, *Inc.*, *Irvine*, *CA*, *USA*) korišćen za sečenje PVC folija sadrži precizan nožić kojim seče PVC foliju zalepljenu za dvostranu selotejp traku na kaptonu, slika 5.1.2c. Ploter Cutter se povezuje sa računarom i seče dizajn strukture nacrtane u programu AutoCAD. Dizajn PVC folija korišćenih za mikrofluidični čip za separaciju čestica predstavljen je na slici 5.1.2a i b.



Slika 5.1.2: PVC folija a)gornji sloj b)donji sloj c)Ploter Cutter

Parametri koji se mogu podesiti za sečenje PVC folija na *Ploter Cutter*-u su brzina sečenja i sila kojom nožić pritiska uzorak. Odabir optimalnih parametara sečenja je važan da bi se postigle precizno isečene dimenzije strukture. Korišćeni parametri pri sečenju PVC folija debljine 80 μ m dati su u tabeli 5.1.

Parametar	Brzina sečenja $\left[rac{\mathrm{cm}}{\mathrm{s}} ight]$ ulazi/izlazi	Brzina sečenja $\left[\frac{\mathrm{cm}}{\mathrm{s}}\right]$ ivice	Pritisak noža
	30	60	19

Tabela 5.1: Parametri sečenja PVC folija

Srednji sloj mikrofluidičnog čipa se pravi od nesinterovanih keramičkih traka na kojima je moguće laserom precizno iseći željenu strukturu mikrokanala. Laser je povezan sa računarom koji koristi program Visual Laser Marker u koji je moguće učitati nacrtanu strukturu u AutoCADu. Korišćen laser za sečenje LTCC traka je Nd:YAD talasne dužine 1064 nm (Rofin-Sinar Power Line D-100, Germany), slika 5.1.3.



Slika 5.1.3: Laser korišćen za sečenje

Da bi se realna strukutura mikrofluidičnog čipa što više približila simuliranoj potrebno je utvrditi odstupanja dobijenih dimenzija strukture od zadatih pri laserskom sečenju. Širina laserski isečene linije u LTCC traci u velikoj meri zavisi od odabranih parametara sečenja materijala. Parametri, koje je moguće varirati pri sečenju laserom su: jačina struje, brzina prolaza snopa, frekvencija sečenja, širina snopa, kao i broj prolazaka laserom. Eksperimentalno je ustanovljeno da se za set parametara iz tabele 5.2 dobija isečena struktura bez izgorelih ivica, a dobijene dimenzije su 30 μ m šire od nacrtanih i nastaju kao posledica širine snopa lasera. Zato su pri crtanju, pre sečenja strukture u softveru AutoCAD sve dimenzije modifikovane.

Kao što je rečeno u poglavlju 3.1, separacione performanse mikrofluidičnog čipa zavise od širine uštinutog kanala. Zato je provera dimenzija uštinutog kanala urađena na profilometru i skenirajućem elektronskom mikroskopu (SEMu). Isečena LTCC traka na laseru, kao i dizajn po kom je sečena predstavljeni su na slici 5.1.4.

	Jačina	Frekvencija	Brzina snopa	Širina snopa	Broj
Parametar	struje [A]	[kHz]	$\left\lfloor \frac{\mathrm{mm}}{\mathrm{s}} \right\rfloor$	[mm]	prolazaka
	26.8	10	30	0.01	2

Tabela 5.2: Parametri laserskog sečenja



Slika 5.1.4: Struktura nacrtana u AutoCADu (leva slika); isečen srednji sloj čipa (desna slika)

Svi dobijeni slojevi mikrofluidičnog čipa se spajaju u procesu laminacije. Za jednoslojne strukture dovoljno je koristiti običan laminator, dok se za višeslojne strukture može koristiti jednoosna presa koja na povišenoj temperaturi pod pritiskom spaja LTCC slojeve čipa. Hibridna tehnologija izrade podrazumeva lepljenje PVC folije i LTCC traka u procesu laminacije. PVC folija sadrži sloj lepka sa jedne strane koji se u procesu laminacije, pod dejstvom toplote, topi i omogućava lepljenje folije za LTCC traku. Laminator (FG320, Minoan Binding Laminating, Belgrade, Serbia) korišćen za pravljenje mikrofluidičnog čipa predstavljen je na slici 5.1.5.



Slika 5.1.5: Laminator korišćen za pravljenje čipa

GLAVA 5. IZRADA MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

Pri laminaciju PVC folije i LTCC trake potrebno je pronaći optimalnu brzinu i temperaturu laminiranja mikrofluidičnih čipova. Naime, temperatura topljenja PVC folija iznosi 120 °C, ali čip "ne oseća" tu temperaturu pri prolasku kroz laminator jer je smešten u zaštitnu kaptonsku foliju pri laminaciji. Eksperimentalno je utvrđeno da je laminacija slojeva na 145 °C dovoljno da se lepak na PVC foliji istopi bez deformisanja folije. Često se kao problem pri pravljenju čipova javlja spajanje lepka gornje i donje PVC folije kroz isečenu strukturu LTCC trake. Da bi se ispitale granične dimenzije isečenog kanala u LTCC traci, pri kojoj se lepak gornje i donje PVC folije neće zalepiti u procesu laminacije ispitana je laminacija za širine kanala 2, 3, 4, 5 i 6 mm na 145 °C pri brzinama okretanja grejača laminatora 1 i 5. Dobijeni rezultati predstavljeni su na slici 5.1.6



