

# **Részecske- és sejttanszport modellezése mikrofluidikai rendszerekben**

Leelőssyné Tóth Eszter



PhD Disszertáció

Budapest

2019

# Tartalom

Abstract .....	6
Kivonat .....	7
1. Bevezetés, szakirodalmi háttér .....	9
1.1. Kihívások és trendek a 21. századi orvosi diagnosztikában.....	9
1.2. A mikrofluidika tudományterülete .....	11
1.3. Keverési és szeparálási módszerek a mikrofluidikában .....	13
1.3.1. Mikrokeverők .....	13
1.3.1.1. Aktív mikrokeverők.....	14
1.3.1.2. Passzív mikrokeverők.....	15
1.3.2. Mikroszeparátorok.....	22
1.4. Számítógépes modellezés használata a mikrofluidikai eszközök tervezésében.....	27
1.4.1. Számítógépes modellező szoftverek.....	27
1.4.2. Mikrokeverő és szeparátor modellek.....	29
2. Célkitűzések.....	31
3. Módszertan .....	33
3.1. Véges elemes numerikus modellezés.....	33
3.1.1. Mikrokeverők tervezése és modellezése .....	36
3.1.2. Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaelválasztó eszközök modelljei .....	42
3.1.3. Funkcionalizált csatornafelületen csapdázott vörösvértetek hidrodinamikai hatása szabad vörösvértetek mozgására.....	45

3.1.4.	Részecskék méret szerinti szeparációjára alkalmas mikrofluidikai chip tervezése és modellezése .....	48
3.1.5.	Mágneses részecskék elválasztásának modellje .....	50
3.2.	Mikrofluidikai eszközök kialakítása .....	52
3.2.1.	Mikrofluidikai csatornák megvalósítása polimerben kétrétegű lágy litográfia technológiával.....	52
3.2.2.	Magnetoforetikus elven működő részecskeszeparátor létrehozása .....	56
3.3.	Mikrofluidikai eszközök vizsgálata fénymikroszkópiával.....	57
4.	Eredmények bemutatása és értékelése .....	60
4.1.	Mikrokeverők koncentrációalapú és trajektóriaalapú modellezése.....	60
4.2.	Részecskék elválasztása .....	69
4.2.1.	Zweifach-Fung-effektuson alapuló szeparátor .....	69
4.2.2.	Véletlenszerűen elhelyezkedő akadályok hatása a mikrocsatornában kialakuló áramlásra.....	77
4.2.3.	Részecskék méretfüggő viselkedése komplex geometriai elemeket tartalmazó mikrocsatornában .....	82
4.2.4.	Mágneses módszerrel történő elválasztás.....	91
5.	Összefoglalás .....	96
5.1.	Új tudományos eredmények .....	96
5.2.	Az eredmények hasznosíthatósága .....	101
6.	Publikációs jegyzék .....	103
6.1.	A tézisek alapjául szolgáló publikációk.....	103
6.1.1.	Folyóíratcikkek.....	103

6.1.2.	Konferencia publikációk.....	104
6.2.	Egyéb publikációk.....	105
6.2.1.	Folyóiratcikk.....	105
6.2.2.	Konferencia publikációk.....	105
	Köszönetnyilvánítás .....	106
	Irodalomjegyzék .....	107



## Rövidítések jegyzéke

ALISA	Aptamer-Linked Immunosorbent Assay
BIOMEMS	Bio-MicroElectroMechanical System
CFD	Computational Fluid Dynamics
CFM	Continous Flow Microfluidics
CPTM	Colored Particle Tracking Method
DLD	Deterministic Lateral Displacement
DMF	Digital Microfluidics
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS	Fluorescent-activated Cell Sorting
HSA	humán szérum albumin
LAMP	Loop-mediated Isothermal Amplification
LoaD	Lab-On-a-Disc
LOC	Lab-On-a-Chip
μTAS	Micro Total Analysis System
MOFF	Multiorifice Flow Fractionation
MOPSA	Microfluidics-optimized
NGS	Next Generation Sequencing
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDMS	poli-dimetil-sziloxán
PFF	Pinched Flow Fractionation
POC	Point of Care
RAPID	Radial Pillar Device
SELEX	Systematic Evolution Of Ligands By Exponential Enrichment
VLSI	Very Large Scale Integration
VOF	Volume-of-fluid

## Abstract

Biomedical diagnostics went through a remarkable change and development in the past decades. The option of Point of Care (POC) testing is becoming increasingly widespread facilitating the correct and fast result based informed diagnosis of physicians. Bedside tests have short turn-around times (often less than 5 minutes) and use minimal volumes of sample. Microfluidics ensures the precise control and manipulation of fluids often in the microliter range required for these tests. Manipulating fluids on the microscale brings new opportunities to get more precise results in a shorter time. The surface area to volume ratio changes due to downscaling, however, this miniaturization requires new approaches to perform simple laboratory tasks such as the mixing of molecules and the separation of particles. The present work focuses on the mixing and separation issues on the microscale. The herringbone micromixer and four types of microseparator devices were examined by finite element numerical modelling. Hydrodynamic properties of the devices were analysed, optimal geometry design and application oriented operating parameter sets were specified. The width and number of herringbones of the micromixer were optimized for photonic biosensor application ensuring adequate mixing of the analytes during sample transport. Two separation approaches were studied – separation of particles from the fluid (eg. blood plasma separation) and separation of particles by their size. Efficiency of the Zweifach-Fung bifurcation-based separation device was improved by introducing geometric singularities to the main channel between the daughter channels exploiting lateral migration by creating and rebuilding cell-free layers along the channel walls. Plasma separation in autonomous microfluidic systems is a challenging task. Hydrodynamic effect of immobilized red blood cells was studied in an autonomous device by assessing the lateral movements of free red blood cells considering different coverage ratios. An optimal coverage was proposed for possible plasma separation by cell collisions. Plasma separation and successful ABO blood group analysis was confirmed by MTA-ELTE Immunology Research Group. A magnetophoretic approach was also utilised for on-chip separation of particles from fluid in a microfluidic magnetic separation (MMS) system. Magnetic field and fluid dynamics were modelled and used for magnetic bead trajectory calculation. Trapping performance of the MMS device was assessed considering different flow rate setups. An optimal flow rate regime was defined for a possible microfluidic aptamer selection application of the magnetic microchannel unit. Another microfluidic chip was designed to separate particles by their size. Pinched Flow Fractionation (PFF) and lateral migration were combined to achieve successful separation. Efficiency of the separation was quantified and assessed over different flow rate values. Model results were compared with experiments and the usability of the microchannel for separation of particulate elements of blood was confirmed.

