



UNIVERZA V MARIBORU  
FAKULTETA ZA NARAVOSLOVJE IN MATEMATIKO  
Oddelek za fiziko

Rok Štanc

**KAPLJIČNA MIKROFLUIDIKA ZA  
PRIPRAVO OLJNIH IN  
TEKOČEKRISTALNIH EMULZIJ V  
VODI**

Magistrsko delo

Maribor, junij 2020





UNIVERZA V MARIBORU  
FAKULTETA ZA NARAVOSLOVJE IN MATEMATIKO  
Oddelek za fiziko

**KAPLJIČNA MIKROFLUIDIKA ZA  
PRIPRAVO OLJNIH IN TEKOČEKRISTALNIH  
EMULZIJ V VODI**

Magistrsko delo

Mentor:  
doc. dr. Uroš Tkalec

Kandidat:  
Rok Štanc

Maribor, junij 2020



# Zahvala

*Iskreno bi se rad zahvalil svojemu mentorju doc. dr. Urošu Tkalcu za vso pomoč in potrpežljivost v času nastajanja magistrskega dela ter za zelo dobro vodenje tako pri eksperimentalnem delu kot pri pisanju naloge.*

*Zahvaljujem se tudi kolektivu Inštituta za biofiziko na Medicinski fakulteti v Ljubljani za nasvete ter možnost uporabe laboratorija in laboratorijske opreme za kapljično mikrofluidiko.*

*Prav tako bi se rad iskreno zahvalil domačim za vso podporo, spodbudo in razumevanje v času študija in med nastajanjem tega dela.*

*Zahvala gre tudi vsem prijateljem, ki so mi ves čas stali ob strani.*

*Hvala!*



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT



Univerza v Ljubljani  
*Medicinska* fakulteta



Fakulteta za naravoslovje  
in matematiko

Eksperimentalno delo je bilo sofinancirano iz raziskovalnega programa ARRS P1-0055: Biofizika polimerov, membran, gelov, koloidov in celic. Eksperimentalna oprema je bila nabavljena v okviru projekta “Naravoslovni izobraževalni center za trajnostni razvoj (SI0039-GAN-00087-E-V1 - Norwegian Financial Mechanism), nacionalnega razpisa za nakup raziskovalne opreme “Paket 14” iz leta 2010 (Optična pinceta z modulom za fluorescenco), “Paket 17” iz leta 2018 (Sistem za pripravo in vizualizacijo kapljične mikrofluidike) in sporazuma med Univerzo v Mariboru in Max-Planck-Institute for Dynamics and Self-Organization v Göttingenu iz leta 2012.



# Štanc R.: Kapljična mikrofluidika za pripravo oljnih in tekočerkristalnih emulzij v vodi

Magistrsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za fiziko, 2020

## IZVLEČEK

V magistrskem delu je predstavljeno tvorjenje stabilnih oljnih in tekočerkristalnih kapljic v vodi z metodo kapljične mikrofluidike. Delo je sestavljeno iz teoretičnega opisa kapilarnih čipov, režimov tvorjenja kapljic in osnov tekočih kristalov, predstavitev eksperimentalnih metod, uporabljenih materialov, raziskovalne opreme, postopkov izdelave mikrofluidičnih čipov in rezultatov eksperimentov. Preizkusil sem različne načine tvorjenja kapljic s čipom z zbiralno kapilaro in s čipom z injekcijsko in zbiralno kapilaro, pri čemer sem se osredotočil na vplive premerov kapilar, viskoznosti in dinamike tokov uporabljenih kapljevin na velikost nastalih kapljic. Izpopolnil sem se v izdelavi različnih geometrij kapilarnih čipov, pripravi mikroemulzij s površinsko aktivnimi snovmi in analizi optičnih posnetkov dobljenih kapljic. Primerjal sem tudi učinkovitost dveh naprav za poganjanje in kontrolo tokov tekočin v mikrofluidičnem okolju ter izpostavil nekaj prednosti piezokontrolerja tlaka v primerjavi s tlačno črpalko. Ugotovil sem, da čip z injekcijsko in zbiralno kapilaro omogoča najbolj predvidljivo in zanesljivo tvorjenje obstojnih kapljic iz različno viskoznih silikonskih olj v vodi, saj sem z njim uspel tvoriti kapljice s premeri od 20 do 250 mikrometrov in s frekvenco nastajanja med 30 in 3500 herci. Režim kapljanja oziroma curljanja sem okarakteriziral z brezdimenzijskimi števili, dimenzijami odprtin kapilar, viskoznostjo in razmerjem pretokov uporabljenih kapljevin. Pokazal sem, da je monodisperznost kapljic močno odvisna od premera injekcijske kapilare in je najvišja v režimu kapljanja, medtem ko režim curljanja omogoča bistveno hitrejše tvorjenje manjših, a bolj polidisperznih kapljic. V zadnjem sklopu raziskav sem se posvetil kontroliranemu sproščanju vodnih mikrokapljič z barvilom iz večjih tekočerkristalnih kapljic. To sem dosegel z lokalnim segrevanjem kapljic z optično pinceto čez temperaturo prehoda nematskega tekočega kristala v izotropno fazo in z dodajanjem različnih koncentracij kationskega surfaktanta v okoliški vodni medij. Ugotovil sem, da ustrezna toplotna oziroma kemična stimulacija napolnjenih kapljic tekočega kristala omogoča kontrolirano in pospešeno sproščanje enkapsulirane vsebine v okolico. Predstavljena dognanja so zanimiva za uporabo v farmaciji in v raziskavah na področju fizike mehke snovi ter za nadaljnji razvoj metod kapljične mikrofluidike z oljem podobnimi materiali.

**Ključne besede:** mikrofluidika, kapljice, optična mikroskopija, tekoči kristali.

# Štanc R.: Droplet microfluidics for the production of oil and liquid crystal emulsions in water

Master's Thesis, University of Maribor, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Department of Physics, 2020

## ABSTRACT

The master's thesis presents the formation of stable oil and liquid crystal droplets in water, obtained by droplet microfluidics. The work consists of a theoretical description of capillary microfluidic chips, droplet formation, and basics of liquid crystals, followed by a presentation of experimental methods, materials, research equipment, chip fabrication and experimental results. I tested different formations of droplets with two capillary chip geometries, by focusing on the effects of capillary diameters, viscosity, and flow dynamics of applied liquids that greatly influence the size of the resulting droplets. I developed my skills in microfluidic chip fabrication, preparation of microemulsions, and analysis of optical micrographs. I also discussed the efficiency of two devices for driving and controlling the fluid flows in a microfluidic environment and highlighted some advantages of a piezoelectric pressure controller in comparison with syringe pumps. I found that the chip with injection and collection capillary allows the most predictable and reliable formation of silicone oil droplets in water, as I was able to form droplets with diameters from 20 to 250 micrometers and with a frequency between 30 and 3500 hertz. I characterized the dripping and the jetting regime with dimensionless numbers, dimensions of capillary openings, viscosity and flow ratio of used liquids. I have shown that the monodispersity of droplets strongly depends on the diameter of the injection capillary and that it is highest in the dripping regime, while the jetting regime allows for significantly faster formation of smaller but more polydisperse droplets. In the last set of experiments, I focused on the controlled release of aqueous microdroplets with a dye from larger liquid crystal droplets. I achieved this by locally heating the liquid crystal droplets with optical tweezers over the nematic-to-isotropic transition temperature, and by adding different concentrations of cationic surfactant to the surrounding aqueous medium. I found that appropriate thermal or chemical stimulation of filled liquid crystal droplets enables controlled and accelerated release of encapsulated contents into the environment. The presented findings are of interest for use in pharmacy and soft matter physics, as well as for further development of methods of droplet microfluidics with oil-like materials.

**Keywords:** microfluidics, droplets, optical microscopy, liquid crystals.



UNIVERZA V MARIBORU  
FAKULTETA ZA NARAVOSLOVJE IN MATEMATIKO

**IZJAVA O AVTORSTVU IN ISTOVETNOSTI TISKANE IN ELEKTRONSKE OBLIKE ZAKLJUČNEGA DELA**

Ime in priimek študent-a/-ke: Rok Štanc \_\_\_\_\_

Študijski program: FIZIKA \_\_\_\_\_

Naslov zaključnega dela: Kapljična mikrofluidika za pripravo oljnih in tekočerkristalnih emulzij v vodi  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Mentor: doc. dr. Uroš Tkalec \_\_\_\_\_

Somentor: \_\_\_\_\_

Podpisan-i/-a študent/-ka Rok Štanc \_\_\_\_\_

- izjavljam, da je zaključno delo rezultat mojega samostojnega dela, ki sem ga izdelal/-a ob pomoči mentor-ja/-ice oz. somentor-ja/-ice;
- izjavljam, da sem pridobil/-a vsa potrebna soglasja za uporabo podatkov in avtorskih del v zaključnem delu in jih v zaključnem delu jasno in ustrezno označil/-a;
- na Univerzo v Mariboru neodplačno, neizključno, prostorsko in časovno neomejeno prenašam pravico shranitve avtorskega dela v elektronski obliki, pravico reproduciranja ter pravico ponuditi zaključno delo javnosti na svetovnem spletu preko DKUM; sem seznanjen/-a, da bodo dela deponirana/objavljena v DKUM dostopna široki javnosti pod pogoji licence Creative Commons BY-NC-ND, kar vključuje tudi avtomatizirano indeksiranje preko spleta in obdelavo besedil za potrebe tekstovnega in podatkovnega rudarjenja in ekstrakcije znanja iz vsebin; uporabnikom se dovoli reproduciranje brez predelave avtorskega dela, distribuiranje, dajanje v najem in priobčitev javnosti samega izvirnega avtorskega dela, in sicer pod pogojem, da navedejo avtorja in da ne gre za komercialno uporabo;
- dovoljujem objavo svojih osebnih podatkov, ki so navedeni v zaključnem delu in tej izjavi, skupaj z objavo zaključnega dela;
- izjavljam, da je tiskana oblika zaključnega dela istovetna elektronski obliki zaključnega dela, ki sem jo oddal/-a za objavo v DKUM.

Uveljavljam permissivnejšo obliko licence Creative Commons: \_\_\_\_\_ (navedite obliko)  
\_\_\_\_\_

Datum in kraj: 15. 6. 2020, Maribor

Podpis študent-a/-ke:





# Kazalo

<b>1</b>	<b>Uvod</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Kapljična mikrofluidika</b>	<b>5</b>
2.1	Fizikalne lastnosti tokov v mikrokanalčkih . . . . .	6
2.2	Brezdimenzijska števila . . . . .	9
2.3	Kapilarni čipi in režimi tvorjenja kapljic . . . . .	10
2.3.1	Sočasni tok . . . . .	11
2.3.2	Fokusiranje toka . . . . .	12
2.3.3	Kapljanje in curljanje . . . . .	14
2.3.4	Vpliv surfaktantov na tvorjenje kapljic . . . . .	18
<b>3</b>	<b>Tekoči kristali</b>	<b>19</b>
3.1	Ureditveni parameter . . . . .	19
3.2	Površinsko sidranje . . . . .	21
3.3	Topološki defekti v tekočokristalnih kapljicah in lupinah . . . . .	22
<b>4</b>	<b>Eksperimentalne metode</b>	<b>27</b>
4.1	Uporabljeni materiali . . . . .	27
4.1.1	Silikonsko olje . . . . .	27
4.1.2	Tekoči kristal 5CB . . . . .	28
4.1.3	Hidrofilni in hidrofobni silan . . . . .	28
4.1.4	Surfaktanti - površinsko aktivne snovi . . . . .	29
4.1.5	Objektna stekla in steklene kapilare . . . . .	32
4.2	Eksperimentalna oprema . . . . .	32
4.2.1	Obdelava in tanjšanje kapilar . . . . .	32
4.2.2	Krajšanje konic kapilar . . . . .	35
4.2.3	Hitra kamera . . . . .	36
4.2.4	Tlačna črpalka . . . . .	37
4.2.5	Piezokontroler tlaka . . . . .	38
4.2.6	Polarizacijski optični mikroskop . . . . .	39
4.2.7	Optična pinceta . . . . .	40

## KAZALO

---

4.3	Izdelava mikrofluidičnih čipov . . . . .	41
4.3.1	Čip z zbiralno kapilaro . . . . .	41
4.3.2	Čip z injekcijsko in zbiralno kapilaro . . . . .	44
4.3.3	Priprava na eksperiment . . . . .	45
4.4	Priprava mešanice 5CB in vodne raztopine SDS z barvilom . . . . .	47
4.5	Analiza mikroskopskih slik in posnetkov . . . . .	48
<b>5</b>	<b>Rezultati</b>	<b>51</b>
5.1	Tvorjenje kapljic s čipom z zbiralno kapilaro . . . . .	51
5.2	Tvorjenje kapljic s čipom z injekcijsko in zbiralno kapilaro . . . . .	57
5.3	Primerjava tvorjenja kapljic z obema čipoma . . . . .	67
5.4	Sproščanje vodnih mikrokapljič z barvilom iz tekočerkristalnih kapljic . . . . .	69
5.5	Dvojne emulzije . . . . .	77
<b>6</b>	<b>Zaključek</b>	<b>81</b>
	<b>Literatura</b>	<b>85</b>

# Poglavje 1

## Uvod

Mikrofluidika se ukvarja s pretakanjem tekočin po mikrokanalčkih z dimenzijami od nekaj deset do nekaj sto mikrometrov. Količina tekočin, ki jo manipuliramo v takšnih kanalčkih, je posledično zelo majhna, v območju nanolitrov in manj [1–3]. Prve raziskave s tako majhnimi količinami tekočin so izvedli v petdesetih letih prejšnjega stoletja, ko so nastajale osnove *ink-jet* tehnologije, ki se uporablja v tiskalnikih. Dejansko pretakanje tekočin po mikrokanalčkih oziroma prvem t.i. *laboratoriju na čipu* so izvedli leta 1979 na Stanfordski univerzi, ko so uspeli pomanjšati postopek plinske kromatografije v mikrokanalčke na silikonskem čipu [4]. Nadalje se je mikrofluidika izkazala za uporabno v analizi kemiji, ko so Manz in sodelavci pokazali, da se dá narediti *popolni analizni sistem* (TAS) z mikrokanalčki [5]. Majhna poraba vzorcev in reagentov, hitra analiza ter detekcija z visoko ločljivostjo je bila obetavna napoved za nadaljnji razvoj [6]. Te metode so postale uporabne tudi v mikroanalizah na področju molekularne biologije, predvsem v sekvencioniranju genomske DNK, kjer so s kapilarno gelsko elektroforezo pohitrili postopek analize, hkrati pa izboljšali njeno ločljivost [7]. Dandanes je mikrofluidika postala nepogrešljiva v farmaciji pri razvoju zdravil [8] in v bioloških študijah pri separaciji proteinov in manipulaciji celic [9].

Ena izmed vej mikrofluidike se ukvarja z manipulacijo tokov dveh ali več nemešljivih tekočin v mikrofluidičnih napravah. Na tak način lahko pripravimo emulzije, pri katerih je ena tekočina dispergirana v drugi v obliki mehurčkov, ko se plin dispergira v kapljevini, ali kapljic, kadar izberemo sistem dveh kapljevini [10–12]. Tako dispergirane kapljice v drugi kapljevini tvorijo emulzije *vode v olju* ali emulzije *olja v vodi*. Kadar se olje dispergira v vodi, to predstavlja notranjo fazo (kapljice), voda, ki oljne kapljice obdaja, pa zunanjo fazo. V tem primeru govorimo o enojni emulziji. Poznamo pa tudi dvojne in kompleksnejše emulzije višjih redov. Primer dvojne emulzije je vodna kapljica, ujeta znotraj oljne kapljice v zunanji vodni fazi. Tvorjenje takšnih emulzij omogoča natančno enkapsulacijo in sproščanje različnih materialov.

Stabilnost emulzij dosežemo z dodajanjem surfaktantov, katerih molekule se vežejo na površino kapljic in jih stabilizirajo, hkrati pa preprečijo njihovo združevanje. Enojne emulzije, ki so osrednja tema raziskovanja v magistrskem delu, so v obliki mikrokapsul ali mikrodelcev, ujetih v monodisperznih kapljicah [13–15], uporabne v kozmetični, farmacevtski in prehrambeni industriji. Poleg aplikativnih področij je kapljična mikrofluidika pomembna tudi v bazičnih raziskavah. Tekočekristalne kapljice in lupine omogočajo proučevanje konfiguracij topoloških defektov tekočega kristala v sferični geometriji [16–19], v primeru tekočekristalne kapljice v toku pa se pojavijo tudi premiki topoloških defektov [20]. Po drugi strani samo plavajoče kapljice, ki se zaradi Marangonijevega efekta samostojno premikajo po kapljevini, kažejo podobno kolektivno dinamiko kot različni mikroorganizmi [21, 22].

Za pripravo enojnih ali dvojnih emulzij sta najbolj uveljavljeni metodi priprave kapljic s čipi iz polidimetilsiloksana (PDMS) oziroma s kapilarnimi čipi iz stekla. Pri PDMS čipih se s postopki mehke litografije naredi odlitek PDMS elastomera, ki se nato zalepi na objektno steklo. Izdelava takšnega čipa je relativno enostavna, poceni in hitra, kanalčki so majhnih dimenzij (reda nekaj deset mikrometrov) in skoraj poljubnih ravninskih oblik [23]. Osnovni kapilarni čip je po drugi strani sestavljen zgolj iz objektnega stekla, na katerega je pritrjena steklena kvadratna kapilara, v katero je vstavljena okrogla kapilara z zoženim koncem in željenim premerom. Ta predstavlja odprtino injekcijske ali zbiralne kapilare, odvisno od tipa čipa. Steklo je v primerjavi s PDMS elastomerom inertno na večino kislin, topil in drugih agresivnih kemikalij, medtem ko je PDMS elastomer neodporen na veliko organskih topil [24]. To pa ni edina prednost steklenih kapilar. Površino le-teh lahko posamično obdelamo, v kolikor želimo, da je površina ene kapilare hidrofilna, površina druge pa hidrofobna [25], kar omogoča tvorjenje emulzij višjih redov. V kanalčkih PDMS čipa je to težko ali skorajda nemogoče doseči. PDMS je sam po sebi hidrofoben [26], celotno površino je s plazemsko oksidacijo sicer možno obdelati tako, da je hidrofilna [23], obdelava posameznih krakov kanalčka pa ni mogoča. Slabost kapilarnih čipov je njihova sestava. Ta namreč v primerjavi s PDMS čipi vzame nekoliko več časa, poleg tega pa je potrebno vsak čip sestaviti od začetka do konca vedno znova. So pa čipi zato bolj robustni, za njihovo pripravo ni nujno potrebna *čista soba*, njihova življenska doba pa z ustreznim čiščenjem traja več tednov, kar je bistveno dlje kot pri PDMS čipih.

Kapljična mikrofluidika je v zadnjem desetletju postala zelo zanimiva in širše uporabna ravno zaradi enostavnosti in dobre prilagodljivosti za potrebe eksperimentov in aplikacij, predvsem pa zaradi precizne kontrole prostornine, inertnosti stekla na večino topil ter raznovrstne obdelave površin, kar omogoča tvorjenje monodisperznih emulzij in hitrejšo produkcijo le-teh. Kljub že znanim metodam izdelovanja čipov in pripravi različnih emulzij, ponuja kapljična mikrofluidika še vedno ogromno

---

možnosti za raziskovanje tako geometrije čipov kot emulzij, predvsem za aplikativne namene, kjer je monodisperznost kapljic in hitrost produkcije ključnega pomena. S proučitvijo uporabe različnih čipov in s pripravo enojnih emulzij želim v magistrski nalogi izpostaviti prednosti, slabosti in morebitne omejitve različnih geometrij čipov, ter podati celostno sliko načina tvorjenja določenih velikosti kapljic z različnimi čipi.

V začetku magistrske naloge predstavim teoretične osnove, ki so ključne za razumevanje in potek eksperimentov. Najprej je obravnavana kapljična mikrofluidika (Poglavje 2), kjer predstavim pretakanje kapljev in v mikrokanalčkih, brezdimenzijska števila in različne vrste kapilarnih čipov za tvorjenje kapljic. V nadaljevanju teoretičnega dela predstavim tekoče kristale (Poglavje 3). Na kratko opišem osnovne lastnosti tekočih kristalov, površinsko sidranje molekul in konfiguracije topoloških defektov v tekočerkristalnih kapljicah in lupinah. V poglavju z eksperimentalnimi metodami (Poglavje 4) opišem vse materiale in eksperimentalno opremo, ki sem jih uporabljal pri eksperimentih. Hkrati podrobno predstavim izdelavo dveh tipov mikrofluidičnih kapilarnih čipov in pripravo mešanice tekočega kristala z dispergiranimi vodnimi kapljicami, ki sem jo uporabljal. Opišem še analizo mikroskopskih posnetkov s programom za obdelavo slik. V predzadnjem poglavju (Poglavje 5) so podani rezultati eksperimentalnega dela. Najprej predstavim tvorjenje različno velikih stabilnih kapljic z dvema različnima geometrijama mikrofluidičnih čipov, s silikonskim oljem z različnimi viskoznostmi in tekočim kristalom 5CB. Za pretakanje tokov po mikrofluidičnih čipih sem uporabljal tako tlačno črpalko kot piezokontroler tlaka, zato primerjam oba pristopa in izpostavim prednosti enega oziroma drugega. Prav tako primerjam način tvorjenja kapljic z obema mikrofluidičnima čipoma, za nastale kapljice v različnih režimih tvorjenja pa primerjam porazdelitve po velikosti kapljic. Po analizi tvorjenja kapljic sledi predstavitev eksperimenta aplikativne narave. Z eksperimentom pokažem, kako se lahko majhne kapljice z barvilom, ki so enkapsulirane v večjo tekočerkristalno kapljico, med faznim prehodom sprostijo iz kapljice, ne da bi pri tem bistveno vplivale nanjo. S proučevanjem t.i. odzivnih emulzij s tekočim kristalom se ponujajo možnosti za ustvarjanje novih materialov, ki lahko spremenijo svoje lastnosti zaradi mehanskih, toplotnih ali kemičnih dražljajev [27]. V nedavni raziskavi [28] so pokazali sproščanje vodnih mikrokapljic z barvilom, dispergiranih v tekočem kristalu 5CB v okoliško kapljevino. Vodo z dodanim surfaktantom in barvilom so z vorteksiranjem in sonifikacijo dispergirali v tekočem kristalu, nato pa s segrevanjem in ohlajanjem čez temperaturo faznega prehoda tekočega kristala opazovali sproščanje mikrokapljic z barvilom v okoliško kapljevino. Pokazali so, da je masa sproščenega barvila linearno odvisna tako od števila faznih prehodov kot od začetne koncentracije vodnih mikrokapljic v tekočem kristalu, kar nakazuje visoko stopnjo kontrole procesa. Z eksperimentom pokažem podobno

sproščanje mikrokapljič iz tekočerkristalnih kapljic, pri tem pa uporabim bistveno manjšo prostornino tekočega kristala kot v opisanem primeru. Z lokalnim segrevanjem tekočerkristalne kapljice z optično pinceto pokažem, kako je sproščanje vodnih mikrokapljič odvisno od moči laserskega snopa in kolikšna količina mikrokapljič se sprostí pri različnih močeh in oblikah optične pasti. Nadalje obravnavam sproščanje mikrokapljič pri dodajanju različnih koncentracij surfaktanta DTAB in sproščanje mikrokapljič brez vsakršnega zunanega vpliva. Rezultati eksperimenta so zanimivi za uporabo v farmaciji, kjer bi lahko na podoben način v kapljico enkapsulirali določeno zdravilo, ki se sprostí pri določenih pogojih, sprožilec procesa pa je povišana temperatura. V zadnjem delu tega poglavja prikažem tvorjenje dvojnih emulzij v vodi. Dvojne emulzije pripravim tako s silikonskim oljem kot s tekočim kristalom in s tem predstavim še eno možnost uporabe kapljične mikrofluidike. V zaključku povzamem ključne ugotovitve in rezultate eksperimentalnega dela (Poglavje 6). Na koncu navedem še nekaj možnosti za nadaljnje raziskovanje.



## Poglavje 2

# Kapljična mikrofluidika

Kapljična mikrofluidika je kot podveja mikrofluidike v zadnjem času postala ena izmed najbolj, če ne najbolj proučevana in uporabljana veja mikrofluidike. Temelji na tvorjenju majhnih diskretnih prostornin dveh nemešljivih kapljev in znotraj mikrokanalčkov ali kapilar. Laminarni tokovi in majhna Reynoldsova števila, ki so značilna za tokove v tovrstnih kanalčkih omogočajo kontrolirano in precizno tvorjenje kapljic s prostorninami od femto- do nano-litrov. Tako majhne kapljice imajo ugodno razmerje med površino ( $A$ ) in prostornino ( $V$ ) (razmerje pada s polmerom  $r$ ,  $A/V = 3/r$ ), kar pomeni, da je prenos toplote in mase hiter, difuzijska razdalja pa kratka. Ta lastnost je še posebej pomembna pri tvorjenju in analiziranju mikroreaktorjev, v katerih reakcije zaradi tega potekajo hitro. Monodisperznost kapljic v tem primeru omogoča še kvantitativno analizo reakcij na večji skali [14]. Kapljice, ki jih lahko tvorimo z metodami kapljične mikrofluidike, so podobnih velikosti kot celice v človeškem telesu, kar odpira nove raziskovalne poti, tako na posamezni celici kot na skupinskem obnašanju celic [29]. Kontrolirano in ponovljivo tvorjenje mikrostruktur ter velika monodisperznost so privedli tudi do razvoja novih funkcionalnih materialov, ki bi jih bilo z drugimi pristopi težje narediti. Z uporabo specifičnih tekočin ali njihovih mešanic imajo lahko ti materiali posebne fizikalne ali kemične lastnosti, kot so optična in mehanska odzivnost, selektivna prepustnost ter odzivnost na različne dražljaje. Poleg zelo aplikativne enkapsulacije molekul in delcev v mikrokapsule se takšni materiali uporabljajo tudi za izboljševanje ali nadomeščanje bioloških tkiv. Kot senzorji se odlično obnesejo v navezi s tekočimi kristali, ki se hitro odzivajo na različne vplive iz okolice. Možnost uporabe v optičnih napravah na primer kažejo t.i. Janusove kapljice z dvema različno obarvanima hemisferama, ki se v prisotnosti električnega polja zaradi dispergiranih magnetnih nanodelcev obrnejo v smeri polja [30].

## 2.1 Fizikalne lastnosti tokov v mikrokanalčkih

Fizikalni pojavi so na mikroskali drugačni kot na makroskali, ki smo je navajeni v vsakdanjem življenju. Površinska napetost in sila, ki je z njo povezana, ni več zanemarljiva, viskozne sile začnejo prevladovati nad vztrajnostnimi, zato so tokovi laminarni. Difuzija je glavni mehanizem mešanja, razmerje med površino in prostornino pa izredno veliko [2].

Po mikrokanalčkih pretakamo tokove s tlačno razliko ali z vsiljevanjem pretoka na eni strani kanalčka. Pretok  $Q$  je podan z zvezo  $Q = \Delta p/U$ , kjer je  $\Delta p$  padec tlaka vzdolž kanalčka in  $U$  upornost kapljevine v kanalčku. Upornost laminarnega toka kapljevine z absolutno viskoznostjo  $\eta$  v okrogli kapilari s polmerom  $r$  in dolžino  $L$  je dobro poznana in določena z enačbo [31]:

$$U = \frac{8\eta L}{\pi r^4}. \quad (2.1)$$

Z upoštevanjem upornosti zapišemo še enačbo za padec tlaka, poznano tudi kot Poiseuillov zakon:

$$\Delta p = \frac{8\eta L Q}{\pi r^4}, \quad (2.2)$$

iz katere lahko razberemo, da sta padec tlaka in pretok premo sorazmerna, ko imamo geometrijo mikrofluidičnega kanalčka in kapljevino dobro definirano. Za primer 10 cm dolge kapilare s premerom 100  $\mu\text{m}$ , po kateri se pretaka voda s pretokom 10  $\mu\text{l/s}$ , dobimo padec tlaka 1400 Pa ali 14 mbar.

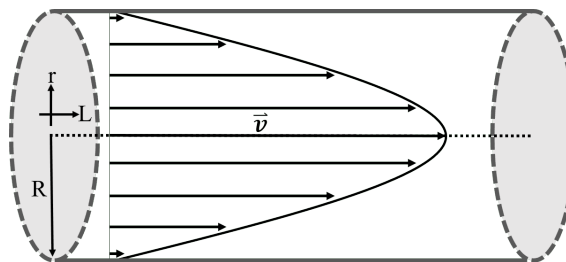
Hitrost kapljevine ni enaka po celotnem preseku kapilare. Zaradi viskoznosti in posledično medmolekularnih sil je na površini stene kapilare hitrost enaka nič in narašča do sredine cevi, kjer je največja. Tok je usmerjen vzdolž kapilare v smeri tlačnega gradienta. Prečno na kapilarno tlačnega gradienta ni. Med plastmi kapljevine v cevi delujejo strižne sile in za premagovanje teh je potrebna tlačna razlika. Iz strižnih sil, ki delujejo vzdolž preseka kapilare, lahko izračunamo hitrostni profil. Ob upoštevanju, da so strižne sile zaradi viskoznosti linearno povezane z gradientom hitrosti (Newtonske kapljevine,  $\tau = \eta \nabla \mathbf{v}$ ), se izkaže, da je hitrostni profil parabolične oblike (slika 2.1.1) in ga opišemo z enačbo [32]:

$$v(r) = \frac{\Delta p}{4\eta \Delta L} (R^2 - r^2), \quad (2.3)$$

kjer je  $R$  polmer kapilare in  $r$  odmik ( $0 < r < R$ ), pri katerem nas zanima hitrost. Z integracijo vzdolž premera kapilare lahko izračunamo še povprečno hitrost, ki je enaka polovici maksimalne hitrosti:

$$\bar{v} = \frac{\Delta R^2}{8\eta \Delta L}. \quad (2.4)$$

Če povprečno hitrost pomnožimo s ploščino preseka, dobimo Hagen-Poiseuillovo zvezo za pretok po kapilari, ki je izpeljanka enačbe (2.2).



Slika 2.1.1: Parabolični hitrostni profil laminarnega toka v okrogli kapilari. Hitrost pri stenah je enaka nič in največja vzdolž središčnice.

Kadar pride v mikrokanalčkih do zožitve, se hitrost pretoka poveča. Velja namreč zakon o ohranitvi mase ali kontinuitetna enačba, ki jo v splošnem zapišemo kot [33]:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{v}) = 0, \quad (2.5)$$

kjer je  $\partial \rho / \partial t$  parcialni odvod gostote po času in pride v poštev zgolj kadar imamo opravka s kapljevino s spremenljivo gostoto. V večini primerov obravnavamo nestisljivo kapljevino s konstantno gostoto, kontinuitetna enačba pa se v tem primeru poenostavi v:

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0. \quad (2.6)$$

Sile površinske napetosti so na mikroskali nezanemarljive in hkrati zelo pomembne. Pojavijo se na stiku dveh faz (npr. stik dveh nemešljivih kapljev) in so rezultat kohezijskih sil med molekulami na površini [32]. Za vzpostavitev fazne meje je potrebna energija. Meje so energijsko zelo potratne, zato vsak sistem teži k čim manjši površinski napetosti. Površinska napetost  $\gamma$  je definirana kot sila na enoto dolžine. Dolžina predstavlja razdaljo ( $L$ ) med površinama, med katerima *napnemo* kapljevino z določeno silo  $F$ :

$$\gamma = \frac{F}{2L}. \quad (2.7)$$

Polovica v enačbi nastopa zaradi dveh površin, saj vsaka prispeva svoj delež k sili. Kapilarni pojavi nastanejo zaradi površinske napetosti. Kapljevina se v kapilari s premerom  $r$  dvigne do višine  $h$  zaradi kapilarnega dviga. S kapilarnim dvigom je mogoče določiti površinsko napetost, saj lahko iz geomerije kapilare in kontaktnega kota  $\theta$  določimo površinsko napetost [33]:

$$\gamma = \frac{\rho g r h}{2 \cos \theta} \quad (2.8)$$

Zaradi energije, ki je na voljo zaradi površinske napetosti, se lahko voda po hidrofilnih mikrokanalčkih pretaka brez dodatnega zunanega tlaka. Tok se vzpostavi

preko privlačnosti med stenami kanalčka in vodo. V kapljični mikrofluidiki je površinska napetost pomembna pri stiku stekla s kapljevino (omočenost) in ob stiku dveh nemešljivih kapljev (npr. oljne kapljice v vodi). Omočenost je lastnost, ki nam pove, v kakšem stiku je kapljevina s trdno snovjo zaradi molekularnih interakcij na površini. Težnjo, kako se bo npr. kapljica vode na steklu razširila po ravni površini in jo s tem omočila, določa kontaktni kot. Večji kot je kontaktni kot, manj kapljevina omoči trdnino in obratno. Kontaktni kot torej določa hidrofobnost in hidrofilnost. Za kontaktne kote pod  $90^\circ$  pravimo, da je površina hidrofilna, nad  $90^\circ$  pa hidrofobna [34]. Z nanosom surfaktanta, npr. silana, na površino vplivamo na lastnost površine (hidrofobnost, hidrofilnost), kar je pomembno pri obdelavi steklenih kapilar in njihovi funkcionalnosti.

Površina napete kapljevine je brez delovanja zunanjih sil v smeri normale ravna. Ko pride do razlike tlakov, se površina kapljevine ukrivi. Kot primer lahko navedemo milni mehurček v zraku ali bližje obravnavani tematiki, kapljico olja v vodi. Sile površinske napetosti se upirajo razliki tlakov, površina pa se zato ukrivi. Ko so sile v ravnovesju, lahko razliko tlakov med zunanostjo in notranostjo kapljice zapišemo z Young-Laplacovo enačbo [32]:

$$\Delta p = \gamma \left( \frac{1}{R_x} + \frac{1}{R_y} \right), \quad (2.9)$$

kjer sta  $R_x$  in  $R_y$  polmera ukrivljenosti v smeri  $x$  in  $y$  osi. V primeru kapljic s polmerom  $R$ , ki so popolnoma sferične oblike ( $R_x = R_y$ ), se enačba (2.9) poenostavi v:

$$\Delta p = \frac{2\gamma}{R}. \quad (2.10)$$

Iz te enačbe lahko razberemo, da se razlika tlakov večja z zmanjševanjem polmera kapljice, kar pojasni združevanje majhnih kapljic v večje, saj so večje kapljice energijsko bolj ugodne. Če torej želimo dobiti manjše obstojne kapljice, moramo zmanjšati površinsko napetost. To dosežemo z dodajanjem površinsko aktivnih snovi.

Majhni zračni mehurčki, ki ostanejo ujeti v mikrofluidičnem čipu lahko predstavljajo precejšen problem. Zaradi majhnega polmera je potreben znaten tlak, da jih odstranimo. Ena izmed rešitev, kako preprečiti ali vsaj zagotoviti ujetje čim manjšega števila zračnih mehurčkov, je predhodno omočenje čipa s kapljevino, ki ima manjšo površinsko napetost kot voda. Če je kanalček predhodno omočen z alkoholom, voda pri polnjenju ni direktno izpostavljena zračnim mehurčkom, saj je med njo in zrakom plast alkohola, ki zniža površinsko napetost, s tem pa omogoči lažjo odstranitev zračnih mehurčkov skozi razne zožitve ali čez druge ovire [32].

## 2.2 Brezdimenzijska števila

Lastnosti kapljev in kot so viskoznost, površinska napetost in hitrost toka povzročajo delovanje različnih sil, ki med sabo tekmujejo in določajo lastnosti toka. Za opis relativnega razmerja med vztrajnostnimi, viskoznimi in kapilarnimi silami uporabljamo brezdimenzijska števila [2]. Razmerje med vztrajnostnimi in viskoznimi silami definira Reynoldsovo število ( $Re$ ):

$$Re = \frac{\rho v L_k}{\eta}, \quad (2.11)$$

kjer je  $v$  hitrost toka in  $L_k$  karakteristična dolžina. Karakteristična dolžina je odvisna od objekta, ki ga opazujemo. V primeru letala je to lahko dolžina ali širina, v primeru kapljice v nekem toku pa kar njen premer. Karakteristična dolžina v splošnem opiše značilno skalo, na kateri se dogajajo hidrodinamski pojavi.  $Re$  razlikuje med laminarnostjo oziroma turbolentnostjo toka. Kritična mejna vrednost je za različne oblike ograditve različna. Za tok po cevi ali kanalčku velja, da je za vrednosti  $Re < 2300$  tok laminaren [35]. Laminaren tok zagotavljajo predvsem majhna karakteristična dolžina in relativno majhne hitrosti v mikrokanačkih. Viskozne sile prevladujejo nad vztrajnostnimi, vrednosti  $Re$  pa se posledično gibljejo precej pod kritično vrednostjo, in sicer med  $10^{-6}$  in  $10$  [36].

Površinska napetost je pri nastajanju kapljic zelo pomembna. Zaradi velikega razmerja med površino in prostornino imajo kapilarni pojavi ključno vlogo. Razmerje med silami zaradi površinske napetosti in viskoznimi silami opisuje kapilarno število, ki je v kapljični mikrofluidiki najpomembnejše brezdimenzijsko število za opis nastajanja kapljic [32, 36]:

$$Ca = \frac{\eta v}{\gamma}. \quad (2.12)$$

Tipične vrednosti  $Ca$  se gibljejo med  $10^{-3}$  in  $10$ . Kapilarno število nam tudi pove kateri režim tvorjenja kapljic lahko pričakujemo pri določeni viskoznosti in hitrosti kapljevine. Dve nemešljivi kapljevini v mikrofluidičnem čipu nimata enakih lastnosti, zato lahko za vsako določimo svoje kapilarno število.

Podobno kot Reynoldsovo število poda razmerje vztrajnostnih in viskoznih sil, razmerje med vztrajnostjo in površinsko napetostjo opiše Webrovo število:

$$We = \frac{\rho v^2 L_k}{\gamma}. \quad (2.13)$$

Kljub temu, da so inercialne sile relativno majhne in skoraj zanemarljive, jih vseeno moramo upoštevati, saj določajo prehod med režimoma kapljanja in curljanja, ki sta obravnavana v razdelku 2.3. Tako površinska napetost kot vztrajnost kapljevine vplivata na tvorjenje kapljic, zato je Webrovo število poleg kapilarnega števila pomembnejše brezdimenzijsko število v kapljični mikrofluidiki. Njegova vrednost je v večini primerov manjša od 1.

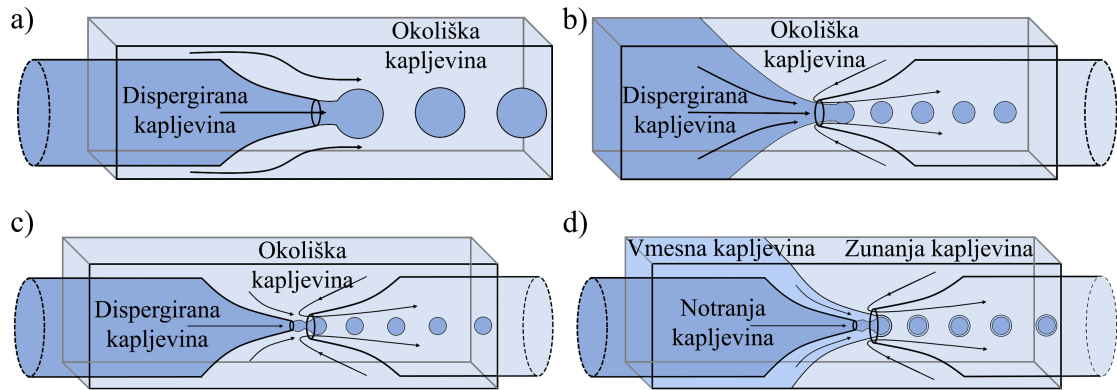
Obstaja še mnogo drugih brezdimenzijskih števil, ki opisujejo relevantna razmerja sil ali pojavov, njihova uporaba pa je odvisna od področja raziskovanja. Omenimo lahko Pécletovo število za opis transportnih pojavov v zveznem sredstvu, Bondovo število, ki upošteva vpliv gravitacije, ter Machovo število za opis razmerja med inercialnimi in elastičnimi silami [2].