Slika 5.1.6: Parametrizacija laminacije (a) brzina: 5 (b) brzina: 1

Rezultati sa slike 5.1.6 pokazuju da se pri laminaciji PVC folije i LTCC traka, lepak sa suprotnih strana čipa spoji unutar kanala i zapuši ga, čime kanal postaje nefunkcionalan. Od svih ispitanih kanala jedino kanal širine 2 mm pri brzini 5 nije zapušen nakon laminacije, tako da je opravdan odabir dimenzija proširenog kanala za čip od 2.1 mm.

5.2 Karakterizacija slojeva mikrofluidičnog čipa

Kako bi se ispitalo odstupanje izrađenih LTCC traka od projektovanih vrednosti pre laminacije izvršena je njihova karakterizacija na SEMu i profilometru.

Profilometar Huvitz Panasis je optički mikroskop sa mnogobrojnim mogućnostima za merenje dimenzija strukture, snimanje 3D profila i različitim merenjima u dve ili tri dimenzije. Slika 5.2.1 prikazuje isečeni LTCC sloj mikrofluidičnog čipa pod mikroskopom. Izmerena dimenzija uštinutog kanala odgovara projektovanoj vrednosti od 60 μ m sa odstupanjem od 3%. Na slici 5.2.1 može se primetiti da su ivice uštinutog kanala na spoju sa proširenim kanalom zaobljene. Lasersko sečenje ivica koje su pod pravim ili oštrim uglom uvek rezultira oblom ivicom kao posledica postojanja određene širine snopa lasera.



Slika 5.2.1: Širina uštinutog kanala

LTCC sloj je snimljen i na SEMu za detaljniji uvid u strukturu isečenog materijala. SEM korisiti snop elektrona za stvaranje slike površine uzorka koji se snima. Korišćenjem snopa elektrona SEM daje mogućnost većeg uvećanja nego optički mikroskopi jer optički mikroskopi koriste fotone vidljive svetlosti, čija je talasna dužina mnogo veća od talasne dužine snopa elektrona. S obzirom na to da koristi naelektrisane čestice za posmatranje uzorka, SEM je pogodan za posmatranje provodnih i poluprovodnih materijala jer oni mogu provoditi elektrone. Izolatori s druge strane ne provode struju, tako da se pri snimanju izolatorskih materijala formira veliki odsjaj od površine i dobija loša slika uzorka. Takve smetnje se mogu regulisati korišćenjem karbonske trake za odvođenje viška elektrona. Slika 5.2.2a daje $120 \times$ uvećanu sliku srednjeg sloja mikrofluidičnog čipa. Na slici 5.2.2a se vidi jasno isečena kontura kanala laserom, kao i zaobljene ivice krajeva kanala koje pravi laser usled postojanja širine laserskog snopa. Struktura na slici 5.2.2a ima jasno isečene kanale, bez izgorelih ivica i ostataka materijala. Uvećavanjem uštinutog kanala $2000 \times$ na SEMu, mogu se videti sastavne jedinice materijala. Slika 5.2.2b prikazuje gornji zid uštinutog kanala uvećan 2000×. Slika pokazuje da je zid kanala ravan i da je hrapavost zida zanemarljiva, tako da su ostvareni uslovi ravnih zidova definisani u simulacijama. Slika 5.2.2b takođe prikazuje sastavne jedinice materijala, odnosno prah od koga su dobijene LTCC trake.

GLAVA 5. IZRADA MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA



(a)

(b)

Slika 5.2.2: Uštinuti kanal uvećan na SEMu a) $\times 120$ b) $\times 2000$

5.3 Finalni izgled mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica

Kao što se moglo videti iz poglavlja 5.1 postupak izrade mikrofluidičnog čipa primenom nove hibridne tehnologije je jednostavan i pravljenje čipova se vrši za nekoliko desetina minuta. Ova tehnologija nudi mogućnost brze izrade jeftinih mikrofluidičnih čipova. Na slici 5.3.1 dat je izgled finalnog mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica fabrikovanog u novoj hibridnoj tehnologiji.



Slika 5.3.1: Mikrofluidični čip za separacijučestica po veličini realizovan u novoj hibridnoj tehnologiji izrade

Glava 6

Verifikacija i testiranje mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica

Mikrofluidični čip za razdvajanje mikročestica po veličini testiran je sa česticama polena ambrozije (lat. Ambrosia) i oraha (lat. Juglans). Srednja vrednost prečnika polena ambrozije u vodi je $22 \pm 1.3 \mu$ m, a oraha $43 \pm 3 \mu$ m. Slika 6.0.1 predstavlja slike polena oraha i ambrozije pod mikroskopom sa izmerenim prečnicima čestica. Sa slike 6.0.1 se vidi da oblik polena nije idealno sferičan, ali i da se zbog malog odstupanja od srednje vrednosti prečnika ne unosi velika greška aproksimacijom polena kao sferičnim česticama.



