MIKROFLUIDIČNO VEZJE Z MIKROČRPALKO

BLAŽ KAVČIČ, DUŠAN BABIČ IN IGOR POBERAJ

Fakulteta za matematiko in fiziko
Univerza v Ljubljani

PACS: 47.85.Np, 47.85.L-, 87.85.Uv

Mikrofluidika je interdisciplinarno področje, ki obravnava manipulacijo tekočin v zelo majhnih količinah (nl do al) in obeta miniaturizacijo kemijskih in bioloških procesov ter njihovo integracijo v t. i. *laboratorije na čipu*. Trend je podoben kot v začetku razvoja mikroelektronike, le da je mikrofluidično vezje sestavljeno iz različnih miniaturnih mehanskih elementov. Med pomembnejše spadajo mikročrpalke za črpanje tekočinskih tokov po kanalih v vezju. V članku je predstavljena izdelava mikročrpalke iz superparamagnetnih koloidnih kroglic, ki ima možnost individualnega nadzora hitrosti in smeri črpanja.

MICROFLUIDIC CIRCUIT WITH A MICROPUMP

Microfluidics is an interdisciplinary field dealing with manipulation of small volumes of liquids (nl to al) and promising miniaturization of chemical and biological processes and their integration into *laboratories-on-chips*. The trend is similar to the early stage of development of microelectronics, only that the circuits are assembled from miniature mechanical elements. Among the more important components in the circuits are micropumps used to pump liquid currents through the circuit channels. This article presents an experimental implementation of a micropump assembled from superparamagnetic colloidal spheres, with the possibility to control pumping speed and direction of each individual pump.

1. Uvod

Mikrofluidika je interdisciplinarno področje, ki se ukvarja z izdelavo miniaturnih vezij za manipulacijo majhnih volumnov tekočin, ki so tipično reda nanolitrov do atolitrov (10^{-9} do 10^{-18} litra) [1]. Področje obeta miniaturizacijo in s tem povezan napredek pri številnih kemijskih in bioloških procesih na podoben način, kot je hiter razvoj na področju elektronike prinesla mikroelektronika. Razvoj gre v smeri t. i. laboratorija na čipu (ang. *lab-on-a-chip*), torej miniaturizacije različnih procesov, ki se v laboratorijih danes izvajajo na makroskopskih skalah [2]. Možni primeri uporabe mikrofluidike so v kemiji, fiziki, biologiji in medicini, na primer v analizi DNK in celični analizi, biosenzorjih in senzorjih kemikalij, sintezi čistih snovi, filtriranju, separaciji ter pri diagnostičnih in presejalnih testih.

Miniaturizacija prinaša številne prednosti. Na majhnih velikostnih skalah so reakcije veliko hitrejše, zato se trajanje meritev skrajša, nadzor reakcij pa je lažji in natančnejši, saj se sistem hitreje odzove na spremembe, na

primer na dodajanje reagenta. Občutljivost in ločljivost mikroanalitičnih metod sta zato boljši, kar so med prvimi izkoristili pri visokotlačni kromatografiji tekočin in kapilarni elektroforezi [1]. Prav tako je pomembno, da lahko za reakcije uporabimo zelo majhne količine reagentov, saj to omogoča izvajanje analiz tudi na vzorcih v zelo majhnih količinah. Pri ravnanju z nevarnimi snovmi se zmanjša tveganje in obseg potencialnih nesreč, količine nastalih odpadnih produktov pri reakcijah pa so veliko manjše, kar zniža stroške in obremenitve okolja. Majhnost mikrofluidičnih vezij se izraža v prenosljivosti in nižji ceni, zaradi česar je mogoče močno poceniti, poenostaviti in miniaturizirati določene diagnostične metode, kjer je potrebna obdelava velikih količin vzorcev, kar danes opravljajo veliki in dragi robotski sistemi [3].

