Univerza v Mariboru

Fakulteta za naravoslovje in matematiko

MIKROFLUIDIKA

Maša Gomilšek

V seminarju predstavim mikrofluidiko. To je interdisciplinirana veda, ki obravnava obnašanje in manipulacijo tekočin na mikrometrskem nivoju ter obeta minituarizacijo teh procesov in njihovo integracijo v "laboratorij na čipu". Predstavim fizikalne osnove toka tekočine na majhni skali in osnovne postopke mehke litografije za izdelavo mikrostruktur.

Mentor: doc. dr. Uroš Tkalec

Maribor, 2012

KAZALO:

1 UVOD 3
2 FIZIKALNE OSNOVE TOKA TEKOČINE NA MIKROMETRSKI SKALI 4
2.1 Reynoldsovo število in Pecletovo število 4
2.2 Površinska napetost 5
2.3 Poiseuillejev zakon 6
3 UPORABA MEHKE LITOGRAFIJE ZA IZDELAVO MIKROKANALČKOV 7
3.1 Fotolitografija 8
3.2 Priprava vzorca 9
4 PRIMERI MIKROFLUIDIČNIH VEZIJ 11
5 ZAKLJUČEK 12

1 UVOD

Velike naprave so ponavadi drage, počasne in zahtevajo veliko energije, zato se sodobna tehnologija veliko ukvarja z načrtovanjem in izdelovanjem čim manjših naprav. Leta 1959 je Richard P. Feynman v svojem znamenitem govoru z naslovom "Spodaj je veliko prostora" (There's plenty of room at the bottom) opozoril na območje majhnih dimenzij, na katerem do takrat še ni bilo veliko narejenega. To območje je obetalo velik razvoj, pa tudi veliko tehničnih problemov. Med drugim je Feynman predlagal: "Morali bi naučiti mravlje, da bi one učile majhne pršice, kako izdelovati majhne naprave" [1].

Manjše naprave imajo kar nekaj prednosti pred večjimi. Z njimi npr. zmanjšamo čas trajanja eksperimentov, zato lahko opravimo bistveno več postopkov v istem času. Izvajamo jih lahko zaporedno enega za drugim ali pa vzporedno več hkrati. Pri tem se poveča občutljivost, selektivnost in ponovljivost eksperimenta. Potrebujemo manj reagentov, zato so eksperimenti cenejši in nastane manj odpadkov [2]. Zaradi majhne mase reagentov je prenos toplote hitrejši, kar omogoča natančnejšo kontrolo temperature po celotnem vzorcu in hitrejšo odvajanje toplote. Tako preprečimo pregrevanje vzorca in s tem povezane poškodbe ter obenem izključimo možnost eksplozije. Zaradi majhnih razdalj je difuzivno mešanje tekočin hitro, kar poveča hitrost in izkoristek kemijskih reakcij.

V seminarju bom opisala mikrofluidiko, vedo, ki se ukvarja s tekočinskimi tokovi na mikrometrskem nivoju in z manipulacijo tekočin na nivoju nanolitrov (10^{-9} l) in atolitrov (10^{-18} l), to je med 10^{-3} mm^3 in 10^{-3} μm^3 [3]. Ta interdisciplinarna veda je na začetku razvoja, saj se je začela razvijati šele pred 20 leti iz področja MEMS (mikro elektromehanski sistemi). Zgleduje se predvsem po naravi, kjer se mikrofluidični procesi odvijajo v rastlinah in živalih. Primeri mikrofluidičnih tokov v naravi so tok krvi po tankih žilah, tok rastlinskih sokov po drevesnih kapilarah, srkanje medičine in brizganje strupa pri žuželkah. Tudi plavanje bakterij s pomočjo bička ali migetalk spada v področje mikrofluidike in se bistveno razlikuje od plavanja velikih živali [2]. Mikrofluidika obenem obeta minituarizacijo procesov ter njihovo integracijo v t.i. "laboratorij na čipu" - majhno napravo, sestavljeno iz množice komponent, ki opravljajo veliko število kompleksnih fizikalno kemičnih reakcij oz. procesov na majhnem prostoru in v kratkem času - podobno kot miniaturen elektronski čip hitro opravlja veliko število računskih operacij.

Eden izmed problemov manipulacije tekočin na mikrometrskem nivoju je izdelava mikrostruktur. Izdelujemo jih z različnimi vrstami litografije, npr. z elektronsko, mehko in fotolitografijo [4]. Poleg izdelave osnovnih kanalčkov je potrebno poskrbeti tudi za njihovo povezavo z okolico, npr. za vbrizgavanje vzorca. Prav tako je potrebno zagotoviti gibanje tekočine po kanalčkih, za kar potrebujemo majhne črpalke in ventile [1]. Obstajajo sicer določene rešitve vseh teh problemov in tudi že nekateri primeri komercialne uporabe mikrofluidičnih vezij [1], vendar pričakujemo in želimo še precejšnji napredek. Leta 2001 so mikrofluidiko razglasili za eno izmed 10 tehnologij, ki lahko spremenijo svet [1].

V nadaljevanju je predstavljenih nekaj fizikalnih osnov toka tekočine na mikrometrskem nivoju. Upoštevati moramo fizikalne in kemijske lastnosti tekočin, njihovo obnašanje ob površinah, dinamiko toka tekočine, razmerje med dimenzijo tekočine in difuzijsko razdaljo, površinsko napetost in drugo. Na kratko je opisan najpogosteje uporabljen postopek izdelave mikrostruktur – mehka litografija, pri kateri strukture izdelujemo iz organskih polimerov. Končni izdelek je upogljiva, "mehka", struktura z dobro mehansko, toplotno in kemijsko odpornostjo. Postopek izdelave je dokaj hiter in ne zahteva dragih aparatur ter ekstremno čistih delovnih prostorov kot druge litografije, zato so izdelane strukture cenovno ugodne.