Slika 6.0.1: Polen oraha (leva slika) i ambrozije (desna slika)

Polen se pre testiranja hidrira u vodi i dodaje fuksin (organsko jedinjenje intenzivno ružičaste boje), koji se u biologiji koristi za bojenje polena. Polen poprimi intenzivno ružičastu boju od fuksina, tako da postane tamniji od tečnosti u kojoj se nalazi. Intenzivna boja polena je važna da bi se njegova putanja uočila unutar mikrofluidičnog čipa tokom eksperimenta. Postavka eksperimenta je predstavljena na slici 6.0.2 i sastoji se od dve špric pumpe (NE 4000 Multi Pulser, KF Technology, Italy), držača mikrofluidičnog čipa, konektora i kamere za praćenje eksperimenta.

GLAVA 6. VERIFIKACIJA I TESTIRANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA

Dve špric pumpe sa špricevima povezane su konektorima sa cevčicama kroz koje se kreće tečnost od pumpe ka čipu. Mikrofluidični čip se fiksira pomoću držača nakon montiranja cevčica na odgovarajuće ulaze i izlaze čipa. Uloga držača je fiksiranje cevčica na ulazima i izlazima čipa i sprečavanja curenja tečnosti oko čipa. Špric pumpe su podešene na različite protoke, prema vrednostima dobijenim iz simulacija, tako da je tečnost unutar šprica u kom su mikročestice obojena, a tečnost u drugom špricu je destilovana voda.



Slika 6.0.2: Postavka eksperimenta

Inicijalni eksperiment je odrađen sa obojenim tečnostima da bi se videla raspodela tečnosti različitih boja unutar proširenog kanala mikrofluidičnog čipa. Korišćenjem boja za kolače (Aroma 1990®, Belgrade, Serbia), jedan špric je napunjen vodom obojenom plavom bojom. Ispitani su različiti odnosi protoka tečnosti na ulazima i posmatran odnos prostora koji tečnosti zauzimaju unutar proširenog kanala. Na osnovu prostora koji tečnosti zauzimaju u proširenom kanalu, može se zaključiti kuda će se mikročestice kretati. Inicijalne vrednosti protoka uzete su iz simulacija, a odnosi protoka na ulazima su ispitani tako da je ulaz sa česticama podešen na protok $Q_1 = 31.2 \frac{\mu l}{min}$, a Q_2 ima 3, 4, 5 i 6 puta veću vrednost. Za $\frac{Q_2}{Q_1} = 3$ podešen je protok $Q_2 = 93.6 \frac{\mu l}{min}$, za $\frac{Q_2}{Q_1} = 4$ podešeno je $Q_2 = 124.8 \frac{\mu l}{min}$, za $\frac{Q_2}{Q_1} = 5$ podešeno je $Q_2 = 156 \frac{\mu l}{min}$ i za $\frac{Q_2}{Q_1} = 6$ podešeno je $Q_2 = 187.2 \frac{\mu l}{min}$. Dobijeni rezultati uslikani su digitalnom kamerom i predstavljeni na slici 6.0.3.

Na slici 6.0.3 plavom bojom je obojen tok u kom će se nalaziti čestice i koji ulazi u čip protokom Q_1 , a bezbojna tečnost je destilovana voda čiji je protok menjan, Q_2 . Prema teoriji, čestice manjih dimenzija bi trebalo da odlaze u uži odvodni kanal, dok bi čestice većih dimenzija napuštale čip kroz širi odvodni kanal. Rezultati sa slike 6.0.3 pokazuju da se najbolje razdvajanje dobija u slučaju $\frac{Q_2}{Q_1} = 4$ jer će manje čestice nošene tokom plave boje otići u uži odvodni kanal, dok će veće čestice nošene graničnim tokom otići u širi odvodni kanal. Dobijeni rezultat je u skladu sa slikom 4.2.4 dobijenim u simulacijama.

GLAVA 6. VERIFIKACIJA I TESTIRANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA



Slika 6.0.3: Različiti odnosi protoka tečnosti na ulazima a) 3 b) 4 c) 5 d) 6

Slika 6.0.3d prikazuje i da se za odnos protoka jednak 6 ne dobija razdvajanje čestica jer sva tečnost plave boje odlazi u isti kanal.

Prilikom eksperimentalnog testiranja čipa javlja se problem sa vazdušnim mehurima koji se stvore na kontaktu između cevčice sa tečnošću i ulaza u čip. Oni zajedno sa fluidom uđu u čip i ostaju zaglavljeni unutar proširenog kanala. Problemi vazdušnih mehura u literaturi su rešeni korišćenjem dodatne opreme, tzv. zamki za mehure. Zbog nedostatka ovog dela opreme primenjene su različite robustne metode izbacivanja mehura iz čipa (menjanje protoka tečnosti na ulazima, ponovno povezivanje čipa itd.) Dok god se mehuri ne nalaze na putu mikročestica, oni ne ometaju rad čipa.