Mikrofluidično vezje običajno meri do nekaj kvadratnih centimetrov, sestavlja pa ga topološka mikrostruktura iz različnih elementov, kot so miniaturni kanali, komore, ventili, razvejišča ipd. Topološka struktura je lahko kombinirana še z drugimi elementi, na primer z elektrodami. Predlagani in v praksi prikazani so bili že številni načini uporabe mikrofluidičnih vezij, kot so filtrirni sistemi, biosenzorji, senzorji kemikalij in koncentracij, genetska analiza, sinteza organskih snovi, separacija, masna spektrometrija in drugi [1, 2]. Določena vezja se predvsem v laboratorijih že redno uporabljajo. Največji tržni uspeh je do sedaj uporaba mikrofluidike doživela v brizgalnih tiskalnikih [1].

Čeprav raziskave na tem področju potekajo že več kot 20 let, je uporaba mikrofluidike v laboratorijskih procesih še vedno v začetni fazi. Težave so tako pri odločitvah, katere že obstoječe procese sploh miniaturizirati, kot pri sami izpeljavi vseh korakov razvoja, od izbire materialov do postopka izdelave in umestitve na trg. Eden od problemov je črpanje tekočin po mikrofluidičnih vezjih, kar se danes večinoma izvaja z zunanjimi makroskopskimi črpalkami, od koder so različne vrste tekočin do vezij speljane po cevkah. Metoda je zaradi velikosti takšnih črpalk v primerjavi z velikostjo vezij nepraktična, bolj primerne bi bile miniaturne črpalke v samih vezjih. Tu se pojavi tako vprašanje načina izdelave in sestavljanja zelo majhnih črpalnih elementov kot tudi prenos energije za pogon črpalke na tako majhne velikostne skale.

Primer mikročrpalke je leta 2006 predstavila skupina Clemensa Bechingerja z Univerze v Stuttgartu, kjer so iz treh kroglastih superparamagnetnih koloidnih delcev v krožečem zunanjem magnetnem polju sestavili črpalni rotor velikosti okoli 10 μm [4]. Krožeče magnetno polje med superparamagnetnimi koloidnimi kroglicami inducira privlačno interakcijo, zato se te

zberejo v skupek, ki se začne vrteti. Ob primerni topološki zasnovi kanalov takšen rotor po kanalu poganja tok tekočine, katerega smer in velikost sta odvisni od smeri in hitrosti vrtenja rotorja oziroma zunanjega magnetnega polja. Majhnost rotorjev teoretično omogoča površinsko gostoto več tisoč črpalk na kvadratni centimeter mikrofluidičnega vezja [4].

Pri velikem številu mikročrpalk v enem samem vezju se pojavi potreba po nadzoru posameznih črpalk. Ker vse mikročrpalke v vezju poganja isto zunanje magnetno polje, lahko poženemo, upočasnimo ali obrnemo tekočinski tok le v vseh hkrati, nadzor posamezne pa ni mogoč. Omenjena demonstracija črpanja toka v mikrofluidičnem vezju te težave ni odpravila, zato smo zgoraj opisano zasnovo črpalke nadgradili z možnostjo dodatnega nadzora nad posameznim rotorjem.

2. Princip delovanja magnetne mikročrpalke

Eden od načinov izdelave mikročrpalke je uporaba superparamagnetnih koloidnih kroglic in ustreznega zunanjega magnetnega polja, v katerem se kroglice sestavijo v vrteč skupek, ki poganja tekočinski tok. Superparamagnetne koloidne kroglice so majhne polimerne kroglice z velikostjo reda 1 μm, v katerih so razpršeni superparamagnetni nanodelci, običajno γ-Fe_3O_4 velikosti približno 10 nm. Kadar ni zunanjih magnetnih polj, je takšna kroglica magnetno nevtralna. Če vklopimo zunanje polje z gostoto $\mathbf{B}$, pa se dipolni momenti superparamagnetnih nanodelcev v kroglici poravnajo s poljem in s tem v njej inducirajo magnetni dipolni moment

$$\mathbf{m} = \frac{4\pi R^3 \chi}{3\mu_0}\mathbf{B}\,, \tag{1}$$

kjer je R polmer koloidne kroglice, χ njena magnetna susceptibilnost in μ_0 indukcijska konstanta. Če takšno kroglico z magnetnim dipolnim momentom $\mathbf{m}_1$ obravnavamo kot točkast dipol, lahko magnetno polje $\mathbf{B}_1(\mathbf{r})$, ki ga ustvarja, zapišemo kot

$$\mathbf{B}_1(\mathbf{r}) = \frac{\mu_0}{4\pi}\frac{3\mathbf{r}(\mathbf{m}_1\cdot\mathbf{r}) - r^2\mathbf{m}_1}{r^5}\,. \tag{2}$$