## 2.3 Kapilarni čipi in režimi tvorjenja kapljic

Kapilarni čipi so v osnovi sestavljeni iz steklenih kapilar s kvadratnim ali okroglim presekom, z zunanjimi premeri med 0.5 mm in 1.5 mm. V kvadratno kapilaro je vstavljena okrogla kapilara, katere zunanji premer se skoraj ujema z notranjo dimenzijo kvadratne kapilare. Ujemanje dimenzij zagotovi aksialno poravnost okrogle kapilare vzdolž kvadratne kapilare. Zaradi različnih oblik presekov se kljub skorajšnjemu ujemanju premerov po kvadratni kapilari lahko pretaka kapljevina. Pri nastajanju kapljic sta v stiku dve nemešljivi kapljevini. Kapljevino, iz katere se tvorijo kapljice, imenujemo dispergirana kapljevina, kapljevino, v kateri se te kapljice dispergirajo, pa okoliška kapljevina (slika 2.3.1). Pojavljajo se tudi izrazi dispergirana ali notranja faza in kontinuirana ali zunanja faza [36]. V kvadratno kapilaro je običajno vstavljena zgolj ena okrogla kapilara, ki služi bodisi kot injekcijska kapilara, po kateri dovajamo dispergirano kapljevino (npr. silikonsko olje), bodisi kot zbiralna kapilara, v katero se usmerita tako dispergirana kot okoliška kapljevina. Govorimo o mikrofluidičnem čipu s t.i. geometrijo *sočasnega toka* (ang. *coflow*) (slika 2.3.1a) ali geometrijo *fokusiranega toka* (ang. *flow-focusing*) (slika 2.3.1b). Premeri zoženih odprtih kapilar v tovrstnih čipih so tipično od 10  $\mu\text{m}$  do 100  $\mu\text{m}$ , lahko tudi več ali nekoliko manj, odvisno od namena uporabe.

Drugi primer mikrofluidičnega čipa je sestavljen iz kvadratne kapilare in dveh okroglih kapilar, ki sta vstavljeni iz nasprotnih smeri, tako da sta konici usmerjeni ena proti drugi (slika 2.3.1c). Imamo torej kombinacijo obeh prej omenjenih geometrij. Premeri injekcijske kapilare so lahko v enakem rangi kot prej, medtem ko so premeri zbiralne kapilare večji. Razmerje med premeroma okroglih kapilar se giblje med 1:2 in 1:4, odvisno za kakšen namen se čip uporablja. Razdalja med kapilarama je približno dvakratnik premera manjše kapilare. Čeprav je takšna geometrija v osnovi namenjena dvojnimi emulzijam, je lahko uporabna tudi za tvorjenje kapljic. Za tvorjenje kapljic uporabljamo manjše premere v razmerju 1:2 (npr. 50  $\mu\text{m}$ :100  $\mu\text{m}$ ), za tvorjenje dvojnih emulzij pa nekoliko večje v razmerju od 1:3 do 1:4 (npr. 80  $\mu\text{m}$ :240  $\mu\text{m}$ ). Poleg premerov se glede na uporabo razlikuje tudi obdelava stekla injekcijske kapilare, ki je za potrebe dvojnih emulzij hidrofobna, za tvorjenje kapljic pa hidrofilna. Različne lastnosti površin kapilar, ki jih lahko dosežemo s silanizacijo,

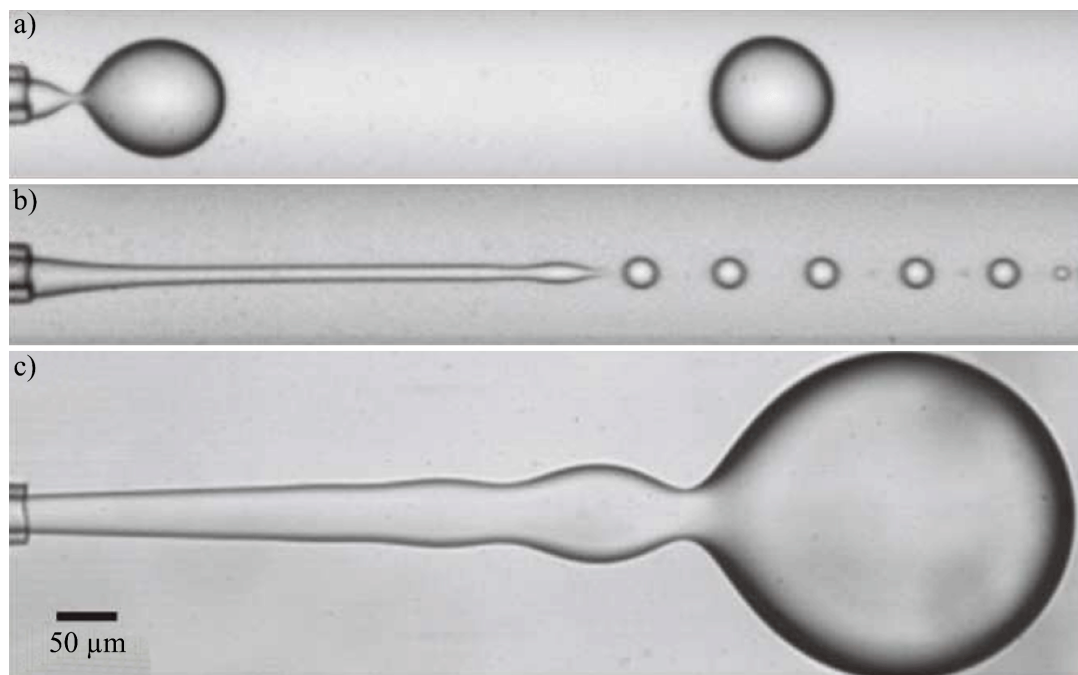
so ena izmed pomembnejših prednosti kapilarnih čipov. Teoretično bi lahko imela vsaka kapilara drugačne površinske lastnosti (hidrofobnost, hidrofilnost), v kolikor bi to bilo pri eksperimentu potrebno. Nastajanje kapljic zato poteka na različne načine. V glavnem se pojavljata dva načina tvorjenja: *kapljanje* in *curljanje*. Poleg obeh omenjenih geometrij sta podrobneje opisana v nadaljevanju.



Slika 2.3.1: Različne geometrije mikrofluidičnih kapilarnih čipov. a) Geometrija sočasnega toka. b) Geometrija fokusiranja toka z zbiralno kapilaro. c) Geometrija fokusiranja toka z zbiralno in injekcijsko kapilaro za tvorjenje kapljic. d) Geometrija fokusiranja toka z zbiralno in injekcijsko kapilaro za tvorjenje dvojnih emulzij.

#### 2.3.1 Sočasni tok

Geometrija za vzpostavitev sočasnega toka je ena izmed najpreprostejših geometrij kapilarnih čipov, pri kateri je okrogla kapilara z zoženo konico vstavljena v kvadratno kapilaro. Dispergirana in okoliška kapljevina tečeta v isti smeri, pri čemer je dispergirana kapljevina injicirana v okroglo kapilaro, okoliška pa v kvadratno (slika 2.3.1a). V stik prideta na koncu zožene okrogle kapilare, kjer se začnejo tvoriti bodisi kapljice bodisi curek dispergirane kapljevine, iz katerega se kasneje vzdolž kapilare začnejo trgati kapljice. V režimu kapljanja (slika 2.3.2a) nastajajo kapljice, ki so večje od odprtine injekcijske kapilare. Če želimo dobiti manjše kapljice, moramo dimenzijo odprtine ustrezno zmanjšati, kar privede do verjetnejše zamašitve kapilare. Tvorjenje manjših kapljic s to geometrijo je sicer mogoče, vendar le pri večjih pretokih in ustreznem razmerju viskoznosti obeh kapljev. Pri večjih pretokih režim nastajanja kapljic preide v curljanje (slika 2.3.2b, c), z viskoznostjo okoliške kapljevine pa lahko ta curek še zožimo, kar vodi v tvorjenje manjših kapljic. Za takšen scenarij mora biti viskoznost okoliške kapljevine enaka ali večja kot viskoznost dispergirane kapljevine [36]. Ta geometrija torej ni najprimernejša za tvorjenje manjših monodisperznih kapljic, ko je viskoznost dispergirane kapljevine večja od okoliške kapljevine.



Slika 2.3.2: Tvorjenje kapljic z geometrijo sočasnega toka [36]. a) Režim kapljanja. b) Režim curljanja z zoženim curkom. c) Režim curljanja z razširjenim curkom.

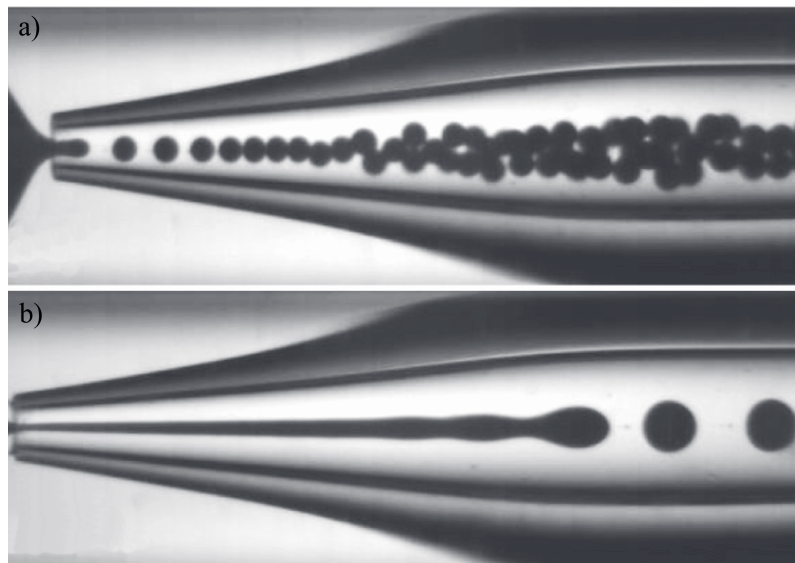
### 2.3.2 Fokusiranje toka

Drugi način tvorjenja kapljic temelji na hidrodinamskem fokusiranju dveh nemešljivih kapljevina skozi odprtino zbiralne kapilare. Najbolj preprosta geometrija fokusiranja toka je v osnovi enaka geometriji sočasnega toka, le da v tem primeru okrogla kapilara z zoženo konico ne služi kot injekcijska, temveč kot zbiralna kapilara (slika 2.3.1b). Dispergirana kapljevina priteka po kvadratni kapilari v smeri odprtine zbiralne kapilare, okoliška kapljevina pa iz nasprotnne smeri. Fokusiranje toka dispergirane kapljevine se zgodi, ko se kapljevini srečata v bližini odprtine zbiralne kapilare in skupaj stečeta skozi odprtino. Kapljice se nato v primeru režima kapljanja tvorijo takoj po vstopu obeh kapljevina v zbiralno kapilaro (slika 2.3.3a), oziroma nekoliko kasneje vzdolž kapilare v režimu curljanja (slika 2.3.3b). Prednost te geometrije je, da lahko tvorimo kapljice, ki so manjše od odprtine zbiralne kapilare, kar pomeni, da lahko z večjo odprtino zbiralne kapilare tvorimo enako velikost kapljic kot pri geometriji sočasnega toka [37]. Večja kot je odprtina kapilare, manjše so možnosti zamašitve, kar je pri majhnih dimenzijah precej pomembno, saj v nasprotnem primeru čip pogosto ni dalj časa uporaben.

Med geometrije fokusiranja toka spada tudi kapilarni čip z injekcijsko in zbiralno kapilaro. To geometrijo je prvič predstavila raziskovalna skupina D. A. Weitz na Harvardu, za produciranje dvojnih emulzij v enem koraku [25]. Med *flow-focusing* geometrije spada zaradi fokusiranja toka proti zbiralni kapilari (slika 2.3.1c, d). Pri

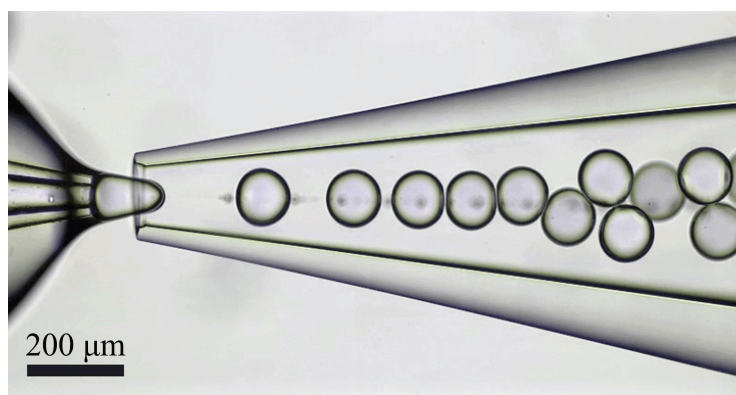


### 2.3. KAPILARNI ČIPI IN REŽIMI TVORJENJA KAPLJIC



Slika 2.3.3: Tvorjenje kapljic z geometrijo fokusiranja toka z zbiralno kapilaro. a) Režim kapljanja in b) režim curljanja [38].

nastajanju dvojnih emulzij ena nemešljiva kapljevina oblije drugo in tako naredi okoli nje ovoj oziroma t.i. lupino (slika 2.3.1d). Podobno kot pri geometriji sočasnega toka pritečeta dve nemešljivi kapljevini do odprtine injekcijske kapilare, kapljevina, ki priteče iz druge smeri pa ju usmeri v zbiralno kapilaro, kjer nastanejo dvojne emulzije. Pri tvorjenju oljnih dvojnih emulzij v vodi, olje (vmesna kapljevina) priteče po kvadratni kapilari in oblije vodo (notranja kapljevina), ki priteče po injekcijski kapilari. Iz druge strani priteče voda (zunanja kapljevina), ki ju usmeri v zbiralno kapilaro. V tem primeru nastane emulzija *vode v olju v vodi*. Uporabljajo se lahko tudi druge kapljevine, ki so med seboj različne, pomembno pa je, da sta notranja in vmesna kapljevina nemešljivi, prav tako tudi vmesna in zunanja kapljevina (slika 2.3.4).



Slika 2.3.4: Tvorjenje tekočokristalnih dvojnih emulzij [39].

Z enako geometrijo je mogoče tvoriti tudi kapljice (slika 2.3.1c). Potrebna je le

drugačna silanizacija injekcijske kapilare, ki je za razliko od prej hidrofilna. Dispergirana kapljevina enako kot pri sočasnem toku priteče po injekcijski kapilari, okoliška kapljevina pa po kvadratni kapilari iz nasprotne strani. Ker dispergirana kapljevina priteče po injekcijski kapilari, se njen tok predhodno zoži, okoliška kapljevina pa jo le še usmeri proti zbiralni kapilari, kjer kasneje nastanejo kapljice. Tvorjenje kapljic je zaradi tega bistveno bolj kontrolirano. Kot bomo videli v nadaljevanju, je ta način tvorjenja kapljic zelo predvidljiv in uporaben.

### 2.3.3 Kapljanje in curljanje

Ob stiku dveh nemešljivih kapljev in v toku prihaja do tokovne nestabilnosti, kar povzroči razpad toka kapljevine na manjše kose–kapljice. Razpadanje toka dispergirane kapljevine v kapljice poteka na več različnih načinov, zato pravimo, da kapljice nastajajo v različnih režimih. Najpogostejša režima tvorjenja kapljic sta kapljanje in curljanje [40]. Za začetek si lahko kapljanje predstavljamo kot kapljanje vode iz pipe. Kapljanje je počasno, kapljice pa so enakih velikosti, torej so monodisperzne. Pri curljanju si lahko predstavljamo curek vode, ki se po določeni razdalji razprši. Kapljic je bistveno več, le-te pa so si po velikosti precej bolj raznolike, torej polidisperzne. Prehodi med režimi so možni s spreminjanjem kapilarnega števila, kar pomeni, da lahko s spreminjanjem viskoznosti, hitrosti toka in površinske napetosti vplivamo na režim, v katerem nastajajo kapljice. Z izbiro kapljevine, iz katere bomo tvorili kapljice, določimo viskoznost in površinsko napetost, česar med samim postopkom ne moremo spreminjati. Za prehod med režimi lahko torej spreminjamo le hitrost toka.

**Kapljanje** je režim, pri katerem kapljice nastajajo v bližini odprtine injekcijske ali zbiralne kapilare (slika 2.3.5a). Kapljice so zelo monodisperzne, frekvenca tvorjenja pa je nekoliko manjša, kar je posledica manjših hitrosti toka, pri katerih se režim pojavlja. Zaradi strižnih viskozni sil se kapljica odtrga od dispergirane kapljevine še preden zraste do velikosti notranje dimenzije kapilare, kar se sicer rado zgodi pri izredno majhnih pretokih. Kapljanje je tipičen primer absolutne nestabilnosti toka. Perturbacije, ki povzročijo razpad dispergirane kapljevine v kapljice, naraščajo s časom na točno določenem mestu, z določeno frekvenco, ki je odvisna od lastnosti sistema (geometrija, kapljevina, hitrost toka) [40]. Kljub temu, da je teoretična obravnava nastajanja kapljic zahtevna, so Erb in sodelavci [41] izpeljali enačbo, ki precej dobro opiše velikost kapljic za določen pretok in velikost odprtine pri geometriji fokusiranja toka. Poglejmo si ključne predpostavke in približke, ki so avtorje privedli do enačbe. Najprej omenimo, da so si kot opazovan sistem izbrali geometrijo z injekcijsko in zbiralno kapilaro. Kot je za kapljanje značilno, igrata ključni vlogi sila površinske napetosti in strižna viskozna sila. Površinska napetost

drži kapljico na konici injekcijske kapilare, okoliška kapljevina pa jo zaradi viskoznega upora, ki nastaja ob njej, vleče stran od konice. Silo površinske napetosti  $F_\gamma$  na konici s premerom  $D_d$  zapišemo kot:

$$F_\gamma = \pi D_d \gamma_{1,2}, \quad (2.14)$$

kjer je  $\gamma_{1,2}$  površinska napetost med kapljevina. Za oceno strižne sile  $F_{st}$  uporabimo modificirano Stokesovo enačbo za upor delca s premerom  $d$  v toku kapljevine:

$$F_{st} = 3\pi\eta_2(d - D_d)(v_2 - v_1), \quad (2.15)$$

pri čemer sta  $\eta_2$  viskoznost in  $v_2$  povprečna hitrost okoliške kapljevine,  $v_1$  pa povprečna hitrost dispergirane kapljevine. V enačbi (2.15) predpostavimo, da velikost kapljice ne more biti manjša od odprtine injekcijske kapilare. Enačba predpostavlja tudi viskozni upor za neprožen delec, ki je večji kot za prožen delec, kot je npr. kapljica. Po drugi strani pa enačba ne upošteva, da se hitrost toka skozi zožitev kapilare poveča, kar privede do povečanja viskoznega upora. Efekta imata ravno nasprotni učinek, zato je predpostavka smiselna. Hitrosti sta ocenjeni na podlagi pretokov dispergirane ( $Q_1$ ) in okoliške kapljevine ( $Q_2$ ), pri čemer se pri dispergirani kapljevini upošteva presek odprtine injekcijske kapilare:

$$v_1 = \frac{4Q_1}{\pi d^2}. \quad (2.16)$$

Pri oceni hitrosti okoliške kapljevine je potrebno upoštevati dejstvo, da skozi zbiralno kapilaro tečeta obe kapljevini. Ob upoštevanju tega dejstva je površina preseka okoliške kapljevine zgolj razlika med površino preseka odprtine zbiralne kapilare in površino kapljice:

$$v_2 = \frac{4Q_2}{\pi(D_c^2 - d^2)}, \quad (2.17)$$

kjer je  $D_c$  premer zbiralne kapilare. Z upoštevanjem pogoja, da do odcepitve oziroma do tvorjenja kapljice pride, kadar je kapilarno število večje od kritične vrednosti ( $Ca > Ca^{kr}$ ), in z upoštevanjem razmerja:

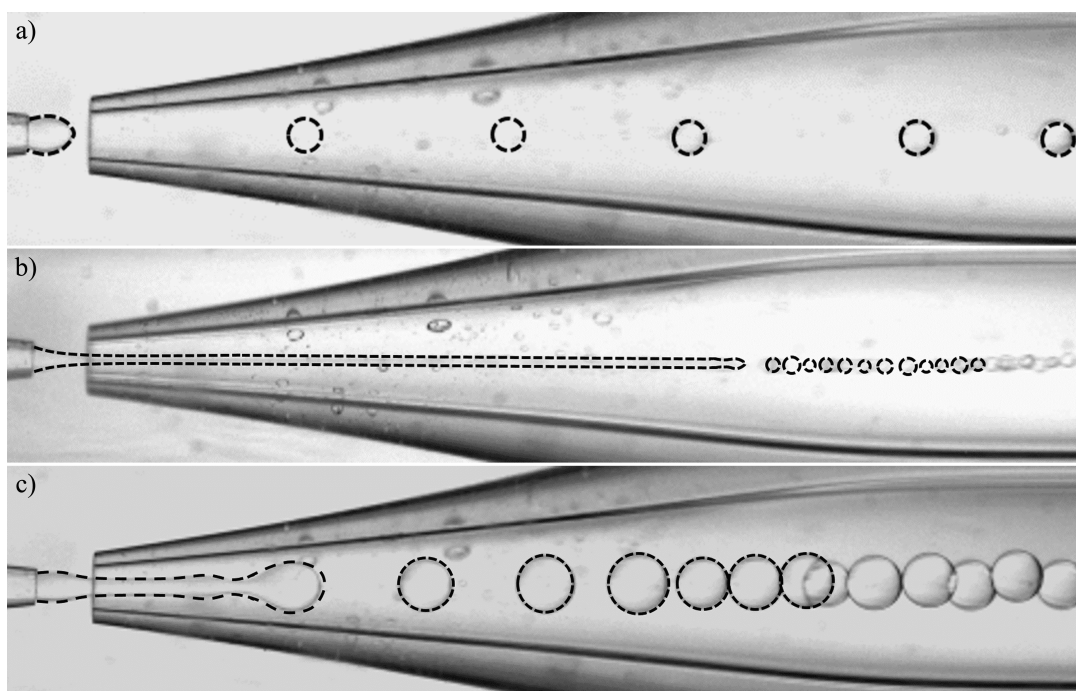
$$Ca = \frac{F_{st}}{F_\gamma}, \quad (2.18)$$

dobimo polinom, katerega rešitev nam poda premer kapljice  $d$  pri določenem pretoku in premeru odprtine:

$$d = D_d \left( -\frac{Q_2\eta_2}{2Q_0\eta_1 Ca^{kr}} + \sqrt{\left(\frac{Q_2\eta_2}{2Q_0\eta_1 Ca^{kr}}\right)^2 + \frac{Q_2\eta_2}{Q_0\eta_1 Ca^{kr}} + \frac{D_c^2}{D_d^2}} \right). \quad (2.19)$$

V zgornji enačbi je  $Q_0 = \pi D_d^2 \gamma / 12 \eta_1$ . Razmerje  $Q_2\eta_2 / Q_0\eta_1$  lahko razumemo kot kapilarno število okoliške kapljevine. V enačbi se nikjer ne pojavi pretok dispergirane kapljevine, kar izhaja iz predpostavke, da je pretok dispergirane kapljevine

bistveno manjši kot pretok okoliške kapljevine. Iz eksperimentalnih podatkov so avtorji študije [41]  $Ca^{kr}$  pripisali vrednost 0.1, ki se dobro obnese v širokem razponu pretokov, dimenzij odprtin kapilar in viskoznosti. Četudi enačba ne poda eksaktne velikosti kapljice, nam je lahko v veliko pomoč pri načrtovanju eksperimenta, saj s teoretičnim izračunom premera kapljice dobimo občutek za realni izid pri izbranih kapljevinah in pretokih. S to oceno lahko nenazadnje tudi lažje načrtujemo izdelavo mikrofluidičnega kapilarnega čipa in premere odprtin kapilar za tvorjenje določene velikosti kapljic.



Slika 2.3.5: Trije najpogostejši režimi, ki se pojavljajo pri tvorjenju kapljic. S črtkano črto je poudarjen tok dispergirane kapljevine in nastale kapljice. a) Kapljanje - kapljica se odtrga po izstopu iz injekcijske kapilare. b) Curljanje z ozkim curkom - kapljice so v velikosti širine curka. c) Curljanje z razširjenim curkom - curek se pred odtrganjem kapljice razširi, zato so kapljice večje.

Z večanjem pretoka dispergirane ali okoliške kapljevine se pojavi prehod iz režima kapljanja v režim **curljanja**. Povečuje se kapilarno število, prehod pa se zgodi, ko je  $Ca \geq 1$ . Kapljice v tem režimu ne nastajajo v bližini odprtine, ampak se neprekinjen tok dispergirane kapljevine raztegne v notranjost zbiralne kapilare (geometrija fokusiranega toka), kjer zaradi Rayleigh-Plateaujeve nestabilnosti razpade v kapljice. Curljanje je posledica konvektivne nestabilnosti, kjer se perturbacije, ki vodijo v razpad toka, ojačajo vzdolž toka. Pri konvektivni nestabilnosti mesto razpada variira, posledično pa so nastale kapljice manj uniformne kot v režimu kapljanja [40]. Pri curljanju se v glavnem pojavljata dva tipa curkov, ki nastaneta pri različnih hitrostih

dispergirane kapljevine. Prvi, t.i. ozki curek (slika 2.3.5b) nastane, kadar viskozni upor preseže kapilarno silo in s tem zelo raztegne tok. Premer takšnega curka je manjši, zato je tudi velikost nastalih kapljic v območju premera curka. Zunanje viskozne sile se povečajo bodisi kadar se hitrost okoliške kapljevine bistveno poveča bodisi kadar je viskoznost okoliške kapljevine primerljiva ali večja od dispergirane kapljevine. Drugi, t.i. razširjeni curek (slika 2.3.5c), se pojavi kadar se hitrost dispergirane kapljevine poveča in postane večja od hitrosti okoliške kapljevine. To povzroči ustavljanje dispergiranega toka in s tem povečanje viskoznih sil na njegovi površini. Posledično to vodi v razširitev curka preden se kapljica odtrga. Kapljice so tokrat precej večje od širine curka [36]. V splošnem prihaja do ozkega curka pri večjih hitrostih, do razširjanja curka pa pri manjših hitrostih. Z različnimi pretoki lahko natančno kontroliramo premer curka. Ta je vzdolž toka do točke razpada bolj ali manj konstanten, zato lahko ocenimo njegov premer in nadalje še minimalni pretok, pri katerem se vzpostavi stabilen curek. Podobno kot pri kapljanju, tudi sedaj zapišimo hitrost curka kot  $v_{cu} = 4Q_d/\pi d_{cu}^2$ , pri čemer je  $d_{cu}$  premer curka. Pri hitrostih, pri katerih pride do curljanja, so vztrajnostne sile ključnega pomena, površinska napetost in viskozne sile pa so skoraj zanemarljive. Predpostavimo lahko, da se vsa energija, ki je dovedena v sistem, pretvori v kinetično energijo curka:

$$\Delta p_0 \approx \frac{1}{2} \rho v_{cu}^2, \quad (2.20)$$

kjer je  $\Delta p_0$  tlačna razlika. V enačbo (2.20) vstavimo  $v_{cu}$  in izrazimo premer curka [40]:

$$d_{cu} = \sqrt[4]{\frac{8\rho Q_d^2}{\pi^2 \Delta p_0}} \quad (2.21)$$

Dobili smo oceno premera curka pri danem pretoku. Iz pogoja, ki mora veljati za stabilen curek ( $We \geq 1$ ), lahko izrazimo minimalni pretok  $Q_{min}$ , ki je potreben za tak režim. Z upoštevanjem Webrovega števila za dispergirano kapljevino ( $We = \rho v_{cu}^2 d_{cu} / \gamma$ ) in enačbe za  $v_{cu}$ , dobimo:

$$Q_{min} = \sqrt{\frac{\gamma d_{cu}^3}{\rho}}. \quad (2.22)$$

Na tak način dobro ocenimo vrednost pretoka, pri katerem se vzpostavi režim curljanja, obenem pa tudi izvemo, kateri režim lahko pričakujemo pri določenem pretoku.

Teoretična obravnava tvorjenja kapljic in njihovih velikosti je precej zapletena, saj vključuje veliko spremenljivk, od same geometrije čipa do lastnosti kapljev (gostota, viskoznost, površinska napetost, ...), navsezadnje so pomembna tudi razmerja med lastnostmi kapljev, ki zelo vplivajo na nastanek kapljic. Splošne enačbe so bolj uporabne za razne ocene, npr. v katerem režimu smo pri določenem pretoku, ali kot pomoč pri načrtovanju geometrije čipa, niso pa toliko primerne za izračun

dejanskih vrednosti velikosti kapljic. Enačbe, ki natančneje opisujejo tvorjenje kapljic, so namreč semi-empirične in običajno zapisane v kombinaciji z eksperimentom za točno določeno geometrijo čipa.

### 2.3.4 Vpliv surfaktantov na tvorjenje kapljic

Surfaktanti so ključni za ohranjanje dolgoročne stabilnosti kapljic. Njihova prisotnost povzroči zmanjšanje površinske napetosti, kar preprečuje združevanje kapljic. Poleg zagotavljanja stabilnosti kapljic, vplivajo tudi na kapilarne sile in viskoelastične lastnosti površine. Ker pride do gradienta površinske napetosti, se površina bolje upira tangencialnim napetostim, ki težijo k združevanju kapljic [42]. Prenos mase v mikrofluidičnih tokovih poteka preko konvekcije, zato je za delovanje in prenos surfaktanta po kapljevini potreben določen čas. Delovanje surfaktanta je torej odvisno od hitrosti difuzije, ta pa je odvisna od lastnosti surfaktanta. Pomembni faktorji so še koncentracija raztopine, kritična micelarna koncentracija surfaktantov in njihova molekulska masa. Surfaktanti z večjo molekulsko maso potrebujejo več časa, da se adsorbirajo na površino in s tem znižajo površinsko napetost. PVA z veliko molekulsko maso se adsorbira na površino šele 1 sekundo po stiku kapljev, medtem ko se pri lažjih surfaktantih to zgodi v nekaj sto milisekundah (SDS: 100 ms, CTAB: od 50 ms do 300 ms). Čas adsorpcije je povezan tudi s koncentracijo raztopine, in sicer je v splošnem tako, da višja kot je koncentracija, manjši je čas adsorpcije [41, 43]. Časi adsorpcije surfaktanta so precej daljši v primerjavi s časom nastanka kapljice, ki je tipično krajši od nekaj deset milisekund. Po tej primerjavi surfaktanti na sam razpad in tvorjenje kapljic nimajo večjega vpliva, so pa ključni za stabilizacijo kapljic takoj po nastanku. Za tvorjenje kapljic, ki so večje od 100  $\mu\text{m}$ , so za stabilizacijo potrebne manjše koncentracije raztopine surfaktanta kot za tvorjenje velikih kapljic. Dinamična površinska napetost (časovna dinamika zmanjševanja površinske napetosti do stacionarnega stanja) se zmanjšuje s povečevanjem koncentracije surfaktanta, s povečanjem pretoka kapljevine pa se zaradi povečanja konvekcijskih tokov poveča tudi količina adsorbiranih molekul na površini kapljic [44]. Z večjim pretokom torej povečamo konvekcijske tokove in s tem prispevamo k hitrejši stabilizaciji kapljic. Po drugi strani pa nekoliko hitrejšo stabilizacijo dosežemo tudi z večjo koncentracijo surfaktanta.

# Poglavje 3

## Tekoči kristali

Tekoči kristali so oljem podobne kapljevine, ki v tekoči fazi kažejo določene fizikalne lastnosti običajnih kristalov, saj se njihove molekule uredijo v določeni smeri. Snovem, s takšnimi lastnostmi pravimo mezogeni, vmesne faze, v katerih se te snovi pojavijo, pa mezofaze. Poznamo nematsko, kolesterično, smektično in feroelektrično fazo, ki so odvisne od temperature ali koncentracije [45]. V primeru, ko lahko na fazni prehod vplivamo s temperaturo, govorimo o termotropnih tekočih kristalih. Ti so pogosto prisotni tako v bazičnih raziskavah kot v aplikacijah na področju optičnih zaslonov ter temperaturnih in tlačnih senzorjev. Molekule nekaterih tekočih kristalov so bolj občutljive na temperaturne spremembe, kar pomeni, da v tem primeru spremembe faznega prehoda s temperaturo ni mogoče doseči. Parameter, na katerega v tem primeru lahko vplivamo, je koncentracija snovi v topilu. Takšne tekoče kristale imenujemo liotropni tekoči kristali, ki so zelo uporabni v raziskavah bioloških sistemov, saj njihova podobnosti z lipidi omogoča raziskave fizikalnih lastnosti lipidnih membran [46]. V nadaljevanju poglavja so podane teoretične osnove ureditvenega parametra, površinskega sidranja molekul in topoloških defektov v tekočokristalnih kapljicah in lupinah, s poudarkom na termotropnih nematskih tekočih kristalih.

### 3.1 Ureditveni parameter

Molekule tekočega kristala so lahko palčaste ali diskaste oblike. Glede na to, kako se molekule poravnajo, ločimo tri glavne skupine ureditve: nematsko, nematsko kiralno in smektično. Pri nematski ureditvi so molekule poravnane vzdolž določene smeri (slika 3.1.1a), medtem ko so pri nematsko kiralni ali kolesterični fazi molekule urejene po plasteh, vsaka plast pa je zasukana za določen kot (spiralni zasuk). Podobno so molekule razporejene po plasteh v smektični fazi, le da so v tem primeru molekule v posamezni plasti nagnjene pod določenim kotom [45]. Orientacije mo-

lekul opišemo z direktorskim poljem, katerega enotski vektor  $\mathbf{n}$ , imenovan direktor, kaže v smeri povprečne orientacije molekul. Direktorsko polje lahko vizualiziramo z disprepiranjem majhnih vodnih kapljic v nematski fazi tekočega kristala. Kapljice se namreč obnašajo kot makroskopski kvadrupoli, ki sledijo povprečni orientaciji direktorja [47]. Klub temu, da molekule v primeru nematika prostorsko niso urejene, ima njihova povprečna orientacija red dolgega dosega. Zasuk paličaste molekule od zgoraj navzdol ne spremeni ničesar, zato je direktor po definiciji v obeh smereh enakovreden ( $\mathbf{n} \equiv -\mathbf{n}$ ). Urejenost molekul v določeni smeri povzroči anizotropne lastnosti snovi. Najpomembnejša je optična anizotropija, ki se široko uporablja v aplikativne namene v industriji zaslonov. Anizotropija se kaže tudi v fizikalnih lastnostih kot so dielektričnost, površinska napetost in viskoznost, kjer se zaradi oblike molekul tok tekočega kristala sklopi s smerjo direktorskega polja. Postavitev molekul definira fazo in njeno strukturo, saj lahko glede na urejenost molekul in njihovo odstopanje od smeri direktorja ( $\theta$ ), ločimo nematsko fazo od izotropne faze. Za opis stopnje urejenosti uporabljamo ureditveni parameter  $S$  [46]:

$$S = \frac{1}{2}(3\langle \cos^2 \theta \rangle - 1), \quad (3.1)$$

pri čemer lomljena oklepaja označujeta povprečje odklona vseh molekul v kapljevini. Povprečje popolnoma poravnanih molekul s smerjo direktorja ( $\theta = 0^\circ$ ) je enako 1, medtem ko je povprečje pri popolnoma naključno obrnjenih molekulah v izotropni fazi (slika 3.1.1b) enako  $1/3$ . Upoštevajoč ti dve mejni vrednosti, je vrednost ureditvenega parametra  $S$  v popolnoma urejeni nematski fazi enaka 1, v izotropni fazi pa je enaka 0. Kadar gre kosinusni člen proti nič, pomeni, da so molekule poravnane pravokotno na direktor, ureditveni parameter pa je v tem primeru enak  $-1/2$ . Ureditveni parameter lahko torej zavzame vrednosti od  $-1/2$  do 1, za običajne nematike pa so njegove vrednosti okoli  $1/2$ . Pomembno je poudariti, da enačba (3.1) velja za enoosne nematske tekoče kristale, pri dvoosnih (liotropni tekoči kristali in tekočekristalni polimeri) pa se v enačbi pojavi dodaten člen [45, 46]. Ureditev molekul se s temperaturo spreminja. Z višanjem temperature molekulam raste kinetična energija, zato so manj poravnane v smeri direktorja, odkloni se večajo, vrednost ureditvenega parametra pa pada. Ko temperatura naraste do temperature faznega prehoda, se zgodi nezvezni fazni prehod, vrednost ureditvenega parametra pa pade na nič (slika 3.1.1c). Fazni prehod pri nematikih je prvega reda in se zgodi pri vrednosti ureditvenega parametra  $S$  okoli 0.4. Saturacijske vrednosti ureditvenega parametra se pri nadaljnjem ohlajanju gibljejo med 0.6 in 0.7 [18]. Termodinamsko takšno spremembo opišemo kot spremembo entropije pri dani temperaturi  $T$  in prostornini  $V$ :

$$S = - \left( \frac{\partial F}{\partial T} \right)_V, \quad (3.2)$$

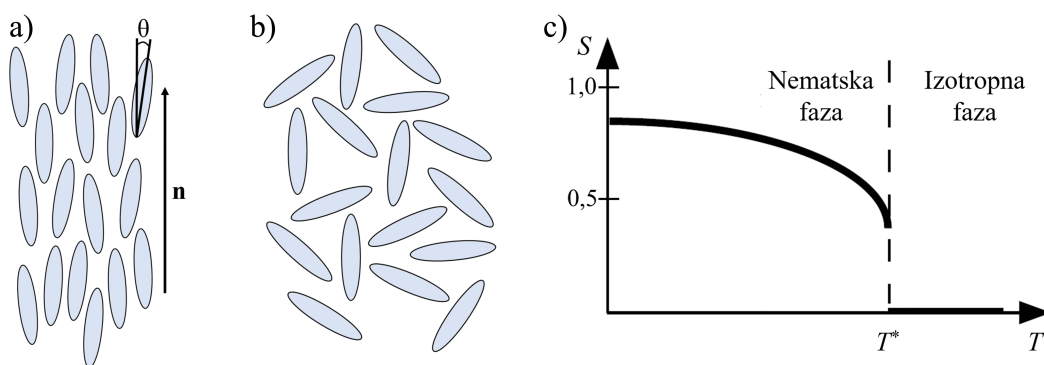


### 3.2. POVRŠINSKO SIDRANJE

kjer je  $F$  prosta energija. Fazni prehod lahko opišemo z Landauovim formalizmom gostote proste energije. Za enoosni tekoči kristal, opisan z ureditvenim parametrom  $S$ , je ta enaka [48]:

$$f = \frac{3}{4}a(T - T_{NI}^*)S^2 + \frac{1}{4}BS^3 + \frac{9}{16}CS^4. \quad (3.3)$$

V enačbi so  $a$ ,  $B$  in  $C$  fenomenološke konstante in  $T_{NI}^*$  podhladitvena temperatura faznega prehoda iz nematske v izotropno fazo. Iz enačbe vidimo, da je prvi člen, ki je povezan s temperaturo, odgovoren za fazni prehod. Tipične vrednosti konstant so:  $a \approx 10^5 \text{ J/m}^3\text{K}$ ,  $b \approx -10^6 \text{ J/m}^3$ ,  $c \approx 10^6 \text{ J/m}^3$ .



Slika 3.1.1: Ureditev molekul v a) nematski in v b) izotropni fazi. Puščica prikazuje povprečno smer skupine molekul, torej direktor  $\mathbf{n}$ , kot  $\theta$  pa odmik molekule od smeri direktorja. c) Tipičen graf ureditvenega parametra  $S$  v odvisnosti od temperature  $T$  za nezvezni fazni prehod.