Postavka eksperimenta je zadržana i pri testiranju separacije polena po veličini. Iz rezultata simulacija i inicijalnih testiranja čipa odabran je odnos ulaznih protoka jednak 4. Iako je prethodno obojen, polen se teško uočava u proširenom kanalu jer se veoma brzo kreće kroz strukturu. U toku eksperimenta uslikana je fotografija gde su dobijena dva toka mikročestica, ka različitim izlazima, slika 6.0.4.

Pri testiranju mikrofluidičnog čipa, pored vazdušnih mehura u čipu, javlja se problem zapušavanja uštinutog kanala polenom. Naime, čestice polena stižu nasumično iz šprica u kom se nalaze kroz sistem cevčica do ulaza u mikrofluidični čip. Kada se na ulazu nađe veliki broj čestica, njihov nailazak na uštinuti kanala ga zapušava. Dobar pokazatelj zapušenosti uštinutog kanala je upijanje tečnosti i menjanje boje u ružičastu LTCC trake u okolini uštinutog kanala. Naime, LTCC trake su porozne i upijaju tečnost koja protiče

GLAVA 6. VERIFIKACIJA I TESTIRANJE MIKROFLUIDIČNOG ČIPA ZA SEPARACIJU ČESTICA



Slika 6.0.4: Razdvajanje čestica po veličini sa obeleženim putanjama

kroz čip, slika 6.0.4. To je jedan od osnovnih razloga zašto su čipovi napravljeni u ovoj tehnologiji za jednokratnu upotrebu. Otpušavanje kanala je uspešno postignuto menjanjem otpornosti izlaznih kanala, tako da se stvori dovoljno velika razlika pritisaka da "izvuče" čestice iz uštinutog kanala.

Poređenje toka čestica u simulacijama i u eksperimentu predstavljeno je na slici 6.0.5.



Slika 6.0.5: Poređenje putanje mikročestica u simulacijama i eksperimentalno

Dobijeni rezultati eksperimentalnog testiranja mikrofluidičnog čipa za separaciju čestica polena po veličini su dobar pokazatelj da se primenom nove, hibridne tehnologije izrade može realizovati separator čestica. Odrađeni eksperimenti su ujedno bili i pokazatelji koje nedostake treba popraviti da bi se separacija čestica mogla nesmetano vršiti. Kao što se moglo videti u glavi 3, tehnika uštinutog toka pronalazi svoju primenu za različite analize krvi, a njena primena sa česticama polena mogla bi služiti za utvrđivanje sastava meda. Dalja istraživanja će biti usmerena na otklanjanje eksperimentalnih nedostataka, pravljenje statistike razdvojenih čestica, ispitivanja sepracije za nesferične čestice i optimizaciju dizajna u cilju postizanja što boljih performansi.

Glava 7

Zaključak

U okviru master rada analizirane su mogućnosti realizacije mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini na principu uštinutog toka.

Softverski alat Comsol Multiphysics korišćen je za projektovanje i optimizaciju separacionih performansi mikrofluidičnog čipa. Ispitan je uticaj geometrijskih parametara strukture kao što su širina i dužina uštinutog kanala, širina proširenog kanala, ugao između ulaznih kanala i širina ulaznih kanala. Rezultati ispitivanja uticaja geometrijskih parametara na separacione performance pokazuju da se za širinu uštinutog toka približne veličine kao što je prečnik većih čestica dobija bolja separacija čestica po veličini. Pored geometrijskih parametara, ispitan je i uticaj vrednosti ulaznih protoka fluida u mikrofluidični čip na separacione performanse i dobijeno da se za vrednost odnosa ulaznih protoka jednak 4 dobija najveće razdvajanje čestica po veličini. Iz dobijenih rezultata, odabran je set parametara za koje se dobija najveće razdvajanje mikročestica.

Optimizovana mikrofluidična struktura izrađena je primenom nove hibridne tehnologije koja kombinuje lasersko sečenje LTCC traka, sečenja PVC folija Ploter Cutter-om sa preciznim nožićem i proces laminacije dobijenih slojeva. Ovako napravljen mikrofluidični čip iskorišćen je za testiranje separacije čestica polena oraha i ambrozije po veličini.

Testiranje separacije mikročestica urađeno je sa česticama polena oraha i ambrozije, čiji prečnici čestica odgovaraju simuliranim česticama. Polen je pre eksperimenta obojen da bi se njegova putanja mogla pratiti unutar mikrofluidičnog čipa pomoću digitalne kamere. Međutim, zbog lošeg kvaliteta slike koju daje digitalna kamera i velike brzine prolaska polena kroz posmatrano polje, teško ga je uočiti. Separacija čestica je uslikana za ulazne protoke od 31.2 μ l/min i 124.8 μ l/min gde se moglo uočiti da se čestice različitih veličina kreću ka različitim izlazima.

Eksperimentalni problemi koji se javljaju tokom testiranja mikrofluidičnog čipa su zapušavanje uštinutog kanala česticama polena i vazdušni mehuri koje je teško odstraniti iz čipa. Dalja istraživanja biće usmerena na otklanjanje ovih nedostataka korišćenjem dodatne opreme (kao što su zamke za vazdušne mehure), kao i primenom unapređenih tehnika uštinutog toka gde se većom širinom uštinutog kanala sprečava njegovo zapušavanje.