## Kivonat

A 21. századi orvoslás olyan újféle diagnosztikai kelléktárral rendelkezik, melyek rutinszerű használatát eddig azok magas ára vagy időigényes mivolta nem tette lehetővé. A betegágy mellett elvégezhető úgynevezett *Point of Care* (POC) gyors tesztek sikeres elterjedéséhez és árak csökkenéséhez a miniatürizálás folyamatának kidolgozásán keresztül a mikrofluidikai kutatások is nagy mértékben hozzájárultak, lehetővé téve akár néhány csepp vér hatékony, szennyezésmentes mozgatását és a tesztre való előkészítését az analitikai rendszerekben. Ezekben a rendszerekben a folyadéktranszportot mikronos nagyságrendű csatornák biztosítják, melyekben a felületi és térfogati erők arányának megváltozása miatt olyan rutinfeladatok válnak kihívássá, mint például két folyadék megfelelő összekeverése, vagy válnak lehetővé, mint a részecskék szeparációja. Dolgozatomban egy mikrokeverő és négyféle mikroszeparátor működését elemzem, valamint javaslatot teszek azok alkalmazásorientált optimális geometriájára és működtetési paramétereire. ***Bemutatok egy olyan trajektória alapú modellezési eljárást, amely nagy pontossággal képes véges kiterjedéssel rendelkező alakos elemek viselkedését leírni komplex geometriákban, és ezáltal jellemezni a teljes mikrofluidikai rendszer funkcionális hatékonyságát.***

A halszáлка mikrokeverő tervezésénél arra a kérdésre adom meg a választ, hogy a folyadéktranszport egy adott úthosszán mi az optimális szélessége és elrendezése a halszállaknak a megfelelő keveredés elérése érdekében. A mikroszeparátorok esetében kétféle elválasztási feladatot oldok meg. A részecskék áramlástól való elválasztását, valamint a részecskék méret szerinti válogatását. A Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaelválasztást kaszkád rendszerben elhelyezett komplex geometriai elemeket tartalmazó mikrocsatornában továbbfejleszttem, a csatorna fala mentén sejtmentes réteg felépítésével és a kivezetések után való újraépítésével javítva a kinyerhető plazma mennyiségét és minőségét. A plazmaelválasztás autonóm, külső meghajtást nem igénylő mikrofluidikai chipekben különösen nagy kihívást jelent. Egy ilyen rendszerben vizsgálom a csatorna alján letapadt vörösvértetek áramlámódosító és plazmaszeparációt elősegítő hatását különböző lefedettségi értékek esetén, mely az eszköz diagnosztikai módszerét adja. A részecskék áramlástól való elválasztásának feladata a mágneses részecskék csapdázása is a mikrocsatornában. Munkám során olyan multidomén modellt hozok létre, mely képes a chip alatt elhelyezett mágneses terét és a mikrocsatornában létrehozott áramlást egyszerre kezelni a paramágneses részecskék trajektóriájának kiszámításánál. A modellezésnél különböző térfogatáramok mellett figyelem a csapdázott részecskék arányát, hogy meghatározzam azt a működtetési tartományt, ami mellett az egység el tudja látni a feladatát. A részecskéket méretük szerint elválasztó szeparátor

tervezésénél kétféle hidrodinamikai részecskeszeparációs módszer együttes alkalmazása mellett értékelem a részecskék elválasztásának hatékonyságát. A rendszer optimális működtetési paraméterei alkalmasak a magas nyíróerő ellenére a vér alakos elemeinek elválasztására is. ***Kísérletekkel is alátámasztva bizonyítottam, hogy az általam fejlesztett trajektória alapú modellezési eljárás hatékonyan képes a bemutatott, komplex fizikai folyamatokat hasznosító mikrofluidikai rendszerek viselkedésének kvalitatív leírására, s ezáltal a tervezett eszközök alkalmazhatóságának és hatékonyságának előrejelzésére.***

## 1. Bevezetés, szakirodalmi háttér

### 1.1. Kihívások és trendek a 21. századi orvosi diagnosztikában

Az orvosi diagnosztika ugrásszerű fejlődésen megy át napjainkban. A 21. században olyan módszerek váltak széleskörűen elérhetővé, melyek eddig nem csak drágák voltak, de nagyon sok ideig is tartott elvégzésük. Közismert példa erre a teljes genom szekvenálás, mely a 2000-es évekig még százmilliárd dollárba került, napjainkra 1000 dollár alá süllyedt a költsége [1]. Egyre több gyorseszteszt kerül ki a patikák polcaira, melyek lehetővé teszik a vásárlók számára egy csepp vérből a vércukorszintjük ellenőrzését, az IgE gyorseszteszttel megtudhatják, hogy allergiásak-e valamire, megtudhatják, hogy HIV vírussal fertőződtek-e, de kapható olyan gyorseszteszt is, mely képes kimutatni többféle drog jelenlétét.

Az újfajta módszerek mára már a diagnosztikai protokollokba is bekerültek. Az *áramlási citometria* szolgál a laboratóriumba küldött vérminták sejtes elemeinek vizsgálatára. A mintát lézerrel megvilágítva a szenzorokra előre és oldalra szóródó fényből megállapítható a sejtek mérete és intracelluláris szemcsészettsége [2]. A sejteket fluoreszcenciaaktivált sejtválogatással (*Fluorescent-activated cell sorting*, FACS) szortírozzák, mely során a fluoreszcensen megjelölt sejteket tartalmazó cseppeket elektromos erővel térítik el [3].

A különféle *immunoesszék* közül az ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) teszttel mutatják ki – többek között – az AIDS betegséget is. A teszt antigén-antitest kölcsönhatáson alapul, a célfehérjét rá specifikus antitest köti meg, majd további detekciós antitesttel jelölik meg, melyen enzim található. Az enzim ezután detektálható terméké alakítja a hozzáadott szubsztrátot [4]. A memóriasejtes immunstimulációs esszé (*Memory Lymphocyte Immunostimulation Assay*, MELISA) alkalmas fémek okozta hiperszenzitivitás igazolására. A módszer során a vérmintát háromfelé osztják, az egyik kontrollként szolgál, a második mintát általános allergénnel, a harmadikat pedig a gyanúsított allergénnel reagáltatják. A limfociták allergénre való reakcióját a stimulációs index fejezi ki. [5]

A *DNS amplifikáció* különféle genetikai vizsgálatoknál bír nagy szereppel. A DNS kimutatásához és kezeléséhez a molekuláris biológiai módszerek mikrofluidikai megvalósításai segítenek a hordozhatóvá tételén. A polimeráz láncreakción (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) alapuló módszer ciklusról ciklusra exponenciálisan növeli a kívánt DNS mennyiségét a mintában. A ciklus során az első lépés a DNS denaturációja 95 °C-on, majd a mintát 68 °C-ra hűtik, hogy a primerek bekötődjenek az immár egyszálú DNS láncba. Ezekben a primereken ezután 72 °C -on megindulhat a DNS kiegészítése DNS polimeráz enzim által a másik szállal.

[6] Az RT-PCR (*Reverse transcription polymerase chain reaction*) módszer szolgál RNS molekulák kimutatására. Az első ciklusban a keresett RNS-t reverz transzkriptáz enzim DNS-re írja át, mely ezután a többi ciklusban felsokszorozódik. A LAMP (*Loop-mediated Isothermal Amplification*) PCR módszer során a reakciók egy adott hőmérsékleten mennek végbe, nincs szükség a minta melegítésére és hűtésére [7].