2 FIZIKALNE OSNOVE TOKA TEKOČINE NA MIKROMETRSKI SKALI

Mikrofluidika proučuje tok tekočine v območju od nekaj desetink mikrometra do nekaj sto mikrometrov. Pri tem ne smemo zanemariti vpliva robov, saj je v primeru majhnih dimenzij razmerje med površino in prostornino bistveno večje kot pri makroskopskih tokovih.

Tekočina je zvezni material (kontinuum) - posamezni deli tekočine so v tesnem stiku in se lahko gibljejo drug mimo drugega. V splošnem opišemo gibanje nestisljive viskozne tekočine z Navier – Stokesovo enačbo. Pri tekočinah govorimo o gostoti tekočine ρ in gostoti sile f, torej o masi in sili na enoto prostornine, ter o sili na enoto ploskve, ki je sestavljena iz dveh prispevkov: komponentna sile v smeri pravokotno na ploskev zaradi tlaka p je enaka $-\nabla p$, komponenta sile vzdolž ploskve zaradi viskoznih (strižnih) sil pa $\eta\nabla^2\vec{v}$, pri čemer je η koeficient viskoznosti. Hitrost tekočine v na določenem mestu je odvisna od tlačnih, strižnih in zunanjih sil f_{zun} ter od gostote tekočine [5]:

$$\rho\left(\frac{\partial\vec{v}}{\partial t}+(\vec{v}\cdot\nabla)\vec{v}\right)=-\nabla p+\eta\nabla^2\vec{v}+\vec{f}_{zun}.$$

Za nestisljive tekočine velja še kontinuitetna enačba v obliki [5]:

$$\nabla\cdot\vec{v}=0.$$

Ob trdni steni tekočina ne teče in je zato tam hitrost tekočine enaka hitrosti stene. Za makrotokove tak robni pogoj dobro velja. Ali to velja tudi za mikrotokove, še ni potrjeno, niti teoretično niti eksperimentalno [2]. V eksperimentih velikokrat motijo plini, ki se adsorbirajo na površini sten kot majhni mehurčki, še posebno na hidrofobnih površinah, zato je težko ustvariti pogoje za preverjanje robnih pogojev na trdni steni. Zdi pa se, da odstopanja od pravila, da tekočina ob steni ne drsi, niso velika.

Računanje toka tekočine z Navier-Stokesovo enačbo je zaradi nelinearnosti zelo zapleteno in ni vedno nujno potrebno. Za kvalitativno določevanje dinamike tekočine oz. vpliva pomembnosti posameznih parametrov raje uvedemo brezdimenzijska števila. Najbolj znani sta Reynoldsovo in Pecletovo število [6].

2.1 Reynoldsovo število in Pecletovo število

Reynoldsovo število pove, ali je tok tekočine laminaren ali turbulenten. Pri laminarnem toku prevladuje vpliv viskoznosti tekočine; sila upora, ki deluje na telo v toku tekočine, je premo sorazmerna s hitrostjo toka, viskoznostjo tekočine in velikostjo telesa, zato velja linearni zakon upora. Pri turbulentnem toku prevladujejo vztrajnostne sile, sila upora je sorazmerna kvadratu hitrosti, gostoti tekočine in prečnemu preseku telesa, kar opišemo s kvadratnim zakonom upora. Reynoldsovo število Re torej predstavlja razmerje med vztrajnostnimi in viskoznimi silami [6]:

$$Re=\frac{\rho vL}{\eta},$$

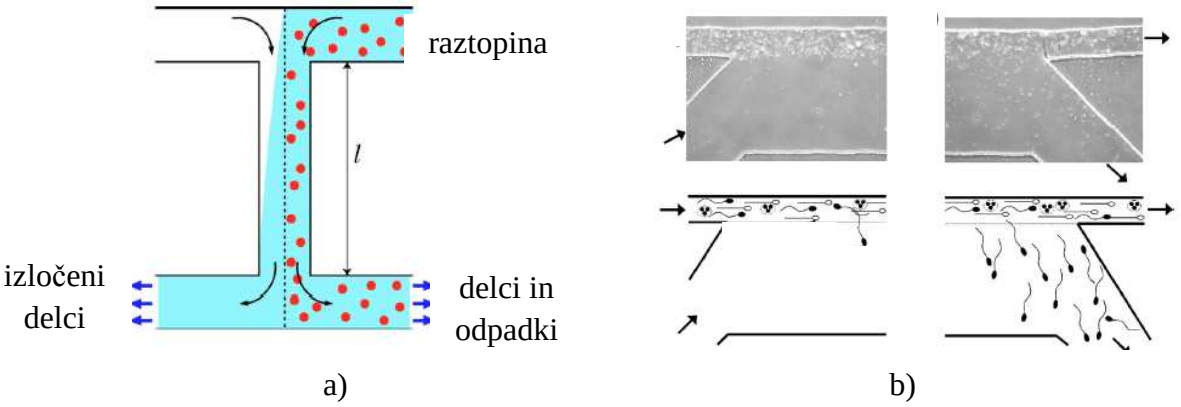
pri čemer je L tipična dimenzija telesa v toku ali dela tekočine, ki ga opazujemo - npr. širina kanalčka, po katerem teče tok. Kadar je Reynoldsovo število veliko (1000 ali več), je tok turbulenten; kadar je majhno (manj kot 1), pa je tok laminaren. Področje srednjih vrednosti (med 1 in 1000) je prehodno področje med laminarnim in turbulentnim tokom, kjer poenostavljeni limitni računi ne veljajo dobro. Voda ima gostoto 10^3 kg/m^3 in viskoznost 10^{-3}

kg/(m·s). V običajnih makro-dimenzijah (~ 0,1) m in pri hitrosti 1 m/s je Reynoldsovo število za vodni tok zelo veliko (~ 10^5), tok pa je močno turbulenten. Na mikro nivoju (1 - 100 μm), kjer je hitrost med 1 in 100 μm/s, je Reynoldsovo število majhno (od 10^{-6} do 10^{-2}), zato je vodni tok povsem laminaren. Podobna razmerja veljajo tudi za večino drugih tekočin.