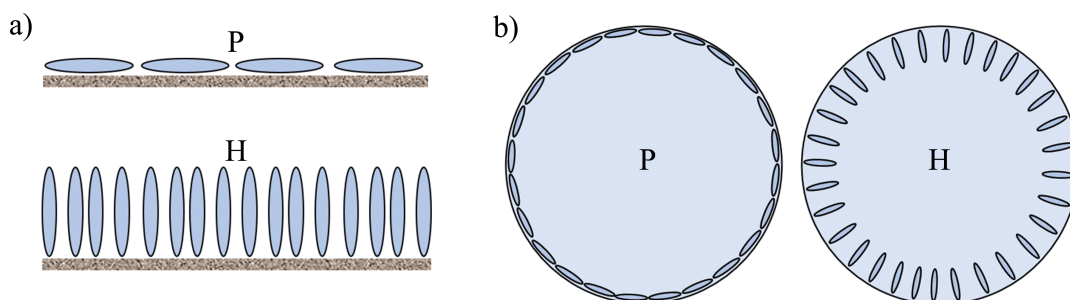
## 3.2 Površinsko sidranje

Molekule ene snovi se v stiku z drugo snovjo vežejo na površino. Površina je meja med dvema snovema, bodisi gre za mejo med kapljevino in trdnino bodisi za mejo med dvema kapljevina. Takšno vezavo molekul tekočega kristala v omenjenih primerih imenujemo *površinsko sidranje* [48]. Ker je orientacija molekul v nematski tekočokristalni fazi dolgega dosega, lahko površinsko sidranje zelo vpliva na postavitev vseh molekul. Seveda pa je to odvisno tudi od razdalje med površinama, med katerima je tekoči kristal (npr. debelina tekočokristalne celice). Običajno razlikujemo planarno in homeotropno sidranje. V prvem primeru se molekule postavijo vzporedno s površino, v drugem pa pravokotno na njo (slika 3.2.1). V posebnih primerih se lahko molekule sidrajo na površino tudi pod kotom, ki je med  $0^\circ$  in  $90^\circ$ , v tem primeru govorimo o nagnjenem sidranju. Glede na jakost sidranja na površini ločimo med močnim in šibkim sidranjem. Razlikujeta se v površinski energiji in posledično v površinski ekstrapolacijski (penetracijski) dolžini, ki predstavlja oceno

elastičnosti nematika glede na sidranje. Slednji sta od nekaj deset nanometrov pri močnem, do nekaj mikrometrov pri šibkem sidranju, površinska energija pa je po jakosti nekje med  $10^{-7}$  (šibko sidranje) in  $10^{-3}$  J/m<sup>2</sup> (močno sidranje) [45, 48]. Gostoto površinske energije ( $f_s$ ) lahko glede na preferirano smer direktorja zapišemo z Rapini-Papoularjevim potencialom sidranja [39]:

$$f_s = W \sin(\theta_s - \theta_0)^2, \quad (3.4)$$

kjer je  $W$  koeficient sidranja, ki je povezan s površinsko napetostjo,  $\theta_s$  dejanski kot sidranja molekul glede na površino in  $\theta_0$  preferirana smer sidranja. Iz enačbe vidimo, da je energija sidranja največja, kadar se molekule popolnoma poravnajo s preferirano smerjo sidranja na površini. Na vrsto sidranja lahko vplivamo tako, da stekleno površino ustrezno obdelamo. Za to uporabljamo različne surfaktante ali polimerne nanose, odvisno od željene vrste sidranja [49]. V primeru sidranja molekul na površini tekočokristalne kapljice ustrezno sidranje zagotovimo z dodajanjem surfaktanta v okoliško kapljevino. Surfaktant poleg stabilizacije kapljice določi tudi vrsto sidranja molekul na površini, ki je lahko homeotropno, planarno ali nekje vmes.



Slika 3.2.1: Planarno (P) in homeotropno (H) sidranje molekul na a) ravni površini in b) na površini tekočokristalne kapljice.

### 3.3 Topološki defekti v tekočokristalnih kapljicah in lupinah

Postavitev paličastih molekul na način, da bi bilo zadoščeno vsem robnim pogojem (sidranju) in postavitvi vseh molekul v smeri direktorskega polja, je nemogoča. Vedno se pojavi vsaj ena točka ali linija, v kateri vsem pogojem ne more biti zadoščeno. To mesto imenujemo *topološki defekt*, ki je lahko linijski ali točkasti. Energijsko so topološki defekti zelo neugodni, saj pride na tem mestu do lokalne singularnosti direktorskega polja. Ureditveni parameter v bližini defekta pade proti nič, v jedru defekta pa ni definiran. Jedro defekta zaradi neurejene orientacije molekul ni

### 3.3. TOPOLOŠKI DEFEKTI V TEKOČEKRIKSTALNIH KAPLJICAH IN LUPINAH

---

več v nematski, ampak v izotropni fazi [45]. Defekti v tekočih kristalih so lepo vidni pod polarizacijskim mikroskopom med prekrižanima polarizatorjema, kjer jih prepoznamo kot temne lise ali točke.

Topološki defekti v tekočekristalnih kapljicah ali lupinah so predvsem zanimivi zaradi sferične geometrije, ki omogoča raznovrstne konfiguracije direktorskega polja. Tekočekristalna kapljica ima na površini robni pogoj oziroma vrsto sidranja, ki jo določi dodani surfaktant. To povzroči topološke omejitve pri vzpostavitvi direktorskega polja, kar neizogibno vodi v nastanek topoloških defektov. Struktura defektov je odvisna od sidranja molekul na površini, elastičnih lastnosti tekočega kristala, velikosti kapljice in prisotnih zunanjih polj (električno ali magnetno polje) [16].

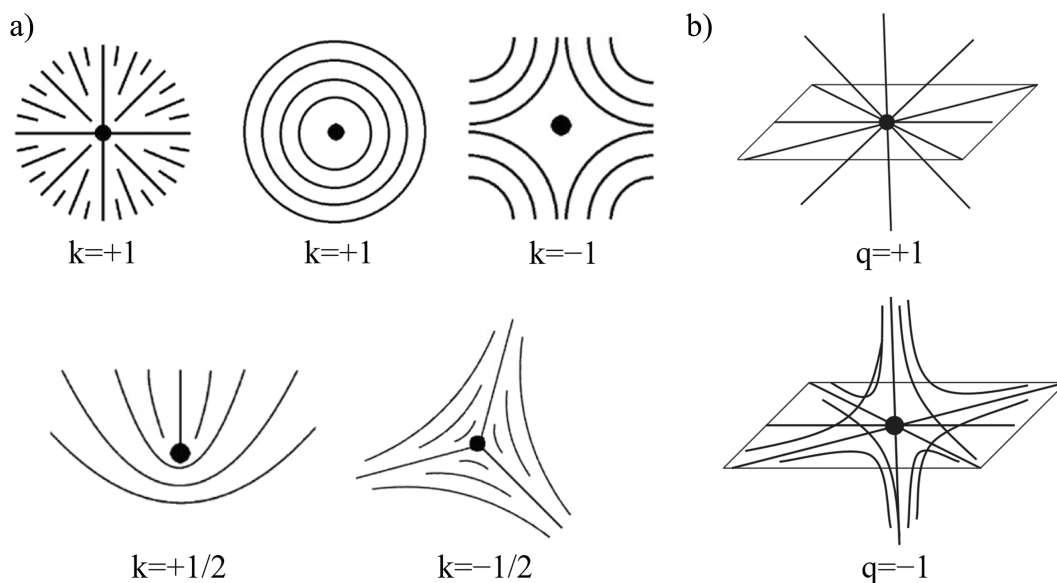
Topološke lastnosti defekta označimo s črkama  $q$  in  $k$ , pri čemer je  $q$  topološki naboj defekta v 3D prostoru,  $k$  pa topološki naboj točkastega defekta v 2D prostoru ali linijski defekt v 3D prostoru. Število  $k$  imenujemo tudi ovojno število, to vrednost pa dobimo z integralom po zaključeni zanki okoli jedra defekta [50]:

$$k = \frac{1}{2\pi} \oint (\nabla\theta) \cdot dl. \quad (3.5)$$

Ovojno število nam pove kolikokrat se smer direktorja zavrti pri obhodu po zaključeni zanki. Zavzame lahko tako pozitivne kot negativne polovične in cele vrednosti. Predznak je odvisen od smeri vrtenja direktorskega polja okoli defekta. Direktorsko polje defekta s pozitivnim ovojnim številom si lahko predstavljamo kot nivojnice, ki izhajajo iz defekta, medtem ko se nivojnice pri defektu z negativnim ovojnim številom ukrivijo okoli defekta (slika 3.3.1a). Prostorski topološki naboj  $q$  je razširitev površinskega naboja v tretjo dimenzijo. Njegovo število ima podoben pomen kot ovojno število, le da v tem primeru štejemo zasuke orientacije direktorja, ko zaobidemo kroglo okoli jedra defekta. S projekcijo 3D defektne strukture na ravnino lahko tudi 3D topološkim defektom določimo ovojno število.

Planarno sidranje ali tangencialni robni pogoj za direktorsko polje na površini tekočekristalne kapljice določa možne konfiguracije posameznih topoloških defektov. Po Poincaré-Hopfovem izreku mora biti skupni naboj (vsota vseh ovojnih števil,  $\sum k_i$ ) na površini kapljice enak  $+2$  [47]. Pri homeotropnem sidranju ali pravokotnem robnem pogojju pa Gaussov izrek omejuje možne konfiguracije direktorja le na defekte s skupnim prostorskim topološkim nabojem  $q$ , ki je enak  $+1$  (slika 3.3.1b) [16]. Točkasta topološka defekta v dveh ali treh dimenzijah sta si v osnovi zelo podobna, le da se 2D defekt v treh dimenzijah razširi še v tretjo dimenzijo. V 2D govorimo o t.i. *boojum* defektu, v 3D pa o t.i. *hedgehog* defektu. Oba sta lahko radialne ali hiperbolične narave, kar pomeni, da nivojnice direktorskega polja izhajajo iz jedra defekta oziroma ga *obdajajo*, kot je že bilo ponazorjeno z nivojnicami v prejšnjem odstavku. Na kapljici nematskega tekočega kristala s planarnim sidra-

njem vidimo dva radialna boojum defekta ( $k = +1$ ), pozicionirana na polih kapljice [39]. V primeru kapljice s homeotropnim sidranjem je najpogosteje opažen radialen hedgehog topološki defekt z nabojem  $q = +1$ . Z menjavo medija, v katerem se kapljica nahaja, lahko spremenimo tip sidranja molekul na površini in posledično topološke defekte, ki se pojavijo. Ta lastnost je uporabna v biosenzorjih, saj lahko na tak način zaznamo prisotnost določenih substanc [16].

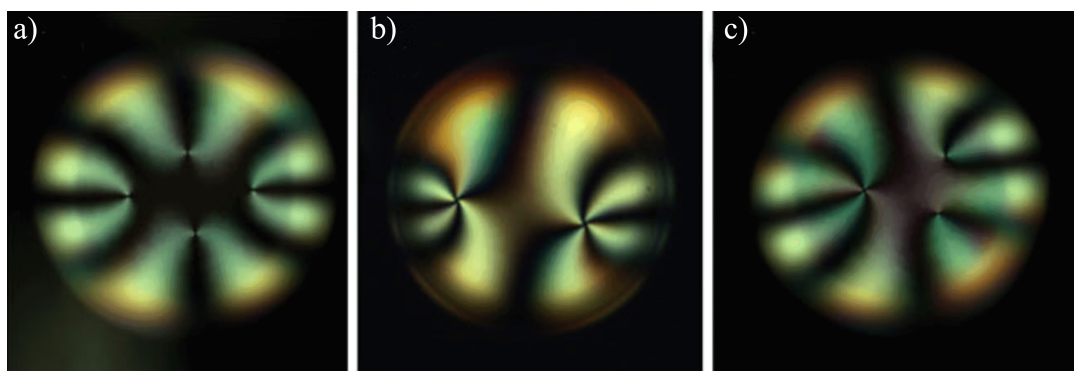


Slika 3.3.1: a) Shematski prikaz direktorskega polja s površinskimi topološkimi defekti z različnimi ovojnimi števili [18]. b) Prostorski defektni konfiguraciji z enako velikim, a različno predznačenim topološkim nabojem [51].

Število možnih defektnih struktur se še poveča, kadar je tekoči kristal vpet med dve robni površini, ki lahko povzročita vsaka svojo vrsto sidranja. V primeru tekočokristalnih lupin je tekoči kristal ujet med dvema sferičnima površinama. Znotraj lupine je lahko ujeta kapljica s surfaktantom, ki povzroči homeotropno sidranje, zunan pa je lahko drug surfaktant, ki povzroči planarno sidranje. Možne so seveda vse kombinacije, ki zelo razširijo spekter struktur topoloških defektov, ki jih opazimo. V primeru lupin s planarnim sidranjem na obeh površinah so defektne strukture odvisne tudi od debeline lupine. Pri relativno debelih lupinah ( $d > 0.25R$ ) se pojavi par boojum defektov, vsak na eni sferični polovici, medtem ko se pri zelo tankih lupinah pojavijo druge defektne strukture. Opazimo lahko tri različne primere; prvo s štirimi disklinacijskimi linijami, s  $k = +1/2$  (slika 3.3.2a), drugo s parom boojum defektov ( $k = +1$ ), ki se postavita na vrh lupine (slika 3.3.2b) in tretjo konfiguracijo z enim boojum defektom ( $k = +1$ ) in dvema  $s = +1/2$  disklinacijskima linijama (slika 3.3.2c) [16].

### 3.3. TOPOLOŠKI DEFEKTI V TEKOČEKRISTALNIH KAPLJICAH IN LUPINAH

---



Slika 3.3.2: Topološki defekti v nematski tekočerkristalni lupini s planarnim sidranjem. a) Štirje defekti z nabojem  $k = 1/2$ . b) Par boojum defektov z nabojem  $k = +1$ . c) Boojum defekt z nabojem  $k = +1$  in dve disklinacijski liniji z nabojem  $k = +1/2$  [16].



# Poglavje 4

## Eksperimentalne metode

### 4.1 Uporabljeni materiali

#### 4.1.1 Silikonsko olje

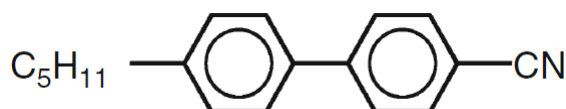
Silikonska olja so kapljevine, umetno pridobljene s polimerizacijo siloksana z organskimi stranskimi verigami [52]. Tipično je na verigo silicijevih in kisikovih atomov, ki so značilni za siloksan, pritrjena metilna skupina. Lastnosti, kot so zelo dobra termična stabilnost, močna hidrofobnost, dobre lubrikantne lastnosti, inertnost in majhna temperaturna odvisnost fizikalnih lastnosti, uvrščajo ta olja med zelo uporabna na mnogo področjih industrije in medicine. Različne dolžine molekularnih verig se odražajo v viskoznosti olja. Obstajajo silikonska olja z viskoznostjo od 1 do  $10^6$  cSt. Pomembna lastnost silikonskih olj je tudi relativno majhna odvisnost viskoznosti od temperature in majhna površinska napetost ( $\approx 20$  mN/m) [52, 53]. Pri eksperimentih sem uporabljal olja proizvajalca Sigma-Aldrich z različnimi viskoznostmi, od 20 do 500 cSt. Podrobnosti in fizikalne lastnosti teh olj so prikazane v tabeli 4.1.1.

Snov	$\eta$ [mPas]	$\nu$ [cSt]	$\rho$ [kg/m <sup>3</sup> ]	$\gamma$ [mN/m]
Silikonsko olje	21	20	950	$\approx 20$
	117	125	1066	$\approx 21$
	516	500	970	$\approx 21$

Tabela 4.1.1: Fizikalne lastnosti silikonskih olj z različnimi viskoznostmi. Simbol  $\eta$  predstavlja dinamično viskoznost,  $\nu$  kinematično viskoznost,  $\rho$  gostoto in  $\gamma$  površinsko napetost [52, 54].

### 4.1.2 Tekoči kristal 5CB

Za tvorjenje tekočokristalnih kapljic sem uporabljal enega izmed najbolj proučevanih tekočih kristalov 4-ciano-4-pentilbifenil, znanim pod kratico 5CB. Gre za stabilen, termotropni nematski tekoči kristal, ki je pri sobni temperaturi v nematski fazi. Fazni prehod v izotropno fazo se zgodi pri 35°C, kristalizira pa pod 22°C [55]. Molekula tekočega kristala 5CB je 2 nm dolga organska molekula, s polarno glavo in dvema benzenovima obročema s pritrjeno alkilno verigo (slika 4.1.1) [56].



Slika 4.1.1: Strukturna formula molekule tekočega kristala 5CB [57].

Tekoči kristal 5CB močno absorbira laserske žarke (intenziteta reda kW/cm<sup>2</sup>, v primeru laserskih sunkov lahko tudi bistveno več), ki ne povzročajo strukturnih ali kemijskih sprememb. Ta lastnost omogoča manipulacijo tekočega kristala z laserjem, kar je predvsem uporabno v optičnih senzorjih, rotatorjih polarizacije in optičnih preklopnikih [58]. V tabeli 4.1.2 je prikazanih nekaj fizikalnih lastnosti 5CB za nematsko in izotropno fazo. Zaradi anizotropne oblike molekul so strižne napetosti v toku v različnih smereh različne. Viskoznost je zato določena s t.i. Miesowiczovimi viskoznostnimi koeficienti v posamezni smeri, pri čemer je  $\eta_1$  viskoznost v smeri toka,  $\eta_2$  viskoznost vzporedna gradientu hitrosti in  $\eta_3$  viskoznost v pravokotni smeri glede na prejšnji dve komponenti tenzorja viskoznosti [59].

Snov	$T$	$\eta_1$	$\eta_2$	$\eta_3$	$\rho$	$\gamma$
	[°C]	[mPas]	[mPas]	[mPas]	[kg/m <sup>3</sup> ]	[mN/m]
5CB	25	≈120	≈23	≈40	1011	27.9
	35	≈30	≈30	≈30	1009	28.7

Tabela 4.1.2: Fizikalne lastnosti tekočega kristala 5CB za nematsko in izotropno fazo.  $T$  predstavlja temperaturo tekočega kristala,  $\eta_i$  dinamično viskoznost v različnih smereh,  $\rho$  gostoto in  $\gamma$  površinsko napetost [60, 61].

### 4.1.3 Hidrofilni in hidrofobni silan

Adhezija med vodo in površino različnih materialov je zelo pomembna pri aplikacijah. Adhezija je lahko šibka ali močna, površino pa glede na njeno velikost opišemo kot hidrofobno ali hidrofilno. Za hidrofobne površine so značilni veliki kontaktni

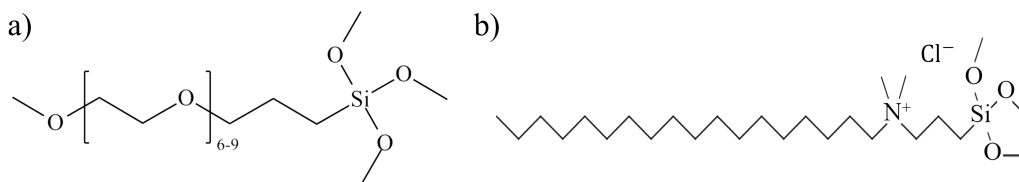


## 4.1. UPORABLJENI MATERIALI

---

koti med površino in vodo, kar pomeni, da jih voda ne omoči. Hidrofilne površine po drugi strani vodo privlačijo, kontaktni koti pa so posledično majhni [62]. Površine, kot je steklo, lahko silaniziramo, kar pomeni, da na njihovo površino naneseemo posebno kemikalijo–silan, ki se veže na površino. S tem naredi površino hidrofilno ali hidrofobno, odvisno od silana, ki ga uporabimo.

Silani so silikonske kemijske spojine, ki reagirajo z neorganskimi substrati. Pri reagiranju s substrati, kot je steklo, tvorijo stabilne kovalentne vezi, kar vpliva na stik z vodnimi mediji [63]. Za obdelavo steklenih kapilar, pri katerih je bila potrebna hidrofilna površina, sem uporabil hidrofilni silan *2-[metoksi(polietilenoksi)6-9propil]trimetoksisilan* proizvajalca Gelest. Steklo je sicer že samo po sebi hidrofilno, vendar se kontaktni koti precej razlikujejo že glede na čistost stekla. Steklo, očiščeno s plazmo, ima kontaktni kot manj kot  $10^\circ$ , neočiščeno pa med  $30^\circ$  in  $50^\circ$  [64, 65]. Po obdelavi stekla z omenjenim silanom je kontaktni kot med steklom in vodo enak  $36^\circ$  [66]. S tem sem natančneje definiral kontaktni kot in zagotovil enake lastnosti stekla pri vseh eksperimentih. Hidrofobnost površine stekla kapilar sem zagotovil s silanizacijo s hidrofobnim silanom *dimetiloktadecil [3-(trimetoksilil)propil] amonijev klorid* (DMOAP) proizvajalca ABCR, ki naredi površino stekla močno hidrofobno. Strukturni formuli obeh silanov sta prikazani na sliki 4.1.2 .

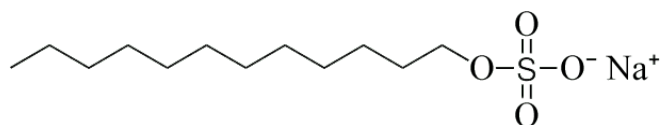


Slika 4.1.2: Strukturna formula (a) hidrofilnega [66] in (b) hidrofobnega silana [67].

### 4.1.4 Surfaktanti - površinsko aktivne snovi

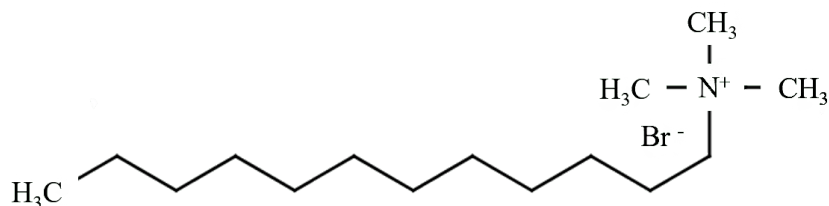
Površinsko aktivne snovi ali surfaktanti so v kemijski industriji med najbolj vsestransko uporabnimi kemikalijami. Pojavljajo se namreč tako v motornih oljih kot v zdravilih, največ pa se jih uporabi za proizvodnjo detergentov [68]. So zelo pomembni solubilizatorji in emulgatorji. Njihova ključna lastnost je vpliv na površino med dvema nemešljivima tekočinama. Ob njihovi prisotnosti se zmanjša površinska prosta energija, kar pomeni, da se zmanjša površinska napetost med tekočinama. Zaradi zmanjšanja površinske napetosti se na primer umazanija lažje loči od površine, ko vodi dodamo detergent. Surfaktanti imajo molekularno strukturo, zgrajeno iz dveh strukturnih skupin: liofobne skupine, ki ne privlači topila in liofilne skupine, ki s topilom močno interagira. Molekulam, ki imajo tako hidrofilne kot hidrofobne lastnosti, pravimo amfifilne molekule. V primeru, ko surfaktant dodamo vodni raztopini, njegove hidrofobne skupine s trganjem vodikovih vezi vplivajo na strukturo

vodnih molekul na površini. Molekule surfaktanta se razporedijo po površini tako, da je njihova hidrofobna skupina orientirana stran od površine, hidrofilna pa proti površini vode. S tem se fizikalno-kemijske razlike med dotikajočima fazama zmanjšajo, kar se odrazi kot zmanjšanje površinske napetosti vode. Koliko surfaktanta se lahko adsorbira na površini, je odvisno od njegove strukture in od lastnosti faz, ki sta v stiku [62, 68]. Surfaktante delimo glede na polarne lastnosti hidrofilne skupine. Ta ima lahko pozitiven ali negativen naboj, ali pa ga sploh nima. Glede na to lastnost ločimo med kationskimi, anionskimi in neionskimi surfaktanti. Obstajajo pa še takšni, ki imajo na molekulo pritrjen tako anionski kot kationski del, t.i. zwitterionski ali amfoterični surfaktanti. Za anionske surfaktante je značilna linearna alkilna skupina hidrofobne verige z dolžino od 12 do 16 ogljikovih atomov. Tipične hidrofilne skupine pa so karboksilati, sulfati, sulfonati in fosfati. Iz skupine sulfatov je tudi *natrijev dodecilsulfat* (SDS, proizvajalec Sigma-Aldrich), ki sem ga uporabljal pri eksperimentih. Strukturna formula molekule je prikazana na sliki 4.1.3. Pri sobni temperaturi je dobro topen, v vodnih raztopinah do 30 % koncentracije je raztopina še tekoča, pri večjih koncentracijah pa je bolj podobna gelu [62].



Slika 4.1.3: Strukturna formula molekule SDS [69].

Najpogostejši kationski surfaktanti so amonijeve spojine s klorovimi ioni. Imajo eno ali dve dolgi alkilni verigi, kjer je prva dobro topna v vodi, druga pa manj. Mednje sodi tudi surfaktant *dodeciltrimetil amonijev bromid* (DTAB, proizvajalec Sigma-Aldrich), ki sem ga uporabljal pri eksperimentih, njegova strukturna formula pa je prikazana na sliki 4.1.4. Kot že omenjeno, so takšni surfaktanti dobro topni v vodi in stabilni na spremembe pH. Kompatibilni so z neionskimi surfaktanti, obenem pa niso kompatibilni z večino anionskih surfaktantov in proteinom podobnimi materiali [62].



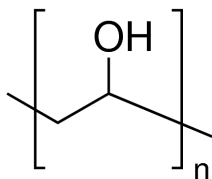
Slika 4.1.4: Strukturna formula molekule DTAB [70].

## 4.1. UPORABLJENI MATERIALI

---

Pri surfaktantih je pomembno omeniti še kritično micelarno koncentracijo (CMC). Ta lastnost določa koncentracijo surfaktanta, pri kateri se začnejo tvoriti micelle. Povečevanje koncentracije surfaktanta do CMC bistveno znižuje površinsko napetost, dodajanje surfaktanta nad CMC pa praktično nima več vpliva na zniževanje površinske napetosti, saj je površina že nasičena z molekulami surfaktanta, dodatne molekule pa se zgolj povezujejo v micelle [68]. Podatki o CMC za oba omenjena surfaktanta so navedeni v tabeli 4.1.3.

Nazadnje si oglejmo še polimer polivinil alkohol (PVA), ki sicer po definiciji ni surfaktant, se pa pogosto uporablja za stabilizacijo kapljic in ima podobno vlogo kot surfaktant. Polivinilni alkoholi so v vodi topni polimeri, ki se pridobivajo z alkoholizo polivinilnih acetatov. Njihove lastnosti so večinoma vezane na molekulsko maso in pripadajoče acetilne skupine. Molekulske mase teh polimerov se gibljejo med 10 in 200 tisoč g/mol [71], njihova osnovna molekulska struktura pa je prikazana na sliki 4.1.5. Lahko so hidrolizirani ali delno hidrolizirani. PVA proizvajalca Sigma-Aldrich, ki sem ga uporabljal pri eksperimentih, ima povprečno molekulsko maso med 13 in 23 tisoč g/mol in je od 87 do 89% hidroliziran. PVA dodajamo predvsem zaradi zmanjšanja površinske napetosti vode. V vodnih raztopinah namreč že manjše koncentracije PVA zagotovijo veliko znižanje površinske napetosti. Koncentracije med 1% in 2% so v večini primerov dovolj za stabilizacijo kapljic, saj je pri teh vrednostih že dosežena minimalna površinska napetost. Ta vrednost je okoli 45 mN/m, kar je precej, glede na to, da je površinska napetost vode brez surfaktanta okoli 70 mN/m. Pri višjih koncentracijah začne viskoznost raztopine hitro naraščati, kar je potrebno upoštevati pri eksperimentih, v kolikor uporabimo višje koncentracije [72].



Slika 4.1.5: Ponavljajoča se strukturna enota polivinil alkohola [73].

<b>Snov</b>	M [g/mol]	CMC [mmol/L]	$\gamma^*$ [mN/m]	Tip
SDS [74]	288.38	8.1	35	anionski
DTAB [75]	308.34	16.0	35	kationski
PVA [72]	$(13-23) \cdot 10^3$	/	45	polimer

Tabela 4.1.3: Molekulska masa (M), kritična micelarna koncentracija (CMC), površinska napetost v okolici CMC ( $\gamma^*$ ) in tip uporabljenih surfaktantov. Navedena površinska napetost je površinska napetost vodne raztopine z dodanim surfaktantom v okolici CMC. Za polimer PVA, pri katerem CMC ni določena, je navedena najnižja vrednost do katere lahko zniža površinsko napetost vodne raztopine (koncentracija okoli 1%).

### 4.1.5 Objektne stekla in steklene kapilare

Za sestavo mikrofluidičnih čipov sem uporabljal klasična objektne stekla velikosti  $76 \times 26$  mm in debeline 1 mm, proizvajalca Assistent. Kapljevine se pretakajo po kvadratni in okrogli kapilari, ki morata biti takšnih dimenzij, da se notranji premer kvadratne kapilare skoraj ujema z zunanjim premerom okrogle kapilare. Uporabil sem kapilare iz visokokakovostnega borosilikatnega stekla, z dolžino 15 cm. Kvadratna kapilara, proizvajalca AIT Precision Glass Technologies, ima notranji premer 1.02 mm, zunanji pa 1.50 mm, medtem ko je zunanji premer okrogle kapilare 1.00 mm, notranji premer pa 0.58 mm (proizvajalec Sutter Instrument). Notranji premer kvadratne in zunanji premer okrogle kapilare, se dobro ujemata, kar zagotavlja aksialno poravnano okrogle kapilare v kvadratni.

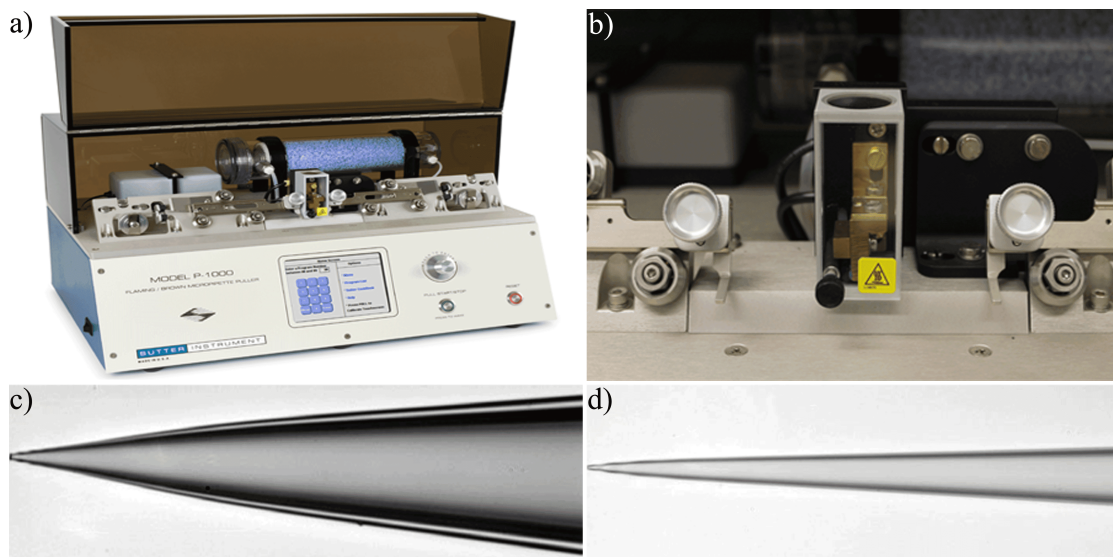
## 4.2 Eksperimentalna oprema

### 4.2.1 Obdelava in tanjšanje kapilar

Oblikovalec mikropipet proizvajalca Sutter Instrument, model P-1000 (slika 4.2.1a), je naprava za izdelovanje najrazličnejših steklenih mikropipet za uporabo pri med-celičnem snemanju, analizi celičnih membran (metoda *patch-clamp*), prenosu celic, za mikroinjiciranje in aspiracijo. Ključna elementa naprave sta vlečni mehanizem in grelni element (slika 4.2.1b). Vlečni mehanizem z veliko natančnostjo in možnostjo prilagoditve potega povleče kapilarno narazen, medtem ko jo grelni element predhodno segreje. Mehanizmu je dodana tudi možnost nastavitve različnih zaporedij potega kapilare, s katerimi lahko dosežemo različne tipe in oblike konic mikropipet [76]. Sam sem oblikovalec mikropipet uporabljal za izdelovanje konic steklenih okro-

## 4.2. EKSPERIMENTALNA OPREMA

glih kapilar, ki so v mikrofluidičnem čipu služile kot injekcijske ali zbiralne kapilare. Izkazalo se je, da so za dobro delujoče mikrofluidične čipe primerne kapilare s čim krajšo konico in posledično večjim kotom odpiranja proti premeru kapilare (slika 4.2.1c). Razlika med velikim in majhnim kotom odpiranja kapilare je prikazana na sliki 4.2.1, c in d.



Slika 4.2.1: a) Oblikovalec mikropipet Sutter P-1000. b) Grelni element na sredini slike ter vlečni mehanizem levo in desno od grelnega elementa. c) Kapilara s krajšo konico in z večjim kotom odpiranja ter d) z daljšo konico in manjšim kotom odpiranja proti premeru kapilare. [77].

Oblikovalec mikropipet ima možnost programiranja različnih postopkov, ki si jih lahko shranimo, tako da nam ni potrebno vedno znova nastavljati parametrov, saj lahko pri nadaljnji uporabi zgolj izberemo shranjen program. Ta funkcija je uporabna, ko večkrat oblikujemo enake pipete, saj se v shranjenem programu shranijo vsi parametri. Pred vsako prvo uporabo določenega tipa kapilare moramo opraviti kalibracijo oziroma izmeriti *ramp value*. To je vrednost, ki se določi glede na lastnost stekla kapilare in prepreči prekomerno segrevanje grelnega elementa, kar posledično prepreči poškodovanje elementa. Z zagonom *ramp testa* naprava samodejno poišče to vrednost. Pred začetkom testa vstavimo kapilaro v vlečni mehanizem tako, da jo previdno vpnemo na eni strani mehanizma in jo zapeljemo skozi grelni element do vlečnega mehanizma na drugi strani. Vlečni mehanizma sta zaklenjena z zatičem, ki ga pritismo preden oba konca mehanizma potegnemo skupaj in dokončno vpnemo kapilaro. Že vpeto kapilaro na eni strani nekoliko popustimo, toliko da jo lahko premaknemo in centriramo na sredino. Nato nežno privijemo vijaka za fiksiranje kapilare na obeh straneh vlečnega mehanizma. Kapilara je tako pravilno vstavljena

in pripravljena za test. V nastavitvah naprave poiščemo *ramp test* in ga zaženemo s pritiskom tipke *PULL*. Po končanem testu odstranimo kapilaro, vrednost pa shranimo v enega izmed programov (možnosti 0 do 99), tako da nam naslednjič, v kolikor uporabimo enak tip kapilare, testa ni potrebno ponavljati. Za različne tipe mikropipet imamo možnost spreminjanja štirih parametrov, ki so opisani v nadaljevanju [76, 77]:

- i. **Heat** - določa količino električnega toka, ki steče skozi grelni element. Priporočljivo je, da je vrednost enaka *ramp* vrednosti, saj v nasprotnem primeru lahko pride do poškodb grelnega elementa. Tudi sam sem pri vseh oblikovanjih kapilar to upošteval in te vrednosti nisem spreminjal.
- ii. **Pull** - določa silo potega vlečnega mehanizma, ki potegne kapilaro narazen. Večja kot je vrednost, manjši je premer odprtine in daljša je konica. Parameter lahko spreminjamo po 10 enot, saj so razlike pri manjših spremembah skoraj neopazne.
- iii. **Velocity** - hitrost premikanja vlečnega mehanizma v trenutku, ko se začne steklo taliti. Povezana je z viskoznostjo staljenega stekla in določa trenutek, v katerem se gretje ustavi in se začne hlajenje. Manjše kot so vrednosti, krajše so dobljene konice, vendar je potrebnih več zaporedij, da se kapilara pretrga. Tipične vrednosti za mikroinjekcijske igle so od 50 do 150.
- iv. **Time/Delay** - določa kako dolgo zrak hladi steklo in grelni element. Ko je dosežena točka hitrosti (*velocity*) se začne hkrati vlek (*pull*) in hlajenje (*time*). Ena enota predstavlja 0.5 milisekunde hlajenja, tipične vrednosti so okoli 150, kadar delamo s tankostenskimi kapilarami, in okoli 250, kadar uporabimo debelostenske kapilare. *Delay* je zgolj druga možnost, ki omogoča daljše čase hlajenja, hkrati pa določa časovni zamik med gretjem in začetkom potega. Najmanjši zamik v načinu *delay* je 300 ms. Večja kot je vrednost, bolj se bo steklo ohladilo pred potegom, krajše bodo konice in večji bo premer odprtine kapilare.
- v. **Pressure** - določa tlak zraka, ki ohladi steklo in grelni element. Podobno kot pri času hlajenja, je tudi pri tlaku; večja kot je vrednost, bolj se steklo ohladi in krajše so konice. Tipična vrednosti je 500 enot, kar predstavlja približno 14 kPa.

Glede na lastnosti opisanih parametrov, sem ugotovil vrednosti, ki so zagotovljale ustrezne rezultate za željen tip konice kapilare. Oblikovana konica s parametri iz tabele 4.2.1 je dolga med 2 mm in 3 mm, premer pa meri od 3  $\mu\text{m}$  do 5  $\mu\text{m}$ . Parametre,

## 4.2. EKSPERIMENTALNA OPREMA

---

podane v tabeli 4.2.1, sem uporabljal za oblikovanje večine kapilar za sestavljanje mikrofluidičnih čipov. Ko vse vrednosti parametrov vnesemo v napravo, vstavimo kapilaro, kot je opisano zgoraj, in zapremo pokrov naprave. Nato pritisnemo tipko *PULL* in počakamo, da se postopek opravi. Po končanem postopku dobimo dve kapilari s popolnoma enakima konicama. Previdno ju odstranimo tako, da najprej odvijemo vijak na vlečnem mehanizmu na eni strani in vzamemo kapilaro, nato enako ponovimo še na drugi strani.

Sekvenca	Heat	Pull	Velocity	Delay	Pressure
1	<i>ramp vr.</i>	0	20	1	500
2	<i>ramp vr.</i>	0	20	1	500
3	<i>ramp vr.</i>	0	20	1	500
4	<i>ramp vr.</i>	0	20	1	500

Tabela 4.2.1: Uporabljene vrednosti za oblikovanje konic kapilar. Postopek je potekal v štirih, po vrednostih enakih zaporedjih. S tem sem dosegel krajše konice s konstantnim kotom odpiranja. Vrednost *Heat* je nastavljena na *ramp* vrednost, kot je priporočeno, ta pa za uporabljeni tip kapilar znaša 478.

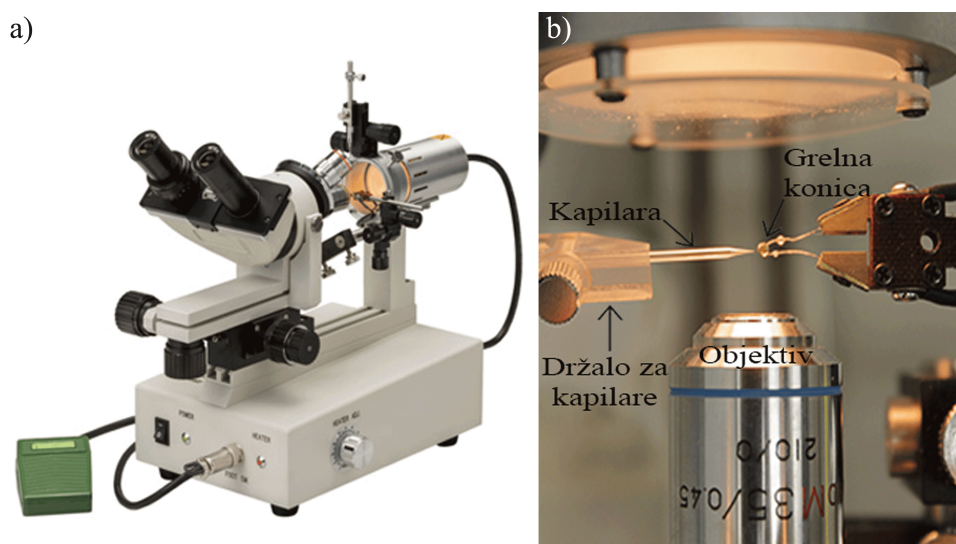
### 4.2.2 Krajšanje konic kapilar

Kapilare, ki jih pripravimo z oblikovalcem mikropipet, imajo premer odprtine konice med 3  $\mu\text{m}$  in 5  $\mu\text{m}$ , kar je premalo za uporabo v mikrofluidičnih čipih. Konico kapilare je zato potrebno skrajšati do željenega premera. Premeri kapilar, ki sem jih uporabljal v mikrofluidičnih čipih, so merili od 15  $\mu\text{m}$  do 250  $\mu\text{m}$ . Za krajšanje kapilar sem uporabljal dve metodi krajšanja, ki se razlikujeta glede na premer, ki sem ga želel doseči. Za kapilare z željenim premerom konice do 50  $\mu\text{m}$  sem uporabil t.i. *microforge*, za premere večje od 50  $\mu\text{m}$  pa kombinacijo rezanja in brušenja konice. Pred opisom metode krajšanja konic kapilar pa še nekaj besed o napravi za krajšanje kapilar.