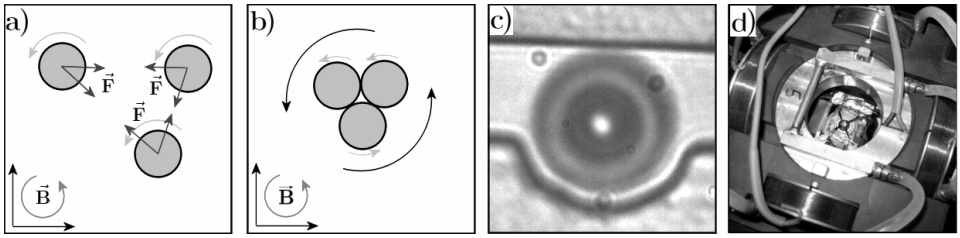
Če v magnetno polje prve kroglice postavimo drugo z magnetnim dipolnim momentom $\mathbf{m}_2$, je interakcijska energija med njima enaka skalarnemu produktu magnetnega momenta druge kroglice z magnetnim poljem prve:

$$E_{INT} = -\mathbf{m}_2\cdot\mathbf{B}_1 = \frac{\mu_0}{4\pi}\left(\frac{(\mathbf{m}_1\cdot\mathbf{m}_2)}{r^3} - \frac{3(\mathbf{m}_1\cdot\mathbf{r})(\mathbf{m}_2\cdot\mathbf{r})}{r^5}\right). \tag{3}$$

Če je gibanje kroglic omejeno na ravnino, v kateri kroži zunanje magnetno polje, se gornji izraz za interakcijsko energijo poenostavi v

$$\langle E_{INT} \rangle = -\frac{\mu_0}{8\pi} \frac{m_1 m_2}{r^3} \,. \tag{4}$$

Interakcija med kroglicama je izotropna in v povprečju privlačna, kar pomeni, da se superparamagnetne koloidne kroglice med seboj privlačijo in sprimejo v skupke. Orientacija magnetizacije nanodelcev v posamezni kroglici in s tem smer dipolnega momenta celotne kroglice nekoliko zaostaja za zunanjim poljem, zaradi česar nanje deluje magnetni navor $\mathbf{M} = \mathbf{m} \times \mathbf{B}$, ki kroglico zavrti okoli lastne osi. Zaradi tega se superparamagnetna koloidna kroglica v krožečem zunanjem magnetnem polju vrti okoli iste osi kot zunanje polje, kar je mogoče opazovati pod mikroskopom. Magnetni navor deluje tudi na skupek večih kroglic, zato se tak skupek prav tako vrti.



Slika 1. (a) Ko v ravnini tanke mikroskopske celice vklopimo krožeče zunanje magnetno polje, se začnejo posamezne superparamagnetne kroglice vrteti, med njimi pa delujejo privlačne sile. (b) Ko se sprimejo v skupek, se še vedno vrtijo posamezno in v skupku kot celoti. (c) Primer hitro vrtečega skupka iz superparamagnetnih koloidnih kroglic velikosti 4,4 μm – pogled od zgoraj. (d) Magnetna pinceta, uporabljena za ustvarjanje magnetnih polj v vzorcu.

Če vzamemo tri superparamagnetne koloidne kroglice v tanki mikroskopski celici in vklopimo v ravnini krožeče magnetno polje torej dobimo rotor, katerega strukturo zagotavlja privlačna interakcija med koloidnimi kroglicami. Zaradi magnetnega navora se rotor vrti v smeri kroženja polja, kot je skicirano na sliki 1, in s tem poganja tekočinski tok. Na ta način je izveden prenos energije za pogon črpalke na mikroskopsko skalo. Krožeče magnetno polje za potrebe poskusov smo ustvarili z *magnetno pinceto* (slika 1 (d)).