U okviru rada je pokazano da se separaciona tehnika na principu uštinutog toka može primeniti i u novoj hibridnoj tehnologiji izrade mikrofluidičnih čipova. S obzirom na to da je proizvodnja čipova u ovoj tehnologiji jeftina i ne zahteva puno vremena, skupu opremu ili specijalne uslove unapređenje separacionih performansi čipa obećava jednog dana i njihovu komercijalnu upotrebu. Potencijalne oblasti primene ovako predlozenog rešenja su medicina, biologija, ispitivanje kvaliteta hrane i sl., dok se kao konkretne aplikacije mogu navesti razdvajanje i brojanje čestica, bakterija, somatskih ćelija i sl. Dalja istraživanja biće usmerena na unaređenje performansi i konkretnu primenu u navedenim aplikacijama.

Literatura

- S. Marjanović, V. Radonić, J. Matović, V. Crnojević-Bengin, Stabilization of the jet in cone-jet mode in electrospraying for microfluidic applications, 2nd International Conference on Electrical, Electronic and Computing Engineering IcETRAN 2015, Silver Lake, Serbia, 8 – 11 June
- [2] G. M. Whitesides, The origins and the future of microfluidics, Nature, 442, 368-373 (2006)
- [3] P. Gravesen, J. Branebjerg, O. S. Jensen, *Microfluidics-a review*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 3, 168-182 (1993)
- [4] E. K. Sackmann, A. L. Fulton, D. J. Beebe, The present and future role of microfluidics in biomedical research, Nature, 507, 181-189 (2014)
- [5] P. Patil, M. Kigga, T. Kumeria, D. Losic, M. Kurkuri, RSC Adv. (2015)
- [6] E. Bassous, H. H. Taub, L. Kuhn, Ink jet printing nozzle arrays etched in silicon, Applied Physics Letters, 31, 135-137 (1977)
- K. E. Petersen, Fabrication of an Integrated, Planar Silicon Ink-Jet Structure, IEEE Trilvsactions on Electron Devices, 26, 1918-1920 (1979)
- [8] S. C. Terry, J. H. Jerman, J. B. Angell, A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer, IEEE Transactions on Electron Devices, 26, 1880-1886 (1979)
- [9] https://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/cell-biology-imaging-reviews-andtutorials/microfluidic-for-cell-biology/microfluidics-applications-a-short-review/
- [10] https://www.microfluidic-chipshop.com/microfluidics/materials-inmicrofluidics/polymers-in-microfluidics/
- B. K. Gale, A. R. Jafek, C. J. Lambert, B. L. Goenner, H. Moghimifam, U. C. Nze, S. K. Kamarapu, A Review of Current Methods in Microfluidic Device Fabrication and Future Commercialization Prospects, Inventions, 3, (2018)

- [12] Y. N. Wang, L. M. Fu, Micropumps and biomedical applications A review, Microelectronic Engineering, 195, 121-138 (2018)
- [13] K. W. Oh, C. H. Ahn, A review of microvalves, J. Micromech. Microeng., 16 (5), R13-R39, (2006)
- [14] C. Y. Lee, C. L. Chang, Y. N. Wang and L. M. Fu, *Microfluidic Mixing: A Review*, Int. J. M. Sci., **12**(5), 3263-3287 (2011)
- [15] S. Parayil, A. K. Sen, Particle separation and sorting in microfluidic devices: A review, Microfluid Nanofluid, 17(1), 1-52 (2013)
- [16] J. Vidic, P. Vizzini, M. Manzano, D. Kavanaugh, N. Ramarao, M. Zivkovic, V. Radonic, N. Knezevic, I. Giouroudi, I. Gadjanski, *Point-of-Need DNA Testing for Detection of Foodborne Pathogenic Bacteria*, Sensors (Basel), **19**(5) (2019)
- [17] J. E. Sosa-Hernández, A. M. Villalba-Rodríguez, K. D. Romero-Castillo, M. A. Aguilar-Aguila-Isaías, I. E. García-Reyes, A. Hernández-Antonio, I. Ahmed, A. Sharma, R. Parra-Saldívar, H. M. N. Iqbal, Organs-on-a-Chip Module: A Review from the Development and Applications Perspective, Micromachines (Basel), 9(10), 1-20 (2018)
- [18] A. O. Stucki, J. D. Stucki, S. R. R. Hall, M. Felder, Y. Mermoud, R. A. Schmid, T. Geiser, O. T. Guenat, A Lung-on-a-Chip Array with an Integrated Bio-Inspired Respiration Mechanism, Lab Chip, 15, 1302–1310 (2015)
- [19] M. J. Wilmer, C. P. Ng, H. L. Lanz, P. Vulto, L. Suter-Dick, R. Masereeuw, Kidneyon-a-chip technology for drug-induced nephrotoxicity screening, Trends Biotechnol., 34, 156-170 (2016)
- [20] L.-D. Ma, Y.-T. Wang, J.-R. Wang, J.-L. Wu, X.-S. Meng, P. Hu, X. Mu, Q.-L. Liang, G.-A. Luo, Design and fabrication of a liver-on-a-chip platform for convenient, highly efficient, and safe in situ perfusion culture of 3D hepatic spheroids, Lab Chip, 18, 2547-2562 (2018)
- [21] H. Y. Lim, J. Kim, H. J. Song, K. Kim, K. C. Choi, S. Park, G. Y. Sung, Development of Wrinkled Skin-on-a-Chip (WSOC) by Cyclic Uniaxial Stretching, J. Ind. Eng. Chem., 68 (2018)
- [22] S. Ahn, H. A. M. Ardoña, J. U. Lind, F. Eweje, S. L. Kim, G. M. Gonzalez, Q. Liu, J. F. Zimmerman, G. Pyrgiotakis, Z. Zhang, *Mussel-Inspired 3D Fiber Scaffolds for Heart-on-a-Chip Toxicity Studies of Engineered Nanomaterials*, Anal. Bioanal. Chem., **410** 24, 6141-6154 (2018)