Na makrometrskem nivoju je tok tekočine običajno turbulenten, zato ima vrtince. V takem primeru se delci v tekočini gibljejo kaotično in se hitro enakomerno porazdelijo po prostornini. Na mikrometrskem nivoju pa je tok laminaren, zato dolgo traja, preden dosežemo dinamično ravnovesje. V slednjem primeru se delci mešajo predvsem zaradi difuzijskih procesov. Dinamiko mešanja tekočine opišemo s Pecletovim številom, ki je definirano kot razmerje med linearno karakteristično dimenzijo tekočine (L) in difuzijsko razdaljo $\lambda = D/v$, kjer je v hitrost tekočine in D difuzijska konstanta [7]:

$$Pe = \frac{vL}{D}.$$

Veliko Pecletovo število ($Pe >> 1$) pomeni, da so dimenzije mnogo večje od tipične difuzijske razdalje, zato so lahko v laminarnem toku takšne tekočine velike razlike v koncentraciji; za izenačitev koncentracije pa je potrebno mešanje, npr. z mehanskimi mešali ali s konvekcijskimi tokovi. Pri majhnem Pecletovem številu ($Pe << 1$) se delci obeh faz hitro pomešajo med seboj zaradi termičnega gibanja. Na tem principu temeljijo mikrofluidni filtri oz. separatorji, ki ločujejo različne delce v toku tekočine glede na njihove difuzijske koeficiente oz. Pecletova števila (slika 1).



Slika 1. a) Filter za ločevanje odpadkov. Odpadki v raztopini difundirajo na nasprotno stran kanala počasneje kot manjši delci in na razdalji l ne uspejo doseči nasprotnega iztoka, skozi katerega iztekajo samo manjši delci brez odpadkov [6]. b) Separator semenčic. Negibljive semenčice (svetle glave) nosi vpadni tok tekočine samo naravnost, medtem ko gibljive semenčice (temne glave) plavajo v vse smeri. Nekatere med njimi dosežejo iztok na drugi strani kanala, zato tam zberemo samo gibljive semenčice [6].

2.2 Površinska napetost

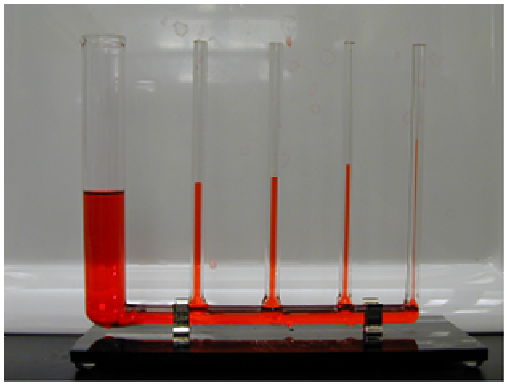
Pri majhnih dimenzijah je zaradi velikega razmerja med površino in prostornino tekočine pomembna tudi površinska napetost [6]. To lahko ponazorimo s primerom. Če tanko stekleno kapilaro pomočimo v vodo, čista steklena površina povleče vodo navzgor (slika 2a). To je t.i. kapilarni dvig tekočine zaradi hidrofilnega značaja stekla - steklo privlači vodo. Pri debelejših cevkah dvig ni velik, v glavnem opazimo samo vbočeno gladino - meniskus, pri ožjih cevkah pa se gladina znatno zviša, npr. za 12 cm v kapilari z notranjim polmerom 0,1 mm. Šele pri tej

višini teža dvignjene vode uravnovesi privlak stekla. Na podoben način papir, tanke pore v zidu ali tanke kapilare dreves povlečejo vodo. Pričakovali bi, da s kratkimi ali vodoravno postavljenimi kapilarami povzročimo tok skozi cevko - vendar se to ne zgodi, saj na koncu kapilare zaradi površinske napetosti vode nastane izbočen krogelni profil (slika 2b). Za premagovanje tlačne razlike zaradi površinske napetosti in posledično iztekanje tekočine iz kapilare je namreč potrebna relativno velika tlačna razlika Δp [8]:

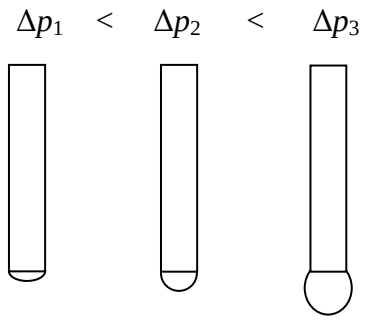
$$\Delta p = \frac{2\gamma}{r}, \tag{1}$$

pri čemer je γ koeficient površinske napetosti (okoli 0,07 N/m za čisto vodo pri 20 ºC) in r krivinski polmer izbočene površine, ki je pri iztekanju iz kapilare približno enak polmeru lete.

Iz enačbe (1) ugotovimo, da je za tok skozi kapilaro z notranjim polmerom 0,1 mm potreben tlak 1400 Pa, za tok skozi kapilaro z notranjim polmerom 1 μm pa 1,4 bar, medtem ko je pri cevki s polmerom 1 cm ta tlak zgolj 14 Pa.



a)



b)

Slika 2. a) Kapilarni dvig [9]. V levi, najširši, cevki opazimo, da gladina tekočine ni ravna, ampak vbočena. Zaradi hidrofilnega značaja stekla se gladina ob stiku dvigne in nastane t.i meniskus. Cevke na desni so ožje, zato so pojavi na robovih še močneje izraženi in tekočina v ožjih cevkah sega višje kot v širokih. b) Tekočina se ob ustju kapilare ukrivi zaradi površinske napetosti. Iztekanje dosežemo, če povečamo tlak.