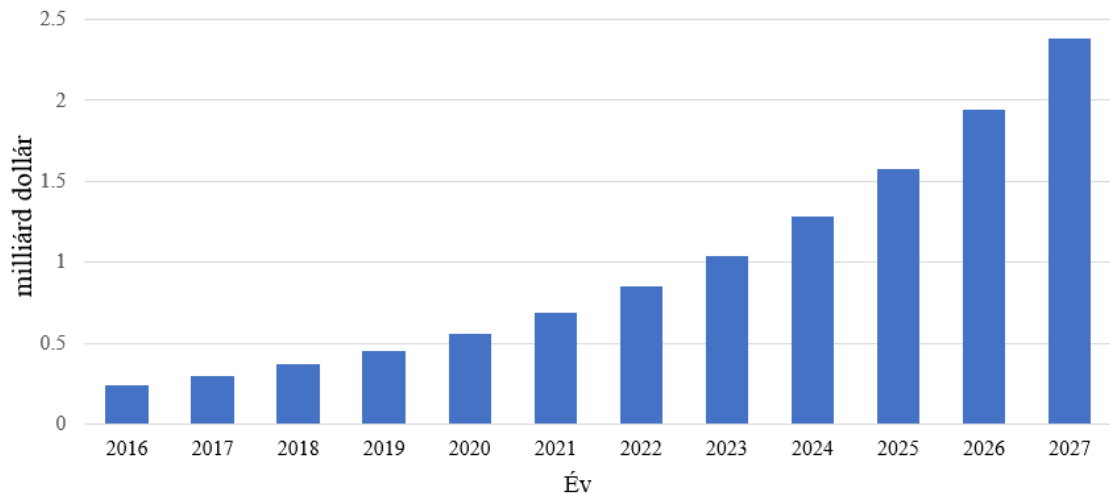
A következő generációs szekvenálási eljárások (*Next Generation Sequencing*, NGS) nagy áteresztőképességük által jelentősen felgyorsították a teljes genom szekvenálását, valamint ennek költségeit is nagy mértékben csökkentették [8]. A különböző NGS platformok közös vonása, hogy többmillió DNS töredéket szekvenálnak meg egyidejűleg, majd ezekből bioinformatikai módszerekkel állítják újra össze a teljes szálakra vonatkozó információt [9]. Ezzel az áteresztőképességről a teljes humán genom szekvenálás ideje tizenhárom évről (első humán genom szekvenálás Sanger módszerrel) egy napra csökkent [10]. Az NGS eljárások két csoportra oszthatók: az első módszerek a DNS amplifikációján alapulnak (Roche 454, Illumina, Applied Biosystems), míg a második generáció átugorja az amplifikációs lépést és az egyes molekulákat (*single molecule sequencing*) határozza meg (Helicos, Pacific Biosciences, Nanopore, NABsys). Az NGS jelentősége a mikrobiológia mellett a klinikai genetikában és az onkológiában is nagy. Ezzel a technológiával az örökítőanyag mutációinak szélesebb spektruma vizsgálható, mint a Sanger szekvenálással. A technológia érzékenységének köszönhetően a gének alacsony allélfrekvenciás mozaik mutációi is kimutathatók [11], [12].

Az *aptamerek* olyan oligonukleotidok, melyek az antigén-antitest kölcsönhatáshoz hasonlóan specifikusak egy-egy fehérjére, azonban nukleotid mivoltuk miatt sokszorozásuk egyszerű és olcsó. Az adott fehérjéhez nagy affinitással kötődő aptamer megtalálása a SELEX, (*Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment*) módszerrel történik, mely során egy nagy szekvenciakönyvtárral reagáltatják a célfehérjét, majd ciklusról-ciklusra kiszelektálják a nagy affinitással kötődő nukleotid szálakat. A mikrofluidikai környezetben megvalósított M-SELEX a mikroskálán egyedi áramlási jelenségeket kihasználva képes a módszer hatékonyabb megvalósítására [13], [14]. Az aptamer alapú immunesszé (*Aptamer-Linked Immunosorbent Assay*, ALISA), melynek működése az ELISA teszthez hasonló, képes különféle betegségek speciális fehérjeinek érzékeny kimutatására, mint például a nyúlpestis [15], tífusz [16], tuberkulózis [17] vagy a tularémia [18].

## 1.2. A mikrofluidika tudományterülete

A biotechnológiai kutatások napjainkban számos olyan kísérleten alapulnak, melyek folyadékok kezelését igénylik. Ilyen kutatási terület például az orvosi biotechnológiában a páciensek gyors és költséghatékony laborvizsgálata, a DNS-, fehérje- és kisméretű molekulák elemzése vagy a gyógyszermolekulák szintézise is. Az eszközök méretének csökkenésével és az asztali műszerek elterjedésével a naponta elvégzett kísérletek száma folyamatosan növekszik. A hordozható kis méretű laboratóriumi feladatokat elvégző készülékek (összefoglaló néven miniatürizált teljes analízis rendszerek, *Micro Total Analysis System*,  $\mu$ TAS) ma már egyre inkább elérhetők a kisebb kutatócsoportok, a háziorvosi rendelők és a fejlődő országok szakemberei számára is [19]. Ezeknek az alkalmazásoknak a nagy része mikrocsatornában áramoltatott folyadékok manipulálását igényli. A mikrofluidikai kutatások a  $\mu$ TAS rendszerek kialakításának technológiája mellett az eszköz egy-egy funkcionális egységének vizsgálatával és a mikroskálán lejátszódó áramlási folyamatok alapkutatásával foglalkoznak. A mikrofluidika mint tudományterület jelentőségét az is jelzi, hogy piacának kutatásával és előrejelzésével számos piackutató és elemző vállalat foglalkozik már. Ezeknek a cégeknek a kiinduló és az előrevetített becslések is eltérők. A Mordor Intelligence szerint [20] a 2015-ben 2,97 milliárd dolláros piac 2020-ra 7,11 milliárdosra nőhet. A Markets and Markets szerint [21] 3,65 milliárd dollárról (2015) növekszik majd 8,78 milliárd dollárra 2021-re, míg a Visiongain szerint a biochipek piaca 0,24 milliárd dollárról nő majd 2,38 milliárd dollárra 2027-re (1.1. ábra). A piac növekedését elősegítő egyik tényezőként a gyógyszeripari és biotechnológiai kutatási alapok növekedését nevezik meg. Az idősödő társadalom és az életmódbetegségek növekedésével megnőtt az igény a pl. háziorvosi gyakorlatban is elvégezhető, úgynevezett betegség melletti gyors tesztekre (Point-Of-Care, POC testing) [21], melyek maguk után vonják az ágazat növekedését. A növekedést limitáló tényezőként a hosszú és bonyolult engedélyeztetési eljárások, a mikrofluidikai rendszerek gyártásának hagyományos technológiával való ötvözésének nehézsége, a termékek alacsony piaci láthatósága jelenik meg. A Markets and Marketers szerint a gyakorló orvosok is vonakodnak használni az újfajta technológiákat. A piac főbb szereplőiként a következő vállalatokat jelölik meg: Agilent Technologies, Inc., Bartels Mikrotechnik GmbH, Becton, Dickinson, and Company, Biofluidix GmbH, Bio-Rad Laboratories, Inc., Cepheid Inc., Danaher Corporation, F. Hoffmann La-Roche Ltd., Fluidigm Corporation, Micronit Microfluidics Bv, PerkinElmer, Inc., RainDance Technologies, Inc., Thermo Fisher Scientific, Inc.