*Microforge* proizvajalca Narishige, model MF-900 (slika 4.2.2a), je naprava za rezanje, upogibanje in toplotno poliranje konic mikropipet. Ključni elementi naprave so optični mikroskop in dva mikromanipulatorja. En manipulator je namenjen vpetju pipete, na drugem pa je nameščena grelna konica. Z manipulatorjema lahko zelo natančno približamo pipeto h grelni konici, katere gretje lahko vklopimo s pritiskom nožnega stikala, ki je povezano z napravo.

Pri metodi krajšanja konic kapilar z *microforge*m, najprej vpnemo kapilaro v posebno držalo za kapilare in ga nato vpnemo v manipulator. Z opazovanjem skozi objektiv mikroskopa previdno približamo konico kapilare h grelni konici, vendar se

konice še ne dotaknemo (slika 4.2.2b). Z nožnim stikalom vklopimo gretje konice. Konica je iz posebne vrste stekla, ki se ob vklopu grelca nekoliko stali in postane dovolj viskozno, da ko približamo kapilarno, le-ta vsrka staljeno steklo. Grelec izključimo in počakamo nekaj sekund. Zaradi predhodne ekspanzije in hitrega ohlajanja se konica kapilare odlomi. Kapilara se odlomi na mestu, do katerega se je vsrkalo staljeno steklo. Če se to ne zgodi samo od sebe, moramo z manipulatorjem zelo nežno potegniti kapilarno stran od grelne konice. V večini primerov se konica odlomi brez ostrih ali poševnih robov. V primeru, da se konica ne odlomi lepo, jo lahko še vedno popravimo z brušenjem, ki je bistvo druge metode za krajšanje kapilar, pri katerih želimo premer konice večji od  $50 \mu\text{m}$ . Metoda je opisana v nadaljevanju, v poglavju o sestavljanju mikrofluidičnega čipa.



Slika 4.2.2: a) Microforge Narishige MF-900 [78] in b) kapilara, ki je vpeta v držalo za kapilare in približana h grelni konici.

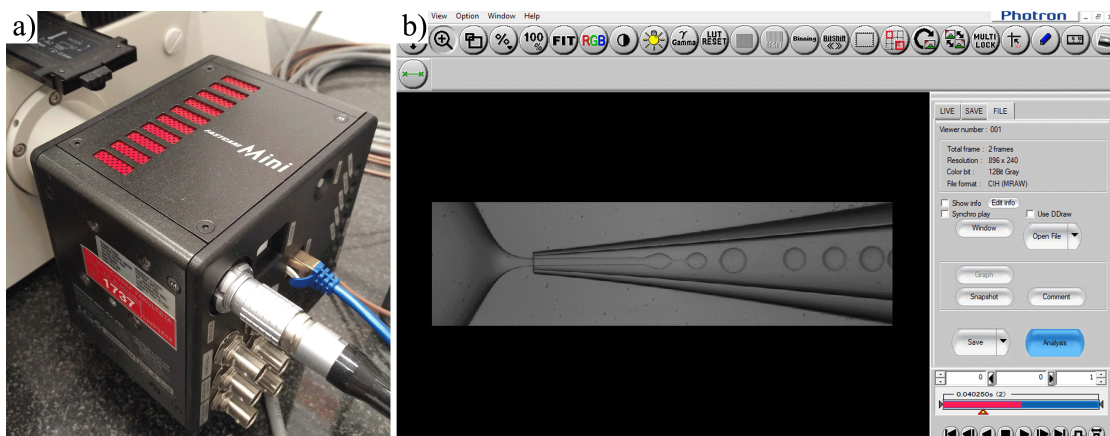
### 4.2.3 Hitra kamera

Kljub temu, da se v mikrofluidičnih čipih pretakajo relativno majhne količine kapljev, so pojavi zelo hitri in s prostim očesom skoraj nezaznavni, čeprav na prvi pogled morda ne bi ocenili tako. S tem mislim na tvorjenje kapljic ali dvojnih emulzij, katerih frekvenca tvorjenja je med 100 in nekaj 1000 kapljic na sekundo. Če želimo videti kaj se dejansko dogaja med tvorjenjem kapljice, potrebujemo kamero, ki zajema vsaj 10 krat več sličic na sekundo (fps), kot je frekvenca tvorjenja kapljic. To pomeni, da potrebujemo visokoločljivo *hitro kamero*, ki ima možnost zajemanja videoposnetkov do vsaj nekaj tisoč fps. Za snemanje tvorjenja kapljic sem uporabljal hitro kamero Photron Mini AX 200 (slika 4.2.3a). Gre za visoko zmogljivo hitro kamero, ki lahko snema z do 6400 fps v polni ločljivosti ( $1024 \times 1024$  pikslov).



## 4.2. EKSPERIMENTALNA OPREMA

Če ločljivost zmanjšamo, pa vse do 900 tisoč fps z najkrajšim časom osvetlitve 260 nanosekund [79]. Kamera je z računalnikom povezana z mrežnim kablom, ki omogoča dovolj hiter prenos podatkov, da lahko na računalniku spremljamo posnetek v realnem času. Spremljanje posnetkov na računalniku omogoča program PFV 3 (Photron), ki ima številne funkcije za analizo posnetka (slika 4.2.3b). Sam sem uporabljal predvsem funkcijo za merjenje dolžine, s katero sem določal premere kapljic. Za večino posnetkov sem uporabil hitrost zajemanja okoli 6000 fps, pri nekaterih, kjer je bilo tvorjenje kapljic zelo hitro, pa tudi do 10000 fps. Za nemoteno spremljanje posnetkov je potreben tudi visoko zmogljiv računalnik, ki lahko brez zamikov sprocesa vse podatke. Dobra procesorska zmogljivost in pomnilnik (RAM) velikosti od 16 Gb do 32 Gb, sta ključna za nemoteno spremljanje posnetkov. Posnetki so zaradi števila slik, nastalih v sekundi, zelo veliki, zato sem večinoma shranjeval posnetke z dolžino 300 slik oziroma v trajanju 0.05 sekunde, kar pomeni velikost posnetka okoli 100 Mb, pri ločljivosti  $900 \times 240$  pikslov.

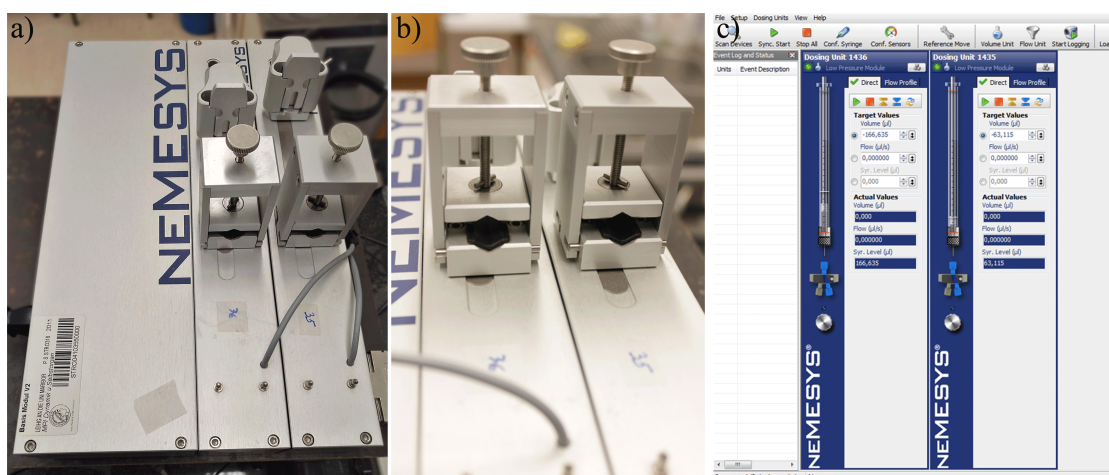


Slika 4.2.3: a) Visokoločljiva hitra kamera, nameščena na polarizacijski optični mikroskop. b) Kontrolno okno programa PFV 3.

### 4.2.4 Tlačna črpalka

Konstantni pretoki kapljevina po mikrofluidičnem čipu so ključni za uspešno tvorjenje kapljic ali emulzij. Pretoki morajo biti za stabilno in kontinuirano tvorjenje monodisperznih kapljic popolnoma stabilni, saj že relativno majhna nihanja v pretoku vplivajo na tvorjenje kapljic. Nestabilnosti vplivajo tako na velikost kapljic kot na spremembo režima tvorjenja. Za tako precizno kontrolo pretoka sem uporabljal dve napravi, ki se razlikujeta po načinu delovanja. Tlačna črpalka Cetoni Nemesys (slika 4.2.4a), poganja kapljevino s potiskanjem bata v injekcijski brizgi. Ta je fiksno vpeta v posebnem držalu (slika 4.2.4b), njen premikajoči del (bat) pa je vpet v držalo preciznega mehanizma, ki omogoča natančno premikanje bata in s tem zelo

precizno kontrolo pretoka kapljev in v območju nanolitrov. Najmanjši pretok, ki ga lahko črpalka zagotovi, je odvisen od velikosti (premera) uporabljene injekcijske brizge. Črpalka je povezana z računalnikom preko USB kabla, krmiljenje pretoka pa poteka s programom (slika 4.2.4c), ki omogoča nastavitve različnih profilov pretoka (sinusni, pulzirajoči, žagasti). Med uporabo tlačne črpalke je mikrofluidični čip s PTFE cevko neposredno povezan z injekcijsko brizgo, v kateri je kapljevina, ki jo pretakamo po čipu.

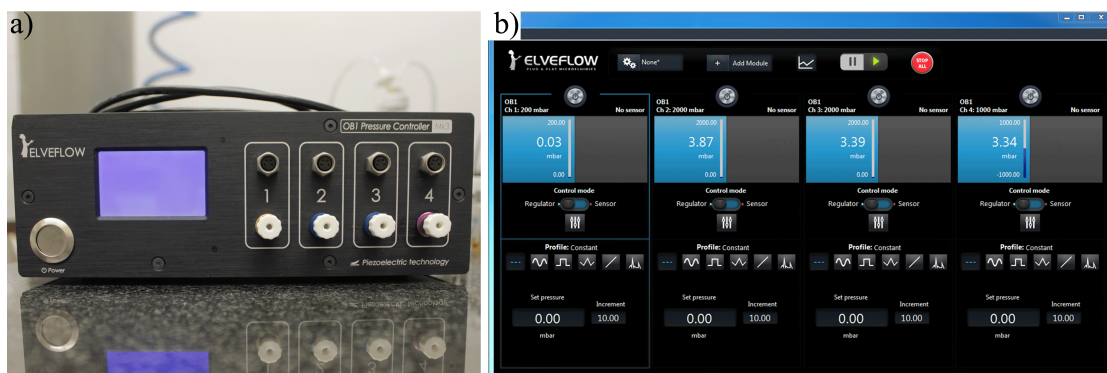


Slika 4.2.4: a) Tlačna črpalka Cetoni Nemesys. b) Posebno držalo za vpetje injekcijske brizge. c) Kontrolno okno programa za krmiljenje tlačne črpalke.

#### 4.2.5 Piezokontroler tlaka

Druga naprava, ki sem jo uporabljal za poganjanje kapljev in v mikrofluidičnih čipih, je piezokontroler tlaka Elweflow OB1 MK3 (slika 4.2.6a). Kontroler je priključen na zunanji izvor tlaka, katerega regulirajo piezoelektrični regulatorji v kontrolerju. Zahvaljujoč zelo natančnim in hitrim piezoelektričnim regulatorjem naprava zagotavlja stabilnost tlaka na 0.005% natančno, na spremembe pa se odzove v 9 milisekundah [80]. Poleg regulacije tlaka do 2 barov omogoča tudi *negativni tlak* do -1 bar. V tem primeru moramo na kontroler priključiti zunanjo vakuumsko črpalko. Upravljanje kontrolerja poteka s programom na računalniku (slika 4.2.6b), ki prav tako omogoča različne profile tlakov, podobno kot tlačna črpalka. Za razliko od tlačne črpalke so pri uporabi piezokontrolerja njegovi izhodi s silikonsko cevko povezani z rezervoarčki, v katerih je določena kapljevina. V rezervoarčkih se ustvari tlak, ki potisne kapljevino po PTFE cevki do čipa.

## 4.2. EKSPERIMENTALNA OPREMA



Slika 4.2.5: a) Piezokontroler tlaka Elveflow OB1 MK3. b) Kontrolno okno programa za upravljanje piezokontrolerja tlaka.

### 4.2.6 Polarizacijski optični mikroskop

Za eksperimentalno delo je bila nujna uporaba polarizacijskega optičnega mikroskopa. Z njim sem opazoval tvorjenje kapljic in analizo njihovih velikosti, ter topološke defekte v tekočerkristalnih kapljicah. Uporabljal sem invertirni optični polarizacijski mikroskop Nikon Eclipse Ti. Halogenska žarnica v mikroskopu osvetljuje vzorec od zgoraj navzdol. Svetloba potuje skozi vzorec do objektiv in naprej do okularja oziroma do CMOS senzorja hitre kamere ali fotoaparata. Objektivni so nameščeni pod mizico mikroskopa, na kateri je med eksperimentom mikrofluidični čip. Za opazovanje in proučevanje tekočih kristalov in topoloških defektov uporabljamo polarizirano svetlobo. Svetloba, ki prihaja iz halogenske svetilke je bela in nepolarizirana, zato kot takšna ni uporabna za proučevanje tekočih kristalov. V ta namen je vgrajen polarizator, skozenj vpade na vzorec polarizirana svetloba, ki gre na drugi strani vzorca še skozi analizator, ki je postavljen pod določenim kotom glede na polarizator. V kolikor sta polarizator in analizator poravnana pravokotno eden glede na drugega, skozi njiju svetloba ne pride, razen v primeru, ko je vzorec takšen, da zavrti polarizacijo vpadne svetlobe. Anizotropne lastnosti tekočega kristala, ki izhajajo iz podolgovate, nesferične oblike molekul, povzročijo, da je širjenje svetlobe odvisno od smeri in polarizacije vpadne svetlobe. Lomni količnik tekočega kristala ima zato dve komponenti, ki opisujeta hitrost širjenja svetlobe v dveh različnih smereh glede na optično os. Razliko med količnikoma imenujemo optična dvolomnost. Svetloba se zaradi te lastnosti po vpadu na optično dvolomno snov razdeli na dve med seboj neodvisni valovanji, polarizacija pa je po prehodu skozi tekoči kristal eliptična [49]. Zaradi zasuka polarizacije svetlobe na zaslonu znanimo sliko, kljub prekrižanima polarizatorjema. Tvorjenje kapljic in nastale vzorce sem opazoval z eno izmed treh povečav:  $3\times$ ,  $10\times$  ali  $15\times$ . Posnetke sem zajemal s hitro kamero, slike kapljic in emulzij pa z digitalnim fotoaparatom Canon EOS 750D, ki je na-

meščen na enem izmed izhodov mikroskopa in prav tako omogoča zajemanje video posnetkov, v glavnem pa je namenjen zajemanju visokokakovostnih slik statičnih vzorcev.



Slika 4.2.6: Polarizacijski optični mikroskop Nikon Eclipse Ti z nameščenim fotoaparatom za zajem visokoločljivih statičnih posnetkov (leva puščica) in visokoločljivo hitro kamero za snemanje hitrih mikroskopskih video posnetkov (desna puščica).

### 4.2.7 Optična pinceta

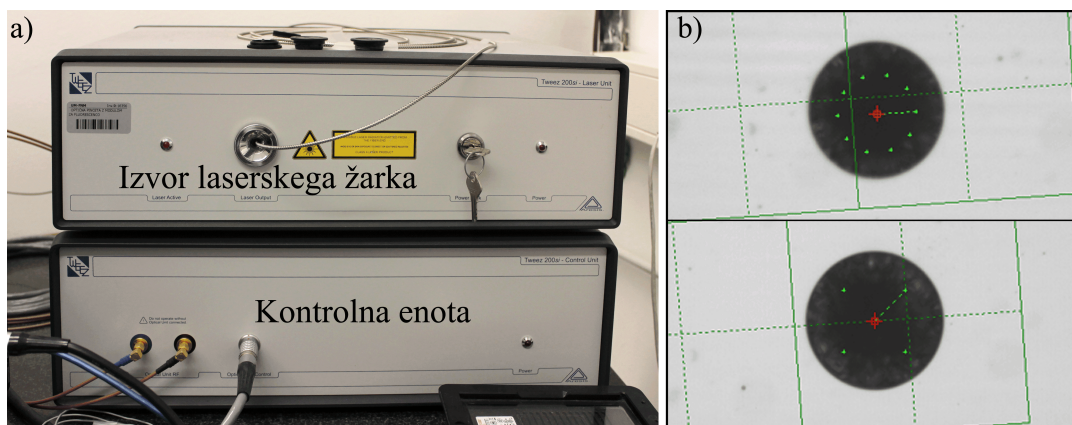
Optična pinceta je naprava, ki ustvari močno fokusiran snop laserske svetlobe, s katerim lahko premikamo delce velikosti mikrometrov. Fokusiran snop na dielektričnem objektu ustvari privlačno ali odbojno silo. Zaradi privlačne sile, ki ob ustrezni razliki lomnih količnikov med delcem in okoliško tekočino prevlada nad odbojno silo, se delec ujame v t.i. optično past in ga zato lahko premikamo. Princip ujetja delca v past temelji na odboju in sipanju svetlobe na delcu in posledični spremembi gibalne količine fotonov. Sipana svetloba ustvari *sipalno silo* v smeri širjenja svetlobe, odbita svetloba pa silo v nasprotni smeri. Vsota teh dveh sil je enaka nič, kadar je delec točno v središču pasti, zato tudi če delec ujamemo na robu pasti, se bo ta slej ko prej pomakal v fokus [81].

Pri eksperimentih sem uporabljal optično pinceto Aresis Tweez 200si (slika 4.2.7a), ki snop za manipulacijo delcev ustvari z laserjem z močjo 5 W in valovno dolžino svetlobe 1064 nm. Optična pinceta poleg velike natančnosti nudi še oblikovanje raz-

### 4.3. IZDELAVA MIKROFLUIDIČNIH ČIPOV

---

ličnih oblik pasti (krog, kvadrat, ipd.), ki jih je mogoče sestaviti iz več točkastih pasti (slika 4.2.7b), med katerimi lahko naprava preklaplja s frekvenco do 100 kHz. Ta optična pinceta je kompatibilna z Nikonovimi mikroskopi tipa Ti-U/E. Za manipulacijo optičnih pasti sem uporabljal programa Tweez in TweezLaser. V prvem programu imamo kontrolo nad samo pastjo, torej premikanje in oblikovanje pasti, v drugem pa nastavljamo moč laserja. Ta je v programu podana z jakostjo električnega toka, ki je približno sorazmerna z močjo laserja. Slike in videoposnetke pri manipulaciji z optično pinceto sem zajemal s fotoaparatom Canon EOS 750 D.



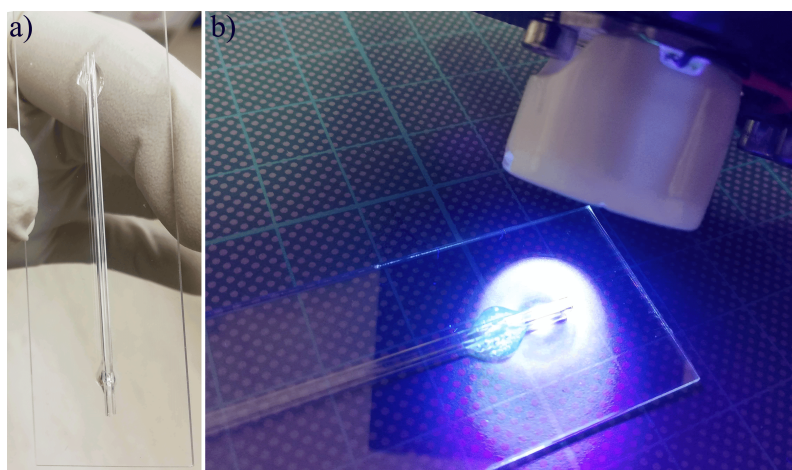
Slika 4.2.7: a) Optična pinceta Aresis Tweez 200si. b) Optična past v obliki kroga (10 točk) in v obliki kvadrata (4 točke).

## 4.3 Izdelava mikrofluidičnih čipov

### 4.3.1 Čip z zbiralno kapilaro

Za izdelavo mikrofluidičnega čipa si najprej pripravimo objektno steklo, ki ga temeljito očistimo z acetonom in nato še z izopropanolom. Steklo pred nadaljnjo uporabo osušimo s spihovaljem s čistim dušikom. S čiščenjem zagotovimo, da na steklu ni nečistoč, ki bi lahko vplivale na sprejemanje UV ali epoksi lepila s steklom. Nadaljujemo s pripravo kvadratne kapilare, ki jo z nožem za steklo odrežemo na željeno dolžino. Kapilara mora biti takšne dolžine, da je od obeh robov objektnega stekla oddaljena za približno 10 mm. Tako pripravljeno kapilaro očistimo z izopropanolom, spihamo z dušikom in z UV lepilom fiksiramo na objektno steklo (slika 4.3.1a). Lepilo nanese na obeh straneh, 5 mm od robov kapilare. UV lepilo se strdi šele, ko nanj posvetimo z UV svetlobo (slika 4.3.1b), zato lahko pred tem kapilaro, v primeru, da se premakne, poravnamo, nato pa posvetimo na lepilo in dokončno fiksiramo kapilaro.

V naslednjem koraku pripravimo okroglo kapilaro, ki smo jo predhodno že zožili z



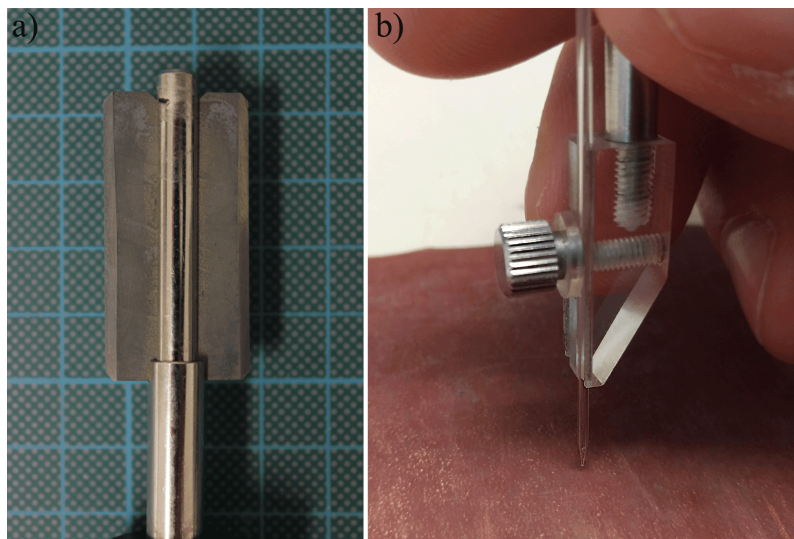
Slika 4.3.1: a) Kvadratna kapilara, fiksirana na objektno steklo. b) Aktiviranje UV lepila z UV lučko.

oblikovalcem pipet, zdaj pa jo želimo le še odrezati pri željenem premeru. To storimo z eno izmed prej opisanih metod, odvisno od premera kapilare, ki ga želimo. Za premere kapilar od 10 do 50  $\mu\text{m}$  uporabimo *microforge*, s katerim odlomimo kapilaro pri željenem premeru na način, ki je opisan v razdelku 4.2.2. Pri drugi metodi za oblikovanje kapilar z odprtino konice nad 50  $\mu\text{m}$  uporabimo nož za rezanje stekla (slika 4.3.2a) in vodobrusni papir z granulacijo vsaj 2500. Konico zožene kapilare najprej nežno podrsamo po rezilu noža, nato jo previdno odlomimo. Konica se odlomi na mestu, kjer smo z nožem naredili zarezo. Na ta način ne poznamo točnega premera konice, zato ga izmerimo pod mikroskopom. Do željenega premera pridemo z naknadnim brušenjem konice kapilare. Kapilaro držimo v posebnem držalu za kapilare in nežno brusimo pravokotno na brusni papir, saj odprtina ne sme biti pod kotom (slika 4.3.2b). Z brušenjem lahko popravimo tudi konice kapilar, ki se niso najlepše odlomile pri lomljenju z *microforge*m. Izkazalo se je namreč, da z brušenjem dobimo zelo ravne in neostre konice kapilar, kar je zelo pomembno pri uporabi čipa. Slabost metode brušenja kapilar je, da so konice kapilar po brušenju umazane in jih je potrebno temeljito očistiti z izopropanolom ter spihati z dušikom. Ko je kapilara ustrezno odrezana in očiščena, jo le še skrajšamo na dolžino, ki je nekaj mm daljša od polovice dolžine objektnega stekla. Skrajšamo jo ponovno tako, da z nožem za steklo naredimo zarezo in previdno odlomimo. Površino stekla kapilare silaniziramo, da postane hidrofilna. Silaniziramo jo z 1% raztopino hidrofilnega silana v prefiltrirani vodi MilliQ. Kapilaro s konico namočimo v raztopino. Zaradi kapilarnega dviga se raztopina dvigne po kapilari navzgor (dovolj je do polovice kapilare) in tako omoči notranjost kapilare, silan pa se veže na površino. Kapilaro spihamo z dušikom in jo ponovno potopimo v raztopino. Postopek ponovimo štiri krat, nato skozi kapilaro pretočimo deionizirano vodo, da odstranimo odvečni silan. Z dušikom spihamo

### 4.3. IZDELAVA MIKROFLUIDIČNIH ČIPOV

---

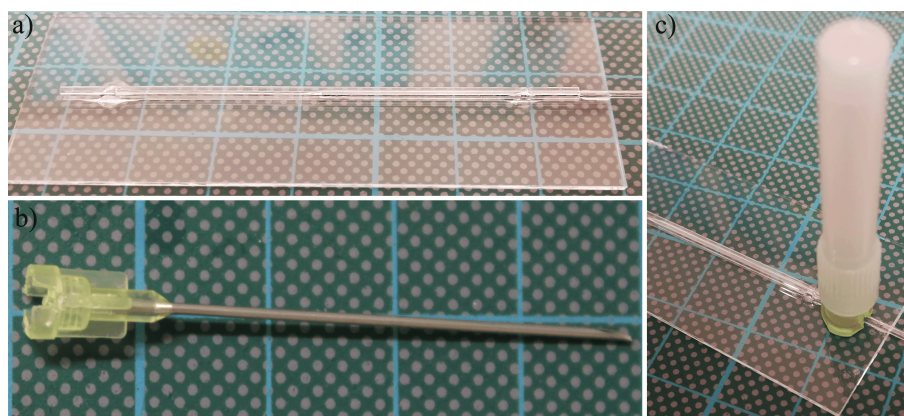
vso tekočino iz kapilare in jo postavimo v pečico na 105 °C za 35 minut. S tem dosežemo močno kemijsko vezavo silana na površino stekla. V kvadratno kapilaro,



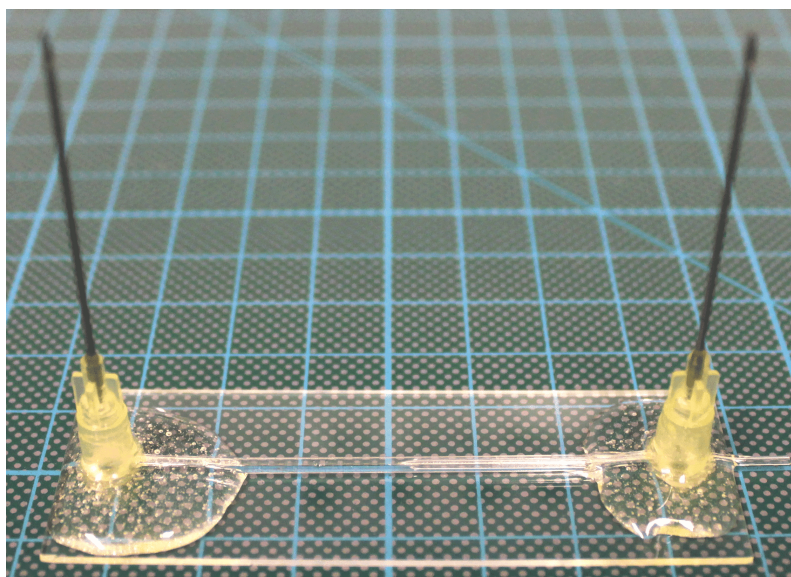
Slika 4.3.2: a) Nož za rezanje stekla. b) Brušenje konice kapilare pravokotno na podlago.

ki je že fiksirana na objektno steklo, previdno vstavimo ohlajeno okroglo kapilaro, ki sega od sredine kvadratne kapilare do približno 4 mm čez objektno steklo (slika 4.3.3a). Kapilaro na robu objektnega stekla fiksiramo z UV lepilom. Pri vstavljanju *zbiralne kapilare* moramo biti pozorni, da ne poškodujemo konice, pri nanašanju lepila pa, da nam le-to ne zamaši kvadratne kapilare. Za dotok kapljev in v kapilare uporabljamo medicinske igle s premerom 0.90 mm in 40 mm dolžine (proizvajalec B. Braun). Za ta tip čipa potrebujemo dve. Igli namestimo na obeh koncih kvadratne kapilare, še prej pa v plastični del na dnu igle zarezemo utor (slika 4.3.3b). Ta se mora dokaj tesno prilegati širini in višini kvadratne oziroma okrogle kapilare, saj je nameščena čez njo. Igla ima na strani, kjer ni vstavljene okrogle kapilare, zgolj en utor, igla na drugi strani pa dva, ki sta poravnana z lego okrogle kapilare. Igli namestimo tako, da je konec kvadratne kapilare točno na sredini plastičnega dela igle, nato pa ju fiksiramo z UV lepilom (slika 4.3.3c).

V zadnjem koraku le še zmešamo dvokomponentno epoksi lepilo in ga nanesemo okoli plastičnega dela medicinskih igel na objektno steklo. Nanesemo približno 1 mm debelo plast epoksi lepila, ki dobro zatesni čip. S tem je izdelava mikrofluidičnega čipa z zbiralno kapilaro končana (slika 4.3.4), za uporabo pa je pripravljen po približno 12 urah, ko se epoksi lepilo popolnoma posuši.



Slika 4.3.3: a) Kvadratna kapilara z vstavljenjo okroglo (zbiralno) kapilaro. b) Medicinska igla z utorom na plastičnem koncu igle. c) Čez kapilaro nameščena medicinska igla, pripravljena na fiksiranje z UV lepilom.



Slika 4.3.4: Dokončan mikrofluidični čip z zbiralno kapilaro.

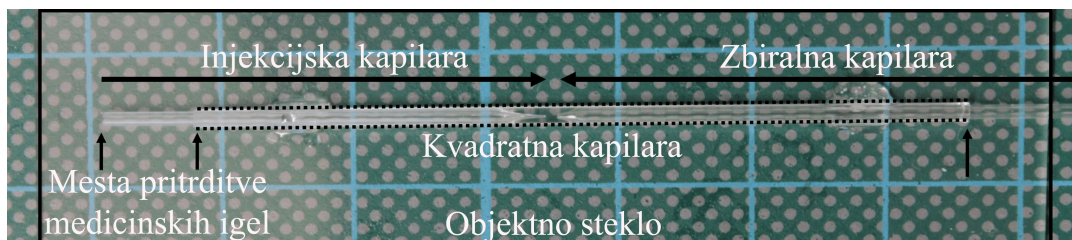
### 4.3.2 Čip z injekcijsko in zbiralno kapilaro

Sestavljanje mikrofluidičnega čipa z dvema kapilarama je podobno sestavljanju čipa, opisanjega v prejšnjem razdelku, zato na tem mestu ne bom opisal celotnega postopka, temveč zgolj korake izdelave, ki se razlikujejo. Ta čip ima za razliko od prejšnjega, poleg zbiralne kapilare še injekcijsko kapilaro, ki jo silaniziramo hidrofilno ali hidrofobno, odvisno od tega ali je čip namenjen tvorjenju kapljic ali dvojnih emulzij. Dolžina zbiralne kapilare je enaka kot pri čipu z eno kapilaro, dolžina injekcijske kapilare pa je približno 2 mm krajša od polovice dolžine objektnega stekla in približno 2 mm daljša od polovice dolžine kvadratne kapilare. Čip, ki je namenjen tvorjenju kapljic, ima obe kapilari silanizirani hidrofilno, medtem ko ima



### 4.3. IZDELAVA MIKROFLUIDIČNIH ČIPOV

čip namenjen tvorjenju dvojnih emulzij injekcijsko kapilaro silanizirano hidrofobno. Hidrofilno silanizacijo naredimo enako kot prej, hidrofobno silanizacijo pa tako, da kapilaro za 30 minut potopimo v 1% vodno raztopino hidrofobnega silana. Po pretečenem času skozi pretočimo deionizirano vodo, spihamo z dušikom in postavimo v pečico na 105°C za 35 minut. Injekcijsko in zbiralno kapilaro vstavimo v kvadratno kapilaro, vsako s svoje strani (slika 4.3.5). Zbiralno kapilaro fiksiramo tako, da je njena konica točno na sredini kvadratne kapilare, nato pa z druge strani previdno približamo še injekcijsko kapilaro. Kapilaro približujemo in poravnamo med opazovanjem pod mikroskopom. Pozorni moramo biti na razdaljo med konicama kapilar in na aksialno poravnano ob obeh kapilar. Razdalja med kapilarama je približno 100  $\mu\text{m}$ , razmerje velikosti premerov pa 1:2 za tvorjenje kapljic in 1:3 ali 1:4 za dvojne emulzije. Nameščeno injekcijsko kapilaro fiksiramo z UV lepilom. Ko so vse kapilare na svojem mestu, namestimo še medicinske igle za dotok kapljevine. Pri tem tipu čipa dodamo še eno iglo, saj moramo kapljevino dovesti tudi v injekcijsko kapilaro, zato sta sedaj na mestu, kjer je vstavljena injekcijska kapilara dve igli (slika 4.3.5); ena za dovod kapljevine v kvadratno kapilaro in druga za dovod kapljevine v injekcijsko kapilaro. Ponovno vse igle fiksiramo z UV lepilom, nato okoli njih nanesemo še epoksi lepilo.

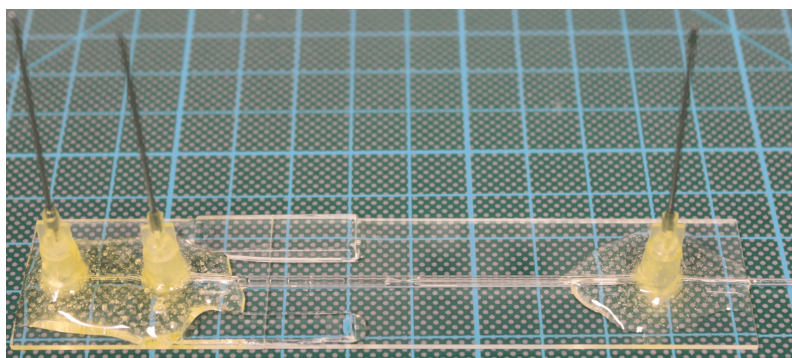


Slika 4.3.5: Objektno steklo z nameščeno kvadratno kapilaro v katero sta vstavljeni injekcijska in zbiralna okrogla kapilara.

Čeprav lahko čip sestavimo na zgolj enem objektnem steklu, se je izkazalo, da je podlago boljše podaljšati za polovico dolžine objektnega stekla. Igle za dovod kapljev in so v tem primeru nekoliko bolj narazen, okoli njih pa lahko nanesemo več epoksi lepila, kar poveča robustnost čipa (slika 4.3.6).

#### 4.3.3 Priprava na eksperiment

Mikrofluidični čip sem pred vsako uporabo očistil, ne glede na to ali je že bil uporabljen ali nov. Na medicinske igle sem najprej namestil PTFE cevke. Cevke povezujejo rezervoarčke in mikrofluidični čip ter služijo za dovod kapljev in v čip. Na konec zbiralne kapilare, ki sega čez rob objektnega stekla in služi kot izhod za kapljice, sem namestil silikonsko cevko, saj je ta bolj elastična in jo zato lažje namestimo



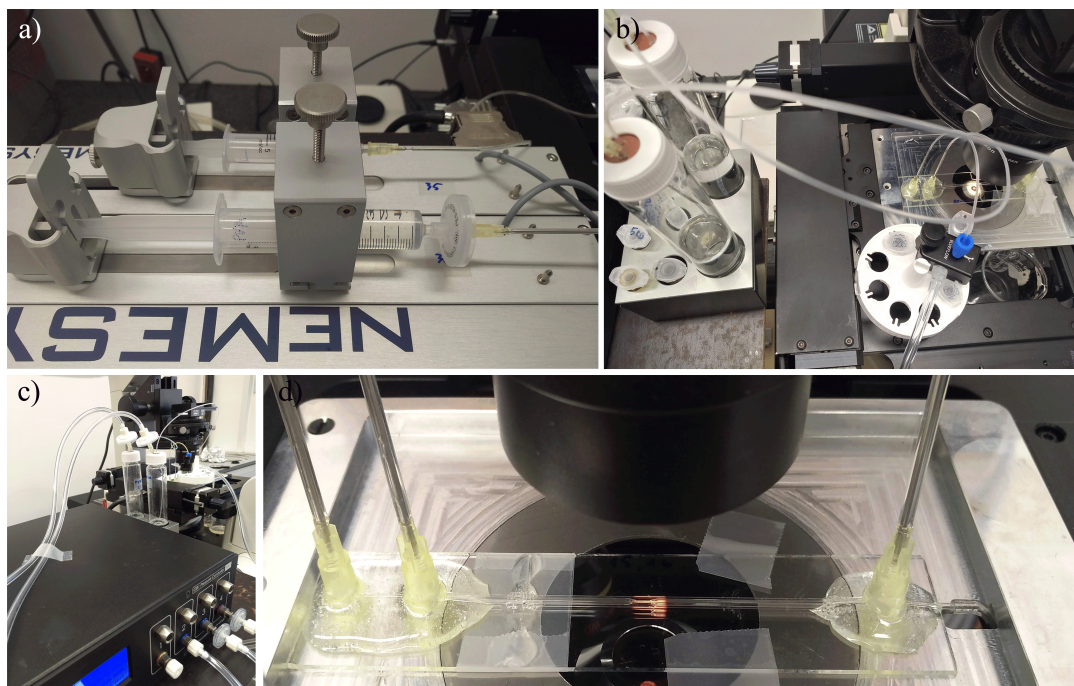
Slika 4.3.6: Mikrofluidični čip z injekcijsko in zbiralno kapilaro.

na izhodno stekleno kapilaro. V eno izmed PTFE cevok sem namestil medicinsko iglo z injekcijsko brizgo, v kateri je bilo 4 do 5 ml izopropanola, ki sem ga pretočil skozi čip. Za tem sem skozi čip pretočil še 5 do 10 ml deionizirane vode. Očiščen in z deionizirano vodo napolnjen čip sem postavil na mizico mikroskopa. Kadar sem za pretakanje tokov v čipu uporabljal tlačno črpalko, sem PTFE cevke na drugi strani namestil na medicinske igle na injekcijski brizgi, vpeti v držalo na črpalki (slika 4.3.7a). Ko sem uporabljal piezokontroler tlaka, sem PTFE cevke povezal z rezervoarčki, te rezervoarčke pa s kontrolerjem (slika 4.3.7, b in c). V obeh primerih sem silikonsko cevko namestil skozi odprtino na mizici in jo vstavil v rezervoarček za zbiranje kapljic (slika 4.3.7d).