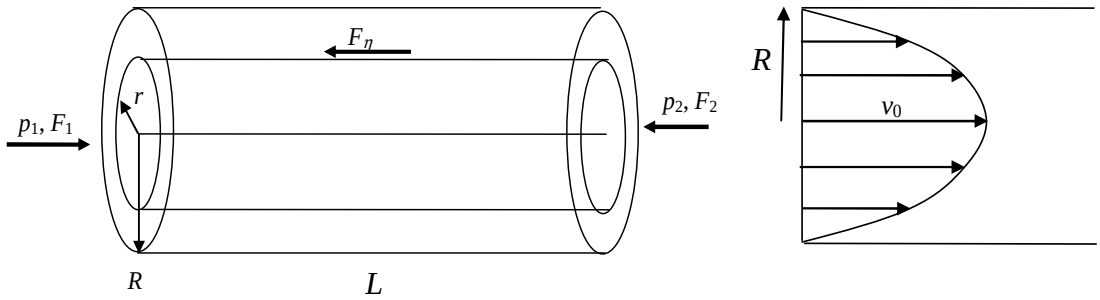
2.3 Poiseuillejev zakon

Poiseuillejev zakon obravnava tok viskozne, nestisljive tekočine po valjasti cevi. Tekočina se lepi na stene, hitrost tekočine tik ob steni je enaka nič. Največja hitrost je na sredini cevi, zato se vzpostavi paraboličen profil hitrosti (slika 3). Med deli tekočine, ki se gibljejo z različnimi hitrostmi, delujejo viskozne (strižne) sile vzdolž smeri toka tekočine. Te sile premagujemo s tlačno razliko na obeh koncih cevi. Tlačna razlika mora biti večja, če je tekočina bolj viskozna ali cev daljša, prav tako mora biti večja, če so razlike hitrosti med plastmi večje, torej če je tok hitrejši ali cev ožja.

Poiseuillejev zakon poveže volumski pretok Φ_V skozi cev s polmerom R in dolžino L s tlačno razliko Δp med obema koncema cevi [9]:

$$\Phi_v = \frac{\Delta V}{\Delta t} = \pi R^2 v = \frac{\pi R^4 \Delta p}{8\eta L}, \tag{2}$$

v je povprečna hitrost tekočine v cevi. Iz enačbe (2) vidimo, da je pretok odvisen od polmera cevi na četrto potenco, kar pomeni, da se pretok zmanjša za faktor 10^4, če pri enaki tlačni razliki in dolžini cevi vzamemo desetkrat tanjšo cevko.



a) b)

Slika 3. a) Laminarni tok po valjasti cevi. V cevi s polmerom R se omejimo na valj tekočine s polmerom r in dolžino L. Gibanje valja tekočine poganja razlika sil na osnovni ploskvi: $\Delta F = F_1 - F_2 = \pi r^2(p_1 - p_2) = \pi r^2 \Delta p$, zavirajo pa ga strižne sile na plašču valja zaradi razlike hitrosti dv med sosednjima plastema tekočine v razmaku dr: $F_\eta = 2\pi r L \eta \cdot dv/dr$. V stacionarnih razmerah so sile uravnovešene. b) Tok po cevi ima parabolični profil hitrosti. Največja hitrost v_0 je na sredini cevi, povprečna hitrost tekočine v celotni cevi v pa je enaka $v_0/2$.

3 UPORABA MEHKE LITOGRAFIJE ZA IZDELAVO MIKROKANALČKOV

Mikrostrukture izdelujemo s postopkom litografije, to je s tiskom na ustrezno podlago. Omejili se bomo na mehko litografijo, ki je dobila ime po mehkih polimernih materialih, iz katerih so strukture izdelane [4]. Razvita je bila za izdelavo mikrokanalčkov, uporabljamo pa jo tudi na drugih področjih, npr. pri izdelavi zgoščenk, hologramov, mikroorodij in elektronskih vezij. Mehka litografija kot samostojni postopek ne obstaja. Najprej je potrebno narediti kalup. Izdelamo ga z litografskimi postopki na trših materialih (silicij, kovina, steklo, keramika), nato pa v kalup nalijemo mehkejši material, ga strdimo in odluščimo ter končno dobimo želeno mikrostrukturo [10].

Uporaba mehke litografije ima številne prednosti. Uporabljamo lahko materiale, ki so občutljivi na UV svetlobo in zato niso uporabni za fotolitografijo ali elektronsko litografijo. Pri tem nismo omejeni samo na ravninske strukture in majhne površine. Med oblikovanjem lahko dobro kontroliramo kemijske razmere, ki dajo optimalni izdelek. Ker ne uporabljamo svetlobe, pri zelo majhnih strukturah nismo omejeni z uklonskimi pojavi. Materiali so relativno poceni, čas med načrtom in prototipom je običajno kratek, pri izdelavi pa niso potrebne izredno drage naprave in ekstremno čisti prostori. Tak pristop je zelo primeren za preizkušanje novih idej v laboratoriju. Ker je prototip poceni, ga po uporabi ni potrebno čistiti, ampak ga enostavno zavržemo in naslednjič uporabimo novega.

Pri mehki litografiji največkrat uporabljamo polimer polidimetilsiloksan (PDMS), včasih pa uporabimo tudi druge snovi, kot so hidrogeli, plastike ali elastomeri. PDMS ima relativno dobro kemijsko inertnost in ne reagira z večino tekočin, ki se pretakajo v kanalčkih. Poleg tega je mehansko obstojen in termično stabilen. Prozoren je za vidno in ultravijolično svetlobo, kar omogoča opazovanje procesov z optičnim mikroskopom. Ima tudi dobre mehanske lastnosti, predvsem upogljivost in majhno adhezivnost, kar pomeni, da ga po obdelavi zlahka ločimo od podlage oz. kalupa. PDMS je prepusten za pline, zato lahko v