## Beültethető BioMEMS és Microfluidika biochipek piaci előrejelzése



1.1 ábra - Piaci előrejelzés a beültethető BioMEMS és Mikrofluidikai biochipek piacán a Visiongain szerint 2027-ig.[22]

A biotechnológiai laboratóriumokban használt különböző protokollok (elektroforézis, sejtszámlálás, DNS sokszorozás stb.) mikroskálára történő átültetése számos előnnyel jár. Az ún. laboratórium egy chipen (*Lab-On-a-Chip*, LOC) eszközök kevés mintát igényelnek, gyors válaszidővel dolgoznak [23], és a kis méretskálán lehetővé válik akár egy sejtpopuláció sejtenkénti vizsgálata is [24]. A kis méretből azonban sok kihívás is adódik. A kis mintatérfogatba kevesebb biomarker jut, melyekhez érzékeny detektálásra, vagy a markerek megfelelő akkumulálására van szükség. A mikrofluidikai eszközöket működési alapelveik szerinte két nagy csoportba sorolhatjuk. A folyamatos áramlású mikrofluidikai chipekben (*Continuous Flow Microfluidics*, CFM) a mintaoldat nyomásvezérelt pumpa vagy passzív kapilláris effektus által folyamatos egybefüggő közegként áramlik. A digitális mikrofluidikai chipeken (*Digital Microfluidics*, DMF) a folyadék kvantált mennyiségekben, cseppekben közlekedik [25]. Az áramlás leskálázásával a felületi (pl. viszkozus) erők túlsúlyba kerülnek a térfogati (pl. tehetetlenségi) erőkkel szemben. A viszkozus és a tehetetlenségi erők arányát a dimenziómentes Reynolds-számmal jellemezhetjük:

$$\text{Re} = V \cdot \frac{L}{\nu} \quad (1.1)$$

ahol  $V$  a karakterisztikus áramlási sebesség,  $L$  a karakterisztikus keresztmetszet,  $\nu$  pedig a kinematikai viszkozitás. A Reynolds-szám alapján összevethetjük különböző skálájú áramlások



dinamikáját, a kritikus  $Re_c$  érték pedig a lamináris és a turbulens áramlás tartományok közötti átmenet helyét mutatja meg. A kritikus értéknél kisebb érték esetén az áramlást laminárisnak,  $Re > Re_c$  esetén turbulensnek tekintjük. A kritikus Reynolds-szám értéke erősen függ a geometriától és az áramlás tulajdonságaitól, csőben kialakuló áramlások esetén általában 2000 körül becsülhető [26]. A mikrofluidikai karakterisztikus átmérője 10-100  $\mu\text{m}$  közé tehető. A folyadékok kinematikai viszkozitása alatt a dinamikai viszkozitás és a sűrűség arányát értjük. Vízesetében ez az arány körülbelül  $10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ . A vér dinamikai viszkozitása 37 °C-on  $3-4 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$  körüli [27], sűrűsége pedig  $1043-1057 \text{ kg}/\text{m}^3$  [28]. A vér kinematikai viszkozitása tehát körülbelül  $2,8-3,8 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ . A mikrofluidikai kísérletek során beállított jellemző térfogatáram néhány  $\mu\text{l}/\text{sec}$ . Ez a térfogatáram ( $10^{-9} \text{ m}^3/\text{s}$ ) egy 100  $\mu\text{m}$  széles és 100  $\mu\text{m}$  magas,  $10^{-8} \text{ m}^2$  keresztmetszetű mikrofluidikai csatornában körülbelül 0,1 m/s folyadékáramlási sebességet jelent. A Reynolds-szám nagyságrendje vízzel és vérrel számolva 10, az áramlás ebben az esetben tehát laminárisnak tekinthető. A makroskálán jól működő térfogati jelenségeken alapuló keverési módszerek, amelyek a turbulencia hatékony keverő hatását használják ki (pl. rázás, forgatás) mikroskálán nem alkalmazhatók.

### 1.3. Keverési és szeparálási módszerek a mikrofluidikában

A különböző sejtes vagy molekuláris meghatározási módszerek miniaturizálásánál az egyik legfontosabb feladatot a vizsgált oldat valamely reagensoldattal történő keverése, másrészt a vizsgált oldatból valamely alkotó, sejt vagy molekula elválasztása jelenti. Ezen feladatok megvalósításához a mérettartomány nagyságrendjéből és a kialakuló speciális áramlási jellemzőkből következően új megközelítéseket kell alkalmazni. A keverési feladatok esetén a mikrométeres mérettartományban kell a megfelelő keveredést elérni. Ezt a mikrokeverők tulajdonságainak vizsgálatával és azok hatékony alkalmazásával lehet elérni. Az elválasztási folyamatok esetén a geometriai méretek általában a folyadékban található sejtes elemek nagyságrendjébe esnek, emiatt a mikrométeres tartományban a szeparációs módszerek alkalmazása kritikus odafigyelést igényel.

#### 1.3.1. Mikrokeverők

A mikrokeverőket működésük szerint aktív és passzív keverőkre oszthatjuk. Az aktív keverők aktív külső tényező jelenlétét (pl. mágneses vagy elektromos mező, időben változó nyomáseloszlás stb.) igényli, míg a passzív keverő az áramlás kinetikus energiáján kívül nem igényel más külső energiabefektetést.

### 1.3.1.1. Aktív mikrokeverők

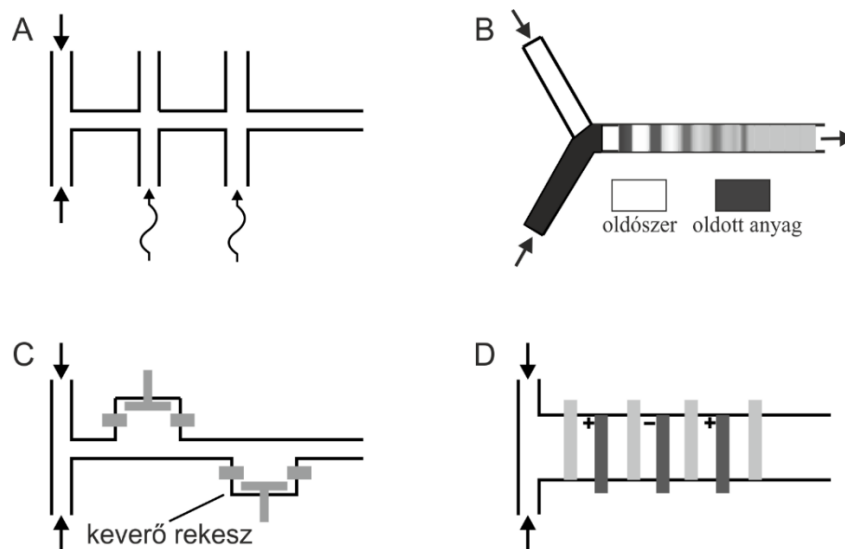
Az aktív mikrokeverőket a vezérlő fizikai jelenségek szerint tovább osztályozhatjuk. Működésükhöz külső energiaforrást igényelnek, integrálásuk mikrofluidikai rendszerekbe igen komplex feladat. A *nyomásvezérelt mikrokeverő* bemenetéhez közel elhelyezkedő keresztcsatornákon keresztül merőleges irányból nyomásváltozásnak teszik ki a keverendő folyadékot (1.2.A ábra). A nyomásváltozás hidrodinamikai instabilitást okoz, így segítve elő a keverést [29].

A *periodikusan kapcsolt mikrokeverőknél* a két bemenet bemeneti sebességét változtatják periodikusan (1.2.B ábra), így a csatornán belül a folyadékok között újabb diffúziós felületeket hoznak létre [30].

Az *akusztikus keverőben* kavitációval létrehozott buborékok viselkednek aktuátorokként [31]. A *cseppes vagy digitális mikrofluidikai* alkalmazásokban cseppek létrehozása után a cseppeket egyesítve mozgatják, rázzák, ami a cseppen belül másodlagos áramlást generálva biztosít keveredést [32].

A *dielektroforetikus keverő* a folyadékba kevert kiterjedéssel rendelkező polarizálható objektumokra (pl. polisztirol gyöngyökre) ható vonzó és taszító hatás frekvenciafüggését használja ki (1.2.C ábra). A frekvencia periodikus váltogatásával a gyöngyök keverik össze a folyadékot [33].