Na majhnih velikostnih skalah obnašanje tekočinskih tokov ni vedno intuitivno, ker so tokovi običajno laminarni. Za tekočinske tokove pri naših poskusih je bila tipična dimenzija kanala $L = 10$ μm, hitrost toka reda $v = 1$ μm/s, viskoznost vode pa je okoli 10^{-3} Ns/m^2. Reynoldsovo število

$Re = \rho v L/\eta$ je v tem primeru reda 10^{-5}, kar pomeni, da so bili tokovi globoko v laminarnem režimu in smo lahko vztrajnostne sile v njih zanemarili. Prav tako je bila debelina dvodimenzionalne celice manj kot 10μm, zato lahko vpliv višinskih razlik med posameznimi deli tekočine zanemarimo. Za tekočinski tok v eksperimentalnem sistemu lahko zato zapišemo poenostavljeno Navier-Stokesovo enačbo

$$-\boldsymbol{\nabla} p + \eta \nabla^2 \mathbf{v} = 0\,, \tag{5}$$

kjer je p tlak v tekočini, η viskoznost in $\mathbf{v}$ hitrost tekočine. Gornja enačba je od časa neodvisna, iz česar po Purcellovem teoremu (t. i. *scallop theorem* [5]) sledi, da mora biti črpalka zasnovana asimetrično, da pri vrtenju rotorja lahko poganja tok tekočine po kanalu.

Zgoraj opisan pogon črpalke omogoča vzporedno delovanje večih črpalk, saj lahko z istim zunanjim magnetnim poljem hkrati poganjamo veliko število črpalk v enem mikrofluidičnem vezju. Njegova glavna pomanjkljivost je, da lahko poženemo, ustavimo ali obrnemo tekočinski tok le v vseh črpalkah hkrati. Za nadzor nad posamezno črpalko je treba poiskati način za vpliv na vrtenje posameznega rotorja in s tem omogočiti nadzor nad delovanjem posamezne črpalke v vezju.

Ena izmed možnosti je uporaba dielektroforetske sile, ki deluje na dielektrična telesa v nehomogenem električnem polju. Takšno polje lahko ustvarimo z elektrodami. Na kroglasto telo v nekem sredstvu v nehomogenem izmeničnem električnem polju s frekvenco ω deluje dielektroforetska sila, katere časovno povprečena vrednost je

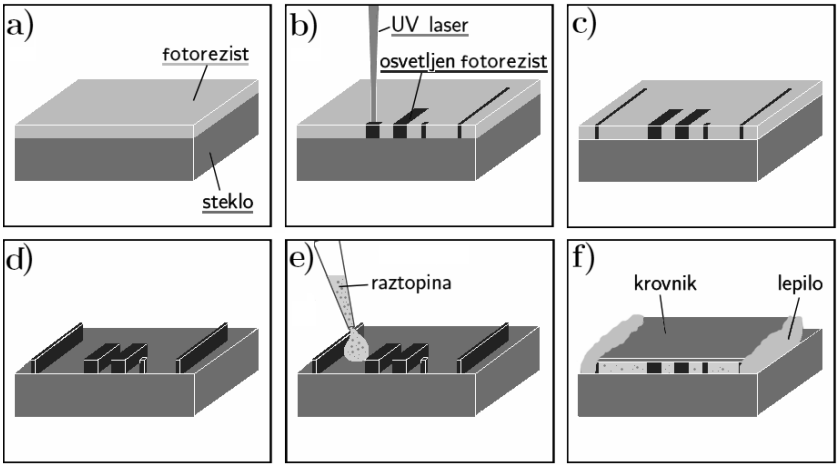
$$\langle \mathbf{F}_{DEP}(\mathbf{r}_0, \omega) \rangle = 2\pi\epsilon_1 R^3 \,\mathrm{Re}\, \frac{\epsilon_2(\omega) - \epsilon_1(\omega)}{\epsilon_2(\omega) + 2\epsilon_1(\omega)} \boldsymbol{\nabla} \left[\mathbf{E}_{RMS}(\mathbf{r}_0)^2 \right]. \tag{6}$$

Tu so R polmer telesa, $\mathbf{E}$ električno polje, $\epsilon_{1,2}(\omega) = \epsilon_{1,2} - i\sigma_{1,2}/\omega$ kompleksni dielektričnosti sredstva in telesa, ter $\sigma_{1,2}$ prevodnosti obeh snovi. Velikost in smer sile sta odvisni od frekvence električnega polja, od kompleksnih dielektričnosti sredstva in telesa v njem ter od velikosti gradienta polja.