Tlačno črpalko sem uporabljal zgolj za mikrofluidični čip z zbiralno kapilaro. V tem primeru sem pred zagonom črpalke na cevko za dovod silikonskega olja ali tekočega kristala namestil sponko, ki je preprečevala pretok. Čip sem nato napolnil z vodo s surfaktantom iz druge injekcijske brizge, potem sem vklopil črpalko, pretok nastavljal na  $0.1 \mu\text{l/s}$  in počakal, da v kapilarah ni bilo več zračnih mehurčkov. Pretok sem kasneje zmanjšal na okoli  $0.05 \mu\text{l/s}$ , prav tako sem na enako vrednost nastavljal pretok druge kapljevine in iz cevke odstranil sponko. Nekaj minut traja, da druga kapljevina priteče do zbiralne kapilare, nato pa se tvorjenje kapljic prične.

Tudi pri piezokontrolerju tlaka sem najprej s sponko prekinil dovod silikonskega olja ali tekočega kristala. V tem primeru sem čip napolnil z vodo s surfaktantom na drugačen način, in sicer tako, da sem v izhodno silikonsko cevko vstavil iglo z injekcijsko brizgo ter z nežnim potegom bata v njej ustvaril podtlak, ki je potisnil kapljevino iz rezervoarčka skozi čip do izhodne cevke. Ta način se je izkazal za zelo učinkovitega, saj sem hitro napolnil čip, hkrati pa iz njega uspešno odstranil zračne mehurčke. Iglo z injekcijsko brizgo sem nato odstranil, cevko pa vstavil nazaj v zbiralnik nastalih kapljic. Parametre za tlak vode s surfaktantom sem nastavljal na vrednost med 10 in 20 mbar, vrednost tlaka za silikonsko olje ali tekoči kristal pa 10 do 20 mbar višje. Hkrati sem odstranil tudi sponko, ki je preprečevala pretok

#### 4.4. PRIPRAVA MEŠANICE 5CB IN VODNE RAZTOPINE SDS Z BARVILOM



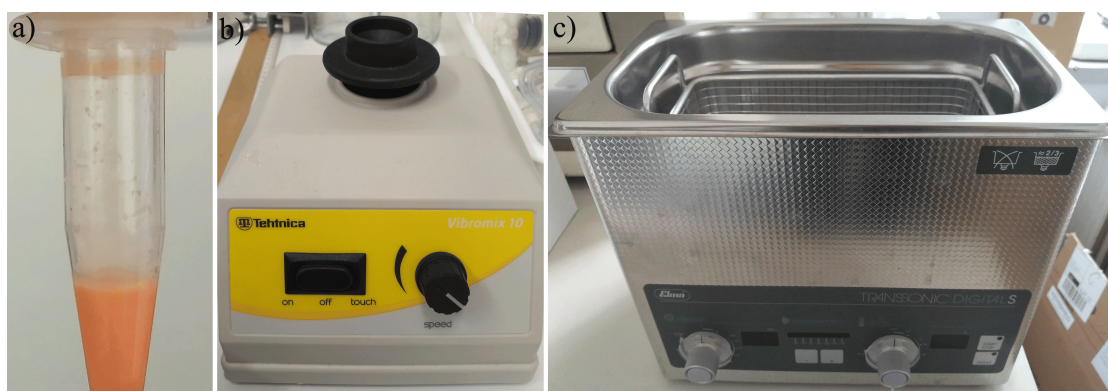
Slika 4.3.7: a) Tlačna črpalka z vpetima injekcijskima brizgama, ki sta s PTFE cevkami neposredno povezani z mikrofluidičnim čipom. b) Postavitev eksperimenta v primeru poganjanja tokov s piezokontrolerjem tlaka. Levo na sliki sta dva večja rezervoarčka za okoliško kapljevino, v držalu pri mikroskopski mizici pa manjši rezervoarček za dispergirano kapljevino. Rezervoarčki so s PTFE cevkami povezani z mikrofluidičnim čipom na mikroskopski mizici. c) Povezava piezokontrolerja tlaka z rezervoarčki. d) Mikrofluidični čip na mikroskopski mizici. Skrajno desno je odprtina za izhodno cevko pod katero je zbiralnik za nastale kapljice.

dispergirane kapljevine. Ponovno traja nekaj minut, da druga kapljevina priteče do zbiralne kapilare, nato pa se tvorjenje kapljic začne. Na tem mestu se eksperiment šele prične. Sledi uravnavanje in spreminjanje parametrov, ki nas privedejo do željene velikosti kapljic ali hitrosti produkcije. Več podrobnosti o teh parametrih sledi v poglavju Rezultati.

#### 4.4 Priprava mešanice 5CB in vodne raztopine SDS z barvilom

Za mešanico tekočega kristala 5CB in vodne raztopine SDS z barvilom, ki sem jo uporabljal za tvorjenje kapljic z dispergiranimi mikrokapljicami vode, sem najprej zmešal raztopino anionskega surfaktanta SDS v vodi. Uporabljal sem 8 mM koncentracijo, ki jo pripravimo tako, da v 100 ml deionizirane vode dodamo 0.2467 g

SDS ( $m_{\text{SDS}} = M_{\text{SDS}} \cdot m_{\text{raztopine}} \cdot c_{\text{raztopine}}$ ). Maso vode in maso raztopine lahko zaradi zelo majhne količine mase dodanega surfaktanta enačimo in razliko zanemarimo, saj gre v tem primeru za le 0.2 % napako. Raztopini dodamo še barvilo etiloranž (cca. 60 mg/100ml) ter mešanico postavimo na grelec z magnetnim mešalom in pustimo mešati vsaj pol ure pri temperaturi 70 °C. 20 % mešanico 5CB in raztopine SDS pripravimo tako, da v epico odmerimo 240  $\mu\text{l}$  tekočega kristala 5CB in dodamo 60  $\mu\text{l}$  pripravljene raztopine SDS z barvilom. Epico zapremo in jo vorteksiramo 5 minut pri 3000 obratih na minuto. Vorteksiranje premeša mešanico in omogoči, da se raztopina SDS v obliki mikrokapljic dispergira v tekočem kristalu (slika 4.4.1a). Po vorteksiranju (slika 4.4.1b) postavimo epico za 10 minut še v sonifikator (slika 4.4.1c), ki z ultrazvokom dispergirane mikrokapljice razprši na še manjše enote kot vorteksiranje. Sonifikator nastavimo na največjo moč sonifikacije brez opcije gretja. Ko sem mešanico vzel iz sonifikatorja, sem jo najprej še eno minuto vorteksiral, nato pa se takoj lotil tvorjenja kapljic. Mešanica mora biti čimbolj sveža za uspešno tvorjenje polnih tekočokristalnih kapljic z mikrokapljicami.



Slika 4.4.1: a) 0.3 ml pripravljene mešanice 5CB in vodne raztopine SDS z barvilom v epici. b) Stresalnik (vorteks) in c) sonifikator.

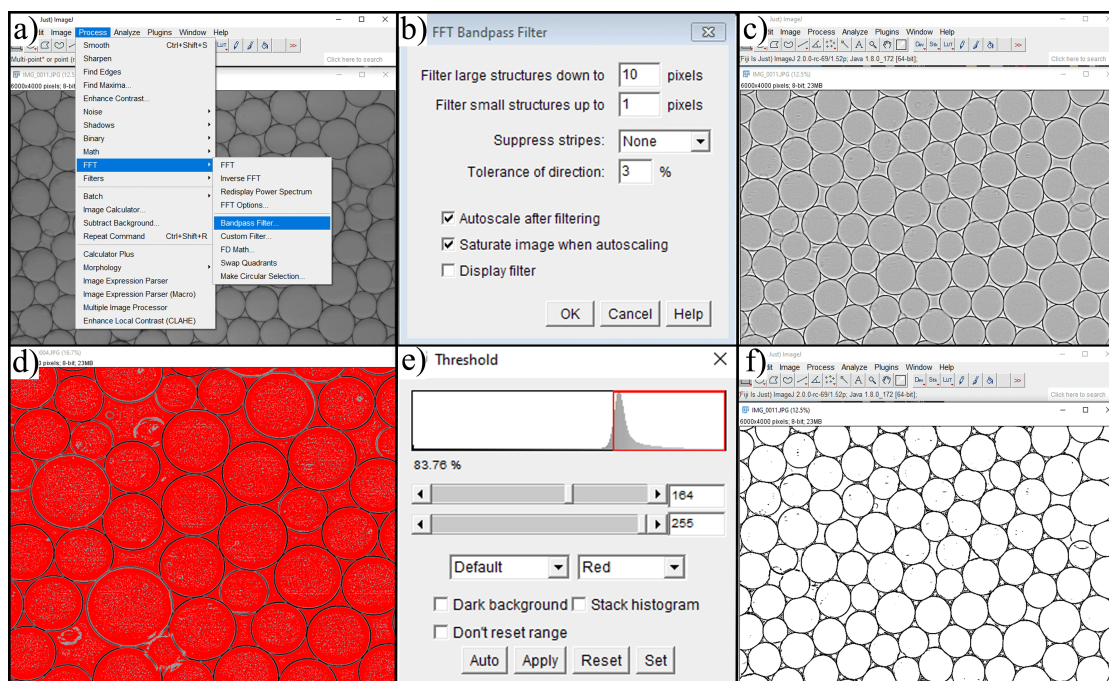
## 4.5 Analiza mikroskopskih slik in posnetkov

Za analizo slik in video posnetkov sem uporabljal prosto dostopen program ImageJ [82]. Program je namenjen raziskovanju in analiziranju mikroskopskih posnetkov, ima veliko vgrajenih funkcij, hkrati pa omogoča nameščanje novih in kreiranje lastnih vtičnikov. Funkcije, ki sem jih uporabljal za analiziranje posnetkov so že vgrajene v osnovno različico programa. V nadaljevanju bom opisal postopek analiziranja velikosti kapljic na mikroskopskem posnetku in predstavil še nekatere druge funkcije, ki sem jih uporabljal tekom analize.

Za katerokoli analizo je na začetku vedno smiselno nastaviti merilo, ki določa

koliko pikslov na sliki predstavlja določeno metrično razdaljo. To storimo z izbiro zavihka *Analyze* in *Set Scale*, kjer vnesemo podatke. Za analizo le določenega dela slike, ta del najprej označimo in nato s pritiskom desnega gumba na miški izberemo možnost *Duplicate*. Pojavi se novo okno z izbranim območjem, ki ga želimo analizirati. V primeru, ko želimo analizirati celotno sliko, tega ni treba narediti. Na sliko apliciramo pasovni filter, ki poudari kapljice in omogoča določitev mejne vrednosti, na podlagi katere se kasneje *izluščijo* kapljice. Pasovni filter nastavimo z izbiro zavihka *Process* in nadaljnjo izbiro *FFT* in *Bandpass Filter* (slika 4.5.1a). Pri nastavitvah, ki so na voljo, je za doseg najboljšega rezultata potrebno nekaj spreminjanja vrednosti, saj se nastavitve razlikujejo glede na kvaliteto in velikost slike. Vrednosti, ki sem jih uporabljal, so prikazane na sliki 4.5.1b, rezultat po uporabljenem filtru pa na sliki 4.5.1c. Nadalje uporabimo filter, s katerim določimo mejno vrednost, ki loči robove kapljic od ozadja (*Image, Adjust* in *Threshold*). Z drsniki prilagodimo mejno vrednost, ki mora biti takšna, da območje čimbolj oriše kapljice (slika 4.5.1, d in e). S tem dobimo črnobelo sliko z izrazitimi robovi kapljic (slika 4.5.1f). Sledi še zadnji korak, za katerega uporabimo orodje, ki je namenjeno analizi delcev, saj lahko nenazadnje tudi kapljice obravnavamo kot delce. Orodje najdemo pod zavihkom *Analyze* in *Analyze Particles*. Vrednosti, ki jih program določi sam, so sicer v redu, vendar jih je kljub temu potrebno nekoliko prilagoditi, da so rezultati čimbolj natančni. Detekcija kapljic se zelo izboljša, če omejimo najmanjšo velikost (*Size*) najdenih delcev na približno velikost najmanjše kapljice. V nasprotnem primeru program detektira majhne površine med kapljicami, ki jih zazna kot delce, kar pa seveda ni v redu. Določimo lahko tudi obliko detektiranega delca (*Circularity*), ki določa podobnost delca krogu. Da sem se izognil detekciji nepravilnih delcev, sem vrednost nastavil med 0.6 in 1.0. Na ta način je bila detekcija kapljic zelo dobra in natančna. Program nam lahko vrne več podatkov o posameznem delcu, vendar je za kasnejšo analizo porazdelitve kapljic po velikosti relevanten le podatek o površini delca oziroma kapljice. Iz površine sem namreč kasneje izračunal premer kapljice. Podatke sem nato le še uvozil v program za risanje grafov Origin in narisal porazdelitev po premerih kapljic.

S programom je mogoče tudi ročno izmeriti dolžino in ploščino ter med drugim tudi povprečno intenziteto označenih področij na posnetku. Ta orodja sem uporabljal predvsem pri analizi posameznih kapljic, ko sem analiziral sproščanje vodnih mikrokapljic iz tekočerkristalne kapljice. Ploščino, povprečno intenziteto in druge meritve nam program vrne z ukazom *Analyze* in *Measure*. Povprečna intenziteta slike je povprečje odtenkov vseh pikslov na sliki. Podatek se je izkazal za uporabnega pri sproščanju iz tekočerkristalnih kapljic, saj je na začetku, ko je kapljica polna vodnih mikrokapljic, njena površina precej temna, s sproščanjem pa postaja čedalje bolj svetla, odtenek pa podoben odtenku prazne kapljice. Sproščanje iz tekočerkri-



Slika 4.5.1: a) Mikroskopski posnetek kapljic in izbira *Bandpass* filtra. b) Nastavitve parametrov *Bandpass* filtra. c) Slika kapljic po uporabi filtra. d) Primerna izbira mejne vrednosti *Threshold*. Pri izbiri mejne vrednosti se območje obarva bolj ali manj rdeče, odvisno od nastavitve parametrov. e) Parametri mejne vrednosti *Threshold*. f) Slika kapljic po nastavitvi mejnih vrednosti, primerna za nadaljnjo analizo kapljic.

stalnih kapljic sem analiziral tudi iz videoposnetkov. Ker je sproščanje povezano s povprečno intenziteto, sem posnetek analiziral tako, da sem dobil graf časovne odvisnosti povprečne intenzitete. Najprej sem označil območje nahajanja kapljice in pod zavihkom *Image* izbral *Stacks* in *Plot Z-axis Profile*. Program analizira vsako sliko videoposnetka posebej, zato je končni rezultat podan kot povprečna intenziteta posamezne slike v videoposnetku.

# Poglavje 5

## Rezultati

### 5.1 Tvorjenje kapljic s čipom z zbiralno kapilaro

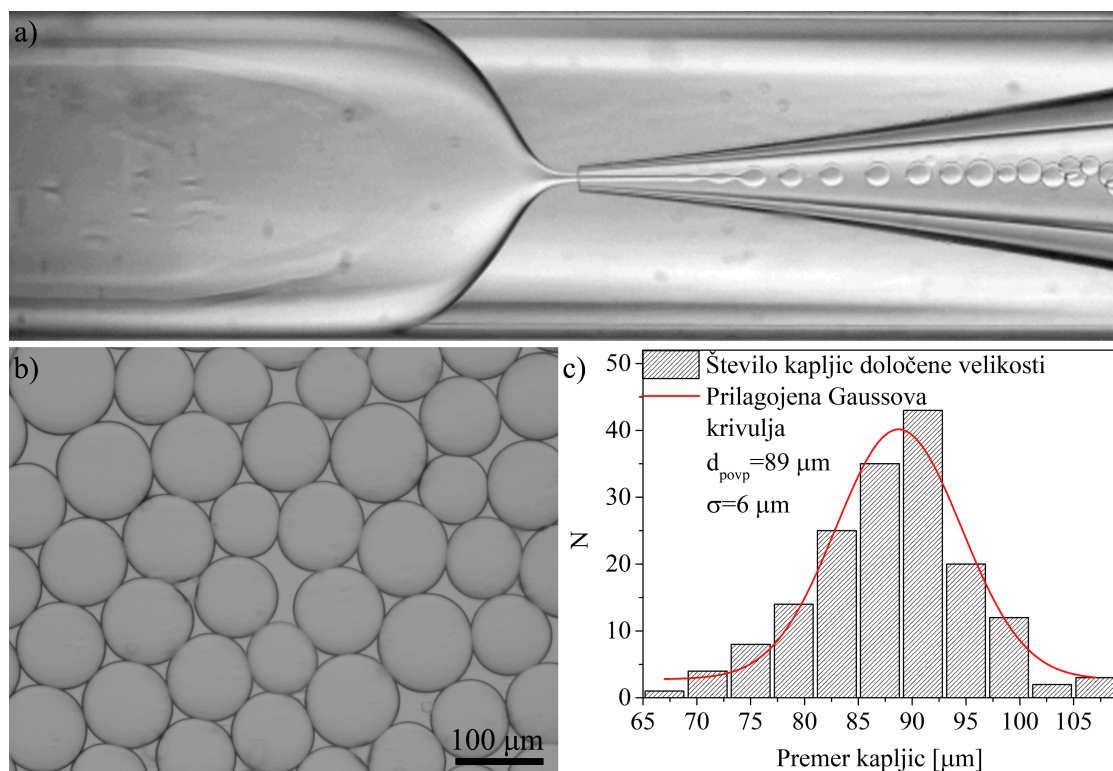
Tvorjenje enojnih emulzij z eno (zbiralno) kapilaro je mogoče z reguliranjem pretoka dveh nemešljivih kapljev in po kapilarah mikrofluidičnega čipa. Kapljevini lahko pretakamo s piezokontrolerjem tlaka ali s tlačno črpalko. Oba načina sem preizkusil, a večjih razlik nisem zaznal, saj obe napravi zagotavljata dovolj stabilen pretok za uspešno tvorjenje enojnih emulzij. Kapljice z enakim čipom sem uspel tvoriti tako s piezokontrolerjem tlaka kot s tlačno črpalko. Izpostavil bi le počasnejšo odzivnost tlačne črpalke pri zmanjšanju pretoka. Črpalka je sicer odzivna v istem trenutku, ko spremenimo določen parameter, vendar je za vzpostavitev zmanjšane pretoka potreben določen čas. Ta čas je krajši pri manjših absolutnih pretokih in daljši pri večjih pretokih. Zakasnitev je odvisna tudi od premera kapilare; manjši kot je premer, večja bo zakasnitev in obratno. Ko zmanjšamo pretok, mora določena količina kapljevine steči skozi zbiralno kapilaro, da se stanje ponovno normalizira in vzpostavi manjši pretok. Tlačna črpalka regulira pretok s koračnim motorjem in ne s senzorjem pretoka, kar pomeni, da s spremembo pretoka v bistvu spremenimo hitrost vrtenja koračnega motorja in ne dejanskega pretoka. Po določenem času sta ti dve količini sinhronizirani, ampak kot že omenjeno, prihaja do zakasnitev - od okoli sekunde pri večjih pretokih do desetinke sekunde pri manjših pretokih. Zakasnitev pri pretokih okoli  $0.1 \mu\text{l/s}$  je skoraj zanemarljiva, kljub temu pa jo je potrebno vzeti v zakup pri večjih vrednostih. Piezokontroler tlaka uporablja senzor tlaka, kar pomeni, da je odzivnost pri spreminjanju pretokov hitrejša. To je tudi glavna prednost piezokontrolerja, čeprav ob upoštevanju omenjenih omejitev obe napravi omogočata kontrolirano in stabilno tvorjenje enojnih emulzij. Ker sem pri eksperimentih uporabljal obe napravi, bo v nadaljevanju govora, tako o tlakih kot o pretokih. Količini sta namreč linearno povezani, torej povečevanje tlaka pomeni tudi povečevanje pretoka in obratno.

Tvorjenje kapljic z mikrofluidičnim čipom z geometrijo fokusiranja toka z eno kapilaro sem raziskal s produciranjem oljnih in tekočerkristalnih emulzij v vodi z dodanim surfaktantom PVA. Količina dodanega PVA v vodi, ki je zadostovala za stabilizacijo kapljic, je bila med 1 in 2 težnega %. Stabilizacijo tekočerkristalnih kapljic zagotovimo z nekoliko višjo koncentracijo, za oljne kapljice pa večinoma zadostuje že koncentracija 1 težnega %. Uporabil sem več čipov z zbiralnimi kapilarami različnih premerov in z različnimi oblikami konic. Po nekaj testih različnih konic sem ugotovil, da se konice z večjim konusom bolje obnesejo, saj dispergirana kapljevina ne steče tako globoko v notranjost zbiralne kapilare, kjer se kasneje odtrga in nastane kapljica, vendar se to zgodi bistveno prej. Ker se konica hitreje razširi, lahko okoliška kapljevina prej oblije dispergirano kapljevino, kar povzroči odtrganje kapljevine in nastanek kapljice. S konicami z manjšim konusom je tvorjenje kapljic precej nepredvidljivo, zato sem v nadaljevanju eksperimente izvajal zgolj s čipi z zbiralno kapilaro, ki je imela večji konus.

Ključni parametri, ki vplivajo na velikost kapljic, so premer zbiralne kapilare, pretok dispergirane in okoliške kapljevine ter razmerje med njima. Ker je bil cilj tvoriti čim manjše in monodisperzne kapljice, je bil poudarek predvsem na kapljicah s premerom pod  $100\ \mu\text{m}$ . Tvorjenje večjih kapljic ne predstavlja takega problema, saj lahko za njihovo produciranje uporabimo čipe s premeri kapilar nad  $80\ \mu\text{m}$ , pri katerih je možnost zamašitve bistveno manjša. S čipom z zbiralno kapilaro s premerom  $70\ \mu\text{m}$  in s silikonskim oljem z viskoznostjo  $20\ \text{cSt}$  sem uspel tvoriti kapljice s premerom med  $70$  in  $130\ \mu\text{m}$ , vendar zgolj v režimu curljanja, kar se odrazi v polidisperznosti kapljic. Tlaka dispergirane in okoliške kapljevine sta bila primerljiva, najmanjše kapljice s premerom okoli  $90\ \mu\text{m}$  pa sem dobil pri tlaku  $30\ \text{mbar}$  za obe kapljevini (slika 5.1.1). Pričakoval sem, da bo višanje tlaka vodilo do nastanka manjših kapljic, vendar se je njihov premer povečal. Morda bi se pri dovolj visokih tlakih razvil t.i. ozek tok oziroma curek in bi iz njega nastale bistveno manjše kapljice, vendar se pri tlakih, ki sem jih testiral (do  $300\ \text{mbar}$ ), to ni zgodilo. Pri tlaku  $45\ \text{mbar}$  (obe kapljevini) so bile velikosti kapljic med  $90$  in  $110\ \mu\text{m}$ , pri tlaku  $60\ \text{mbar}$  pa že med  $110$  in  $130\ \mu\text{m}$ . Nekaj manevrskega prostora imamo še pri razmerju med obema tlakoma. Velikost kapljic se namreč zmanjšuje s povečevanjem tlaka okoliške kapljevine. Ta posledično potiska dispergirano kapljevino stran od odprtine kapilare, zato se ustvarja vedno bolj ozek curek proti odprtini, kar vodi do zmanjšanja velikosti kapljic. Vendar to ne gre v nedogled, saj se pri določenem tlaku dispergirana kapljevina preveč odmakne od odprtine, tvorjenje kapljic pa se s tem prekine. Režima kapljanja, v katerem bi lahko nastajale zelo monodisperzne kapljice, v tem primeru nisem uspel vzpostaviti niti pri zelo majhnih tlakih. Frekvenca nastajanja kapljic se je gibala med  $200$  in  $300\ \text{s}^{-1}$ . Z namenom produciranja manjših kapljic sem sestavil čip z manjšimi premeri zbiralnih kapilar. Preizkusil



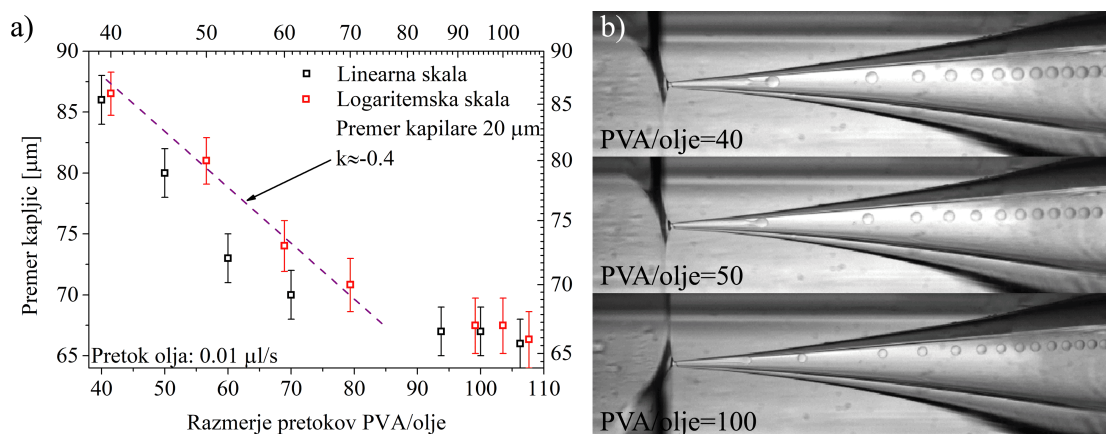
## 5.1. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z ZBIRALNO KAPILARO



Slika 5.1.1: a) Tvorjenje polidisperznih oljnih kapljic pri tlaku 30 mbar in b) Mikroskopska slika nastalih kapljic in c) njihova porazdelitev po velikosti ( $N_{\text{kapljic}}=175$ ).

sem čipe z odprtinami zbiralne kapilare med 10 in 50  $\mu\text{m}$ . Pri čipih s premerom zbiralne kapilare, manjšim od 50  $\mu\text{m}$ , se začnejo pojavljati težave. Glavna težava je delna ali popolna zamašitev kapilare. Pri tako majhnih premerih je problem že prašni delec, saj lahko pri konici močno ovira pretok. Čeprav so vse kapljevine filtrirane, se majhni delčki slej ko prej pojavijo v čipu. Poleg prahu se pojavi še kakšen okrušek teflonske cevke za dotok kapljevine, ki je nameščena na medicinsko iglo na čipu. Notranjost cevke se namreč pri nameščanju na iglo rahlo poškoduje, delčki pa kasneje s kapljevino zaidejo v notranjost čipa. Prašnim delcem bi se načeloma dalo izogniti v čisti sobi, morebitnim delčkom iz cevk pa z le enkratnim natikanjem na mikrofluidični čip. To je pri testiranju čipov sicer težko, saj imamo precej opravka s čiščenjem zaradi uporabe različnih kapljevin, ne bi pa smel biti problem pri čipu, ki je v konstantni uporabi z enakimi kapljevinami. Kljub številnim težavam z zamašitvami, sem po več testih z dvema čipoma z odprtinama zbiralnih kapilar 15  $\mu\text{m}$  in 20  $\mu\text{m}$ , uspel dobiti stabilno tvorjenje kapljic silikonskega olja z viskoznostjo 500 cSt. Večjo viskoznost sem izbral z namenom preveriti, kakšen je vpliv viskoznosti dispergirane kapljevine. Poleg tvorjenja čim manjših monodisperznih kapljic me je zanimalo tudi kaj se dogaja, ko že imamo vzpostavljeno stabilno produkcijo kapljic in povečujemo pretok okoliške kapljevine. Ko sem vzpostavil stabilno tvor-

jenje kapljic, sem pustil pretok dispergirane kapljevine na konstantni vrednosti in spreminjal le pretok okoliške kapljevine. V tem primeru mora biti pretok okoliške kapljevine že v osnovi večji od pretoka olja, vzrok za to pa je bistveno večja viskoznost silikonskega olja. Pričakovano se velikost kapljic zmanjšuje (slika 5.1.2a), a le do določene velikosti. Kmalu zatem, ko je minimalna velikost dosežena, je pretok okoliške kapljevine že tako velik, da se dispergirana kapljevina od odprtine odmakne, tvorjenje kapljic pa se preneha. Zmanjševanje velikosti kapljic s povečevanjem razmerja med raztopino PVA in oljem sledi potenčni funkciji z eksponentom  $-0.4$ . Kljub temu, da se z večanjem viskoznosti poveča kapilarno število, s tem pa je preferiran režim curljanja, se je v tem primeru vzpostavil režim kapljanja in posledično tvorjenje monodisperznih kapljic (slika 5.1.2b). Najmanjša velikost kapljic, ki jo je bilo možno tvoriti s tem čipom, je bila  $67 \pm 3 \mu\text{m}$  s frekvenco tvorjenja do okoli  $50 \text{ s}^{-1}$ . Ker s pravkar predstavljenim čipom nisem dosegel velikosti kapljic pod  $50 \mu\text{m}$ ,

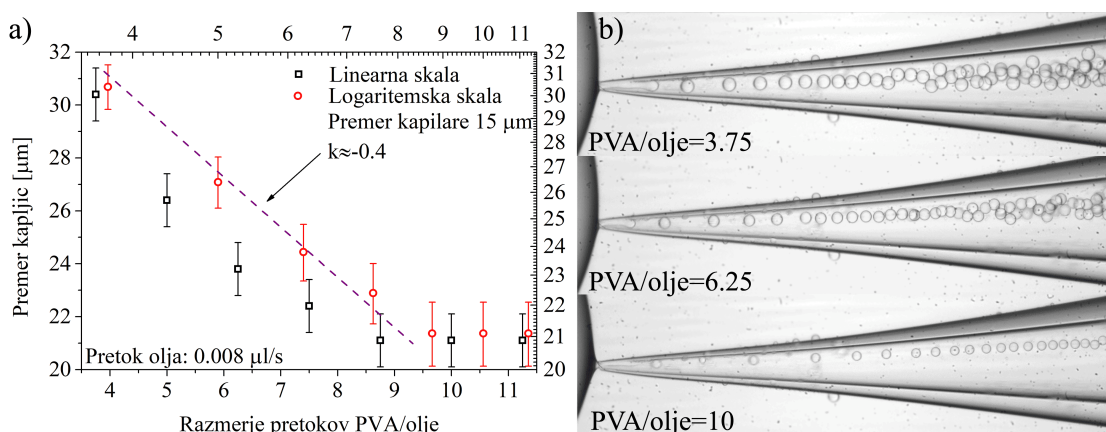


Slika 5.1.2: a) Graf velikosti kapljic v odvisnosti od razmerja pretokov okoliške in dispergirane kapljevine, tvorjenih s čipom z  $20 \mu\text{m}$  široko odprtino zbiralne kapilare. Črni kvadratici prikazujejo odvisnost na linearni skali (levo in spodaj), rdeči pa na logaritemski skali (desno in zgoraj). Z vijolično črtkano črto je narisana prilagoditvena premica z naklonom  $-0.4$  za logaritemske vrednosti. Napaka meritve je tudi ocena za stopnjo monodisperznosti. b) Tvorjenje kapljic pri različnih vrednostih razmerij pretokov med kapljevina.

sem preizkusil še čip s premerom odprtine  $15 \mu\text{m}$ . V tem primeru je prihajalo še do večjih težav, predvsem z delnimi zamažitvami odprtine, kar je pomenilo ponovno čiščenje čipa in ponovitev eksperimenta. Vseeno mi je po več ponovitvah uspelo vzpostaviti kontinuirano produkcijo, tako da sem lahko raziskal, kakšen je vpliv manjše odprtine. Izkaže se, da je zmanjšanje premera odprtine bistveno pripomoglo k zmanjšanju velikosti kapljic. Najmanjše kapljice, ki jih je bilo mogoče tvoriti s tem čipom, so imele premer  $21 \pm 1 \mu\text{m}$ . Nastale kapljice so monodisperzne, saj so nastajale v režimu kapljanja (slika 5.1.3b), frekvenca tvorjenja pa je bila nekajkrat

## 5.1. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z ZBIRALNO KAPILARO

večja kot v prejšnjem primeru, od  $150 \text{ s}^{-1}$  do  $200 \text{ s}^{-1}$ . Velikost kapljic se enako kot pri čipu z večjo odprtino zbiralne kapilare zmanjšuje s povečevanjem pretoka okoliške kapljevine in s tem razmerja pretokov obeh kapljev (slika 5.1.3a). Izkaže se celo, da je trend zmanjševanja velikosti kapljic podoben, saj enako kot v prejšnjem primeru sledi potenčni funkciji z enakim naklonom  $k \approx -0.4$ . Manjši premer zbiralne kapilare torej bistveno pripomore k zmanjšanju nastalih kapljic. Se pa z zmanjšanjem premera poveča možnost zamašitve, kar omejuje dejansko uporabnost takšnega mikrofluidičnega čipa, saj je tvorjenje kapljic velikokrat neuspešno. Tekoči



Slika 5.1.3: a) Graf velikosti kapljic v odvisnosti od razmerja pretokov okoliške in dispergirane kapljevine, tvorjenih s  $15 \mu\text{m}$  široko odprtino zbiralne kapilare. Črni kvadratici prikazujejo odvisnost na linearni skali (levo in spodaj), rdeči krogi pa na logaritemski skali (desno in zgoraj). Z vijolično črtkano črto je narisana prilagoditvena premica za logaritemske vrednosti z naklonom  $-0.4$ . Napaka meritve je tudi ocena za stopnjo monodisperznosti. b) Tvorjenje kapljic pri različnih vrednostih razmerij pretokov med kapljevina.

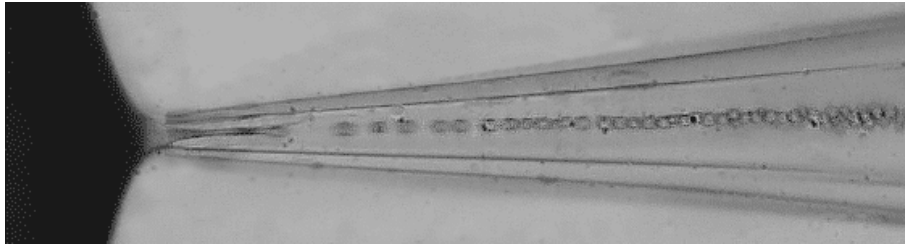
kristal ima zaradi anizotropnih lastnosti v nematski fazi kar tri neodvisne komponente viskoznosti, kar vpliva tudi na tvorjenje kapljic. Za tvorjenje tekočokristalnih kapljic sem uporabljal nematski tekoči kristal 5CB, 2.5% vodno raztopino PVA z dodanim glicerolom (volumsko razmerje 1:1) in čip z geometrijo fokusiranja toka z zbiralno kapilaro s premerom konice  $25 \mu\text{m}$ . Dodani glicerol poveča viskoznost okoliške kapljevine, torej vode. To pomeni, da je razlika v viskoznosti med dispergirano in okoliško kapljevino manjša. Kinematična viskoznost mešanice glicerola in vode v volumskem razmerju 1:1 je namreč okoli 7 cSt [83], viskoznost tekočega kristala (od 20 do 40 cSt) pa je v obeh smereh, razen v smeri toka primerljiva s silikonskim oljem z viskoznostjo 20 cSt. Prav tako sta primerljivi površinski napetosti obeh kapljev. Večjo viskoznost okoliške kapljevine sem izbral zaradi predhodnih težav s tvorjenjem tekočokristalnih kapljic z raztopino PVA brez dodanega glicerola. Manjših kapljic mi namreč ni uspelo tvoriti, hkrati tudi ni bilo mogoče zagotoviti stabilne produk-

cije kapljic. Z večjo viskoznostjo okoliške kapljevine se povečajo zunanje viskozne sile, ki fokusirajo dispergirano kapljevino v curek, kar lahko pripomore k zoženju curka in tvorjenju manjših kapljic. Zaradi večjih zunanjih viskoznih sil, ki delujejo na dispergirano kapljevino, je pričakovati daljši curek dispergirane kapljevine in s tem tvorjenje kapljic v režimu curljanja. Izkazalo se je, da je dejansko edini opaženi režim tvorjenja kapljic curljanje z zoženim tokom (slika 5.1.4). Monodisperznih kapljic zato ni bilo mogoče tvoriti, je pa bilo mogoče tvoriti zelo majhne tekočerkristalne kapljice, najmanjše s premerom  $12 \pm 2 \mu\text{m}$ . Približno 20% polidisperznost je lahko manj bistvena pri aplikacijah, ki potrebujejo predvsem hitro produkcijo kapljic. Frekvenca tvorjenja kapljic je namreč v tem primeru zelo velika in se giblje med  $300 \text{ s}^{-1}$  in  $1500 \text{ s}^{-1}$ . Podobno kot v prejšnjih primerih s silikonskim oljem, se tudi tukaj velikost kapljic zmanjšuje s povečevanjem pretoka okoliške kapljevine. Vrednosti pretokov za štiri različne velikosti kapljic so podane v tabeli 5.1.1, prav tako so podane vrednosti frekvence tvorjenja kapljic. Vidimo lahko, da manjše kot so kapljice, višja je frekvenca nastajanja. Upoštevajoč ohranitev mase je takšna odvisnost tudi smiselna.

<b>Pretok 5CB [<math>\mu\text{l/s}</math>]</b>	<b>Pretok PVA+glicerol [<math>\mu\text{l/s}</math>]</b>	<b>Povprečni premer [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>Razpon (polidisperznost) [<math>\mu\text{m}</math>]</b>	<b>Frekvenca nastajanja [<math>\text{s}^{-1}</math>]</b>
	0.02	30	$\pm 5$	$\approx 350$
0.01	0.03	17	$\pm 3$	$\approx 1050$
	0.04	12	$\pm 2$	$\approx 1500$
0.15	0.06	44	$\pm 5$	$\approx 260$

Tabela 5.1.1: Tabela vrednosti povprečnih premerov tekočerkristalnih kapljic pri različnih pretokih okoliške in dispergirane kapljevine s pripadajočimi velikostnimi razponi kapljic in frekvenco tvorjenja.

Pri tvorjenju oljnih ali tekočerkristalnih kapljic v vodi imamo vedno primer, ko je viskoznost okoliške kapljevine manjša od viskoznosti dispergirane kapljevine. Dispergirana kapljevina zato lažje premaguje viskozne sile okoliške kapljevine, njen tok pa se lažje razširi. Posledica so večje kapljice in morda nekoliko manjša monodisperznost. Razlika v viskoznosti kapljev in se ne kaže zgolj pri curljanju, saj bi tudi pri kapljanju v primeru večje viskoznosti okoliške kapljevine viskozne sile najverjetneje prej destabilizirale dispergirano kapljevino in odtrgale kapljico, kar bi vodilo do tvorjenja manjših kapljic. Zaradi teh ugotovitev moramo uporabiti mikrofluidični čip z relativno majhnimi premeri zbiralne kapilare, če želimo tvoriti majhne monodisperzne oljne ali tekočerkristalne kapljice. Kot že večkrat omenjeno,



Slika 5.1.4: Tvorjenje tekočerkristalnih kapljic s čipom z geometrijo fokusiranja toka s premerom zbiralne kapilare  $25\ \mu\text{m}$ . Okoliška kapljevina je mešanica vodne raztopine PVA in glicerola v volumskem razmerju 1:1, režim tvorjenja kapljic pa curljanje z zoženim tokom, ki omogoča tvorjenje zelo majhnih kapljic. Na sliki je prikazano tvorjenje kapljic s premerom  $12\pm 2\ \mu\text{m}$ .