A *mágneses rotor keverőnél* (1.2.D ábra) ehhez hasonló módon mágneses gyöngyöket kevernek a folyadékba, melyek külső mágneses tér hatására gyöngysort alkotnak, majd a külső változó mágneses teret követve forognak, megtörnek majd újra összeállnak így segítve a keveredést [34].



1.2. ábra – Aktív folyadékkeverők: (A) nyomásvezérelt keverő, (B) periodikusan kapcsolt mikrokeverő, (C) dielektroforetikus keverő, (D) mágneses keverő. [35] és [36] alapján.

### 1.3.1.2. Passzív mikrokeverők

A passzív mikrokeverőkben zajló folyamatok megértéséhez először Fick I. törvényét tekintjük, mely az anyagáramsűrűséget a diffúziós együttható és a koncentráció gradiens függvényeként írja le:

$$N = -D\nabla c \quad (1.2)$$

ahol  $N$  a moláris fluxus,  $D$  a diffúziós együttható és  $c$  a koncentráció. A tömegmegmaradást felírva:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot N = 0 \quad (1.3)$$

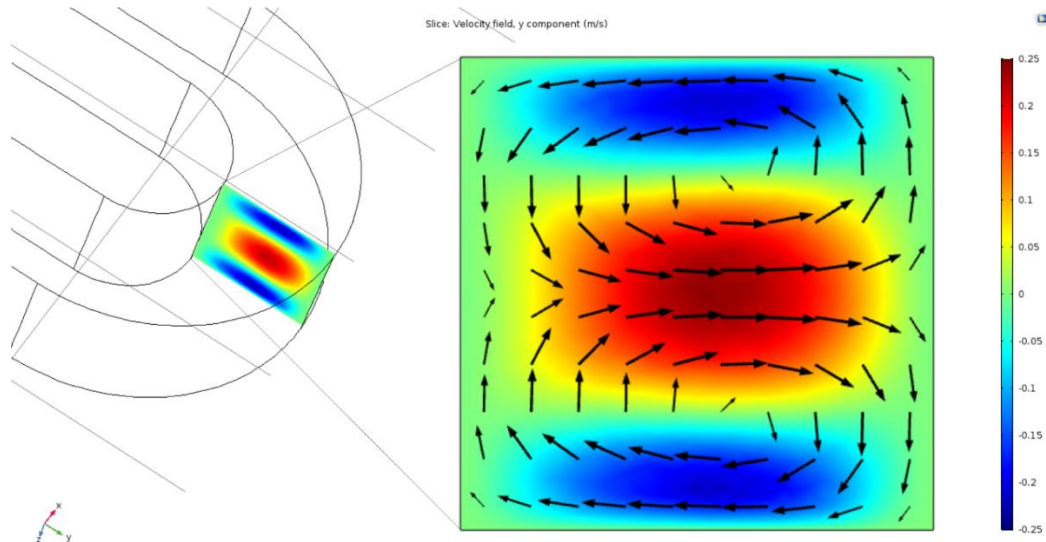
következik Fick II. törvénye:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c \quad (1.4)$$

Feltételezve, hogy a diffúziós állandó nem változik a térben, egy pontban a koncentráció időbeli megváltozása a koncentrációmező második térbeli deriváltjának lineáris függvénye.

A passzív mikrokeverőknél oldatok keverése esetén a keveredés legutolsó lépése mindig a molekuláris diffúzió. Fick törvénye alapján nagy diffúziós fluxushoz nagy érintkezési felület, magas koncentrációs gradiens vagy nagy diffúziós együttható vezethet. Mikroskálán a rövid keveredési hosszak magas koncentrációs gradienst eredményeznek, mely a diffúzió szempontjából előnyös. A diffúziós együttható viszont anyagi állandó, magasabb hőmérséklet vagy alacsonyabb viszkozitás esetén csak minimálisan növelhetjük meg a diffúziós fluxust. Mikrokeverőknél tehát a molekuláris diffúzió alapuló keveredés az érintkezési felület növelésével javítható, mely a mikrocsatorna geometriájának optimalizációjával lehetséges.

A *kígyó keverő* (*Snake mixer*) az egyik legegyszerűbb felépítésű mikrokeverő. A keveredés két módszerrel is megtörténhet a csatornában. Az első megközelítésnél a hosszan kígyózó csatornában tovább tartózkodik a folyadék így a diffúzióknak több ideje van a kis érintkezési felületen végbemenni. A második megközelítésnél nagyobb térfogatáramok mellett ún. Dean örvények alakulnak ki (1.3. ábra), melyek a folyadék laterális mozgásával segítik a keveredést [37].



1.3. ábra – Dean örvények megjelenése a kígyó keverőben. A szín a sebességmező y-komponensét, a nyilak a sebességmező y-z komponenseit jelölik. A metszet a csatorna x-y irányú metszete. Jól látszik, hogy a csatorna középső részén a folyadék a körív külső fala felé mozdul el, míg a felső és alsó részén a belső fal felé, két szimmetrikus örvényt kialakítva.

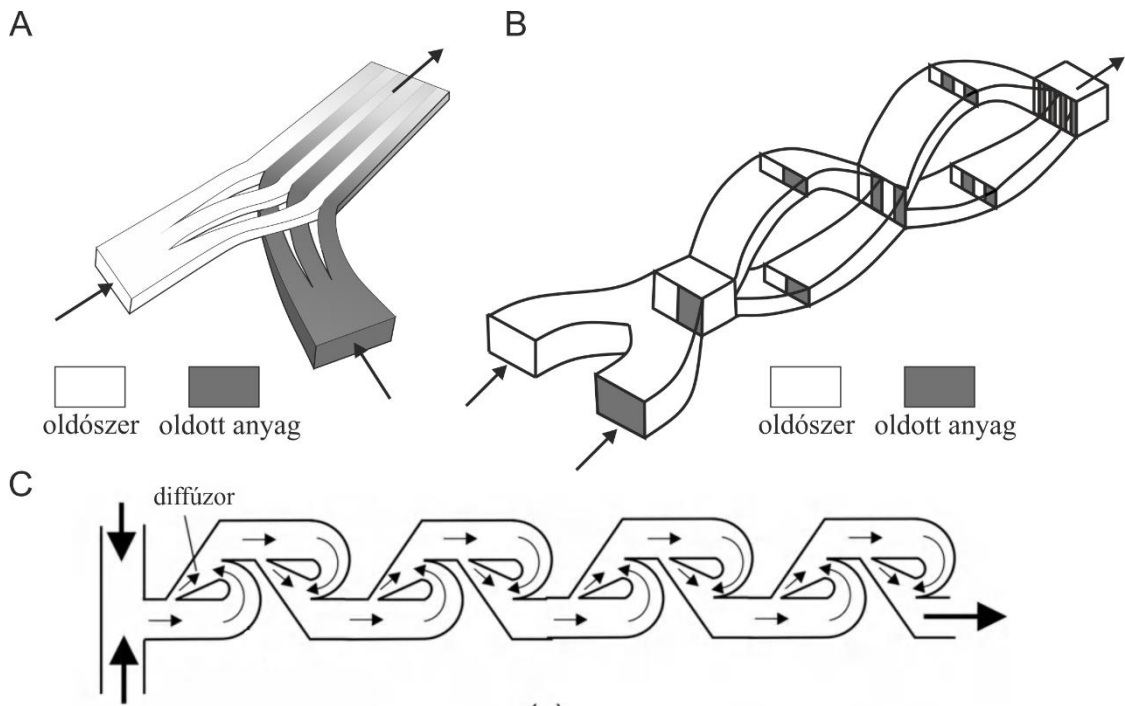
A dimenziómentes Dean számmal jellemezhetjük a folyamatot, mely a centripetális, inerciális és viszkozus erők arányát mutatja meg:

$$De = \sqrt{\frac{d}{2r}} Re \quad (1.5)$$

ahol  $d$  a csatorna átmérője,  $r$  a görbület sugara,  $Re$  pedig a Reynolds-szám.