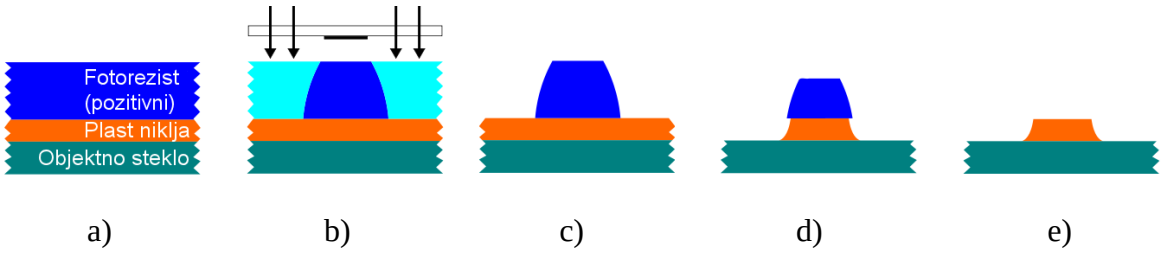
mikrofluidično napravo vodimo tekočino brez odprtine za zrak na drugi strani, saj zrak postopoma uide skozi stene. PDMS je biokompatibilen in omogoča začasno preživetje celic. Slaba stran prepustnosti je, da izhaja tudi vodna para, s čimer se dokaj hitro spreminja koncentracija vzorca. Ker je PDMS gibek, lahko vanj relativno preprosto vključimo elektronske elemente in nastalo vezje priklopimo na zunanje naprave. Skozi luknjice lahko uvedemo kovinske ali plastične cevke, tesnost pa zagotovimo tako, da so odprtine nekoliko manjše od vstavljenih cevčic. Trenje med cevko in PDMS ohišjem tako zagotavlja tesnost do nekaj barov. Seveda ima uporaba PDMS tudi določene omejitve: material ni odporen na visoke temperature, pri visokih tlakih je možna izguba tekočine skozi stene, prav tako ni kompatibilen v nekaterimi organskimi topili.

3.1 Fotolitografija

S postopkom fotolitografije izdelamo kalup, ki ga nato uporabljamo za izdelavo mikrofluidičnih celic s postopki mehke litografije. Izdelava kalupa je prikazana na sliki 4. Sestavljena je iz petih korakov [11]: nanašanje kovine in fotorezista na objektno steklo, osvetljevanje fotorezista, razvijanje fotorezista, jedkanje kovine in odstranjevanje fotorezista.

Najprej na čisto stekelce naparimo kovino, npr. nikelj, nanjo pa nanesemo fotorezist - polimerno snov, ki je občutljiva na ultravijolično svetlobo. Poznamo dve vrsti fotorezistov; pozitivni fororezisti so taki, pri katerih z razvijanjem odstranimo osvetljene dele, pri negativnih fotorezistih pa razvijalec odplakne neosvetljeni del. Včasih nanesemo fotorezist direktno na steklo, zato je v tem primeru končni kalup narejen iz fotorezista.

Pri delu je potrebno zelo paziti na čistost podlage, saj vsaka nečistoča ovira prijemanje nanešene plasti na podlago, strukture pa se lahko popačijo ali celo odluščijo. Objektna stekelca čistimo s čistili v ultrazvočni kopeli, nato jih spiramo z deionizirano vodo in nazadnje posušimo v pečici (običajno 30 minut pri 120 ºC). Izboljšan oprijem dosežemo tako, da na stekelce nanesemo posebne kemikalije (surfaktante), ki jih prav tako zapečemo v pečici.



Slika 4. Postopek fotolitografije [11]: a) Nanos plasti kovine in fotorezista na stekleno podlago; b) osvetljevanje z UV svetlobo skozi masko; c) razvijalec odplakne osvetljeni del; d) jedkanje nezaščitene kovine; e) odstranitev fotorezista.

Fotorezist ima majhno površinsko napetost in se zato enakomerno razporedi po površini. Prav tako se mora dobro oprijeti površine in biti kemijsko odporen. Nanašamo ga tako, da površino s kapljico fotorezista vrtimo pri visokih obratih (3000 rpm) in s tem dosežemo enakomeren nanos (spincoating). S frekvencami 20 - 60 Hz dosežemo tipične debeline 5 - 10 μm, čas vrtenja je približno 60 sekund.

Ko se fotorezist po nanašanju strdi, ga lahko pričnemo osvetljevati. Odvisno od tipa fotorezista z UV svetlobo osvetlimo dele, ki jih želimo obdržati oz. odstraniti. Pomembno je, da je količina svetlobe ravno pravšnja, kar običajno ugotovimo s predhodnim poskušanjem.

V uporabi sta dve vrsti osvetljevanja. Pri direktnem osvetljevanju z računalnikom krmilimo dva akustooptična deflektorja, ki uklanjata žarek iz UV laserja tako, da "piše" po površini. Običajno pa osvetljujemo z UV svetilko preko maske, ki jo postavimo na fotorezist. Masko postavimo tik nad fotorezist, tako da je velikost struktur na fotorezistu enaka kot na maski. Masko običajno izdelamo tako, da na stekelce s tanko naparjeno plastjo kovine (npr. krom) svetimo s fokusiranim laserskim žarkom, ki odpari kovino. Pri tem žarek vodimo na podoben način kot pri direktnem osvetljevanju fotorezista, vendar je postopek zaradi natančnosti izdelave zelo drag in dolgotrajen.

Po osvetlitvi fotorezist segrejemo, da se molekule osvetljenega oz. neosvetljenega polimera med seboj kemijsko povežejo. Nato sledi postopek razvijanja: stekelce z nanosom potopimo v organsko topilo (razvijalec), ki raztopi nestrjeni fotorezist. Za pogosto uporabljani fotorezist SU-8 večinoma uporabljamo razvijalec 1-metoksi-2-propanol acetat [12]. Včasih je to že končni izdelek: preostale strukture so namreč kanalčki za tekočino, ki jih pred uporabo pokrijemo s krovnikom in zatesnimo, kakor je opisano v nadaljevanju. V tem primeru fotorezist še dodatno zapečemo v sušilniku, da je trdnejši.