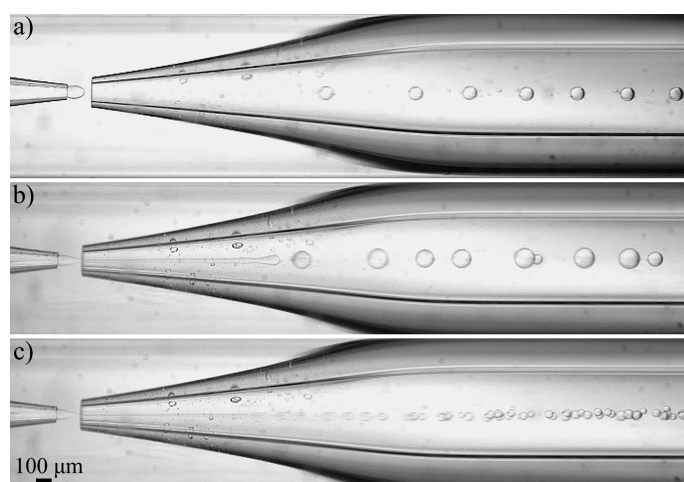
to povzroči večje možnosti zamašitve, kar zmanjša uporabnost čipa. Poleg tega se je pojavljal še drugi problem, ki je sicer lažje odpravlјiv, kljub temu pa je zelo vplival na nepredvidljivost tvorjenja kapljic. Dispergirana kapljevina, ki priteče po kvadratni kapilari lahko neenakomerno omoči stene kapilare, kar se odrazi v asimetrični obliki meje (glede na aksialno os) med kapljevina. Asimetrična meja povzroči, da dispergirana kapljevina vstopi v zbiralno kapilaro bližje eni izmed sten kapilare. V najslabšem primeru lahko to privede do stika dispergirane kapljevine z notranjo steno zbiralne kapilare. Dispergirana kapljevina nato teče ob steni, kapljice pa se trgajo iz kapljevine, ki je v stiku s steno kapilare. Tvorjenje se sicer ne prekine, vendar je nepredvidljivo in nestabilno. Problem se dá odpraviti relativno enostavno, tako da spreminjamo pretoke dispergirane in okoliške kapljevine, s tem pa potiskamo mejo levo in desno ter tako poskušamo ujeti simetrijo med zgornjo in spodnjo mejo med kapljevina. Omenjene težave s tvorjenjem majhnih monodisperznih kapljic s tem tipom mikrofluidičnega čipa so me spodbudile k iskanju rešitev za tvorjenje manjših kapljic z večjim premerom kapilar. Tako sem preizkusil mikrofluidični čip z dvema kapilarama, ki se je izkazal za zelo učinkovitega in zanesljivega, zato sem s tem tipom čipa bolj podrobno raziskal še vpliv viskoznosti na tvorjenje kapljic.

## 5.2 Tvorjenje kapljic s čipom z injekcijsko in zbiralno kapilaro

Mikrofluidični čipi z injekcijsko in zbiralno kapilaro se tipično uporabljajo za tvorjenje dvojnih emulzij. Sam sem takšen tip čipa z ustrezno silanizacijo kapilar pripravil tako, da je uporaben za tvorjenje enojnih emulzij, torej kapljic. Ideja tega pristopa je v tem, da z injekcijsko kapilaro predhodno zožimo tok dispergirane kapljevine (olja, tekoči kristal), ki jo po izstopu iz kapilare oblije okoliška kapljevina (vodna

raztopina PVA) in jo tako še dodatno fokusira proti zbiralni kapilari, kjer se bodisi v režimu kapljanja bodisi v režimu curljanja tvorijo kapljice. Poleg zoženega toka dispergirane kapljevine dobimo še večjo kontrolo nad samim tvorjenjem kapljic. Spreminjamo lahko namreč tako pretok dispergirane kapljevine kot okoliške kapljevine, ki priteka iz leve in desne strani, vsakega posebej pa reguliramo s piezokontrolerjem tlaka. Predhodno zožen tok dispergirane kapljevine prepreči pretakanje kapljevine čez zbiralno kapilaro tudi pri večjih pretokih, ustrezne kombinacije pretokov kapljev in pa omogočajo določanje režima tvorjenja ter velikost in frekvenco nastajanja kapljic.

Kapljevine sem poganjal zgolj s piezokontrolerjem tlaka. Ta izbira je bila v prvi vrsti priročnejša, kasneje pa se je izkazalo, da je tudi predpriprava na eksperiment (predhodno polnjenje čipa z vodno raztopino PVA) lažje izvedljiva. Zopet sem najprej tvoril oljne in nato še tekočerkristalne kapljice. Opazoval sem tako velikost kot monodisperznost kapljic ter režim in frekvenco nastajanja kapljic. Za razliko od eksperimentov s čipom z eno kapilaro, sem v tem primeru ohranjal konstanten tlak okoliške kapljevine, spreminjal pa sem tlak dispergirane kapljevine. Pri določenem tlaku okoliške kapljevine sem najprej tlak dispergirane kapljevine zmanjšal do vrednosti, pri kateri se tvorjenje kapljic zaključí. Ta vrednost je malo manjša od vrednosti tlaka okoliške kapljevine. Tlak dispergirane kapljevine sem nato povečeval dokler velikost nastalih kapljic ni dosegla od  $150\ \mu\text{m}$  do  $200\ \mu\text{m}$  premera. Uporabljal sem mikrofluidična čipa z dimenzijo injekcijske kapilare  $50\ \mu\text{m}$  in  $60\ \mu\text{m}$  ter dimenzijo zbiralne kapilare  $100\ \mu\text{m}$  in  $120\ \mu\text{m}$ . Ponovno sem pričel eksperimentirati s čipom z večjima premeroma kapilar ( $5.2.1$ ). Eden izmed namenov je bil namreč

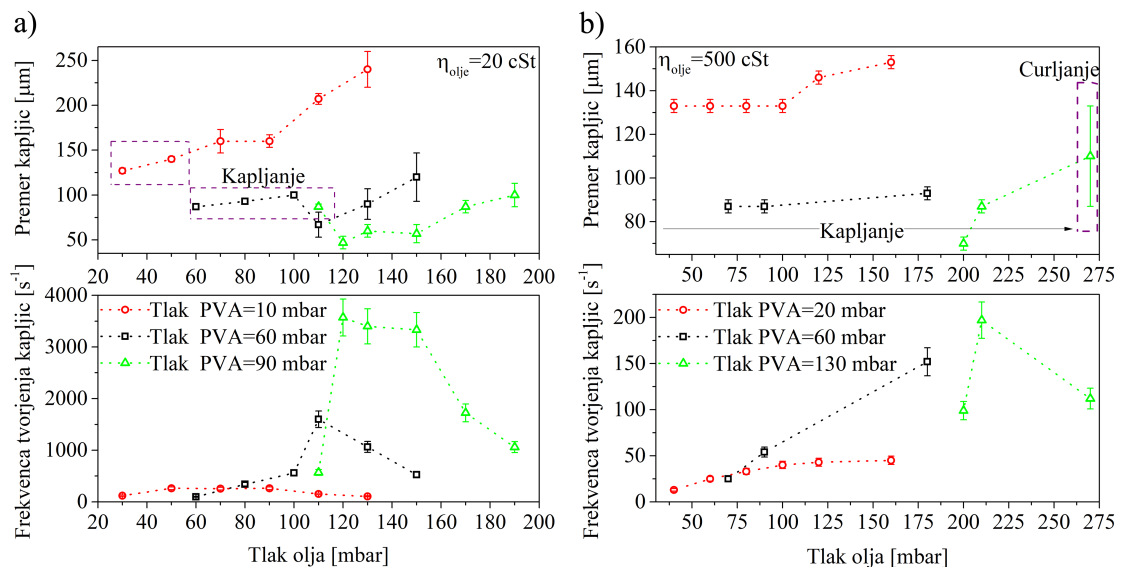


Slika 5.2.1: Tvorjenje kapljic iz silikonskega olja z viskoznostjo 20 cSt v vodni raztopini PVA z mikrofluidičnim čipom z injekcijsko kapilaro s širino konice  $60\ \mu\text{m}$  in širino zbiralne kapilare  $120\ \mu\text{m}$ . Prikazani so režimi a) kapljanja, b) curljanja z razširjenim tokom in c) curljanja z zoženim tokom.

## 5.2. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z INJEKCIJSKO IN ZBIRALNO KAPILARO

dobiti kapljice, manjše od  $100 \mu\text{m}$ , z večjimi premeri kapilar. Kot bomo videli v nadaljevanju, sta omenjeni dimenziji že omogočili tvorjenje kapljic z velikostjo  $25 \mu\text{m}$ .

Viskoznost in viskozne sile igrajo pomembno vlogo pri tvorjenju kapljic, kar je bilo delno omenjeno že pri eksperimentih s čipom z eno kapilaro. Čip z dvema kapilarama je zaradi bistveno boljše predvidljivosti in zanesljivosti tvorjenja omogočil, da sem s silikonskim oljem različnih viskoznosti in z enakim čipom lahko preveril, kako viskoznost dispergirane kapljevine dejansko vpliva na ta proces. Iz slike 5.2.2 je razvidno, da velika viskoznost vpliva predvsem na režim tvorjenja kapljic. Pri viskoznosti silikonskega olja  $500 \text{ cSt}$  (slika 5.2.2b) je nastajanje kapljic tudi pri zelo visokem tlaku dispergirane kapljevine potekalo v režimu kapljanja, medtem ko se v primeru manjše viskoznosti ( $20 \text{ cSt}$ ) režim spremeni v curljanje bistveno prej (slika 5.2.2a). Pri tlakih okoliške kapljevine, manjših od  $130 \text{ mbar}$ , v režim curljanja sploh ni bilo mogoče preiti. Ta se vzpostavi šele pri relativno visokih tlakih obeh kapljev. Monodisperznost kapljic je v režimu kapljanja v obeh primerih enaka, v režimu kapljanja pa je polidisperznost pri večji viskoznosti večja. Vzrok za to bi pripisal predvsem viskoznim silam dispergirane kapljevine, ki prevladujejo nad strižnimi in vztrajnostnimi silami okoliške kapljevine. Zaradi tega ne pripomorejo toliko k enakomernemu trganju kapljic in s tem k zmanjšanju polidisperznosti. Viskoznost



Slika 5.2.2: Grafi velikosti in frekvence tvorjenja kapljic v odvisnosti od tlaka silikonskega olja pri različnih tlakih vodne raztopine PVA za a) silikonsko olje z viskoznostjo  $20 \text{ cSt}$  in b) silikonsko olje z viskoznostjo  $500 \text{ cSt}$ . Uporabljen je bil mikrofluidični čip z dvema kapilarama s premeroma  $60 \mu\text{m}$  in  $120 \mu\text{m}$ . Napaka meritve prikazuje tudi stopnjo monodisperznosti kapljic.

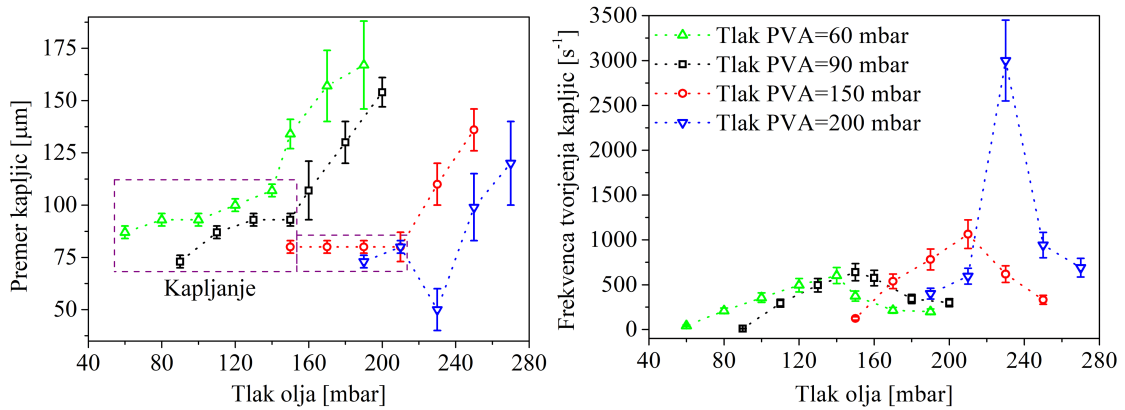
dispergirane kapljevine na velikost kapljic bistveno ne vpliva. V obeh primerih je

v režimu kapljanja mogoče tvoriti kapljice z velikostmi med  $70\ \mu\text{m}$  in  $150\ \mu\text{m}$ . Pri konstantnem tlaku okoliške in povečevanju tlaka dispergirane kapljevine se velikost kapljic povečuje, po drugi strani pa tudi zmanjšuje s povečanjem tlaka okoliške kapljevine. Pri podobnih tlakih okoliške kapljevine so velikosti kapljic v obeh primerih primerljive. Za razliko od večje viskoznosti dispergirane kapljevine, se pri manjši viskoznosti pojavi zožen tok curljanja in s tem nastajanje kapljic s premerom okoli  $50\ \mu\text{m}$ . Opazimo ga pri večjih tlakih okoliške kapljevine (nad  $60\ \text{mbar}$ ), ko režim preide iz kapljanja v curljanje, velikost kapljic pa naglo pade. Z nadaljnjim povečevanjem tlaka dispergirane kapljevine se tok pred odtrganjem kapljic začne vedno bolj širiti in prehajati v razširjen tok, povečevati pa se začne tudi velikost nastalih kapljic. Frekvenca tvorjenja kapljic je manjša pri večji viskoznosti; v režimu kapljanja ne preseže  $150\ \text{s}^{-1}$ , medtem ko se vrednosti pri manjši viskoznosti gibljejo med  $200\ \text{s}^{-1}$  in  $500\ \text{s}^{-1}$ . Frekvenca bistveno poskoči (do  $3500\ \text{s}^{-1}$ ) pri prehodu v režim curljanja z zoženim tokom, nato pa z večanjem tlaka in velikosti kapljic začne padati.

S silikonskim oljem manjše viskoznosti ( $20\ \text{cSt}$ ) sem eksperiment ponovil še s čipom z manjšima premeroma kapilar ( $50\ \mu\text{m}$  in  $100\ \mu\text{m}$ ) ter preveril kako vpliva premer odprtine na velikost nastalih kapljic. Kot smo opazili že v prejšnjem razdelku, se je z zmanjšanjem odprtine zbiralne kapilare zmanjšala tudi velikost kapljic. Izkaže se, da se v tem primeru velikost kapljic v režimu kapljanja res nekoliko zmanjša, vendar razlika ni tako velika. Upoštevati pa je potrebno tudi, da se velikost kapilar ni tako zelo zmanjšala. Pri večji odprtini kapilare je bila najmanjša velikost kapljic v režimu kapljanja okoli  $80\ \mu\text{m}$ , v tem primeru pa okoli  $70\ \mu\text{m}$  (slika 5.2.3), kar je dobrih  $10\ \%$  manj pri zmanjšanju premera odprtine kapilare za približno  $20\ \%$ . Velikost najmanjših kapljic je torej odvisna od dimenzij injekcijske oziroma zbiralne kapilare. Primerjava velikosti med obema čipoma pri enakih tlakih okoliške kapljevine morda ni tako smiselna, saj se zaradi spremembe premera kapilare spremeni tudi pretok in posledično tlak. Ostala dinamika tvorjenja kapljic je primerljiva s čipom z večjimi dimenzijami odprtine kapilar; najprej kapljanje, nato prehod v curljanje in pri večjih tlakih še curljanje z zoženim tokom, kjer z veliko frekvenco nastajajo majhne kapljice. Največja frekvenca ( $\approx 3000\ \text{s}^{-1}$ ) in najmanjša velikost kapljic ( $\approx 50\ \mu\text{m}$ ) se ponovno pojavita v režimu curljanja z zoženim tokom, najbolj monodisperzne kapljice pa so nastajale v režimu kapljanja. Te so v območju velikosti od  $70\ \mu\text{m}$  do  $110\ \mu\text{m}$ , s frekvenco nastajanja od  $50\ \text{s}^{-1}$  do  $750\ \text{s}^{-1}$ . Večjih razlik med čipoma torej ni, se pa kljub temu opazi zmanjšanje velikosti kapljic, kar nakazuje na to, da bi z zmanjšanjem premera kapilar lahko tvorili še manjše monodisperzne kapljice. Pri primerjavi vpliva viskoznosti dispergirane kapljevine sem povečal razmerje viskoznosti v prid dispergirane kapljevine, v nadaljevanju pa bom obravnaval primer povečane viskoznosti okoliške kapljevine. Viskoznost sem ponovno povečal z dodajanjem glicerola. Okoliška kapljevina je v tem primeru  $4\ \%$  vodna raztopina PVA



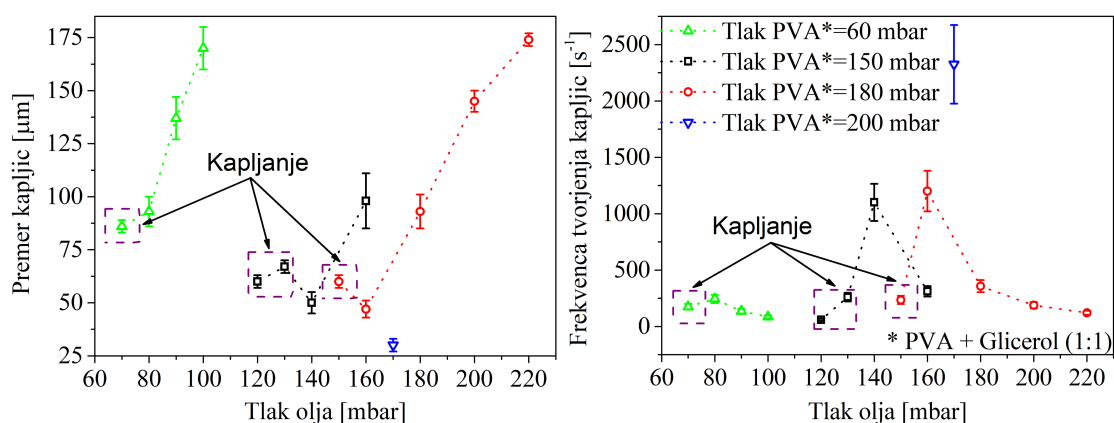
## 5.2. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z INJEKCIJSKO IN ZBIRALNO KAPILARO



Slika 5.2.3: Grafa velikosti in frekvence tvorjenja kapljic iz silikonskega olja z viskoznostjo 20 cSt, v odvisnosti od tlaka silikonskega olja pri različnih tlakih vodne raztopine PVA. Kapljice so tvorjene z mikrofluidičnim čipom z dvema kapilarama s premeroma 50  $\mu\text{m}$  in 100  $\mu\text{m}$ . Napaka meritve prikazuje tudi stopnjo monodisperznosti.

in glicerola v volumskem razmerju 1:1 z viskoznostjo okoli 7 cSt. Dispergirana kapljevina ostaja silikonsko olje z viskoznostjo 20 cSt, kar pomeni, da je razmerje viskoznosti približno 1:3, medtem ko je razmerje brez dodanega glicerola okoli 1:10 (viskoznost vodne raztopine PVA je  $\approx 2$  cSt). Na grafu na sliki 5.2.4 lahko vidimo, da tvorjenje kapljic hitreje preide iz kapljanja v curljanje. Za to poskrbijo zunanje viskozne sile, ki z večjo viskoznostjo pridobijo na svoji velikosti, s tem pa znatneje vplivajo na tok dispergirane kapljevine. V primeru velike viskoznosti dispergirane kapljevine se je prehod v curljanje zgodil šele pri zelo velikih tlakih, v tem primeru pa opazimo le majhno območje s kapljanjem. Primer s silikonskim oljem z viskoznostjo 20 cSt in vodno raztopino PVA brez glicerola se je glede režimov nahajal ravno nekje med omenjenima primeroma. Ta trend torej nakazuje, da večja kot je viskoznost dispergirane kapljevine oziroma relativno razmerje viskoznosti glede na okoliško kapljevino, bolj verjeten je režim kapljanja. Po drugi strani pa manjše kot je razmerje viskoznosti, hitreje se pojavi režim curljanja. Z ozirom na tvorjenje čim manjših kapljic, večja zunanja viskoznost pozitivno vpliva na premer nastalih kapljic. Te so namreč že v režimu kapljanja manjše kot v prejšnjem primeru, ko glicerol ni bil dodan. Najmanjša velikost monodisperznih kapljic, dobljenih v režimu kapljanja, je okoli 65  $\mu\text{m}$ , s frekvenco tvorjenja 250  $\text{s}^{-1}$ . Dinamika prehodov med režimi je zopet podobna kot v prejšnjih primerih; pri večjih tlakih okoliške kapljevine se najprej zgodi prehod iz kapljanja v curljanje z zožanim tokom in nato postopno v razširjen tok in večje kapljice. Razlika nastane pri tlakih okoliške kapljevine nad 200 mbar, kjer režima kapljanja ni bilo mogoče vzpostaviti, se je pa vzpostavil ozek tok curljanja, v katerem je nastajalo približno 2300 kapljic s premerom 30  $\mu\text{m}$  v

sekundi. Kapljice, nastale v režimu curljanja, so nekoliko manj polidisperzne kot v primeru dispergirane kapljevine z večjo viskoznostjo, kjer so bile kapljice v režimu curljanja precej polidisperzne. Z vidika velikosti in monodisperznosti kapljic v režimu curljanja je torej bolj ugodno manjše razmerje med viskoznostjo dispergirane in okoliške kapljevine.

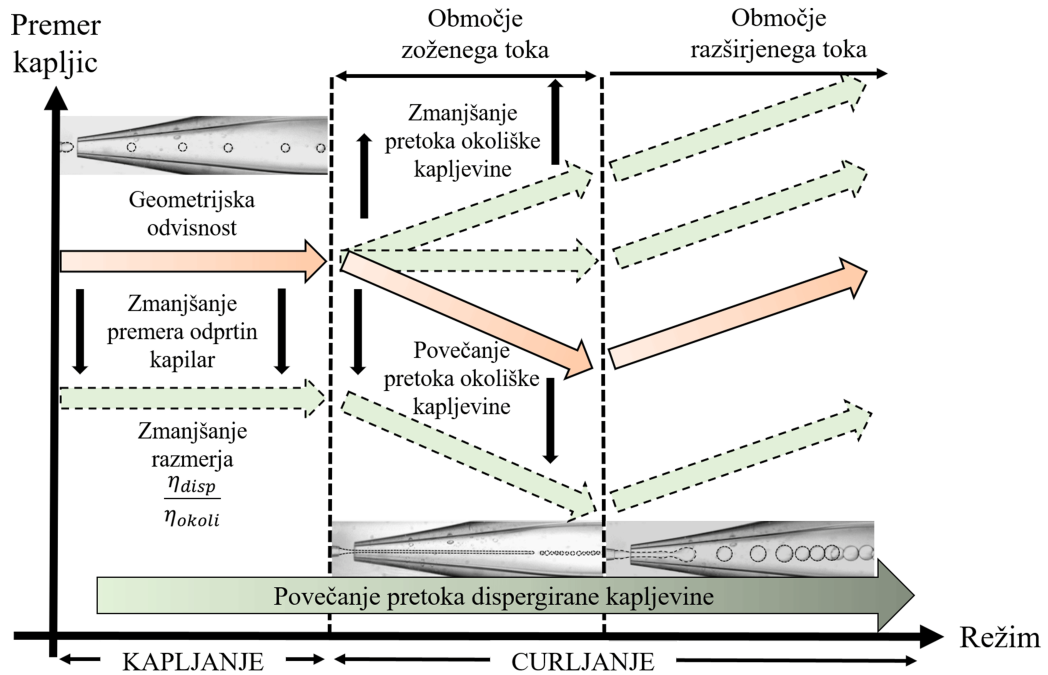


Slika 5.2.4: Grafa velikosti in frekvence tvorjenja kapljic v odvisnosti od tlaka silikonskega olja pri različnih tlakih vodne raztopine PVA. Kapljice so tvorjene z mikrofluidičnim čipom z dvema kapilarama s premeroma  $50 \mu\text{m}$  in  $100 \mu\text{m}$ . Napaka meritve prikazuje tudi stopnjo monodisperznosti. Dispergirana kapljevina je silikonsko olje z viskoznostjo  $20 \text{ cSt}$ , okoliška kapljevina pa  $4 \%$  vodna raztopina PVA z dodanim glicerolom v razmerju 1:1.

Omenjene ugotovitve iz zgornjih grafov sem povzel v shematskem diagramu prikazanem na sliki 5.2.5. Ta prikazuje, kako na premer kapljic vplivajo različne viskoznosti in pretoki tako okoliške kot dispergirane kapljevine in režim, v katerem so kapljice nastajale. S povečevanjem pretoka dispergirane kapljevine preide režim kapljanja v curljanje, s povečevanjem pretoka okoliške kapljevine pa se zmanjša velikost kapljic. V režimu kapljanja je velikost kapljic v glavnem geometrijsko omejena. Zmanjšanje velikosti lahko dosežemo z zmanjšanjem premera odprtih kapilar ali z zmanjšanjem razmerja viskoznosti dispergirane in okoliške kapljevine. S povečevanjem pretoka dispergirane kapljevine v območju razširjenega toka se velikost kapljic povečuje.

Monodisperznost in polidisperznost kapljic sta bili velikokrat omenjeni, zato pogledajmo kako dejansko izgledajo monodisperzne in polidisperzne oljne kapljice ter kakšna je njihova porazdelitev po velikosti. Monodisperzne kapljice nastajajo v režimu kapljanja, kjer so praktično vse kapljice enakih velikosti. Iz porazdelitve na sliki 5.2.6a vidimo, da je povprečni premer takšnih monodisperznih kapljic  $79.7 \mu\text{m}$ , standardni odklon pa  $1.2 \mu\text{m}$ . To pomeni, da je monodisperznost kapljic na sliki  $1.5 \%$ . Na sliki 5.2.6, b in c, so prikazane polidisperzne kapljice dveh različnih povprečnih velikosti, ki so nastale v režimu curljanja. Slika 5.2.6b prikazuje kapljice

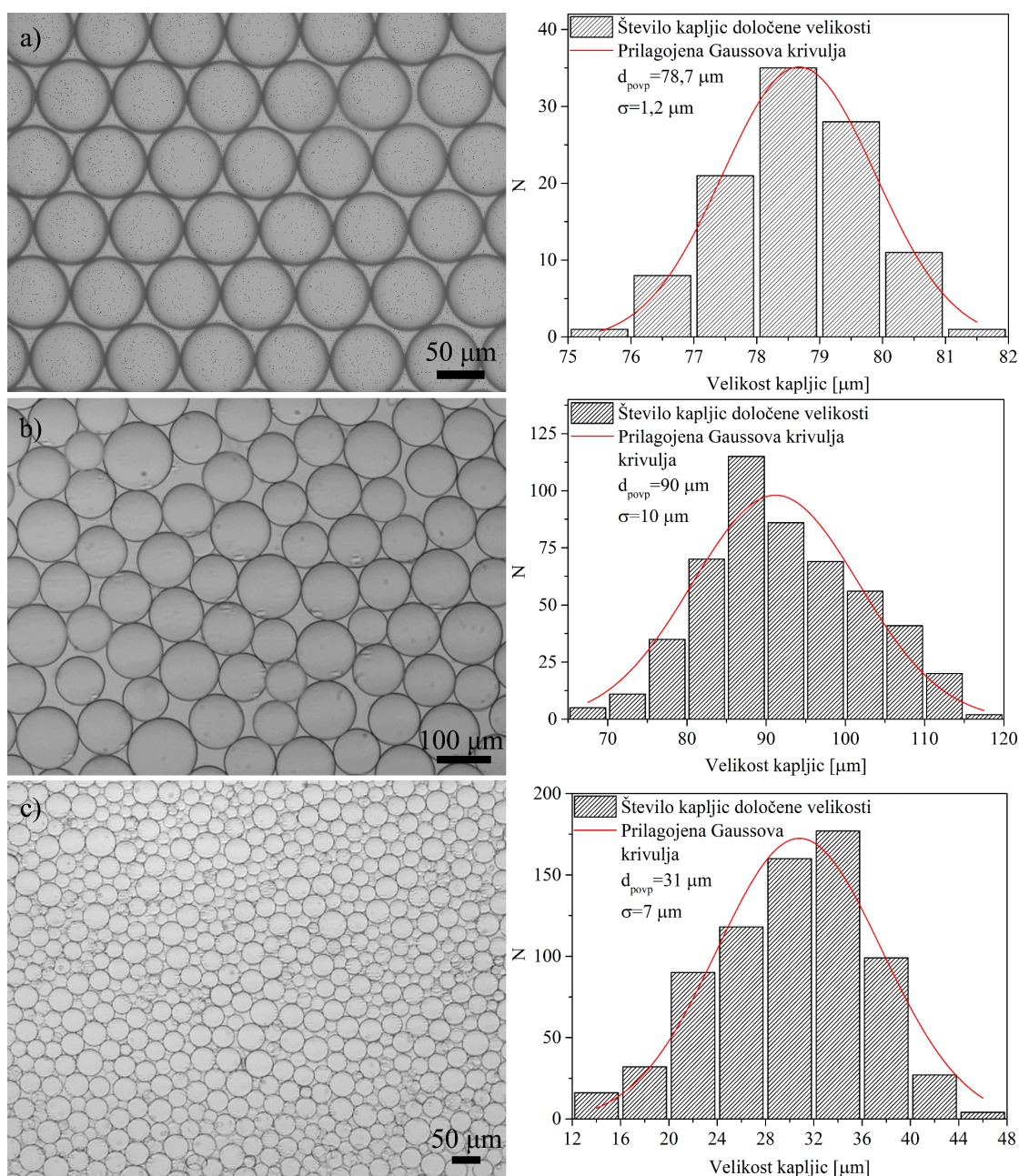
## 5.2. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z INJEKCIJSKO IN ZBIRALNO KAPILARO



Slika 5.2.5: Shematski prikaz vpliva viskoznosti in pretokov dispergirane ter okoliške kapljevine na premer kapljic, glede na režim tvorjenja kapljic.

podobne velikosti kot so kapljice na sliki 5.2.6a, vendar z večjo polidisperznostjo. Ta je pri povprečnem premeru kapljice  $90 \mu\text{m}$  in pri standardnem odklonu  $10 \mu\text{m}$  že 11 %. Pri manjših kapljicah (slika 5.2.6c) je relativna polidisperznost še nekoliko večja. Polidisperznost pri porazdelitvi s povprečnim premerom kapljic  $31 \mu\text{m}$  in s standardnim odklonom  $7 \mu\text{m}$  je 23 %.

Tekoči kristal je bistveno dražja kapljevina kot silikonsko olje, zato je še toliko bolj pomembno, da z njim ravnamo kar se da varčno. Obravnavan mikrofluidični čip s pravim pristopom omogoča, da že od samega začetka tvorimo kapljice in s tem zmanjšamo količino tekočega kristala, ki bi sicer šel v nič. Za razliko od čipa z eno kapilaro, lahko pri čipu z dvema kapilarama vzpostavimo pretok okoliške kapljevine in šele nato dovedemo tekoči kristal po injekcijski kapilari. V trenutku, ko tekoči kristal priteče do odprtine injekcijske kapilare, se tvorjenje kapljic prične. Za tvorjenje tekočokristalnih kapljic sem uporabljal nematik 5CB in mikrofluidični čip s premeroma kapilar  $60 \mu\text{m}$  in  $120 \mu\text{m}$ , kot okoliška kapljevina pa je ponovno služila 1.5 % vodna raztopina PVA, ki je bila nekoliko premalo koncentrirana, saj se je občasno pojavilo združevanje kapljic. Kljub temu je bila večina kapljic dovolj stabilnih za nadaljnjo analizo. Tvorjenje tekočokristalnih kapljic je v splošnem zelo podobno tvorjenju oljnih kapljic silikonskega olja z viskoznostjo 20 cSt. Glede na primerljivo viskoznost obeh kapljev, je bilo to pričakovano. Kljub temu opazimo nekaj razlik. Najprej bi izpostavil režim curljanja z zoženim tokom, ki se pojavi že

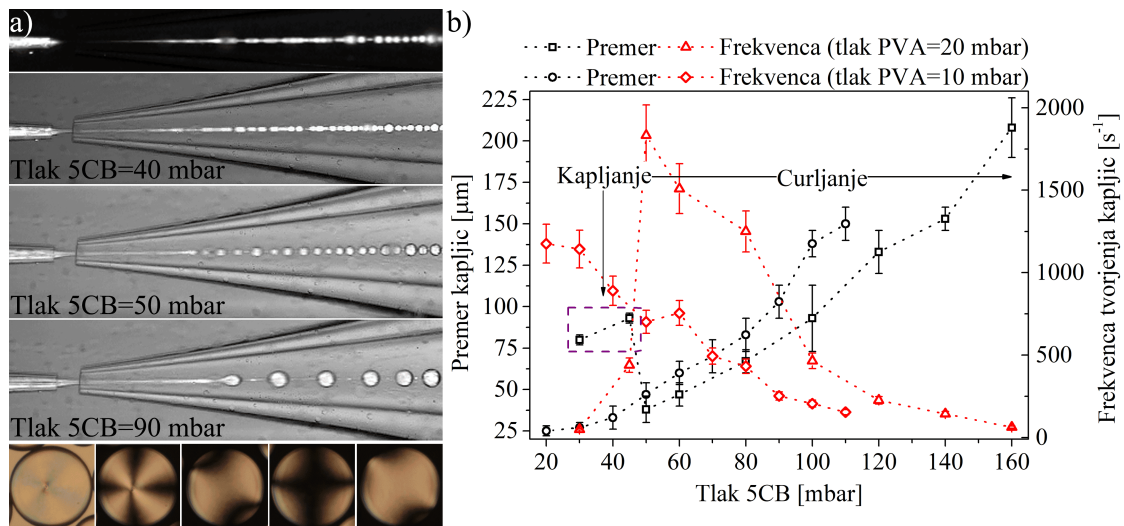


Slika 5.2.6: Mikroskopski posnetek a) monodisperznih in (b, c) polidisperznih oljnih kapljic s pripadajočimi porazdelitvami po velikosti in ocenami povprečne vrednosti. Število analiziranih kapljic: a)  $N_{\text{kapljic}}=110$ , b)  $N_{\text{kapljic}}=500$  in c)  $N_{\text{kapljic}}=720$ .

pri majhni vrednosti tlaka (10 mbar) okoliške kapljevine (slika 5.2.7a). Takšen režim se pri silikonskem olju pojavi šele pri večjih tlakih ( $\approx 60$  mbar). Vzrok za to bi lahko iskali v anizotropnih lastnostih tekočega kristala. Viskoznost v smeri toka je namreč precej večja od viskoznosti v drugih dveh smereh in morda je ravno to razlog, da se tok dispergirane kapljevine že pri majhnih okoliških tlakih raztegne v ozek tok. Pozitivna posledica takšnega obnašanja so majhni premeri kapljic. Najmanjše ka-

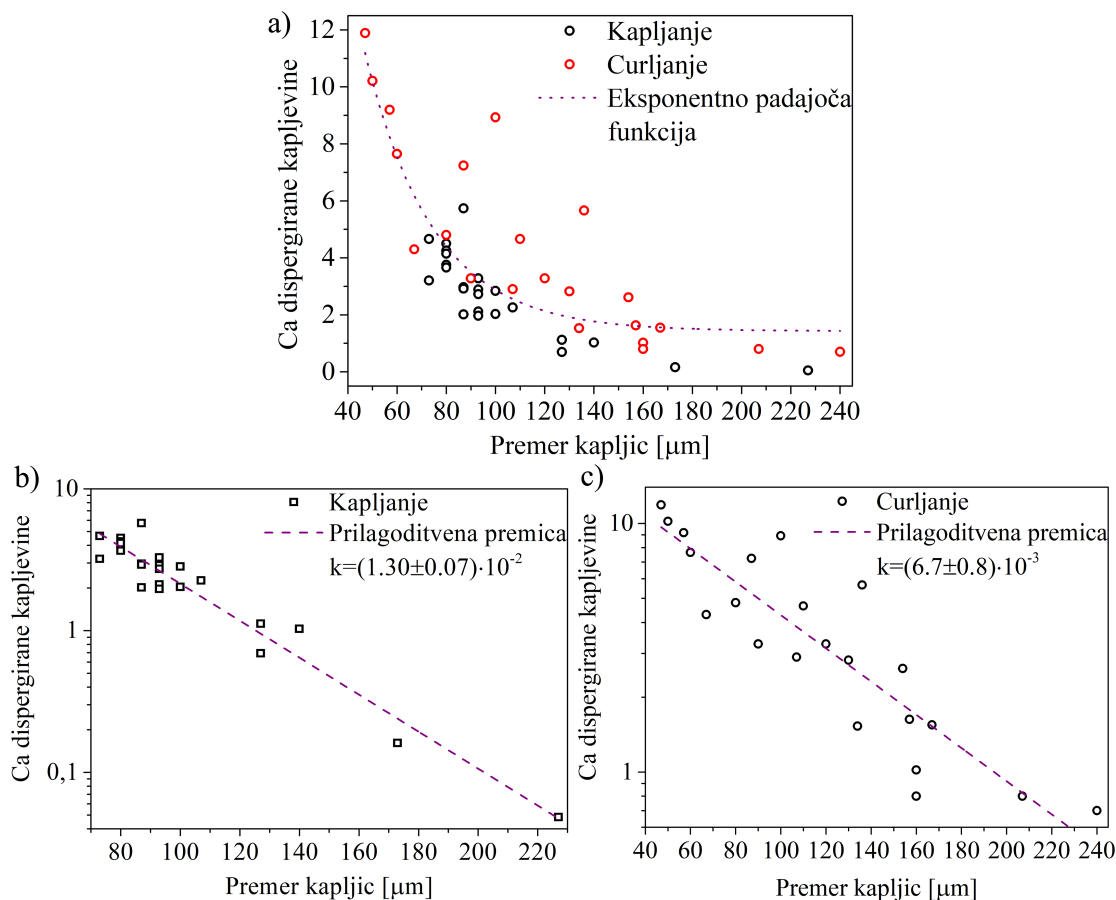
## 5.2. TVORJENJE KAPLJIC S ČIPOM Z INJEKCIJSKO IN ZBIRALNO KAPILARO

pljice, ki so nastale v tem režimu, imajo premer  $25 \mu\text{m}$  in frekvenco tvorjenja okoli  $1200 \text{ s}^{-1}$  (slika 5.2.7b). Premer nastalih kapljic se s povečevanjem tlaka dispergirane kapljevine povečuje vse do  $150 \mu\text{m}$ , frekvenca tvorjenja pa se zmanjšuje. S povečanjem tlaka okoliške kapljevine na 20 mbar se vzpostavi tudi režim kapljanja z najmanjšo velikostjo nastalih kapljic  $80 \mu\text{m}$  in zelo majhno frekvenco tvorjenja, okoli  $50 \text{ s}^{-1}$ . Frekvenca se bistveno poveča ( $\approx 500 \text{ s}^{-1}$ ) s povečanjem tlaka 5CB, vendar se obenem poveča tudi velikost kapljic na  $90 \mu\text{m}$ . Z nadaljnjim povečevanjem tlaka se vzpostavi režim curljanja z zoženim tokom, v katerem najprej nastajajo kapljice s premerom  $40 \mu\text{m}$  in frekvenco nastajanja  $1800 \text{ s}^{-1}$ . Nato se začne premer kapljic ponovno povečevati, frekvenca nastajanja pa zmanjševati. Primer nastale tekočerkristalne kapljice lahko vidimo na dnu slike 5.2.7a. S prekrizanimi polarizatorjema na mikroskopu lahko opazujemo topološke defekte, ki so lepo vidni tudi na sliki. PVA povzroči planarno sidranje molekul na površini kapljice, zato opazimo topološke defekte z nabojem  $+1$ .



Slika 5.2.7: a) Tvorjenje tekočerkristalnih kapljic pri različnih vrednostih tlaka 5CB. Tlak okoliške kapljevine je v tem primeru 10 mbar. Najvišja slika prikazuje mikroskopsko sliko tvorjenja kapljic med prekrizanimi polarizatorjema, ostale slike so posnete z delno prekrizanimi polarizatorjema za boljši kontrast tekočerkristalnih kapljic. Povprečne velikosti kapljic od druge do četrte slike od zgoraj navzdol so  $30 \mu\text{m}$ ,  $50 \mu\text{m}$  in  $100 \mu\text{m}$ . Na dnu so prikazane tekočerkristalne kapljice, najprej slika brez polarizatorja, nato pa slike med prekrizanimi polarizatorjema. Na drugi sliki je lepo viden topološki defekt z močjo  $k = +1$ , na četrta pa defekt z močjo  $k = -1$ . Tretja in peta slika prikazujeta še topološke defekte, katerih jedro je na drugi strani kapljice. b) Graf premerov in frekvenc tvorjenja kapljic v odvisnosti od tlaka tekočega kristala 5CB za dve vrednosti tlaka okoliške kapljevine. Napaka meritve prikazuje tudi stopnjo monodisperznosti.