Nagyobb Dean-szám esetén a keverés hatásfoka jobb, azonban magas értékek mellett az áramlás turbulenssé válhat [38]. Sudarsan és Ugaz olyan spirális keverőt hozott létre, mely a 0,01 és 10 közötti Reynolds-szám tartományban működik [39]. A *T-csatorna* a kígyó keverőhöz hasonlóan megfelelően nagy térfogatáram mellett [40] örvényeket hoz létre a folyadékok keveréséhez.

A *szétválaszt és újraegyesít (Split and recombine)* módszeren alapuló keverők egyik fajtáját *szekvenciális laminációs keverőknek* is nevezzük. A keverés alapelve a diffúziós felület megnövelése (1.4. A ábra) a folyadék kettéválasztásával és újra egymás mellé helyezésével [41].



1.4. ábra – Párhuzamos (A) és szekvenciális (B) laminációs és Tesla (C) keverők. A folyadék szétválasztása és újraegyesítése növeli a diffúziós felületet, felgyorsítja a keveredést. [42] alapján

A *párhuzamos laminációs keverő* (1.4. B ábra) a bemenetet osztja több részre és helyezi egymás mellé a keverendő folyadékokat, szintén a diffúziós felületet növelve. A *Tesla keverő* a Coanda effektust használja ki a folyadék két részre választásánál majd újraegyesítésénél [43].

A *kaotikus advekción alapuló keverők* a geometriából adódóan másodlagos transzportot, a kaotikus (transzverzális – folyadékáram elsődleges irányára merőleges) advekciót használják ki. Bár a tér-időbeli rendszerek kaotikus viselkedése matematikailag jól leírt folyamat, a kaotikus jelző a mikrokeverők viselkedésének leírásánál inkább kvalitatív, mint kvantitatív, nincsen egységesen elfogadott definíciója [44]. Aref definíciója szerint a kaotikus advekción olyan jelenség, melynél az egyszerű euleri sebességmezőre valamely Lagrange-i marker (pl. részecske trajektória) eloszlása kaotikus választ ad [45]. Az advekción során a részecskék sebessége a folyadék sebességével megegyezik:

$$\left(\frac{dx}{dt}, \frac{dy}{dt}, \frac{dz}{dt}\right) = v_{\text{részecske}} = v_{\text{folyadék}} = [u(x, y, z, t), v(x, y, z, t), w(x, y, z, t)] \quad (1.6)$$

az advekción egyenletek pedig a következőképpen állnak elő:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= u(x, y, z, t) \\ \frac{dy}{dt} &= v(x, y, z, t) \\ \frac{dz}{dt} &= w(x, y, z, t)\end{aligned}\tag{1.7}$$

Háromdimenziós rendszer esetén a három differenciálegyenlet elég a kaotikus viselkedés előállításához, nem szükséges az áramlás időfüggése. Kétdimenziós összenyomhatatlan áramlás esetén a rendszer felírásához az áramfüggvényt használjuk fel:

$$\psi = \int (u \, dy - v \, dx)\tag{1.8}$$

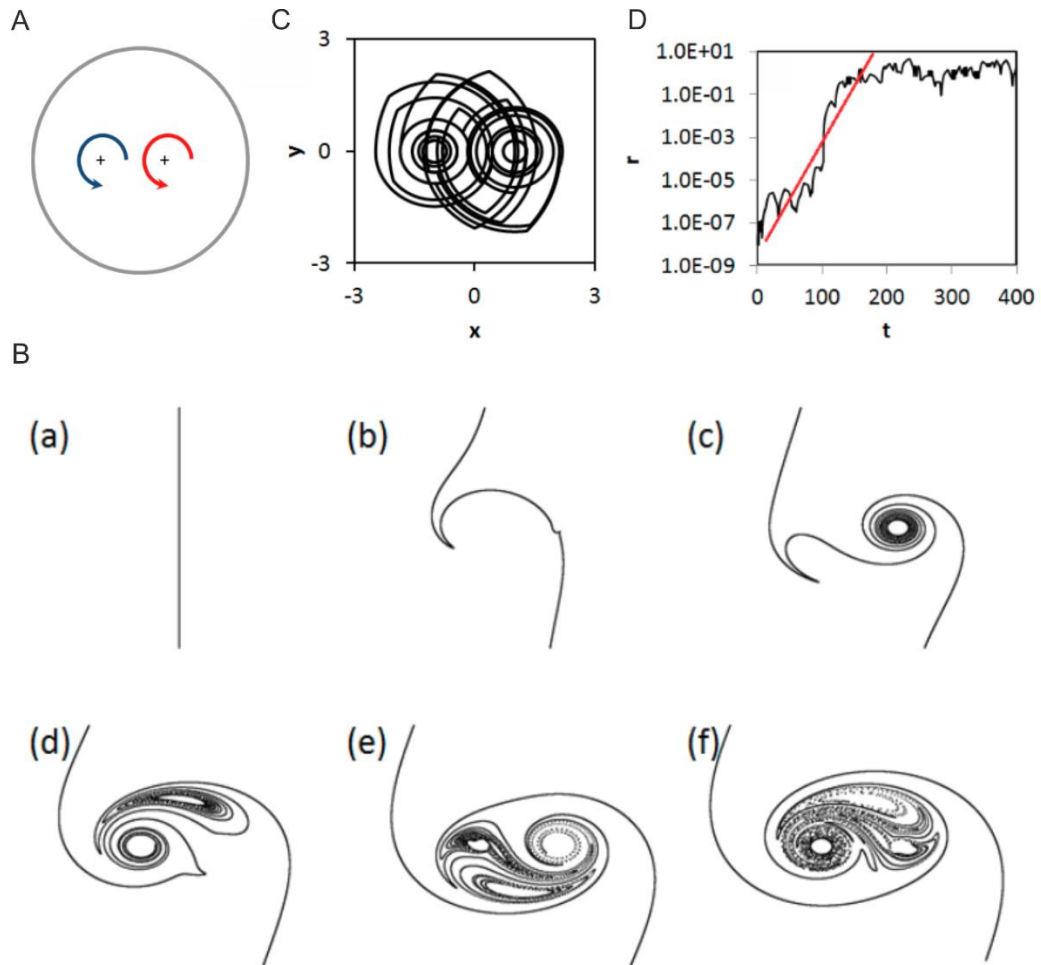
melyre teljesül, hogy

$$u = \frac{d\psi}{dy}, \quad v = -\frac{d\psi}{dx}\tag{1.9}$$

A fenti egyenletet az (1.4) egyenlettel kombinálva a következő egyenleteket kapjuk:

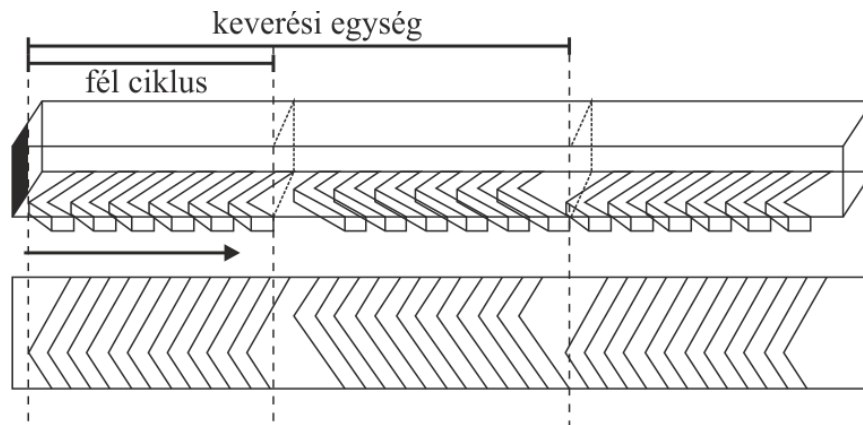
$$\frac{dx}{dt} = \frac{d\psi}{dy}, \quad \frac{dy}{dt} = -\frac{d\psi}{dx}\tag{1.10}$$

melyre egy szabadsági fokkal rendelkező rendszer Hamilton kanonikus egyenleteként tekinthetünk. Itt a fázistér megegyezik a konfigurációs térrel [46]. A kétdimenziós összenyomhatatlan áramlás tehát tekinthető egy szabadsági fokkal rendelkező hamiltoni dinamikus rendszernek. A legegyszerűbb kétdimenziós kaotikus advekciós keverési modell a váltakozó örvény (*Blinking vortex*) áramlás. Itt a reakcióterben két külön középpont körül felváltva forgatják a folyadékot (1.5. ábra) A kaotikus viselkedésre jellemző, a kezdeti feltételektől és paramétereiktől való érzékeny függést megfigyelhetjük, ha két részecskét egymáshoz nagyon közelről indítunk el, majd figyeljük a köztük levő távolságot. A távolság exponenciálisan nő, amíg el nem éri a rendszer méretének nagyságrendjét (1.5. D ábra) [47]. A kaotikus rendszereknél a távolság exponenciális növekedésének kitevője, a Ljapunov exponens a kaotikus rendszer egyik fontos mérőszáma. Háromdimenziós kaotikus advekciós keverésnél az eggyel több szabadsági fok miatt nincs szükség az áramlás időfüggésére.



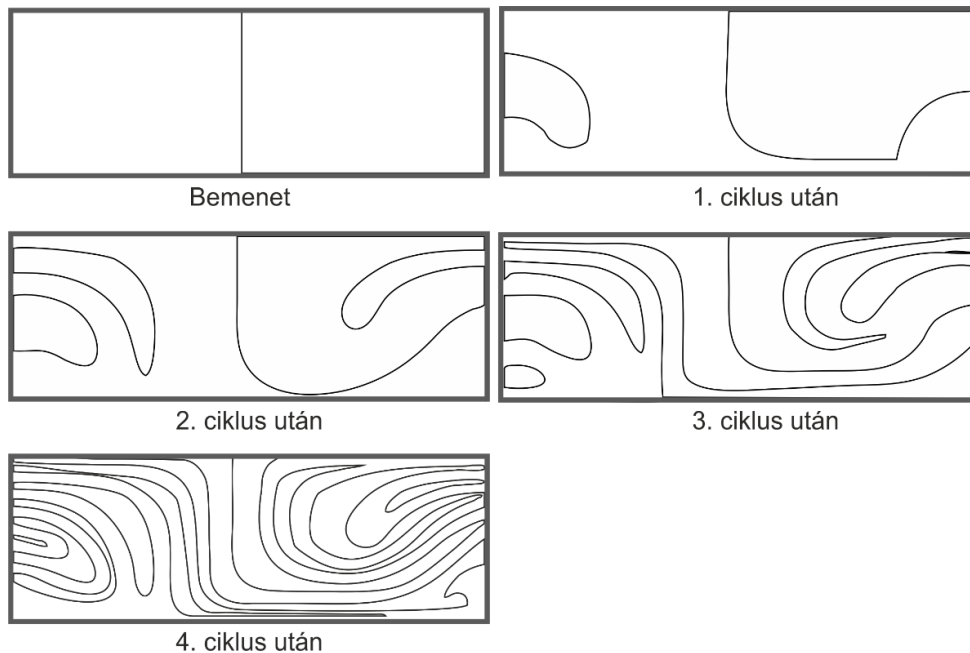
1.5. ábra – Kétdimenziós időfüggő kaotikus advekción keverés – váltakozó örvény keverő. A keverés során a két pont körül felváltva forgatják a folyadékot (A). A reakcióter középvenaláról indított nyomkövetők szimulációja (B) 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 keverési ciklus alatt. A keverés során kaotikus részecsketrajektóriákat (C) figyelhetünk meg. Két részecskét egymástól 0,00000001 egységnyi távolságra indítva a részecskék közti távolság időfüggése (D) jól mutatja a rendszer érzékenységét a kezdeti feltételekre. [47] CC BY-NC-SA-3.0

A kaotikus advekción keverőknél a másodlagos transzverzális áramlást a csatorna falán elhelyezett különböző akadályok vagy másodlagos csatornák hozzák létre. A *halszájka keverő* is ebbe a keverőcsaládba tartozik. A halszájkák a csatorna alján aszimmetrikusan helyezkednek el, így a forgató hatás mindig ellentétes irányban érvényesül a váltakozó örvény keveréshez hasonlóan. Itt azonban nem az áramlás időfüggése fordítja meg az irányt, hanem a háromdimenziós geometriából adódik az irányváltás. Egy blokknyi azonos irányban elhelyezett aszimmetrikus halszájkát fél ciklusnak nevezünk. Egy keverési egységet két ellentétes irányú ciklus alkot.



1.6. ábra – Halszálka keverő. A csatorna alján elhelyezett halszálka struktúrák generálnak transzverzális transzportot. [42] alapján

A keverési ciklusok során a két folyadék újabb rétegeket képez egymásban, így növelve a diffúziós felületet (1.7. ábra)



1.7. ábra – A csatorna középvonaláról indított nyomkövető eloszlása a keverési ciklusok után. [42] alapján

A halszálka keverő paramétereinek vizsgálatát az 1.1 táblázat foglalja össze. Stroock és társai [48] a keverő leírásánál a halszálkák által bezárt szögre ( $45^\circ$ ) és azok aszimmetriájára ( $2/3$ ) adnak optimális értékeket. Az általuk használt csatornaszélességet ( $200 \mu\text{m}$ ), magasságot ( $77 \mu\text{m}$ ), halszálka szélességet ( $50 \mu\text{m}$ ) és mélységet ( $16 \mu\text{m}$ ), valamint azok fél keverési cikluson belüli darabszámát (6 db, 10 db) a későbbi tanulmányok is előszeretettel választották. A paramétervizsgálatok közül Cortes-Quiroz és társai [49] adnak a leginkább átfogó képet az



általuk vizsgált nyolc különböző paraméter keverési hatékonyságra való hatásáról. A vizsgálat eredményeként a halszállkák mélységének és a csatorna magasságának arányára (0,6), a halszállkák szélességének és eltolásának arányára (0,75) valamint az aszimmetriára (0,68) adnak optimális értékeket.