Kadar želimo izdelati kovinski kalup, odjedkamo tiste dele kovine, ki niso pokriti s fotorezistom. Z mešanico klorovodikove in dušikove kisline odstranimo oksidno plast na kovini, nato pa jedkamo še s posebnimi topili za posamezne kovine. Čas jedkanja je nekaj minut. Potrebno ga je natančno nadzorovati, da ne načnemo kovine pod fotorezistom.

Nazadnje odstranimo še fotorezist. Ker je strjen fotorezist dobro odporen na kemikalije, ga odstranjujemo mehansko, tako da močno drgnemo z optičnim čistilnim papirjem, ki smo ga prej omočili z dietiletrom.

3.2 Priprava vzorca

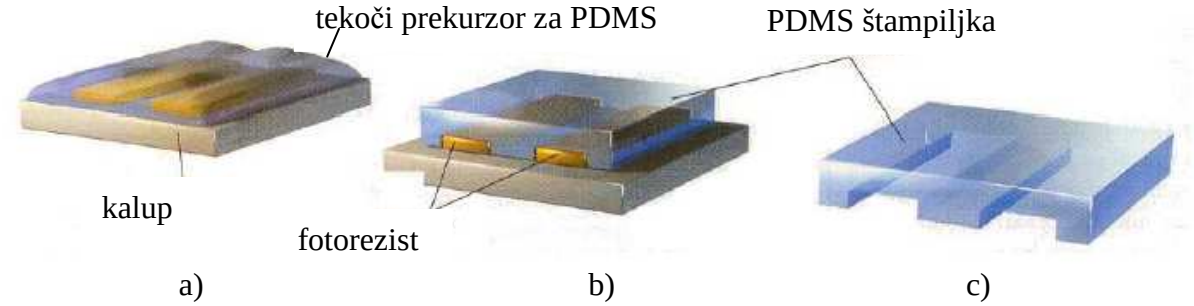
V zaključni fazi želimo doseči kopiranje vzorca trdega kalupa na polimer PDMS. Strukture so tipično 100 μm široke in 10 - 50 μm globoke, izdelali pa so že kopije s strukturami, ki so manjše od 30 nm. Pri pripravi moramo biti natančni in potrpežljivi. Pomembno je, da tekoči polimer dobro omoči kalup, strjen pa se preprosto loči od podlage.

Polimerni PDMS najprej pripravimo tako, da zmešamo monomere PDMS in polimerizacijsko sredstvo [13, 14]. Pri mešanju nastane veliko mehurčkov, ki jih odstranimo tako, da mešanico za uro ali dve postavimo v eksikator in izčrpavamo zrak. Tlak v eksikatorju mora biti ravno pravšen, da mehurčki počasi zapuščajo mešanico in pokajo na površini.

Ko izženemo skoraj vse mehurčke, tekoči PDMS vlivamo v kalup (slika 5). Vlivamo počasi in tik nad kalupom, da nastane čim manj novih mehurčkov. Tanke plasti PDMS enakomerno porazdelimo z vrtenjem. Debelino nanosa uravnavamo s frekvenco vrtenja. Debelejše plasti dobimo tako, da nalijemo natančno določeno količino tekočega PDMS. Po potrebi vse skupaj za nekaj minut znova postavimo v eksikator, da izženemo novo nastale mehurčke. Sledi toplotna polimerizacija. Odvisno od podrobnosti postopka traja od pol ure do 8 ur pri temperaturah do 130 ºC.

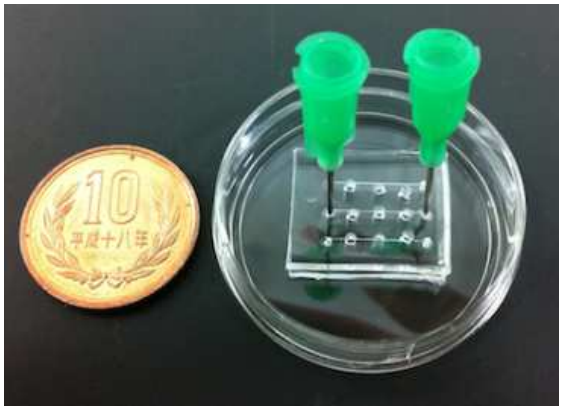
Polimerizirani PDMS na kalupu ohladimo in ga z ostrim nožem zelo previdno odluščimo od kalupa. Pazimo, da z dotiki ne kontaminiramo površine, ki je bila v stiku s kalupom. V tako pripravljeni model naredimo luknjice z ostro votlo iglo in tanko paličico, s katero odstranimo

odvečni polimer. Nato model začasno prelepimo z lepilnim trakom. Ko ga bomo odstranili, bomo z njim odnesli tudi majhne nečistoče in ostanke PDMS, ki so nastali pri luknjanju.



Slika 5. Mikromodeliranje. a) Tekoči PDMS polimer nalijemo na kalup iz fotorezista; b) strjevanje; c) mehki model [15].

Nazadnje na model pritrdimo krovno stekelce s pomočjo žarenja v plazmi. Stekelce najprej temeljito očistimo in osušimo. Z mehkega modela odstranimo lepilni trak, nato pa model in očiščeno stekelce postavimo v visokoenergijsko plazmo tako, da sta površini, ki ju želimo spojiti, prosti in izpostavljeni plazmi. Postopek traja nekaj minut - plazma odtrga del elektronov na površini, zato postaneta obe površini hidrofilni. Po koncu aktivacije v plazmi moramo delati zelo hitro, da površini na zraku ne izgubita hidrofilnega značaja. Na podlago postavimo stekelce z aktivirano površino obrnjeno navzgor in nanjo pritisnemo aktivirano površino PDMS. Površini se privlačita in kemijsko povežeta v nekaj minutah. Preden dobljeno mikrofluidično napravo napolnimo z destilirano vodo, vstavimo še vhodne in izhodne cevčice. Ker so notranje površine še hidrofilne, se voda hitro razleze po vseh kanalčkih. Slika 6 prikazuje primer končnega izdelka.