- [23] S. K. Mitra, S. Chakraborty, Microfluidics and Nanofluidics Handbook, Fabrication, Implementation and Applications, CRC Press Taylor & Francis Group (2012)
- [24] H. Bruus, *Theoretical Microfluidics*, Oxford University Press Inc., New York (2008)
- [25] S. Hardt, F. Schonfeld, Microfluidic Technologies for Miniaturized Analysis Systems, Springer Science+Business Media, USA (2007)
- [26] O. Geschke, H. Klank, P. Telleman, Microsystem Engineering of Lab-on-a-Chip Devices, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2004)
- [27] S. P. Kojic, G. M. Stojanovic, V. Radonic, Novel Cost-Effective Microfluidic Chip Based on Hybrid Fabrication and Its Comprehensive Characterization, Sensors, 19, 1719 (2019)
- [28] P. N. Nge, C. I. Rogers, A. T. Woolley, Advances in Microfluidic Materials, Functions, Integration and Applications, Chem. Rev., 113(4), pp. 2550-2583 (2013)
- [29] P. Tabeling, Introduction to Microfluidics, Oxford University Press Inc., New York (2005)
- [30] https://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-andtutorials/materials-for-microfluidic-chips-fabrication-a-review-2017/
- [31] K. Ren, J. Zhou, H. Wu, Materials for Microfluidic Chip Fabrication, Accounts of Chemical Research, 46(11), 2396-2406 (2013)
- [32] W. Xi, F. Kong, J.C. Yeo, L. Yu, S. Sonam, M. Dao, X. Gong, C. T. Lim, Soft tubular microfluidics for 2D and 3D applications, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 114, 10590–10595 (2017)
- [33] Y. Hwang, D. Seo, M. Roy, E. Han, R. N. Candler, S. Seo, Capillary Flow in PDMS Cylindrical Microfluidic Channel Using 3-D Printed Mold., J. Microelectromec. Syst., 25, 238-240 (2016)
- [34] https://www.elveflow.com/microfluidic-tutorials/microfluidic-reviews-andtutorials/the-poly-di-methyl-siloxane-pdms-and-microfluidics/
- [35] M. E. Wilson, N. Kota, Y. T. Kim, Y. Wang, D. B. Stolz, P. R. LeDuc, O. B. Ozdoganlar, Fabrication of circular microfluidic channels by combining mechanical micromilling and soft lithography, Lab Chip, 11, 1550-1555 (2011)
- [36] J. Luo, T. Dziubla, R. Eitel, A low temperature co-fired ceramic based microfluidic Clark-type oxygen sensor for real-time oxygen sensing, Sens. Actuators B Chem., 240, 392–397 (2017)

- [37] K. Malecha, The utilization of LTCC-PDMS bonding technology for microfluidic system applications—A simple fluorescent sensor, Microelectron. Int., 33, 141–148 (2016)
- [38] J. F. Rusling, Developing Microfluidic Sensing Devices Using 3D Printing, ACS Sens., 3, 522–526 (2018)
- [39] S. Kojić, D. Milićević, J. Lazarević, M. Drljača, G. M. Stojanović, Design and Testing of Microfluidic Micromixer Fabricated Using Xurographic Technique, 41st International Spring Seminar on Electronics Technology (ISSE), 1-5 (2018)
- [40] P. R. C. Gascoyne, J. Vykoukal, Particle separation by dielectrophoresis, Electrophoresis, 23, 1973-1983 (2002)
- [41] Z. Wu, A. Q. Liu, K. Hjort, Microfluidic continuous particle/cell separation via electroosmotic-flow-tuned hydrodynamic spreading, J. Micromech. Microeng., 17, 1992-1999 (2007)
- [42] N. Pamme, Magnetism and microfluidics, Lab Chip, 6, 24-38 (2006)
- [43] E. Eriksson, J. Scrimgeour, A. Graneli, K. Ramser, R. Wellander, J. Enger, D. Hanstorp, M. Goksor, Optical manipulation and microfluidics for studies of single cell dynamics, J. Opt. A: Pure Appl. Opt., 9, 113-121 (2007)
- [44] M. Yamada, M. Nakashima, M. Seki, Pinched flow fractionation: continuous size separation of particles utilizing a laminar flow profile in a pinched microchannel, Analytical chemistry, 76, 5465-5471 (2004)
- [45] L. R. Huang, E. C. Cox, R. H. Austin, J. C. Sturm, Continuous particle separation through deterministic lateral displacement, Science, 304, 987-990 (2004)
- [46] A. Karimi, S. Yazdi, A. M. Ardekani, Hydrodynamic mechanisms of cell and particle trapping in microfluidics, Biomicrofluidics, 7, 21501 (2013)
- [47] J. Zhou, I. Papautsky, Fundamentals of inertial focusing in microchannels, Lab Chip, 13, 1121-1132 (2013)
- [48] N. Pamme, Continuous flow separations in microfluidic devices, Lab Chip, 7, 1644-1659 (2007)
- [49] B. J. Kirby, Micro- and Nanoscale Fluid Mechanics, Cambridge University Press, New York, 2010.