Brezdimenzijska števila opisujejo lastnosti mikrofluidičnih tokov in kapljev, določajo pa tudi mejne vrednosti prehodov med različnimi režimi tvorjenja kapljic. Da bi preveril v kakšnih območjih se gibljejo brezdimenzijska števila in kakšna je povezava med kapilarnim številom in velikostjo kapljic ter režimom nastajanja, sem za vse meritve tvorjenja oljnih kapljic izračunal Reynoldsovo, Webrovo in kapilarno število. Pri vseh številih je za izračun potrebna hitrost toka. Kot opazovano območje sem določil vhod v zbiralno kapilaro, saj se v tem območju dogaja tvorjenje kapljic, zato se mi je zdela ta izbira najbolj smiselna. Tudi če bi izbral drugo območje, bi se vse vrednosti zgolj skalirale za faktor razlike v hitrosti. Hitrost toka sem določil iz hitrosti premikanja kapljic, pri čemer sem privzel, da je hitrost toka enaka hitrosti kapljic. Hitrost kapljic sem določil na mestu, kjer se zbiralna kapilara že razširi do notranjega premera nezožene kapilare. Hitrost pri konici zbiralne kapilare sem nato izračunal s kontinuitetno enačbo. Hitrosti so pri zožitvi največje, zato lahko izračunane vrednosti brezdimenzijskih števil razumemo tudi kot maksimalne vrednosti. Reynoldsovo število se je pri eksperimentih gibalo med 1 in 70, kar zgolj potrди, da smo znotraj območja laminarnih tokov. Webrovo število bi naj v večini primerov mikrofluidičnih tokov zavzemalo vrednosti manjše od 1 [36], kar se pri teh eksperimentih ni potrdilo. Večina vrednosti je namreč med 1 in 200. Webrovo število je povezano s kvadratom hitrosti, zato je zelo pomembno, katero hitrost upoštevamo pri izračunu. V primeru, ko sem v izračunu upošteval hitrost v nezoženem delu kapilare in ne pri konici kapilare, so vse vrednosti manjše od 1, kar je skladno z literaturo. Če bi to isto hitrost upošteval tudi pri izračunu Reynoldsovega števila, bi vrednosti bile še nekoliko nižje, kar zopet ustreza režimu laminarnega toka. S tega vidika se kaj dosti torej ne spremeni. Za konec si pogledjmo še kapilarno število in kako je le-to povezano z velikostjo kapljic. Vrednosti kapilarnega števila se gibljejo med 0.5 in 12. Na grafu na sliki 5.2.8a vidimo kako je kapilarno število dispergirane kapljevine povezano z velikostjo kapljic. S črnimi krogi so prikazane velikosti kapljic v režimu kapljanja, z rdečimi krogi pa v režimu curljanja. Kapilarno število v splošnem eksponentno pada z naraščanjem premera kapljic. Režim kapljanja zavzema manjše vrednosti kapilarnega števila (do  $\approx 4$ ), medtem ko se kapilarna števila povzpnejo do 12 v primeru curljanja, kjer so manjši tudi premeri kapljic. Na sliki 5.2.8, b in c, sta prikazana še grafa z logaritemsko ordinatno osjo za kapljanje in curljanje z vrisano prilagoditveno premico. V primeru kapljanja, kjer je linearna odvisnost nekoliko bolj izrazita, lahko prilagodimo premico z naklonom  $(1.30 \pm 0.07) \cdot 10^{-2}$ , v primeru curljanja, kjer linearnost sicer ni tako izrazita pa premico z naklonom  $(6.7 \pm 0.8) \cdot 10^{-3}$ . Iz grafov lahko dobimo predstavo o tem, kar se dogaja pri različnih kapilarnih številih ter kateri režim in kakšno velikost kapljic lahko pričakujemo. Kljub temu je pomembno, da se zavedamo, na kakšen način kje povečamo kapilarno število. Kot smo videli v primeru tvorjenja kapljic z



Slika 5.2.8: Graf kapilarnega števila  $C_a$  dispergirane kapljčevine v odvisnosti od premera kapljic. a) Graf z linearnima osema s kapilarnimi števili obeh režimov. b) Graf z logaritemsko ordinatno osjo in s prilagoditveno premico ( $k = (1.30 \pm 0.07) \cdot 10^{-2}$ ) za kapilarna števila v režimu kapljanja. c) Graf z logaritemsko ordinatno osjo in s prilagoditveno premico ( $k = (6.7 \pm 0.8) \cdot 10^{-3}$ ) za kapilarna števila v režimu curljanja.

zelo viskoznim silikonskim oljem, so kapljice v režimu kapljanja nastajale v širšem območju tlakov (pretokov), kljub temu da se je zaradi velike viskoznosti kapilarno število povečalo.

### 5.3 Primerjava tvorjenja kapljic z obema čipoma

Tvorjenje kapljic je možno na več načinov. V prejšnjih dveh razdelkih so prikazani rezultati tvorjenja oljnih in tekočokristalnih kapljic z dvema različnima geometrijama mikrofluidičnih čipov. Oba čipa omogočata tvorjenje kapljic, vendar imata oba tudi svoje prednosti in slabosti, ki jih bom podrobneje izpostavil v nadaljavnju. Najprej pa še nekaj besed o pretakanju kapljevina po kapilarah. To je mogoče doseči bodisi s tlačno črpalko bodisi s piezokontrolerjem tlaka. Obe napravi sta do-

volj precizni, da omogočata eksperimente na področju kapljične mikrofluidike. Kljub temu se napravi razlikujeta v načinu delovanja, kar pomeni tako določene razlike pri njuni uporabi kot nekatere prednosti in slabosti posamezne naprave. Prednost tlačne črpalke je hitra postavitev in zagon eksperimenta, saj s PTFE cevko zgolj povežemo injekcijsko brizgo, vpeto v mehanizem, z mikrofluidičnim čipom in lahko začnemo z eksperimenti. Tok kapljevine pri delu s tlačno črpalko v nasprotni smeri ni mogoč (potiskanje kapljevine nazaj proti brizgalni injekciji), hkrati omogoča tudi višje tlake kot piezokontroler tlaka. Pri piezokontrolerju tlaka bi izpostavil hitrejšo odzivnost, kar je pri eksperimentih, kjer se tlaki spreminjajo, ključnega pomena. Še posebej je to pomembno pri zniževanju tlakov. V tem primeru je odzivni čas tlačne črpalke nekoliko večji (od 0.1 do 1 s, odvisno od pretoka) od odzivnosti piezokontrolerja tlaka. Drugo prednost tlačnega kontrolerja opazimo pri polnjenju čipa in odstranjevanju zračnih mehurčkov iz čipa. V primeru, ko pretakamo kapljevino s tlačnim kontrolerjem, je mikrofluidični čip povezan z rezervoarčki in ne neposredno z mehanizmom, ki omogoča pretok kapljevine (povezava z injekcijsko brizgo v primeru tlačne črpalke). Takšen sistem povezave rezervoarčkov z mikrofluidičnim čipom omogoča, da lahko z apliciranjem podtlaka pri izhodni kapilari napolnimo čip s kapljevino in odstranimo zračne mehurčke. Omenjeni dve prednosti tlačnega kontrolerja nista ključni za tvorjenje kapljic, v veliko primerih pa pohitrita pripravo in potek eksperimentov. Izbira piezokontrolerja tlaka za pretakanje kapljev in je torej bolj smotrna pri eksperimentih z večjo potrebo po spreminjanju tlakov bodisi zaradi številnih testiranj ali prilagajanj bodisi zaradi same narave eksperimenta.

Geometrija čipa vsekakor vpliva na tvorjenje kapljic. Predvsem v režimu kapljanja je to zelo pomembno, saj je velikost kapljic omejena z geometrijo oziroma s premerom odprtine kapilare. Z zmanjšanjem premerov odprtin kapilar se velikost kapljic v obeh obravnavanih čipih zmanjša. Hkrati je velikost kapljic v obeh primerih povezana s premerom zbiralne (čip z eno kapilaro) ali injekcijske kapilare (čip z dvema kapilarama), ki določata najmanjšo velikost nastalih kapljic v režimu kapljanja. Najmanjše kapljice v režimu kapljanja, ki jih lahko pričakujemo, so podobnega premera kot je premer kapilare, zato je velikost kapljic v režimu kapljanja geometrijsko omejena. Viskoznost dispergirane kapljevine po drugi strani ne vpliva na velikost kapljic, temveč na režim, ki se vzpostavi. Večja kot je viskoznost, bolj ugoden je režim kapljanja. Hkrati se je izkazalo, da bolj kot se manjša razmerje med viskoznostjo dispergirane in okoliške kapljevine, hitreje se vzpostavi režim curljanja. V primeru, da ciljamo na tvorjenje kapljic v režimu curljanja, poleg tega pa želimo zmanjšati polidisperznost kapljic, je smiselno povečati viskoznost okoliške kapljevine, saj se potem polidisperznost kapljic nekoliko zmanjša. Velikost kapljic v režimu curljanja je lahko v primerjavi s kapljanjem (pri istem premeru kapilare) bistveno manjša, frekvenca tvorjenja kapljic pa bistveno večja. Cena za majhne



premere in veliko frekvenco tvorjenja kapljic je polidisperznost kapljic, ki je vsaj nekajkrat večja od monodisperznih kapljic, nastalih v režimu kapljanja, kjer znaša manj kot 3 %.

Nazadnje si oglejmo še prednosti in slabosti obeh geometrij, ki sem jih napovedal na začetku. Enostavnejši mikrofluidični čip z eno (zbiralno) kapilaro se ni izkazal za tako uporabnega kot čip z dvema kapilarama. Poleg pogostih zamašitev bi izpostavil še druge težave, ki se pojavljajo pri tvorjenju kapljic s tem čipom. Prva težava je nezanesljivost čipa. S tem mislim na potek vzpostavitve določenega režima, ki posledično vpliva na tvorjenje in velikost kapljic. Ta je bil skoraj pri vsakem poskusu eksperimenta drugačen, kar zahteva precej časa, da vzpostavimo določen režim. S postopnim večanjem in manjšanjem pretokov sicer sčasoma vzpostavimo stabilen režim, vendar gre v tem času precej kapljevine v nič. To je še posebej pomembno, kadar delamo s snovmi, ki niso na voljo v velikih količinah ali pa imajo visoko ceno. Čip z dvema kapilarama je po drugi strani zelo zanesljiv in predvidljiv. Pri enakih parametrih tlaka lahko pričakujemo enak ali vsaj podoben način tvorjenja kapljic. Poleg tega lahko dispergirano kapljevino dovedemo šele, ko že imamo vzpostavljen stabilen pretok okoliške kapljevine, kar pomeni, da v trenutku, ko dispergirana kapljevina priteče do konice injekcijske kapilare, se tvorjenje kapljic prične. S tem skoraj popolnoma zmanjšamo količino, ki bi v nasprotnem primeru šla v nič. Kot drugo razliko in obenem veliko prednost čipa z dvema kapilarama bi izpostavil uporabnost. Z istim čipom z dvema kapilarama lahko namreč tvorimo kapljice v razponu velikosti od 20  $\mu\text{m}$  do 200  $\mu\text{m}$  z zelo stabilnim režimom pri relativno velikih premerih kapilar (npr. 60  $\mu\text{m}$  in 120  $\mu\text{m}$ ). Hkrati lahko pri določenem tlaku okoliške kapljevine s spreminjanjem tlaka dispergirane kapljevine, spreminjamo ali določimo režim, v katerem kapljice nastajajo. S tem dosežemo natančno kontrolo nad velikostjo, monodisperznostjo in nenazadnje frekvenco tvorjenja kapljic. Tega namreč na tako enostaven in predvidljiv način s čipom z eno kapilaro ni mogoče zagotoviti. Z omenjenimi prednostmi se je mikrofluidični čip z dvema kapilarama izkazal za bistveno boljšega, tako z vidika zanesljivosti kot z vidka uporabnosti.

## 5.4 Sproščanje vodnih mikrokapljic z barvilom iz tekočerkristalnih kapljic

V nedavni študiji [28] so pokazali zelo kontrolirano sproščanje vodnih mikrokapljic z barvilom, dispergiranih v tekočem kristalu, v okoliški vodni medij. S segrevanjem mešanice tekočega kristala in vodnih mikrokapljic z barvilom čez temperaturo faznega prehoda tekočega kristala, so opazili enakomerno sproščanje pri vsakem prehodu, kar nakazuje na linearno odvisnost sproščene količine vodnih mikrokapljic s

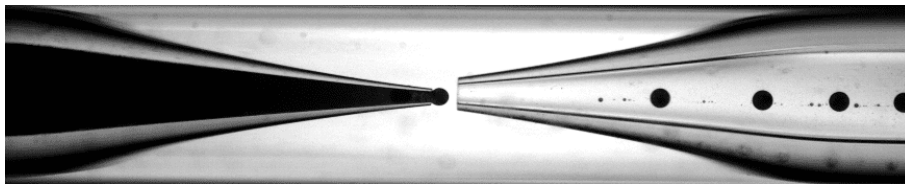
številom faznih prehodov. Linearno odvisnost so pokazali tudi z razliko med začetno koncentracijo dispergiranih vodnih mikrokapljič in količino, ki se sprosti. Za razliko od trenutnih konvecionalnih materialov, ki ob aktivaciji sprostijo vso enkapsulirano snov, ta način omogoča zelo precizno in kontrolirano sproščanje. Še več, omogoča tudi samoregulacijo, kar pomeni, da se sprosti ravno toliko neke snovi kot je potrebno. Takšen primer je sprostitvev količine antibakterijske snovi glede na koncentracijo prisotnih bakterij. To podaljša časovno uporabnost materiala, hkrati pa prepreči prekomerno in nepotrebno sproščanje morebitnih toksičnih snovi. Poleg omenjenih prednosti takšnega pristopa tekoči kristal omogoča še optični odziv ob začetku sproščanja, s čimer lahko zaznamo *sprožilni moment* oziroma začetek sproščanja.

Če bi iz mešanice tekočega kristala in dispergiranih vodnih mikrokapljič z barvilom uspeli tvoriti še kapljice, bi dobili poleg vseh zgoraj naštetih lastnosti še zelo precizno prostornino mešanice, iz katere se sproščajo mikrokapljič. Izkazalo se je, da se s to mešanico dá uspešno tvoriti kapljice, kar je vodilo v nadaljnje raziskovanje manipulacije kapljic in sproščanja vodnih mikrokapljič z barvilom iz njih. S sproščanjem in injiciranjem nanokapljič v in iz tekočerkristalne kapljice so se ukvarjali že Guo in sodelavci [84], ki so uspeli z laserskim žarkom iz kapljevine s surfaktantom v prazno tekočerkristalno kapljico injicirati vodne nanokapljič. Pri eksperimentu, ki sem ga izvedel s tekočerkristalnimi kapljicami z dispergiranimi vodnimi mikrokapljičami z barvilom, gre na nek način za kombinacijo obeh omenjenih eksperimentov izvedenih s kombinacijo mikrofluidike in optične pincete.

Z uporabo mikrofluidike sem najprej tvoril kapljice iz mešanice tekočega kristala 5CB in vode z dodanim surfaktantom SDS in barvilom etiloranž. Koncentracija raztopine SDS je bila 8 mM, kar je še pod CMC surfaktanta. Mešanica je vsebovala 80 % tekočega kristala in 20 % vodne raztopine SDS. Podrobneje je priprava mešanice opisana v razdelku 4.4. Kapljice sem tvoril z mikrofluidičnim čipom z dvema kapilarama s premeroma 70  $\mu\text{m}$  in 140  $\mu\text{m}$ . Kot okoliška kapljevina je služila 2.5 % vodna raztopina PVA, ki je omogočila stabilizacijo kapljic. Kapljice so nastajale v režimu kapljanja, zato so bile zelo monodisperzne, njihov premer pa je bil okoli 120  $\mu\text{m}$  (slika 5.4.1). Kapljice sem po tvorjenju dal v tekočerkristalno celico z debelino, primerljivo z velikostjo kapljic. Kapljice so bile zaradi ograjenosti v tekočerkristalni celici pri manipulaciji z optično pinceto bolj statične, posnetki pa posledično boljši, saj kapljica ni mogla pobegniti iz fokusa. Nadaljnja analiza je bila zaradi tega lažja in predvsem bolj natančna.

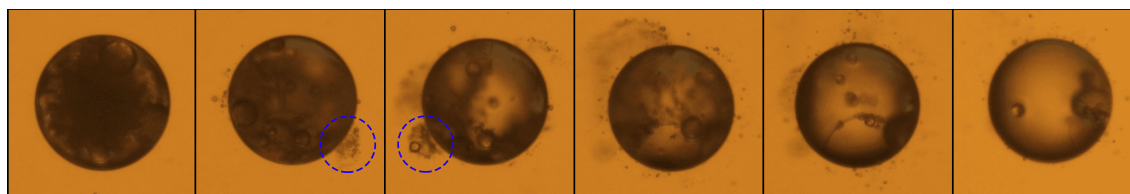
#### 5.4. SPROŠČANJE VODNIH MIKROKAPLJIC Z BARVILOM IZ TEKOČEKRYSTALNIH KAPLJIC

---



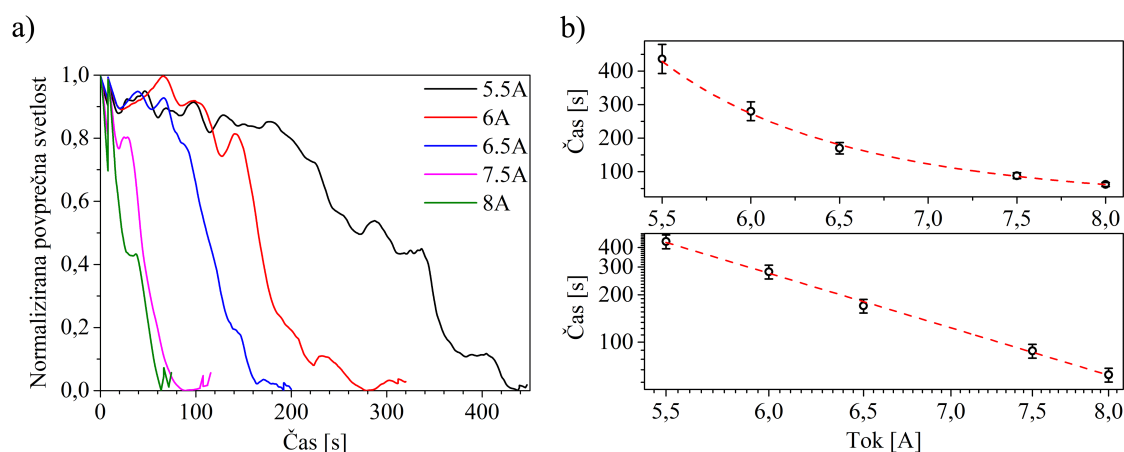
Slika 5.4.1: Tvorjenje kapljic z mešanico tekočega kristala z dispergiranimi vodnimi mikrokapljicami. Čip z dvema kapilarama; premer injekcijske kapilare je  $70 \mu\text{m}$ , zbiralne pa  $140 \mu\text{m}$ . Velikost kapljic ustreza  $120 \mu\text{m}$ .

Posamezno kapljico v tekočerkristalni celici sem segreval z optično pinceto in opazoval kakšen vpliv ima segrevanje na sproščanje mikrokapljic iz večje tekočerkristalne kapljice in ali do sproščanja sploh pride oziroma kdaj. Spreminjal sem moč laserskega snopa in opazoval, kdaj se prične sproščanje in kako dolgo traja. Sproščanje se prične v bližini faznega prehoda tekočega kristala, ko le-ta zaradi reorientacije molekul izgubi *sposobnost ograditve*, vodne mikrokapljice pa zato lažje pobegnejo ven [28]. Moč laserja mora preseči mejno vrednost, da uspe lokalno segreti tekočerkristalno kapljico do temperature faznega prehoda. Izkazalo se je, da je mejna vrednost okoli  $5 \text{ A}$ , merjeno z jakostjo električnega toka pri nastavitvah laserja. Moč optične pincete namreč določamo s tokom, zato so vrednosti podane v amperih. Pod mejno vrednostjo toka sproščanja tudi po daljšem času segrevanja ni bilo. Sproščanje mikrokapljic, ki se je pričelo nad mejno vrednostjo, se je opazilo v obliki manjših ali večjih pokov, ki so se pojavljali na robu kapljice. Dva takšna poka, pri katerih se sprosti večja količina mikrokapljic, sta lepo vidna na sliki 5.4.2, vidnih pa je tudi več manjših, posameznih mikrokapljic. Segrevanje, ki privede do faznega prehoda, vpliva na reorientacijo tekočerkristalnih molekul v veliki kapljici. Tekoči kristal preide iz nematske v izotropno fazo. Poleg tega segrevanje povzroči zmanjšanje površinske napetosti. Lokalno segrevanje, kakršnega dosežemo z optično pinceto, dodatno povzroči še gradient površinske napetosti, ki vodi do Marangonijevega pojava [85]. Pojav opisuje poganjanje toka proti območju z večjo površinsko napetostjo zaradi gradienta površinske napetosti. Reorientacijo molekul v fazi prehoda in gradient površinske napetosti lahko zato prepoznamo kot glavna mehanizma za sproščanje mikrokapljic. Sproščanje mikrokapljic se dogaja zgolj v bližini faznega prehoda, zato je hitrost segrevanja povezana s časom sproščanja. Segrevanje nadziramo z močjo optične pincete. S postopnim povečevanjem moči laserja sem preveril, kakšna je odvisnost med močjo segrevanja in trajanjem sproščanja. Video posnetke sem analiziral s programom ImageJ, ki omogoča izračunavanje povprečne svetlosti posnetka na določenem območju v odvisnosti od časa, za celotno dolžino posnetka. Kot vidimo na sliki 5.4.2, je kapljica zaradi sproščanja mikrokapljic z barvilom vedno bolj prosojna oziroma dobiva barvo ozadja, kar se odraža v manjši povprečni



Slika 5.4.2: Časovno zaporedje slik sproščanja vodnih mikrokaplji z barvilom pri manipulaciji z optično pinceto. Z modrim črtkanim krogom sta obkrožena dva večja poka, pri katerih se sprosti večja količina vodnih mikrokaplji, na preostalih slikah pa opazimo več manjših sproščanj.

svetlosti slike. Ker je graf, ki ga ponudi program, v obliki krivulje, na katero je naložen šum, sem te vrednosti še obdelal. V ta namen sem napisal program v programskem jeziku Python, ki dobljene vrednosti povpreči, s tem pa naredi krivuljo bolj gladko in pregledno za nadaljnjo analizo. Na koncu sem vrednosti povprečne svetlosti še normaliziral, dobljeni graf (slika 5.4.3a) pa uporabil za določitev trajanja sproščanja. Ko povprečna svetlost pade na nič, oziroma se ne spreminja več, je sproščanja konec. Trajanje sproščanja v odvisnosti od moči pincete je prikazano na sliki 5.4.3b. Na grafu z logaritemsko skalo vidimo, da dobljena odvisnost lepo sledi potenčni funkciji. Strmina prilagojene premice ima negativni koeficient z vrednostjo  $-5.2$ . Takšna odvisnost je smiselna, saj večja kot je moč laserskega snopa, hitreje se kapljica segreje in prej pride do faznega prehoda. Ker se sproščanje dogaja zgolj v okolici prehoda, je posledično trajanje sproščanja pri večji moči krajše.

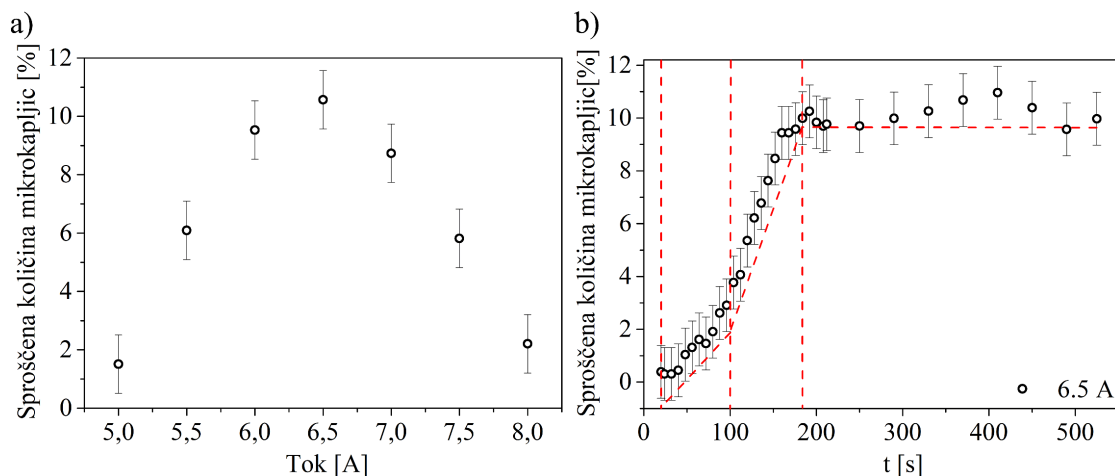


Slika 5.4.3: a) Normalizirane vrednosti povprečne svetlosti kapljice iz videoposnetkov pri različnih močeh segrevanja. b) Graf trajanja sproščanja mikrokaplji v odvisnosti od moči optične pincete. Zgornji graf ima na obeh oseh linearno skalo, spodnji pa logaritemsko. Vrednost smernega koeficienta prilagojene premice na grafu z logaritemskima osema je  $-5.2$ .

#### 5.4. SPROŠČANJE VODNIH MIKROKAPLJIC Z BARVILOM IZ TEKOČEKRIKSTALNIH KAPLJIC

---

Trajanje sproščanja samo po sebi ne pove kaj dosti, če obenem ne vemo koliko mikrokapljič se je sprostito, zato sem analiziral še delež sproščenič mikrokapljič pri posamezni moči in preveril ali ta delež naraščā z večanjem moči optične pincete. Ponovno sem s programom ImageJ analiziral slike kapljič, vendar tokrat le stanje pred in po segrevanjju. Izmeril sem površino kapljič in iz tega podatka izračunal začetno in končno prostornino ter ocenil sproščeno količino mikrokapljič v odstotkih. Izkazalo se je, da niti prevelika niti premajhna moč nista učinkoviti za čim boljše sproščanje vodnič mikrokapljič. Kot vidimo na sliki 5.4.4a, sproščena količina naraščā do vrednosti 6.5 A, nato pa začne padati. Obstaja torej neka srednja vrednost, pri kateri je sproščanje najbolj optimalno. Razlog za takšno karakteristiko sproščanja je najverjetnje v kombinaciji in deležu dveh prej omenjenih mehanizmov, zaradi katerih do sproščanja sploh pride. Pri manjših močeh je segrevanje počasno, temperatura se dlje časa približuje faznemu prehodu, sproščanje pa je zato daljše. Zaradi počasnega segrevanja je temperaturni gradient precej manjši, kar pomeni, da drugi mehanizem sproščanja ne pride toliko do izraza. V drugem primeru, ko je moč laserja zelo velika, je temperaturni gradient precej velik, čas v bližini faznega prehoda pa zato toliko krajši, da se ne more sprostiti večja količina mikrokapljič. Tekočekristalna kapljič se tokrat prehitro segreje čez temperaturo prehoda, ko pa se to zgodi, se tudi sproščanje ustavi. Pri srednji vrednosti 6.5 A je očitno kombinacija obeh mehanizmov sproščanja, torej časa, ko sta temperatura v bližini faznega prehoda in temperaturnega gradienta v pravem razmerju, sproščanje pa je zato najbolj optimalno. Največja sproščena količina je dobrič 10 % začetne prostornine. Ob tem je smiselno izpostaviti, da je delež v tekočem kristalu dispergiranič vodnič mikrokapljič z barvilom 20 %. Če upoštevamo še, da vsaka kapljič morda ni optimalno *napolnjena* z mikrokapljičami, lahko ocenimo, da se je sprostita dobra polovica vseh mikrokapljič. Poleg končne sproščene količine mikrokapljič je pomembna tudi sama dinamika sproščanja. Z enako metodo kot prej sem analiziral velikost tekočekristalne kapljič tekom sproščanja in določil njeno prostornino ter kasneje še sproščeno količino mikrokapljič, izraženo v odstotkih. Kot vidimo na grafu na sliki 5.4.4b, je sproščanje na začetku (0 do 100 s) počasnejše, medtem ko je v nadaljevanju poskusa (100 do 200 s) za odteneč hitrejše. Predvidevam, da je hitrejše sproščanje v kasnejših časih od začetka segrevanja posledica bližine faznega prehoda, kjer je reorientacija tekočekristalnič molekuli najbolj izrazita, mikrokapljič pa v tem času najlažje *pobegnejo* iz tekočekristalne kapljič.

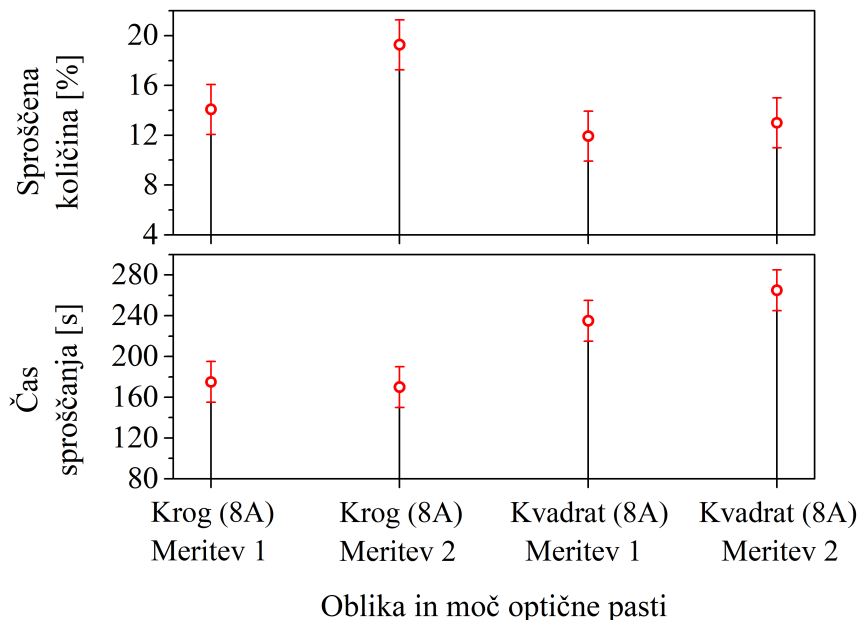


Slika 5.4.4: a) Graf sproščene količine mikrokapljič, izražene v odstotkih začetne prostornine, v odvisnosti od moči optične pincete. b) Graf sproščene količine mikrokapljič v odvisnosti od časa. Primer sproščanja pri moči optične pincete 6.5A. Rdeče črtkane črte so dodane kot vodilo za oči in lažjo predstavo o dinamiki sproščanja. Napaka je ocenjena iz analize treh posnetkov in natančnosti izmerjenje površine.

Ker optična pinceta poleg točkovne manipulacije omogoča tudi manipulacijo z različnimi oblikami optičnih pasti, sem preveril kako na sproščanje vplivata pasti v obliki kroga in kvadrata. Past v obliki kroga je bila sestavljena iz 10 točk, med katerimi se laserski žarek premika s frekvenco 1000 Hz, v obliki kvadrata pa iz 4 točk in enako frekvenco premikanja. Razporeditev točk pri posamezni obliki pasti je prikazana na sliki 4.2.7b, pri opisu optične pincete. Sproščena količina je v obeh primerih pasti večja kot s točkovnim segrevanjem pri najbolj optimalni moči. Kot lahko razberemo iz grafa na sliki 5.4.5, je pri segrevanju s kvadratno pastjo sproščena količina mikrokapljič okoli 13 % začetnega volumna kapljice. V primeru krožne pasti je sproščanje še učinkovitejše, saj se pri prvi meritvi sprosti okoli 14%, v drugi pa kar 18% vodnih mikrokapljič. Izkaže se torej, da je sproščanje z omenjenima oblikama pasti zelo učinkovito. Učinkovitejše sproščanje bi lahko razložili z delovanjem še enega mehanizma, ki se pojavi pri teh oblikah pasti. Zaradi premikanja žarka iz točke v točko si lahko predstavljamo, da območje segrevanja kroži v obliki pasti. To povzroči tok vodnih mikrokapljič v notranjosti tekočerkristalne kapljice. Zaradi toka mikrokapljič nastanejo strižne napetosti, ki vplivajo na orientacijo tekočerkristalnih molekul [86]. V [28] so pokazali, da se mikrokapljič iz tekočega kristala sproščajo tudi zaradi strižnih napetosti, zato sklepam, da je poleg že dveh prej omenjenih mehanizmov sproščanja, prisoten še ta mehanizem. Trajanje sproščanja je pri krožni pasti krajše kot pri kvadratni pasti. Prav tako je sproščanje bolj učinkovito pri krožni pasti. Učinkovitejše sproščanje je torej pri krajšem času sproščanja, kar je podobno kot pri točkovnem segrevanju. Kljub temu, da gre pri obeh pasteh za enake moči

#### 5.4. SPROŠČANJE VODNIH MIKROKAPLJIC Z BARVILOM IZ TEKOČEKRIKSTALNIH KAPLJIC

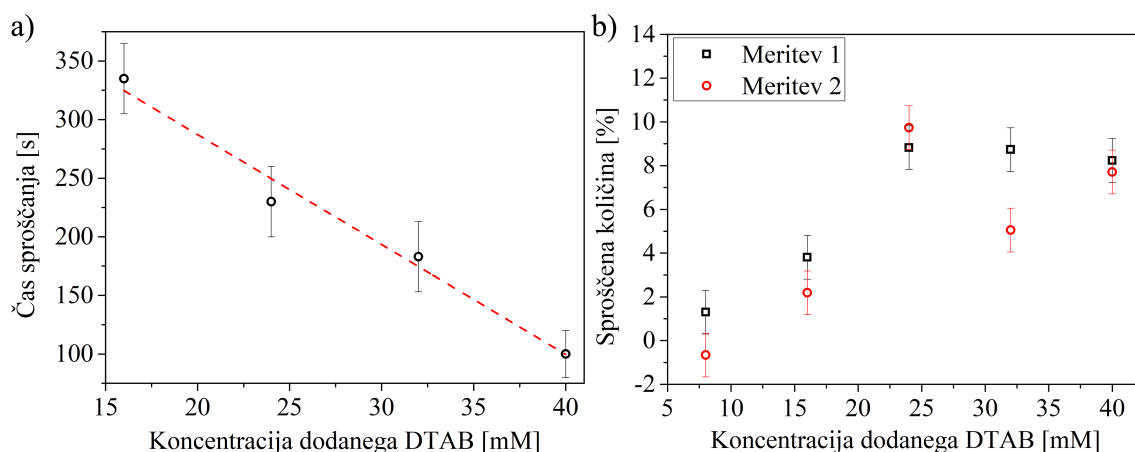
laserskega snopa, se kapljica ni enako hitro segrevala, iz česar sklepam, da ima na hitrost segrevanja vpliv tudi oblika pasti in najverjetneje tudi število točk v pasti.



Slika 5.4.5: Sproščena količina vodnih mikrokapljič in trajanje sproščanja pri segrevanju s krožno in kvadratno obliko pasti. Sproščanje mikrokapljič pri manipulaciji tekočerkristalne kapljice z optično pastjo v obliki kroga je zelo učinkovito, kljub krajšemu trajanju sproščanja v primerjavi s kvadratno obliko pasti.

Surfaktanti vplivajo na sidranje molekul na robu tekočerkristalne kapljice. Reorientacija molekul na površini se zgodi tudi v primeru, ko kapljico, ki ima eno sidranje molekul na površini, postavimo v okolje s surfaktantom, ki ima tendenco po vsiljevanju drugačnega sidranja. Kot smo že prej ugotovili, je reorientacija tekočerkristalnih molekul eden izmed mehanizmov sproščanja mikrokapljič. Zato sem z dodajanjem različnih koncentracij surfaktanta DTAB preveril, ali lahko s kemičnim vsiljevanjem drugačnega sidranja dosežemo sproščanje mikrokapljič. V  $5 \mu\text{l}$  mešanice tekočerkristalnih kapljic in vode z dodanim PVA sem dodal  $10 \mu\text{l}$  surfaktanta DTAB z različnimi koncentracijami in opazoval ali to sproži sproščanje mikrokapljič. Izkazalo se je, da do sproščanja pride, opazi pa se tudi razlika v trajanju sproščanja. Kot lahko vidimo na sliki 5.4.6a, večja kot je koncentracija, krajše je trajanje sproščanja in obratno, odvisnost pa je linearna. Takšna odvisnost trajanja sproščanja od koncentracije dodanega surfaktanta je smiselna, saj večja kot je koncentracija, več je molekul, ki se lahko hkrati vežejo na površino tekočerkristalne kapljice in tako poskrbijo, da reorientacija molekul na robu poteka hitreje. V trenutku, ko so molekule na robu postavljene kot narekuje vsiljen način sidranja, se sproščanje ustavi. Tekočerkristalne kapljice, stabilizirane s PVA, imajo planarno sidranje molekul na površini,

dodajanje surfaktanta DTAB pa vsiljuje homeotropno orientacijo molekul. Prevelika koncentracija dodanega surfaktanta lahko destabilizira tekočerkristalno kapljico, kar se je pokazalo pri dodajanju 40 mM koncentracije, ko so se kapljice po sproščanju začele združevati. Tega pri dodajanju manjših koncentracij ni bilo opaziti. Če pogledamo še količino mikrokapljič, ki se sprosti glede na koncentracijo dodanega surfaktanta (slika 5.4.6b), vidimo, da sproščena količina narašča z večanjem koncentracije do 24 mM, nato se ustali, sodeč po eni izmed meritev pa celo zmanjša. Najbolj optimalno sproščanje je torej pri dodanem surfaktantu s 24 mM koncentracijo. S primerjavo sproščanja mikrokapljič s segrevanjem z laserskim snopom in z dodajanjem surfaktanta DTAB ugotovimo, da lahko s toplotnim oziroma kemičnim dražljajem dosežemo različne karakteristike sproščanja mikrokapljič. Čas sproščanja pri segrevanju z laserskim snopom kaže potenčno odvisnost, medtem ko je pri dodajanju surfaktanta odvisnost linearna. Nazadnje sem raziskal še obstojnost teko-

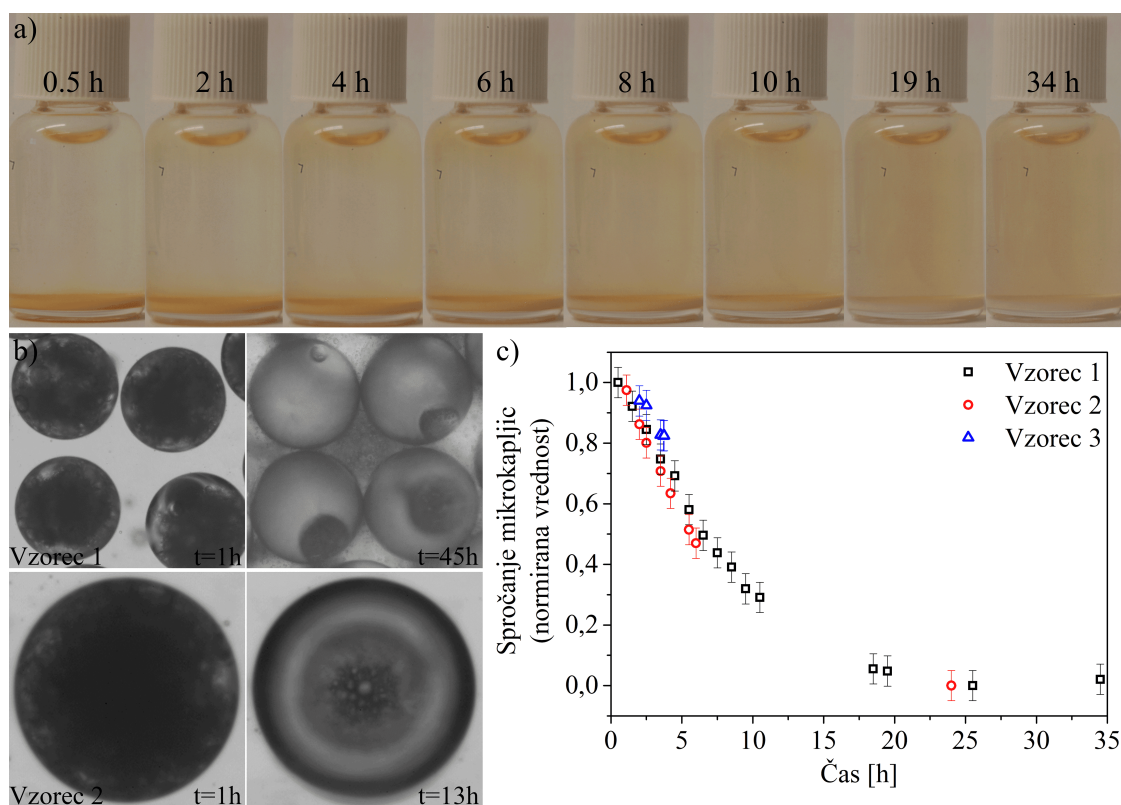


Slika 5.4.6: a) Graf časa sproščanja mikrokapljič v odvisnosti od koncentracije dodanega surfaktanta DTAB. b) Graf sproščene količine mikrokapljič, izražene v odstotkih začetne prostornine, v odvisnosti od koncentracije dodanega surfaktanta DTAB.