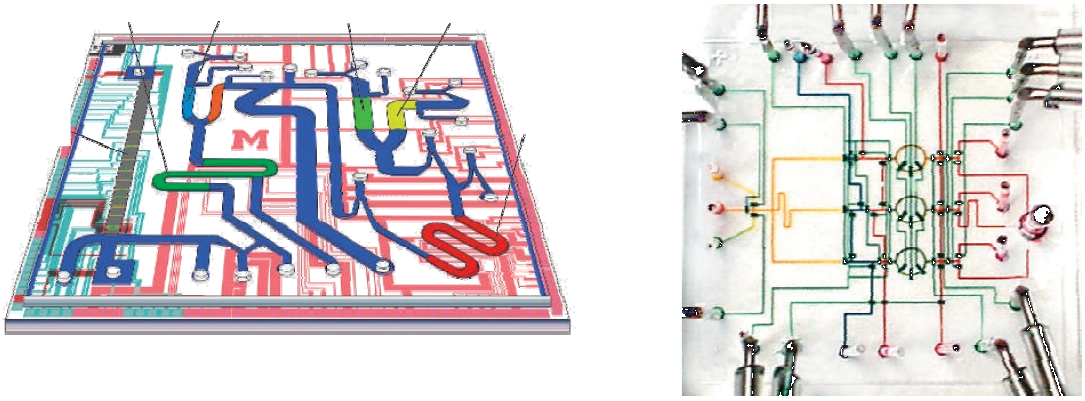
Slika 6. Primer mikrofluidične naprave iz PDMS [16].

Pogosto naredimo dva mehka modela, spodnjega in zgornjega [10]. Običajno je zgornji del debelejši (3 - 7 mm), zato ga takoj po izdelavi izluščimo iz kalupa in pritrdimo na tanjši spodnji model. Ker se po izluščenju model nekoliko skrči, naredimo zgornji model nekoliko večji od spodnjega. Pomemben je dober spoj obeh modelov, da ne razpadeta, ko je med delovanjem v kanalčkih tekočina pod tlakom. Spajanje dosežemo s segrevanjem. Najprej segrevamo približno 1 uro pri temperaturi okoli 80 ºC, da se strukturi rahlo spojita. V naslednjih 30 minutah ju lahko natančno naravnamo in napravimo luknjice. Nato pečemo pri isti temperaturi še 2 do 4 ure, da se funkcionalne skupine obeh delov povežejo s kovalentnimi vezmi. Drugi način spajanja je zopet z uporabo plazme, pri čemer damo med aktivirani površini kapljico metanola. Metanol deluje kot mazivo in olajša natančno poravnavanje obeh delov, hkrati pa preprečuje prehitro deaktivacijo površin in tako podaljša razpoložljivi čas za

sestavljanje površin. Ko sta površini dobro naravnani, napravo segrejemo, da izženemo metanol in povzročimo kemijsko vezavo med obema površinama.

4 PRIMERI MIKROFLUIDIČNIH VEZIJ

Eden od ciljev mikrofluidike je izdelati mikročip, t.i. laboratorij na čipu (slika 7). Ta ima veliko količino komponent, od katerih vsaka opravlja svojo nalogo. Pasivne komponente so prazni kanalčki, komore in druge topografske strukture [17]. Aktivne komponente, ki jih je v splošnem teže izdelati, so ventili, črpalke, senzorji. Komponente morajo delati sinhronizirano, saj vsi deli obdelujejo identičen kemijski vzorec. Zaradi majhne velikosti mikročipa je takšen način obdelave cenejši in hitrejši, obenem pa zmanjšuje nevarnost izgube ali kontaminacije vzorca. Proces analize lahko povsem avtomatiziramo in s tem zmanjšamo možnost (človeških) napak. Take mikročipe je mogoče uporabljati za kontinuirane meritve in za meritve na slabo dostopnih mestih. Izdelanih je že nekaj takih naprav, za širšo uporabo pa je potrebno rešiti še precej tehničnih problemov. Slika 8a prikazuje čip podjetja Agilent, velikosti nekaj centimetrov, ki v 10 minutah identificira določeno genetsko sekvenco v približno mikrolitru raztopine DNK [1].



a) b)

Slika 7. Laboratorij na čipu [18]. a) Shema vezja za genetsko analizo; b) čip za ekstrakcijo in čiščenje DNK.

a) b)

Slika 8. a) Laboratorij na čipu za določanje sekvenc DNK [19]. b) Merilnik sladkorja v krvi [20].

Preproste mikrofluidične naprave se danes že množično uporabljajo za merjenje sladkorja v krvi (slika 8b) [21]. Majhno kapljico krvi iz prsta nanesemo na merilni listič. Kapilarne sile povlečejo kri v detektor, kjer reagira z encimi na lističu. V uporabi sta dva osnovna principa delovanja: pri fotometričnih detektorjih serija kemijskih reakcij povzroči spremembo barve vzorca, pri elektrokemičnih pa povzroči električni tok. V obeh primerih jakost reakcije kaže na koncentracijo glukoze v krvi. Rezultat odčitamo na zaslonu že po približno minuti. Lističi so relativno poceni, zanesljivost pa je boljša od 20%, zato jih bolniki večkrat na dan uporabljajo doma.

5 ZAKLJUČEK

Podobno kot pri elektroniki tudi na področju tekočinskih tokov težimo k minituarizaciji. Medtem ko je mikroelektronika že zelo razvita in široko uporabljana panoga, je mikrofludika šele na začetku razvoja.