- [50] A. L. Vig, Pinched Flow Fractionation-Technology and Application, Ph.D. Thesis, Department of Micro- and Nanotechnology Technical University of Denmark, February 9, 2010.
- [51] A. L. Vig, A. Kristensen, Separation enhancement in pinched flow fractionation, Applied Physics Letters 93, 203507 (2008)
- [52] J. Takagi, M. Yamada, M. Yasuda, M. Seki, Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches, Lab on a Chip, 5, 778-784 (2005)
- [53] H. W. Nho, T. H. Yoon, Enhanced separation of colloidal particles in an AsPFF device with a tilted sidewall and vertical focusing channels (t-AsPFF-v), Lab Chip, 13, 773-776 (2013)
- [54] H. W. Nhoa, N. Yanga, J. Songc, J. S. Park, T. H. Yoona, Separations of spherical and disc-shaped polystyrene particles and blood components (red blood cells and platelets) using pinched flow fractionation device with a tilted sidewall and vertical focusing channels (t-PFF-v), Sensors and Actuators B, 249, 131-141 (2017)
- [55] F. P. Bretherton, The motion of rigid particles in a shear flow at low Reynolds number, Journal of Fluid Mechanics, **14(2)**, 284-304 (1962)
- [56] G. Segre G, A. Silberberg, Radial particle displacements in Poiseuille flow of suspensions, Nature, 189, 209–210 (1961)
- [57] B. P. Ho, L. G. Leal, Inertial Migration of Rigid Spheres in Two- Dimensional Unidirectional Flows, J. Fluid Mech., 65, 365-400 (1974)
- [58] R. G. Cox, H. Brenner, The lateral migration of solid particles in Poiseuille flow-I theory, Chem. Eng. Sci., 23, 147-173 (1968)
- [59] S. I. Rubinow, J. B. Keller, J. Fluid Mech., The transverse force on a spinning sphere moving in a viscous fluid, 11, 447-459 (1961)
- [60] X. Lu, X. Xuan, Inertia-Enhanced Pinched Flow Fractionation, Anal. Chem., 87, 4560-4565 (2015)
- [61] X. Lu, X. Xuan, Continuous Microfluidic Particle Separation via Elasto-Inertial Pinched Flow Fractionation, Anal. Chem., 87, 6389-6396 (2015)
- [62] X. Lu, X. Xuan, Elasto-Inertial Pinched Flow Fractionation for Continuous Shape-Based Particle Separation, Anal. Chem., 87, 11523-11530 (2015)

- [63] A. Ashkin, Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure, Phys. Rev. Lett., 24, 156-159 (1970)
- [64] S. B. Kim, J. H. Kim, S. S. Kim, Theoretical development of in situ optical particle separator: cross-type optical chromatography, Applied Optics, 45(27), 6919-6924 (2006)
- [65] K. H. Lee, S. B. Kim, K. S. Lee, H. J. Sung, Enhancement by optical force of separation in pinched flow fractionation, Lab Chip, 11, 354-357 (2011)
- [66] K. C. Neuman, E. H. Chadd, G. F. Liou, K. Bergman, S. M. Block, Characterization of photodamage to escherichia coli in optical traps, Biophys J., 77(5), 2856-2863 (1999)
- [67] H. Liang, K. T. Vu, P. Krishnan, T. C. Trang, D. Shin, S. Kimel, M. W. Berns, Wavelength dependence of cell cloning efficiency after optical trapping, Biophys. J., 70, 1529-1533 (1996)
- [68] R. Zhou, C. Wang, Acoustic bubble enhanced pinched flow fractionation for microparticle separation, J. Micromech. Microeng., 25, 1-10 (2015)
- [69] Y. Sai, M. Yamada, M. Yasuda, M. Seki, Continuous separation of particles using a microfluidic device equipped with flow rate control valves, Journal of Chromatography A, 1127, 214-220 (2006)
- [70] D. Huh, J. H. Bahng, Y. Ling, H. H. Wei, O. D. Kripfgans, J. B. Fowlkes, J. B. Grotberg, S. Takayama, Gravity-Driven Microfluidic Particle Sorting Device with Hydrodynamic Separation Amplification, Anal. Chem., 79, 1369-1376 (2007)
- [71] L. M. Sosnoskie, T. M. Webster, D. Dales, G. C. Rains, T. L. Grey, and A. S. Culpepper, Pollen Grain Size, Density, and Settling Velocity for Palmer Amaranth (Amaranthus palmeri), Weed Science, 57, 404-409 (2009)