čerkristalnih kapljic in ali se mikrokapljič sproščajo iz njih tudi brez kakršnegakoli toplotnega ali kemičnega spodbujanja. Tekočerkristalne kapljice z enkapsuliranimi mikrokapljičami v okoliški kapljevini (2.5 % raztopina PVA v vodi) sem tekom tvorjenja kapljic zbiral v majhno stekleničko, ki sem jo nato slikal v določenih časovnih intervalih, slike pa sem uporabil za analizo. Ker je bilo v mikrokapljičah barvilo, bi se okoliška kapljevina obarvala, če bi prišlo do sproščanja. Kot lahko vidimo na sliki 5.4.7a se je kapljevina čez čas res obarvala. Da se je barvilo dejansko sprostil iz kapljic, se dobro vidi na dnu stekleničke (slika 5.4.7a), kjer posedene tekočerkristalne kapljice s časom postajajo vedno bolj prosojne, kapljevina pa vedno bolj obarvana. Z analizo povprečne intenzitete barve v steklenički, ki sem jo naredil s programom ImageJ, sem določil kakšna je časovna dinamika samodejnega sproščanja mikro-



kapljic. Vrednosti povprečne intenzitete sem normaliziral, najmanjšo vrednost pa določil, ko se intenziteta dalj časa ni več spreminjala. Po skoraj dveh dneh sem pod mikroskopom pogledal ali so kapljice res prazne in izkazalo se je, da je večina kapljic popolnoma ali skoraj popolnoma praznih (slika 5.4.7b). S tem sem tudi preveril metodo določanja časovnega sproščanja na podlagi povprečne intenzitete barve v steklenički, ki se je izkazala za zelo enostavno, a hkrati precej učinkovito. Tekočekristalne kapljice so bile po dveh dneh nespremenjene, kar pomeni, da so stabilne tudi na daljši rok in se ne združujejo. Tekočekristalne kapljice se brez zunanega vpliva sprazniijo po približno 20 urah, sproščanje pa, sodeč po grafu na sliki 5.4.7c, poteka enakomerno prvih 10 ur.



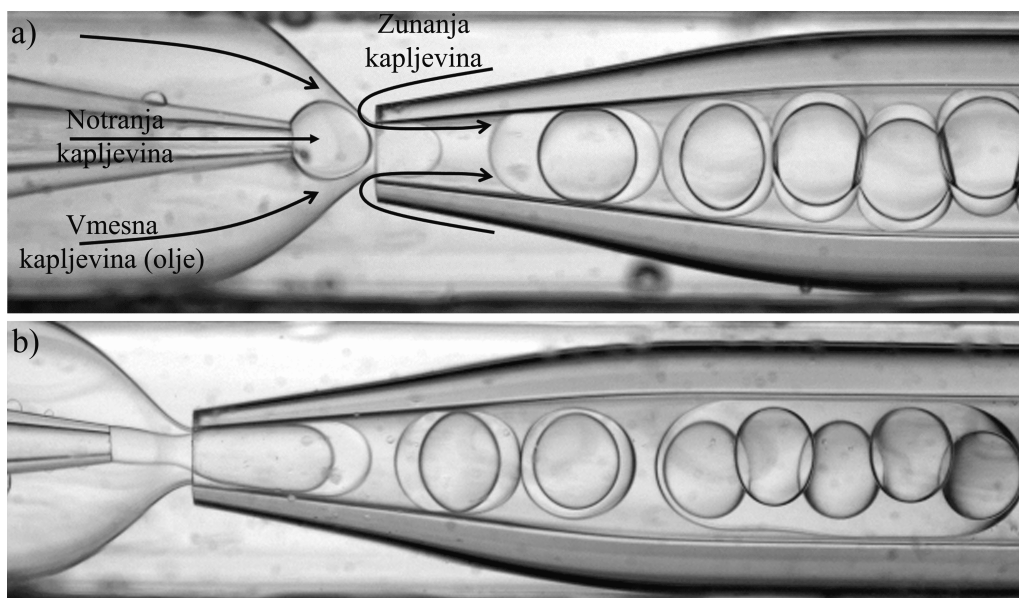
Slika 5.4.7: a) Časovno zaporedje posnetkov stekleničke s tekočerkristalnimi kapljicami v okoliški kapljevini. b) Dva primera kapljic takoj po tvorjenju in po 45 oziroma 13 urah. c) Potek sproščanja mikrokapljic brez zunanega vpliva.

## 5.5 Dvojne emulzije

Tvorjenje dvojnih emulzij predstavlja eno od pomembnih aplikativnih in raziskovalnih vej mikrofluidike. V aplikativne namene se dvojne emulzije uporabljajo za enkapsulacijo zdravilnih učinkovin, bakterij ali drugih makromolekul v natančno kontroliranem mikrokolju, lahko pa so uporabne tudi kot mikroreaktorji, v katerih

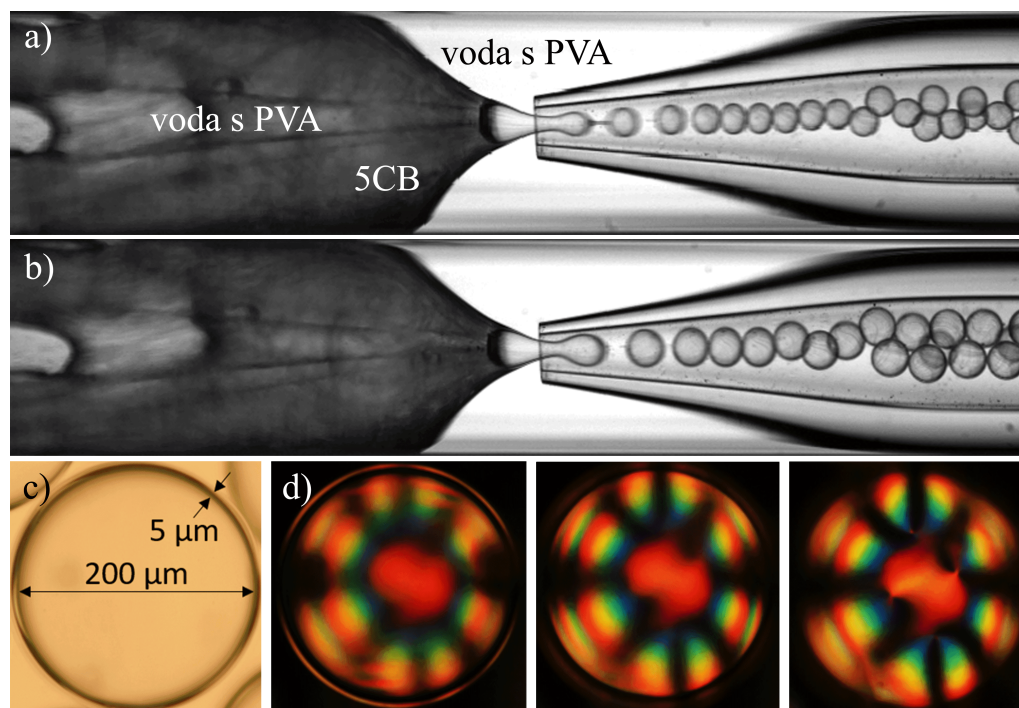
potekajo kemijske reakcije [37, 87]. V bazičnih raziskavah so zanimive predvsem tekočerkristalne lupine, s katerimi proučujejo topološke defekte v sferičnih geometrijah. V tem poglavju bom na kratko predstavil način tvorjenja oljnih in tekočerkristalnih dvojnih emulzij. Poudarek ne bo na podrobni analizi produkcije in velikosti lupin, temveč na uporabnosti mikrofluidičnih čipov, ki sem jih prej uporabljal za tvorjenje kapljic. Uporabljal sem čip z dvema kapilama, podoben čipu iz razdelka 5.2, le da je ta čip drugače silaniziran, kapilari pa imata precej večje premere odprtin. Razmerje premera injekcijske in zbiralne kapilare je okoli 1:3; premer injekcijske kapilare meri  $100\ \mu\text{m}$ , premer zbiralne pa  $280\ \mu\text{m}$ . Dvojne emulzije sem poskušal tvoriti tudi s čipom z manjšimi premeri kapilar, vendar neuspešno. Za okoliško kapljevino in za stabilizacijo lupin sem uporabljal 2.5 % raztopino PVA, prav tako sem enako raztopino uporabljal za enkapsulacijo v lupine. Najprej sem dvojne emulzije tvoril s silikonskim oljem (20 cSt). V tem primeru silikonsko olje priteče iz leve strani po kvadratni kapilari in oblije vodno raztopino PVA, ki priteče po injekcijski kapilari (enkapsulirana kapljevina). Skupaj z vodno raztopino PVA, ki priteče po kvadratni kapilari iz desne strani, se nato vse tri kapljevine usmerijo v zbiralno kapilarno, kjer nastane emulzija *vode v olju v vodi*. Na začetku čip napolnimo podobno kot v primeru tvorjenja kapljic, upoštevamo le, da je sedaj, za razliko od tvorjenja kapljic, dotok olja po kvadratni, dotok vodne raztopine PVA pa po injekcijski kapilari. Tlak sem na začetku nastavljal na vrednosti okoli 20 mbar in pustil kapljevino teči nekaj minut. V tem času še ne nastaja dvojna emulzija, temveč je proces bolj podoben tvorjenju kapljic. Nato sem s počasnim spreminjanjem parametrov prišel do vrednosti, pri katerih so začele nastajati dvojne emulzije. Te zlahka opazimo, saj se okoli vodne kapljice naredi oljna lupina, po drugi strani pa mora olje iz vseh strani enakomerno oblivati vodno raztopino, ki prihaja iz injekcijske kapilare. Parametri, pri katerih so uspeli oljne lupine, ki jih vidimo na sliki 5.5.1a, so 40 mbar za silikonsko olje, ki priteka iz leve strani, 30 mbar za raztopino PVA, ki priteka iz desne strani, in prav tako 30 mbar za vodno raztopino iz injekcijske kapilare. Vrednosti tlakov so približno enake, tako da bi lahko kot začetno vrednost za uspešno tvorjenje dvojnih emulzij določili vrednosti med 30 in 40 mbar. Opazil sem tudi, da lahko z večanjem in pravo kombinacijo tlaka kapljevine v injekcijski kapilari in tlaka silikonskega olja v eno oljno lupino enkapsuliramo več vodnih kapljic hkrati (slika 5.5.1b). Enkapsulacija tako velikih kapljic sicer ni pretirano uporabna, kljub temu pa je dober prikaz koncepta enkapsulacije. Premeri dvojnih emulzij so tipično med  $100\ \mu\text{m}$  in  $200\ \mu\text{m}$ , nastale oljne lupine pa so precej večje, s premerom  $400\ \mu\text{m}$  in debelino lupine  $45\ \mu\text{m}$ .

Tekočerkristalne dvojne emulzije oziroma tekočerkristalne lupine tvorimo na enak način kot oljne, le da rezervoarček z oljem zamenjamo s tekočim kristalom. Tekočerkristalne lupine, ki sem jih uspel sproducirati, so bile zelo monodisperzne in so imele



Slika 5.5.1: a) Tvorjenje oljne dvojne emulzije s premerom okoli  $400\ \mu\text{m}$  in debelino lupine  $45\ \mu\text{m}$ . b) Primer enkapsulacije štirih kapljic vode v eno oljno lupino.

premer od  $160\ \mu\text{m}$  do  $200\ \mu\text{m}$  ter debelino lupine  $5\ \mu\text{m}$ . Manjše premere emulzij (slika 5.5.2a) sem dobil s tlaki  $40\ \text{mbar}$  za tekoči kristal,  $50\ \text{mbar}$  za vodno raztopino PVA, ki priteče iz desne, in  $60\ \text{mbar}$  za vodno raztopino PVA, ki priteče iz leve strani. S povečanjem tlaka tekočega kristala in zmanjšanjem tlaka raztopine PVA iz desne strani za  $10\ \text{mbar}$  so nastajale lupine s premerom  $200\ \mu\text{m}$  (slika 5.5.2b, c). Na tekočerkristalnih lupinah lahko med prekrižanima polarizatorjema proučujemo topološke defekte. Topološki defekt s skupnim topološkim nabojem  $+2$ , je prikazan na sliki 5.5.2d. PVA vsili planarno sidranje molekul tekočega kristala na vmesni (mejni) plasti z vodo. Ker je tako znotraj kot zunaj lupine raztopina PVA, so molekule na obeh površinah (notranja in zunanja plast lupine) sidrane planarno. Defekti, ki se pojavijo na tekočerkristalnih lupinah s planarnim sidranjem, so odvisni od debeline lupine [88]. Tako sta na debelejših lupinah (razmerje med zunanjim in notranjim premerom lupine okoli 0.5) bolj ugodna dva *boojum* defekta, medtem ko se na tanjših lupinah pojavi različno število in struktura defektov. Ena izmed možnih konfiguracij so štiri disklinacijske linije z delnimi naboji  $+1/2$ , ki jo v treh različnih presekih lupine vidimo na sliki 5.5.2d.



Slika 5.5.2: a) Tvorjenje tekočerkristalnih lupin s premerom  $160 \mu\text{m}$  in b)  $200 \mu\text{m}$  ter debelino lupine  $5 \mu\text{m}$ . c) Tekočerkristalna lupina pod mikroskopom brez prekržanih polarizatorjev. d) Trije različni preseki tekočerkristalne lupine pod mikroskopom med prekržanima polarizatorjema. Viden topološki defekt s štirimi disklinacijskimi linijami z ovojnim številom  $k = +1/2$  in s skupnim topološkim nabojem  $+2$ .

# Poglavje 6

## Zaključek

V magistrskem delu sem raziskoval tvorjenje kapljic z različnimi mikrofluidičnimi čipi. Najprej sem proučil tvorjenje oljnih in tekočerkristalnih kapljic z dvema različnima geometrijama kapilarnih čipov; s čipom z zbiralno kapilaro in čipom z injekcijsko in zbiralno kapilaro. Rezultati so pokazali, da je v obeh primerih velikost kapljic odvisna od premera odprtine injekcijske oziroma zbiralne kapilare. Z zmanjšanjem dimenzij odprtin kapilar in večanjem pretoka okoliške kapljevine se velikost nastalih kapljic zmanjšuje. S primerjavo dveh čipov z različnima premeroma zbiralne kapilare sem ugotovil, da velikost nastalih oljnih kapljic s povečevanjem pretoka okoliške kapljevine v obeh primerih pada na enak način. Strmini prilagoditvene premice na grafih velikosti kapljic v odvisnosti od razmerja pretokov z logaritmskima osema sta namreč enaki, zmanjšanje odprtine kapilare pa bistveno pripomore k zmanjšanju velikosti kapljic. Najmanjše oljne kapljice, ki sem jih uspel tvoriti s tovrstnim čipom, s premerom zbiralne kapilare  $15\ \mu\text{m}$ , so imele premer  $21 \pm 1\ \mu\text{m}$ . Kljub uspešnem tvorjenju monodisperznih kapljic, se pri zmanjšanju odprtine kapilare zelo poveča možnost zamašitve kapilare. Zaradi tega je tvorjenje kapljic s tovrstnim čipom zelo nepredvidljivo, eksperiment pa zahteva mnogo ponovitev za uspešno izvedbo. Izkazalo se je, da se čip z dvema kapilarama (injekcijsko in zbiralno) obnese bistveno bolje. Tvorjenje kapljic je predvidljivo, s pretoki je mogoče imeti kontrolo tako nad velikostjo kapljic kot nad režimom, v katerem kapljice nastajajo, hkrati pa je možno tvoriti manjše kapljice z nekoliko večjimi premeri kapilar. Zanesljivost in ponovljivost teh čipov mi je omogočila, da sem sistematično raziskal vpliv viskoznosti tako dispergirane kot okoliške kapljevine na tvorjenje kapljic. Izkazalo se je, da viskoznost dispergirane kapljevine ne vpliva bistveno na velikost kapljic, je pa od te viskoznosti odvisen režim tvorjenja kapljic, ki se vzpostavi. Pri večji viskoznosti dispergirane kapljevine je bolj ugoden režim kapljanja, s povečanjem viskoznosti okoliške kapljevine pa se hitreje vzpostavi režim curljanja. V režimu curljanja z zoženim tokom nastajajo majhne kapljice, s premeri manjšimi od premera odprtine

kapilare, frekvenca tvorjenja pa je med opaženimi režimi največja. Kapljanje je po drugi strani nakoliko počasnejše, monodisperznost kapljic je večja, najmanjša velikost kapljic pa je geometrijsko omejena s premerom injekcijske oziroma zbiralne kapilare. Tvorjenje oljnih (silikonsko olje) in tekočerkristalnih (5CB) kapljic je podobno, večja razlika je edino v vzpostavitvi režima curljanja z zoženim tokom. Ta se pri tvorjenju tekočerkristalnih kapljic lažje vzpostavi. Vzrok za to bi lahko pripisali anizotropnim lastnostim tekočega kristala in različnim koeficientom viskoznosti v posamezni smeri. S čipom z zbiralno kapilaro s premerom  $25\ \mu\text{m}$  so v tem režimu nastajale tekočerkristalne kapljice z velikostjo  $12\pm 2\ \mu\text{m}$ , pri čipu z dvema kapilarama s premeroma  $50\ \mu\text{m}$  in  $100\ \mu\text{m}$ , pa so nastale tekočerkristalne kapljice s premerom  $25\ \mu\text{m}$  ali več. Pri izvedenih eksperimentih je bila frekvenca tvorjenja kapljic do nekaj tisoč Hz v režimu curljanja in nekaj sto Hz v režimu kapljanja. Posledica večje frekvence tvorjenja kapljic je večja polidisperznost kapljic, ki je v režimu curljanja med 10 % in 20 %, medtem ko je v režimu kapljanja manj kot 3 %. Med eksperimenti sem za pretakanje kapljev in po mikrofluidičnih čipih uporabljal tlačno črpalko in piezokontroler tlaka. Slednji se je izkazal za bolj uporabnega, kljub temu, da sta sicer obe napravi dovolj precizni za izvedbo takšnih mikrofluidičnih eksperimentov.

V drugem delu rezultatov sem predstavil eksperiment z aplikativnim potencialom. Raziskal sem sproščanje vodnih mikrokapljev z barvilom, dispergiranih v tekočerkristalni kapljici. Sproščanje sem opazoval v treh različnih okoliščinah: z lokalnim segrevanjem tekočerkristalne kapljice, z dodajanjem različnih koncentracij surfaktanta in nazadnje še sproščanje brez zunanjih dražljajev. Lokalno sem tekočerkristalno kapljico segreval z optično pinceto. Rezultati so pokazali, da je čas sproščanja mikrokapljev povezan z močjo laserskega snopa. Večja kot je moč, krajši je čas sproščanja, ki običajno traja nekaj minut. Izkazalo se je, da odvisnost zelo dobro opiše potenčna funkcija z negativnim eksponentom z vrednostjo -5.2. Večja moč laserskega snopa po drugi strani ne pomeni tudi večje količine sproščenih kapljev. To je pokazala nadaljnja analiza, pri kateri sem ugotovil, da je sproščanje vodnih mikrokapljev najbolj učinkovito pri srednji vrednosti moči optične pincete (6.5 A), pri najmanjši in največji moči pa je sproščanje manj učinkovito. Še učinkovitejše sproščanje se pojavi s segrevanjem tekočerkristalne kapljice z okroglo in kvadratno obliko optične pasti. V tem primeru se je pri krožni optični pasti sprostil okoli 5 % več mikrokapljev, pri kvadratni pasti pa okoli 2 % več vodnih mikrokapljev kot pri točkovnem segrevanju. Z dodajanjem različnih koncentracij surfaktanta DTAB sem preveril, ali lahko tudi s kemičnimi dražljaji vplivamo na sproščanje vodnih mikrokapljev. Izkazalo se je, da čas sproščanja mikrokapljev linearno pada z višanjem dodane koncentracije surfaktanta. Sproščena količina mikrokapljev narašča do koncentracije 25 mM, pri višjih koncentracijah pa se ustali oziroma celo nekoliko pade. Nazadnje sem preveril kako hitro se tekočerkristalne kapljice prazni same od

---

sebe. Prvih 10 ur sproščanje poteka precej enakomerno, konča pa se po približno 20 urah, ko so kapljice tekočega kristala skoraj ali v celoti izpraznjene. Razlika v sproščanju vodnih mikrokapljic z ali brez spodbujanja je torej precejšnja. Ob zunanjih dražljajih sproščanje traja nekaj 100 sekund, brez sproščanja pa več kot 10 ur. V rezultatih sem navedel tudi tri mehanizme, za katere predvidevam, da so ključni pri sproščanju mikrokapljic: Marangonijev pojav zaradi gradienta površinske napetosti, reorientacija tekočokristalnih molekul v bližini faznega prehoda in strižne napetosti zaradi tokov znotraj tekočokristalne kapljice. Z rezultati eksperimenta sem pokazal zelo kontrolirano sproščanje vodnih mikrokapljic iz tekočokristalne kapljice, kar lahko natančno reguliramo bodisi s kemičnim bodisi s toplotnim draženjem.

V zadnjem razdelku rezultatov sem predstavil še postopek tvorjenja dvojnih emulzij oziroma lupin. Prikazal sem tvorjenje tako oljnih kot tekočokristalnih lupin in navedel vrednosti tlakov kapljev in med eksperimentom, ki lahko služijo kot okvirni napotek za uspešno tvorjenje tovrstnih dvojnih emulzij. Na koncu sem opisal topološke defekte na primeru nastale tekočokristalne lupine. S tem sem predstavil še eno aplikativno vejo kapljične mikrofluidike, ki je v uporabi, predvsem na področju enkapsulacije snovi v majhne prostornine.

Tematika magistrskega dela ima še mnogo možnosti za nadaljnje raziskovanje; tako pri razvoju mikrofluidičnih čipov kot pri tvorjenju in analizi kapljic. Možnost nadaljnjega raziskovanja mikrofluidičnih čipov vidim v testiranju drugačnih geometrij mikrofluidičnih čipov, ki bi omogočalo zanesljivo in predvidljivo tvorjenje monodisperznih kapljic s premeri pod  $30\ \mu\text{m}$ . Raziskalo bi se lahko tudi vplive površinsko aktivnih snovi na tvorjenje kapljic, hkrati pa bi bila zanimiva sistematična analiza velikosti kapljic in opaženih režimov pri večjem razponu razmerij viskoznosti dispergirane in okoliške kapljevine. Eksperiment s sproščanjem vodnih mikrokapljic v tekočokristalni kapljici bi bilo zanimivo razširiti na tekočokristalne lupine, kjer bi lahko bila znotraj lupine enkapsulirana določena snov, ki bi vplivala na sproščanje mikrokapljic in s tem ponudila dodatno karakteristiko sproščanja mikroemulzij.





# Literatura

- [1] G. M. Whitesides, *The origins and the future of microfluidics*, Nature **442**, 368 (2006).
- [2] T. M. Squires in S. R. Quake, *Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale*, Rev. Mod. Phys. **77**, 977 (2005).
- [3] P. Tabeling in S. Troian, *Introduction to microfluidics*, Phys. Today **59**, 58 (2006).
- [4] S. C. Terry, J. H. Jerman in J. J. Angell, *A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer*, IEEE Trans. Electron Devices **26**, 1880 (1979).
- [5] A. Manz, N. Graber in H. Widmer, *Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing*, Sens. Actuator B-Chem. **1**, 244 (1990).
- [6] A. Manz, D. Harrison, E. Verpoorte, J. Fettinger, A. Paulus, H. Ludi in H. Widmer, *Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems. Capillary electrophoresis on a chip*, J. Chromatogr. A **593**, 253 (1992).
- [7] P. Nge, C. Rogers in A. Woolley, *Advances in microfluidic materials, functions, integration, and applications*, Chem. Rev. **113**, 2550 (2013).
- [8] W. li, L. Zhang, X. Ge, B. Xu, W. Zhang, L. Qu, C.-H. Choi, J. Xu, A. Zhang, H. Lee in D. Weitz, *Microfluidic fabrication of microparticles for biomedical applications*, Chem. Soc. Rev. **47**, 5646 (2018).
- [9] S. K. Sia in G. M. Whitesides, *Microfluidic devices fabricated in poly(dimethylsiloxane) for biological studies*, Electrophoresis **24**, 3563 (2003).
- [10] A. M. Gañán Calvo in J. M. Gordillo, *Perfectly monodisperse microbubbling by capillary flow focusing*, Phys. Rev. Lett. **87**, 274501 (2001).

- [11] S. Anna, *Droplets and bubbles in microfluidic devices*, Annu. Rev. Fluid Mech. **48**, 285 (2016).
- [12] D. R. Link, S. L. Anna, D. A. Weitz in H. A. Stone, *Geometrically mediated breakup of drops in microfluidic devices*, Phys. Rev. Lett. **92**, 054503 (2004).
- [13] T. Kong, J. Wu, M. To, K. Yeung, H. C. Shum in L. Wang, *Droplet based microfluidic fabrication of designer microparticles for encapsulation applications*, Biomicrofluidics **6**, 34104 (2012).
- [14] S.-Y. Teh, R. Lin, L.-H. Hung in A. Lee, *Droplet microfluidics*, Lab Chip **8**, 198 (2008).
- [15] R. Seemann, M. Brinkmann, T. Pfohl in S. Herminghaus, *Droplet based microfluidics*, Rep. Prog. Phys. **75**, 016601 (2012).
- [16] T. López-León in A. Fernandez-Nieves, *Drops and shells of liquid crystal*, Colloid Polym. Sci. **289**, 345 (2011).
- [17] D. Miller, X. Wang in N. Abbott, *Design of functional materials based on liquid crystalline droplets*, Chem. Mater. **26**, 496 (2014).
- [18] M. Urbanski, C. Reyes, J. Noh, A. Sharma, Y. Geng, V. Jampani in J. Lagerwall, *Liquid crystals in micron-scale droplets, shells and fibers*, J. Phys. Condens. Matter **29**, 133003 (2017).
- [19] N. Abbott, Y. Kim, J. Noh in K. Nayani, *Soft matter from liquid crystals*, Soft Matter **15**, 6913 (2019).
- [20] A. Fernandez-Nieves, D. R. Link, M. Q. Márquez in D. A. Weitz, *Topological changes in bipolar nematic droplets under flow*, Phys. Rev. Lett. **98**, 087801 (2007).
- [21] C. C. Maass, C. Krüger, S. Herminghaus in C. Bahr, *Swimming droplets*, Annu. Rev. Condens. Matter Phys. **7**, 171 (2016).
- [22] M. Suga, S. Suda, M. Ichikawa in Y. Kimura, *Self-propelled motion switching in nematic liquid crystal droplets in aqueous surfactant solutions*, Phys. Rev. E **97**, 062703 (2018).
- [23] J. Cooper McDonald, D. C. Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. A. Schueller in G. M. Whitesides, *Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)*, Electrophoresis **21**, 27 (2000).

- [24] J. Ng Lee, C. Park in G. M Whitesides, *Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices*, Anal. Chem. **75**, 6544 (2004).
- [25] A. Utada, E. Lorenceau, D. Link, P. Kaplan, H. Stone in D. Weitz, *Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device*, Science **308**, 537 (2005).
- [26] G. S Fiorini in D. T. Chiu, *Disposable microfluidic devices: Fabrication, function, and application*, BioTechniques **38**, 429 (2005).
- [27] E. Bukusoglu, M. Pantoja, P. Mushenheim, X. Wang in N. Abbott, *Design of responsive and active (soft) materials using liquid crystals*, Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. **7**, 163 (2016).
- [28] Y.-K. Kim, X. Wang, P. Mondkar, E. Bukusoglu in N. Abbott, *Self-reporting and self-regulating liquid crystals*, Nature **557**, 539 (2018).
- [29] H. Joensson in H. Andersson-Svahn, *Droplet microfluidics-A tool for single-cell analysis*, Angew. Chem. **51**, 12176 – 12192 (2012).
- [30] L. Shang, Y. Cheng in Y. Zhao, *Emerging droplet microfluidics*, Chem. Rev. **117**, 7964 (2017).
- [31] D. Beebe, G. Mensing in G. Walker, *Physics and applications of microfluidics in biology*, Annu. Rev. Biomed. Eng. **4**, 261 (2002).
- [32] Y. Song, X. Zhao, Q. Tian in H. Liang, *Fundamental Concepts and Physics in Microfluidics: Fundamentals and Applications* (Wiley, 2018) str. 19–111.
- [33] H. Bruus, *Theoretical Microfluidics*, Oxford Master Series in Physics (Oxford, 2008).
- [34] K.-Y. Law, *Definitions for hydrophilicity, hydrophobicity, and superhydrophobicity: Getting the basics Right*, J. Phys. Chem. Lett. **5**, 686 (2014).
- [35] G. K. Schlichting, H., *Boundary-Layer Theory*, Oxford Master Series in Physics (Springer, 2017).
- [36] P. Zhu in L. Wang, *Passive and active droplet generation with microfluidics: a review*, Lab Chip **17**, 34 (2016).
- [37] R. K. Shah, H. C. Shum, A. C. Rowat, D. Lee, J. J. Agresti, A. S. Utada, L.-Y. Chu, J.-W. Kim, A. Fernandez-Nieves, C. J. Martinez in D. A. Weitz, *Designer emulsions using microfluidics*, Mater. Today **11**, 18 (2008).

- [38] G. Vladisavljević, H. Shahmohamadi, D. Das, E. Ekanem, Z. Tauanov in L. Sharma, *Glass capillary microfluidics for production of monodispersed poly (DL-lactic acid) and polycaprolactone microparticles: Experiments and numerical simulations*, J. Colloid Interface Sci. **418**, 163–170 (2014).
- [39] G. Durey, *Stripes, fingers and skyrmions: taming cholesteric liquid crystal shells under perpendicular anchoring*, Doktorska disertacija, ESPCI Paris, Pariz, Francija (2018).
- [40] A. Fernandez-Nieves in A. Puertas, *Fluids, Colloids and Soft Materials: An Introduction to Soft Matter Physics* (John Wiley & Sons, 2018).
- [41] R. Erb, D. Obrist, P. Chen, J. Studer in A. Studart, *Predicting sizes of droplets made by microfluidic flow-induced dripping*, Soft Matter **7**, 8757 (2011).
- [42] E. Lucassen-Reynders, *Interfacial viscoelasticity in emulsions and foams*, Food Struct. **12**, 1–12 (1993).
- [43] N. Kovalchuk, E. Roumpea, E. Nowak, M. Chinaud, P. Angeli in M. Simmons, *Effect of surfactant on emulsification in microchannels*, Chem. Eng. Sci. **176**, 139 (2017).
- [44] J. Xu, P. Dong, H. Zhao, C. Tostado in G. Luo, *The dynamic effects of surfactants on droplet formation in coaxial microfluidic devices*, Langmuir **28**, 9250 (2012).
- [45] P. Oswald in P. Pieranski, *Nematic and Cholesteric Liquid Crystals: Concepts and Physical Properties Illustrated by Experiments*, Liquid Crystals Book Series (CRC Press, 2005).
- [46] E. Priestly, P. Wojtowicz in P. Sheng, *Introduction to Liquid Crystals* (Springer, 1975).
- [47] I. Muševič, *Liquid Crystal Colloids*, Soft and Biological Matter (Springer International Publishing, 2017).
- [48] A. Sengupta, *Topological Microfluidics: Nematic Liquid Crystals and Nematic Colloids in Microfluidic Environment*, Springer Theses (Springer International Publishing, 2013).
- [49] T. Emeršič, *Optično-temperaturna manipulacija tlačno moduliranih mikrotokov nematskega tekočega kristala v mikrofluidičnem okolju*, Doktorska disertacija, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija (2019).

- [50] M. Kleman, O. Lavrentovich, J. Friedel in O. Lavrentovich, *Soft Matter Physics: An Introduction* (Springer, 2003).
- [51] M. Kléman in O. Lavrentovich, *Topological point defects in nematic liquid crystals*, Philos. Mag. **86**, 4117 (2006).
- [52] H. Moretto, M. Schulze in G. Wagner, *Silicones* (Wiley, 2000).
- [53] F. Barca, T. Caporossi in S. Rizzo, *Silicone oil: Different physical proprieties and clinical applications*, BioMed Res. Int. **2014**, 502143 (2014).
- [54] *Sigma Aldrich, Silicone oil*, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/378348l>, [ogled 6. 1. 2020].
- [55] S. Chandrasekhar, *Liquid Crystals*, 2. izd. (Cambridge University Press, 1992).
- [56] J. Beeckman, K. Neyts in P. Vanbrabant, *Liquid-crystal photonic applications*, Opt. Eng. **50**, 1 (2011).
- [57] L. Blinov, *Structure and Properties of Liquid Crystals* (Springer, 2011).
- [58] I. C. Khoo, *Liquid Crystals*, 2. izd. (Wiley, 2006).
- [59] H.-M. Koo, *Miesowicz viscosity coefficients of nematic liquid crystals consisting of perfectly oriented ellipsoids: The 1st-order calculation in the anisotropy parameter*, J. Korean Phys. Soc. **32**, 48 (1998).
- [60] A. G. Chmielewski, *Viscosity coefficients of some nematic liquid crystals*, Mol. Cryst. Liq. Cryst. **132**, 339 (1986).
- [61] M. G. J. Gannon in T. E. Faber, *The surface tension of nematic liquid crystals*, Philos. Mag. **37**, 117 (1978).
- [62] T. F. Tadros, *Applied Surfactants: Principles and Applications* (Wiley, 2005).
- [63] B. Arkles, *Hydrophobicity, hydrophilicity and silanes*, PCI **22**, 114 (2006).
- [64] A. L. Sumner, E. J. Menke, Y. Dubowski, J. T. Newberg, R. M. Penner, J. C. Hemminger, L. M. Wingen, T. Brauers in B. J. Finlayson-Pitts, *The nature of water on surfaces of laboratory systems and implications for heterogeneous chemistry in the troposphere*, Phys. Chem. Chem. Phys. **6**, 604 (2004).
- [65] A. Sklodowska, M. Woźniak in R. Matlakowska, *The method of contact angle measurement and estimation of work adhesion in bioleaching of metals*, Biol. Proced. Online **1**, 114 (1999).

## LITERATURA

---

- [66] *Cymit*, *2-[Methoxy(Polyethyleneoxy)6-9Propyl]Trimethoxysilane*, *Tech-90*, <https://cymitquimica.com/products/3H-SIM6492.7/65994-07-2/2-methoxypolyethyleneoxy6-9propyltrimethoxysilane-tech-90/>, [ogled 11. 1. 2020].
- [67] *Wikipedia*, *Dimethyloctadecyl(3-trimethoxysilylpropyl)ammonium chloride*, [https://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyloctadecyl\(3-trimethoxysilylpropyl\)ammonium\\_chloride](https://en.wikipedia.org/wiki/Dimethyloctadecyl(3-trimethoxysilylpropyl)ammonium_chloride), [ogled 11. 1. 2020].
- [68] M. J. R. Joy in T. Kunjappu, *Surfactants and Interfacial Phenomena*, 4. izd. (John Wiley & Sons, 2012).
- [69] *Wikipedia*, *Sodium dodecyl sulfate*, [https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium\\_dodecyl\\_sulfate](https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_dodecyl_sulfate), [ogled 13. 1. 2020].
- [70] *Discovery fine chemicals*, *DTAB*, <https://discofinechem.com/products/dodecyltrimethylammonium-bromide/>, [ogled 13. 1. 2020].
- [71] R. Nagarkar in J. Patel, *Polyvinyl alcohol: A comprehensive study*, *ASPS* **3**, 34 (2019).
- [72] *Clariant*, *Mowiol - Polyvinyl Alcohol*, <https://www.yumpu.com/en/document/read/6004575/rmowiol-clariant>, [ogled 14. 1. 2020].
- [73] *Sigma-Aldrich*, *Polyvinyl Alcohol*, <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/363170>, [ogled 14. 1. 2020].
- [74] J. Zhang in Y. Meng, *Stick-slip friction of stainless steel in sodium dodecyl sulfate aqueous solution in the boundary lubrication regime*, *Tribol. Lett.* **56**, 543–552 (2014).
- [75] A. Bhattarai, *Studies of the micellization of cationic–anionic surfactant systems in water and methanol–water mixed solvents*, *J. Solution Chem.* **44**, 2090–2105 (2015).
- [76] *Sutter Instrument - P1000*, *Operation Manuals*, [https://www.sutter.com/manuals/P-1000\\_OpMan.pdf](https://www.sutter.com/manuals/P-1000_OpMan.pdf), [ogled 15. 1. 2020].
- [77] *Sutter Instrument - P1000*, *Pipette Cookbook*, [https://www.sutter.com/PDFs/pipette\\_cookbook.pdf](https://www.sutter.com/PDFs/pipette_cookbook.pdf), [ogled 15. 1. 2020].
- [78] *Narishige -MF-900*, <http://products.narishige-group.com/individual/MF-900/MF-900.jpg>, [ogled 15. 1. 2020].

## LITERATURA

---

- [79] *Photron Mini AX 200 - Specifications*, [https://photron.com/wp-content/uploads/2015/11/FASTCAM\\_MINI-AX200\\_monitor.pdf](https://photron.com/wp-content/uploads/2015/11/FASTCAM_MINI-AX200_monitor.pdf), [ogled 16. 1. 2020].
- [80] *Elveflow - OB1 MK3*, <https://www.elveflow.com/microfluidic-flow-control-products/flow-control-system/pressure-controller/>, [ogled 17. 1. 2020].
- [81] P. Jones, O. M. Marago in G. Volpe, *Optical Tweezers: Principles & Applications* (2015).
- [82] *Program za analizo posnetkov - ImageJ*, <https://imagej.nih.gov/ij/>, [ogled 20. 3. 2020].
- [83] J. B. Segur in H. E. Oberstar, *Viscosity of glycerol and its aqueous solutions*, *Ind. Eng. Chem. Res.* **43**, 2117 (1951).
- [84] G. Jin-kun, S.-H. Hong, H.-J. Yoon, G. Babakhanova, O. Lavrentovich in J.-K. Song, *Laser-induced nanodroplet injection and reconfigurable double emulsions with designed inner structures*, *Adv. Sci.* **6**, 1900785 (2019).
- [85] W. Urbach, F. Rondelez, P. Pieranski in F. Rothen, *Marangoni effect in nematic liquid crystals*, *J. Phys. (Paris)* **38**, 1275 (1977).
- [86] J. Cuennet, A. Vasdekis, L. De Sio in D. Psaltis, *Optofluidic modulator based on peristaltic nematogen microflows*, *Nat. Photon.* **5**, 234 (2011).
- [87] L. Adams, T. Kodger, S.-H. Kim, H. Shum, T. Franke in D. Weitz, *Single step emulsification for the generation of multi-component double emulsions*, *Soft Matter* **8**, 10719 (2012).
- [88] V. Vitelli in D. R. Nelson, *Nematic textures in spherical shells*, *Phys. Rev. E* **74**, 021711 (2006).