Dielektroforetsko silo smo uporabili za nadzor posameznega rotorja tako, da smo črpalko opremili z dvema paroma mikroelektrod, na katere smo priklopili izmenično napetost. V bližini elektrod je električno polje močno nehomogeno, zato na delce v bližini deluje dielektroforetska sila, s katero lahko vplivamo na rotor in s tem spreminjamo njegovo hitrost ali položaj v črpalni komori.

3. Izvedba poskusa

Topološke mikrostrukture za potrebe poskusov smo izdelali v 6 μm debel sloj fotorezista, ki je bil nanesen na standardno mikroskopsko objektno steklo. Fotorezist smo osvetlili na sistemu za direktno lasersko osvetljevanje, ki uporablja ultravijolični laserski snop z valovno dolžino $\lambda = 375$ nm. Sistem s pomočjo akustooptičnih deflektorjev in računalnika natančno nadzoruje položaj in intenziteto laserskega snopa, kar omogoča izris oziroma izdelavo struktur z ločljivostjo pod 1 μm.



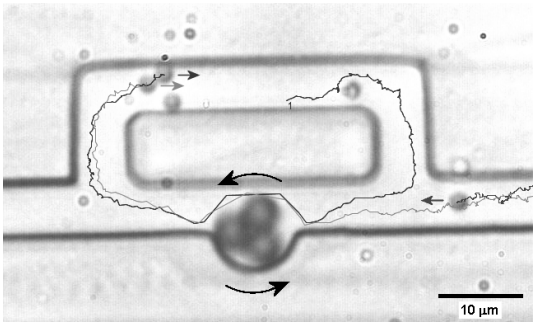
Slika 2. Postopek izdelave mikrofluidične celice. Debeline različnih slojev na skicah niso v merilu. (a) Nanos fotorezista na objektno steklo. (b) Osvetljevanje fotorezista z UV laserjem. (c) Segrevanje vzorca, ki konča proces polimerizacije fotorezista. (d) Odstranitev (jedkanje) odvečnega fotorezista; na steklu ostane le mikrostruktura. (e) Polnjenje strukture s koloidno suspenzijo. (f) Zatesnitev strukture; celica je s tem pripravljena za meritve.

Za izdelavo rotorja črpalke smo uporabili suspenzijo vode in superparamagnetnih koloidnih kroglic s premerom $2R = 4{,}4$ μm in susceptibilnostjo 1,6 v zunanjem magnetnem polju z gostoto okoli 3 mT. Iz enačbe (1) lahko ocenimo magnetni dipolni moment posamezne kroglice, ki znaša okoli 10^{-13} Am^2. Maksimalna interakcijska energija med parom kroglic je po (4) okoli 100 eV (4000 kT), največja sila pa reda 10 pN. Za opazovanje tekočinskega toka smo v suspenzijo dodali še nemagnetne koloidne kroglice iz SiO_2 s premerom 2,3 μm.

Izdelana mikrostruktura je bila sestavljena iz 6 μm širokih dovodnih kanalov in krožnega kanala z 10 μm široko komoro z rotorjem črpalke. Strukturo smo napolnili s pripravljeno suspenzijo, jo pokrili s krovnim steklom in

zatesnili, s čimer je bila mikroskopska celica pripravljena za poskus. Celoten postopek izdelave mikrofluidične celice (vezja) je skiciran na sliki 2.