UNIVERZITET U NOVOM SADU PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR Identifikacioni broj: IBR Tip dokumentacije: Monografska dokumentacija TDTip zapisa: Tekstualni štampani materijal TZVrsta rada: Master rad VR Autor: Ivana Podunavac \mathbf{AU} Mentor: dr Vesna Bengin Komentor: dr Vasa Radonić MN Naslov rada: Cilj master rada je realizacija mikrofluidičnog čipa za separaciju mikročestica po veličini na principu uštinutog toka primenom nove hibridne tehnologije izrade mikrofluidičnih čipova. Hibridna tehnologija izrade podrazumeva lasersko sečenje nesinterovanih LTCC traka i laminaciju sa PVC folijama. Mikrofluidični čip je testiran za separaciju čestica polena po veličini i rezultati testiranja pokazuju da se čipovi napravljeni u ovoj jeftinoj tehnologiji mogu primeniti za separaciju mikročestica po veličini. NR Jezik publikacije: srpski (latinica) \mathbf{JP} Jezik izvoda: srpski/engleski JI Zemlja publikovanja: Republika Srbija \mathbf{ZP} Uže geografsko područje: Vojvodina UGP Godina: 2019 GO

Izdavač: I Z	Autorski reprint
Mesto i adresa:	Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 4. Novi Sad
MA	116 Doshelja o sradovica 1, 1001 sad
Fizički opis rada:	7 poglavlja/ 59 strana/ 71 literaturni citat/ 3 tabele/ 44 slike
FO	
Naučna oblast:	Fizika
Noučna disciplina:	Mikrofluidika
ND Predmetna odrednica/ ključne reči:	Mikrofluidika, Tehnika uštinutog toka, Separacija čestica po veličini
РО	
UDK	
$\check{C}uva se:$	Biblioteka Departmana za fiziku, PMF-a u Novom Sadu
CU	
Važna napomena: Nema	
VN	
Izvod:	U radu je realizovan mikorfluidični čip za separaciju mikročestica po veličini na principu uštinutog toka i eksperimentalno testiranje čipa sa polenom
IZ	i ensperimentanio testinanje cipa sa potenemi.
Datum prihvatanja teme:	jul 2019.
Datum odbrane:	16.8.2019
DO	
Članovi komisije:	
КО	
Predsednik:	dr Željka Cvejić, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu
$\check{C}lan$:	dr Vladimir Srdić, redovni profesor Tehnološkog fakulteta u Novom Sadu
Mentor:	dr Vesna Bengin, vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu
Komentor:	dr Vasa Radonić, viši naučni saradnik Institut BioSens u Novom Sadu

UNIVERSITY OF NOVI SAD FACULTY OF SCIENCES KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number:	
ANO	
Identification number:	
INO	
Document type:	Monograph publication
DT	
Type of record:	Textual printed material
TR	
Content code:	Final paper
CC	
Author:	Ivana Podunavac
AU	
Mentor:	Vesna Bengin PhD
Co-mentor:	Vasa Radonić PhD
MN	
Title:	Microfluidic chip for particle size separation
	by Pinched Flow Fractionation
TI	
Language of text:	Serbian (Latin)
LT	
Language of abstract:	$\operatorname{English}$
LA	
Country of publication:	Republic of Serbia
CP	
Locality of publication:	Vojvodina
LP	
Publication year:	2019
PY	
Publisher:	Author's reprint
PU	
Publication place:	Faculty of Sciences, Trg Dositeja Obradovica 4, Novi Sad
PP	
Physical description:	7/59/71/3/44
PD	
Scientific field:	Physics

SF	
Scientific discipline: SD	Microfluidics
Subject/ Key words:	Microfluidics, Particle size separation,
	Pinched Flow Fractionation
SKW	
Holding data:	Library of Department of Physics,
	Trg Dositeja Obradovića 4, Novi Sad
HD	
Note:	None
Ν	
Abstract:	 The aim of this master thesis was the realization of microfluidic chip for particle size separation by Pinched Flow Fractionation. The microfluidic chip was fabricated in novel hybrid technology that combines laser micro- machining process and LTCC tapes (from LTCC technology), lamination process and PVC foils (from xurography). The fabricated microfluidic chip was tested with pollen. The size-separation results showed that microfluidic chip fabricated in novel hybrid technology can be used for particle size separation.
AB	
Accepted by the Scientific Board: ASB	July 2019
Defended on:	16.8.2019.
DE	
Thesis defend board:	
President:	Željka Cvejić PhD, Full professor,
	Faculty of Sciences, Novi Sad
Member:	Vladimir Srdić PhD, Full professor,
	Faculty of Technology, Novi Sad
Mentor:	Vesna Bengin PhD, Associate professor,
	Faculty of Sciences, Novi Sad
Co-mentor:	Vasa Radonić PhD, Research Associate Professor, BioSense Institute, Novi Sad

 \mathbf{DB}