Tok tekočine na mikrometrskem in makrometrskem nivoju sicer opišemo z isto Navier-Stokesovo enačbo, vendar se pri prehodu iz makrotokov na mikrotokove zelo spremenijo razmerja posameznih fizikalnih parametrov, zato se tokovi močno razlikujejo. Vrsto toka običajno opišemo z brezdimenzijskimi števili. Reynoldsovo število je za mikrotokove zelo majhno, kar pomeni, da je tok praktično vedno laminaren. Pecletovo število izraža razmerje med pomembnostjo konvekcije in difuzije. Različne tehnike za zaznavanje in ločevanje snovi v toku izkoriščajo razmere s srednje velikimi Pecletovimi števili, pri katerih je pomembna razlika v hitrosti difuzije različnih delcev v raztopini. Na mikrometrskem nivoju je izjemno pomembna površinska napetost, saj je razmerje med površino in prostornino tekočine zelo veliko. Tudi pri mikrotokovih tekočina ob steni kapilare približno miruje, zato je za poganjanje toka po zelo ozkih kapilarah potrebna relativno velika tlačna razlika.

Z mikrofludičnimi napravami želimo vzporedno izvajati veliko število eksperimentov, podobno kot z elektronskimi računalniki izvajamo veliko število računskih operacij. Za medicinske, forenzične, kemične in farmacevtske analize lahko mikrofluidične naprave uporabljamo na mestu samem in ne v oddaljenem laboratoriju, zato so postopki cenejši, hitrejši in zmanjšujejo možnost zamenjave vzorcev. Ker so naprave majhne, so dokaj poceni in jih lahko po uporabi zavržemo ter s tem preprečimo možnost kontaminacije s prejšnjim vzorcem. Pri izdelavi mikronaprav obstaja še precej nerešenih tehnoloških problemov, zato si v prihodnje obetamo še velik razvoj.

V seminarju so opisane tudi osnove mehke litografije oziroma izdelave struktur za mikrofluidična vezja iz organskih polimerov. S fotolitografijo najprej izdelamo kalup iz kovine ali fotorezista, ki ga lahko uporabimo za pripravo velikega števila mehkih odlitkov. Na kalup enakomerno nalijemo tekoči polimer, temu sledi segrevanje, med katerim se polimer strdi. Ohlajeni polimer odluščimo od kalupa, vanj izvrtamo luknjice in ga pokrijemo s krovnim stekelcem ali drugim mehkim odlitkom. Pomembna je dobra povezava stičnih površin, ki zagotavlja močno tesnjenje končnega vezja, kar običajno dosežemo z žarenjem v plazmi in segrevanjem. Pripravljene strukture so relativno poceni, obenem pa so mehansko, termično in kemijsko odporne ter zato primerne za širok spekter uporabe.

LITERATURA

[1] P. Tabeling, *Introduction to Microfluidics,* (Oxford University Press, 2005).

[2] S. Ghosal, Northwestern University, Pridobljeno 17. 5. 2012, iz http://ghosal.mech.northwestern.edu/ghosal_encycl_microfluidics.pdf

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

[4] M. Humar, *Mehka litografija,* Seminar iz fizike 2005/2006, FMF, Ljubljana.

[5] I. Kuščer in A. Kodre, Matematika v fiziki in tehniki, (DMFA, Ljubljana, 2006).

[6] T. M. Squires, S. R. Quarke, *Reviews of modern physics* **77**, 977 (2005).

[7] V. Slapar, *Microfluidics,* Seminar iz fizike 2007/2008, FMF, Ljubljana.

[8] J. Strnad, *Fizika* - 1. *del, Mehanika, toplota,* (DMFA, Ljubljana, 2011).

[9] A. Agrawal, *Fundamentals of Surface Tension/Wettability*, Pridobljeno 10. 11. 2012, iz http://web.mit.edu/nnf/education/wettability/gravity.html

[10] R. V. van Dam, *Solvent-Resistant Elastomeric Microfluidic Devices and Applications,* Thesis, (California Institute of Technology, Pasadena, 2006).

[11] A. Potočnik, *Eksperimenti z umetnimi migetalkami,* Diplomsko delo, (FMF, Ljubljana, 2008).

[12] Tufts School of Engineering, *SU-8 Photoresist Processing*, Pridobljeno 24. 11. 2012, iz http://engineering.tufts.edu/microfab/index_files/SOP/SU-8%20Processing.pdf

[13] E. Lam, T. Ngo, *Manufacturing a PDMS microfluidic device via a Silicon Wafer Master*, Pridobljeno 10. 11. 2012, iz .http://ocw.mit.edu/courses/health-sciences-and-technology/hst-410j-projects-in-microscale-engineering-for-the-life-sciences-spring-2007/labs/manuf_pdms.pdf

[14] B. Kavčič, D. Babič in I. Poberaj, *Mikrofluidično vezje z mikročrpalko,* Obzornik za matematiko in fiziko **56** (1), 16 (2009).

[15] M. Uplaznik, *Introduction to nanotechnology – soft lithography,* Seminar iz fizike 2001/2002, FMF, Ljubljana.

[16] Kyoto University, Pridobljeno 24. 11. 2012, iz http://www.chen.icems.kyoto-u.ac.jp/

[17] D. Babič, *Mikrofluidika – na poti do nanotehnologije*, Pridobljeno 14. 5. 2012, iz http://videolectures.net/5nanodan2010_babic_mpn/

[18] J. El-Ali, P.K. Sorger in K. F. Jensen, *Cells on chips*, Nature **442**, 403 (2006).

[19] Agilent Technologies, *Lab-on-a-Chip*, Pridobljeno 11. 11. 2012, iz http://www.chem.agilent.com/cag/feature/10-00/feature.html

[20] Health Aid India, *Equipments to Measure Blood Sugar Level*, Pridobljeno 11. 11. 2012, iz http://www.healthaidindia.com/diabetes-care-in-india/equipments-to-measure-blood-sugar-level.html

[21] M. Lingohr-Smith, *How Does a Blood Glucose Monitor Work?*, Pridobljeno 11. 11. 2012, iz http://www.livestrong.com/article/247583-how-does-a-blood-glucose-monitor-work/