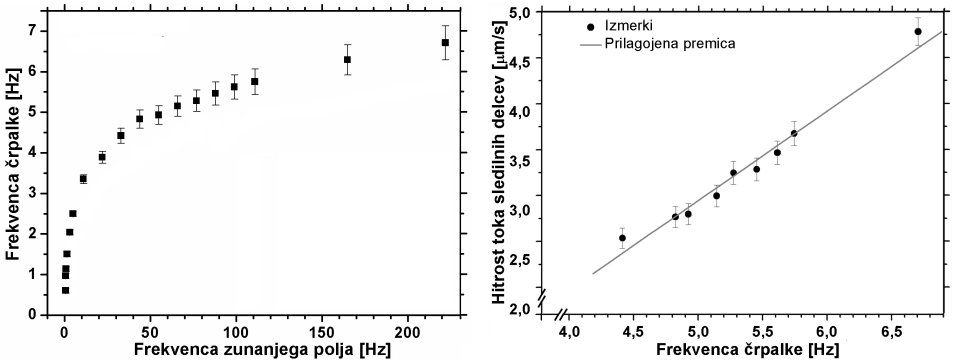
V bližino zaobljene komore smo z *lasersko pinceto* [6] pripeljali nekaj superparamagnetnih koloidnih kroglic, ki so se v vrtečem zunanjem magnetnem polju sprijele v rotor. Pri izbrani geometriji kanalov in komore ter pri vrtenju rotorja v nasprotni smeri urinega kazalca (slika 3) je črpalka poganjala tok tekočine po krožnem kanalu v smeri puščice. Na sliki so označene tudi poti gibanja nemagnetnih koloidnih kroglic, na podlagi katerih smo opazovali vodni tok po kanalih. Dobro so vidne Brownove fluktuacije kroglic, naložene na gibanje v vzdolžni smeri.



Slika 3. Pogled od zgoraj na strukturo kanalov s širino in globino 6 μm. V nekoliko širši komori je vrteč rotor iz superparamagnetnih koloidnih kroglic premera 4,4 μm, ki poganja tok tekočine po kanalih. Tok je nakazan s puščicami in potmi (lomljene črte) manjših nemagnetnih kroglic.

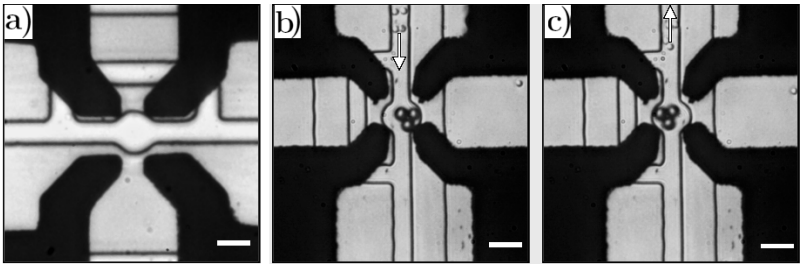
Hitrost toka tekočine smo ocenili iz hitrosti gibanja nemagnetnih kroglic. Izmerili smo, da hitrost narašča linearno s frekvenco rotorja, največje dosežene hitrosti so bile do 5 μm/s. Odvisnost frekvence rotorja od frekvence zunanjega magnetnega polja in odvisnost hitrosti sledilnih kroglic od frekvence rotorja prikazuje slika 4.

Za izdelavo črpalke z mikroelektrodami smo uporabili mikroskopsko objektno steklo z naparjeno tanko plastjo kroma, nanj nanesli fotorezist in izdelali mikrostrukturo v obliki štirih elektrod. Po jedkanju odvečnega fotorezista smo z jedkanjem odstranili odvečni krom ter preostalo strukturo iz fotorezista, tako da je na steklu ostala le tanka mikrostruktura iz kroma. Nanesli smo še drugi sloj fotorezista in izdelali ustrezno topološko strukturo kanalov. Tako smo dobili dvoplasten sistem kanalov in elektrod. Zasnova kanalov je ostala skoraj enaka, le da je bila črpalna komora simetrično zaobljena in opremljena z elektrodami. Izdelana struktura je prikazana na sliki 5 (a).



Slika 4. Levo: frekvenca vrtenja rotorja v odvisnosti od frekvence zunanjega magnetnega polja. Desno: hitrost toka sledilnih nemagnetnih kroglic v odvisnosti od frekvence rotorja črpalke.

Z vklopom izmenične napetosti na elektrodah začne na rotor delovati dielektroforetska sila. V primeru, prikazanem na sliki 5 (b), se rotor vrti ob desni steni črpalne komore v smer, nasprotno smeri urinega kazalca, ter s tem črpa tok tekočine v smer, ki je označena s puščico. S spremembo predznaka napetosti na elektrodah se rotor premakne na nasprotno stran črpalne komore, zaradi česar se smer toka obrne (slika 5 (c)).



Slika 5. (a) Pogled od zgoraj na strukturo kanalov, narejenih v plast fotorezista, pod katero je tanka struktura iz kroma (črna barva). (b) Ko se zunanje magnetno polje v ravnini kanala vrti v smer, nasprotno smeri urinega kazalca, rotor ustvarja tok tekočine v smeri, označeni s puščico. (c) Če rotor pri istih pogojih s spremembo predznaka napetosti na elektrodah premaknemo na nasprotno stran črpalne komore, se smer toka obrne. Bela črtica na slikah ustreza dolžini 10 μm.

S spreminjanjem predznaka napetosti na obeh parih elektrod torej lahko spreminjamo smer tekočinskega toka, s spreminjanjem velikosti napetosti pa je možno rotor upočasniti ali ustaviti in tako zvezno uravnavati pretok tekočine skozi črpalko. Zunanje magnetno polje, ki poganja črpalke, pri tem

ostane nespremenjeno.

4. Sklep

Prikazali smo, da je mogoče izdelati preprosto mikrofluidično črpalko, ki je sestavljena iz superparamagnetnih koloidnih kroglic. Zunanje magnetno polje zagotavlja trdnost rotorja in črpalko hkrati poganja ter s tem omogoča prenos energije za pogon črpalke na mikroskopsko skalo. Rotor črpalke se v magnetnem polju sestavi sam. Hitrost in smer črpanja tekočinskega toka sta odvisni od gostote, hitrosti in smeri vrtenja zunanjega magnetnega polja.

Kadar pa imamo v enem mikrofluidičnem vezju večje število podobnih črpalk, ki jih poganja isto zunanje magnetno polje, lahko smeri in hitrosti vrtenja rotorjev s poljem spreminjamo le v vseh črpalkah v vezju hkrati. Zato je pomembno, da ima posamezna črpalka v vezju dodatno možnost individualnega nadzora nad rotorjem in s tem tudi nad hitrostjo in smerjo toka tekočine skozi posamezno črpalko. Z uporabo dielektroforetske sile v nehomogenem električnem polju elektrod smo omogočili in v praksi prvič prikazali nadzor tako smeri kot tudi hitrosti črpanja posameznih črpalk, ki jih poganja isto zunanje magnetno polje.

Zahvala

Opisano delo je bilo narejeno v Laboratoriju za eksperimentalno fiziko mehke snovi na Oddelku za fiziko na Fakulteti za matematiko in fiziko, Univerza v Ljubljani. Zahvaljujemo se Natanu Ostermanu za pomoč in številne praktične nasvete, Urošu Jorgačevskemu za izdelavo mehanskih delov, dr. Petru Panjanu iz odseka F3 Instituta Jožef Stefan za naparevanje tankih slojev kroma na steklo ter dr. Mojci Vilfan iz odseka F7 za nasvete pri delu.

LITERATURA

[1] G. M. Whitesides, *The origins and the future of microfluidics*, Nature **442** (2006), str. 368–373.

[2] T. M. Squires in S. R. Quake, *Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale*, Rev. Mod. Phys. **77** (2005) 3, str. 977–1026.

[3] J. W. Hong in S. R. Quake, *Integrated nanoliter systems*, Nature Biotechnol. **21** (2003), str. 1179–1183.

[4] S. Bleil, D. W. M. Marr in C. Bechinger, *Field-mediated self-assembly and actuation of highly parallel microfluidic devices*, Appl. Phys. Lett. **88** (2006), 263515.

[5] E. M. Purcell, *Life at low Reynolds number*, Am. J. Phys. **45** (1977) 1, str. 3–11.

[6] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm in S. Chu, *Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles*, Opt. Lett. **11** (1986) 5, str. 288.