1.1. táblázat – Halszállka keverők vizsgálata a szakirodalomban.  $W$  a csatorna szélességét,  $H$  a magasságát,  $a$  pedig a halszállkák szélessége,  $h$  pedig a halszállkák mélysége.

Évszám	Kutatócsoport	Vizsgált paraméter	W (μm)	H (μm)	a (μm)	h (μm)	Halszállkák félcikluson belüli száma	Keverési egységek száma	Térfogat-áram (μl/min)	Modell típusa
2002	Stroock és társai [48]	Keveredési hossz	200	77, 85	50	16	6, 10	15	0,042-420	-
2004	Kang és társai [50]	Keverési index	200	85	50	30,6	6	15	0,042	CFD, trajektória
2004	Liu és társai [51]	Keverési index	360	155	90	32	8	5,5	4-40	CFD, diffúziós
2005	Yang és társai [52]	Keverési index	200	75,3 85,4	50	10-30	6	1	40	CFD, diffúziós
2005	Aubin és társai [53]	Keverés minősége	200	77	25, 50, 75	18, 27	5-15	5	18,48	CFD, trajektória
2006	Hassel és társai [54]	Transzverzális áramlás nagysága	200	70	36	7-66	1	-	4,2-63	CFD
2007	Ansari és társai [55]	Keverési index	200	77	50	18-38	10	5	18,48	CFD, diffúziós
2009	Cortes-Quiroz és társai [49]	Keverési index	200	62-125	25-75	31-52	6, 9, 12	1,5	4-40	CFD, diffúziós
2010	Du és társai [56]	Pontokban vett koncentráció	50	10, 25	10-20	7	6	15	0,6	CFD, diffúziós
2010	Hossain és társai [57]	Keverési index	200	77	50	10-30	5-15	2-7	4	CFD, diffúziós
2012	Forbes és társai [58]	Felületi interakciók	500	50	50-150	50	6	1	30	CFD
2015	Chen és társai [59]	Keverési index	280	75	40-60	18-38	28	2	20-100	CFD, diffúziós

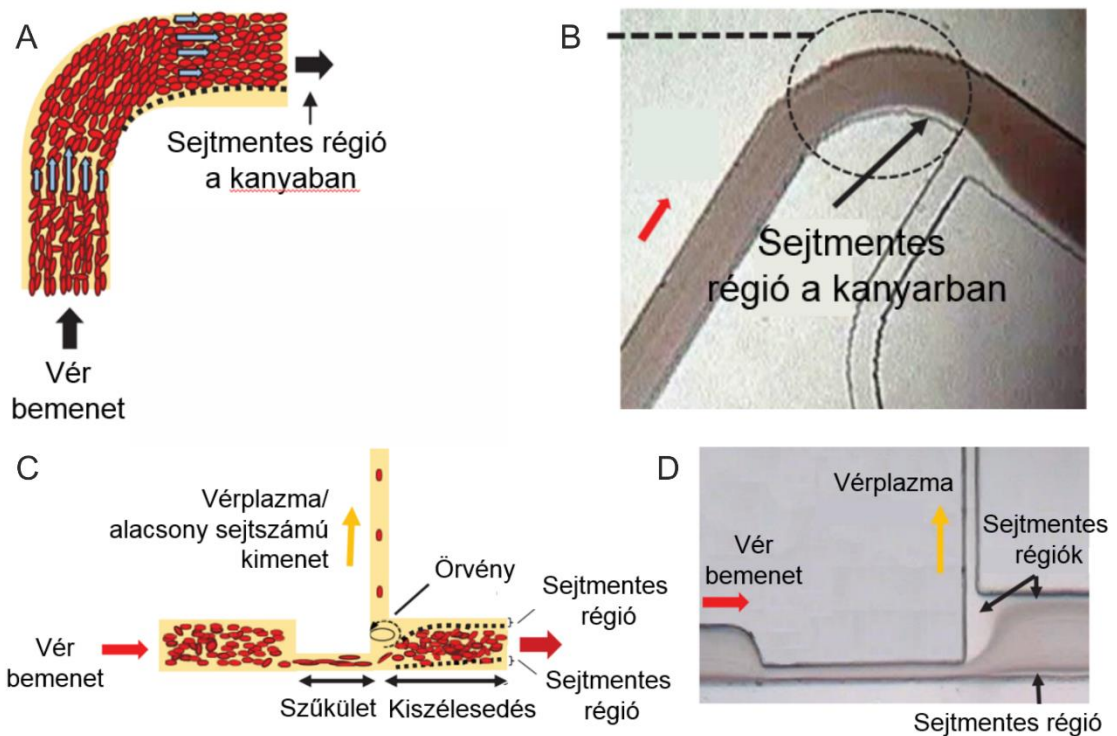
### 1.3.2. Mikroszeparátorok

A mikrofluidikában a különböző oldatok keverésén túl az anyagok szétválasztása is nagy kihívást jelent. A szétválasztás célja szerint két csoportra oszthatjuk a mikroszeparátorokat. Az első csoportba tartozó eszközök a részecskéket a folyadéktól választják el szűrőként viselkedve (pl. vérplazma elválasztása a sejtes elemektől). A második csoport célja a részecskék egymástól való elválasztása valamilyen fizikai jellemzőjük, például méretük szerint (pl. a vér sejtes elemeinek csoportosítása). A két csoporton belül is elkülöníthetünk aktív és passzív szeparációs technikákat.

#### 1.3.2.1. Alakos elem – plazma elválasztás

Az *aktív plazmaszeparációs eszközök* közé tartozik a „laboratórium egy lemezen” (*Lab-On-a-Disc, LoAD*) megközelítés [60], mely a centrifugális erőt használja ki a mikrofluidika méretskáláján. Liao és munkatársai [61] *kapilláris dielektroforézis* segítségével választották el a sejtes elemeket a vérplazmától.

*Passzív plazmaelválasztási módszerek* közé tartozik a *Zweifach-Fung bifurkáción* alapuló elválasztási elv is [62]. Az elválasztás alapja az a jelenség, mikor egy vörösvértest a méreteivel összemérhető csatornában haladva, ha elágazáshoz érkezik, azt az utat fogja nagyobb valószínűséggel választani, amelyikben nagyobb a térfogatáram [63]. A jelenség magyarázata nem egységes, az első leírás szerint a részecskékre a Bernoulli törvény alapján a magasabb térfogatárammal így alacsonyabb nyomással rendelkező főág felé mutató nyomás gradiens vonzza a bifurkációnál a szélesebb csatornába. A sejt felszínén fellépő aszimmetrikus nyíróerők szintén a jelenséget segítik elő. Kísérleteik és numerikus szimulációik alapján azonban Doyeux és munkatársai [64] azt állítják, hogy a sejtek csatornában való eloszlásának van a legnagyobb hatása az elválasztásra. A deformálódó sejtek, mint a vörösvértest a mikrocatornában laterális migrációval a csatorna közepe felé haladnak, mely egy vékony sejtmentes réteget eredményez [65]. Erről az elágazás előtt létező sejtmentes rétegről Fung is említést tesz [66]. Doyeux azt is leírja, hogy az elágazások után a sejtmentes réteg vastagsága csökken. A sejtmentes réteg elősegítésére *Zweifach-Fung bifurkáción* alapuló elválasztásnál több példát is találunk a szakirodalomban. A mikrocatornában elhelyezett görbület a centrifugális erőt használja ki a plazmánál nagyobb sűrűségű vörösvértestek külső ív felé kényszerítve sejtmentes réteg létrehozására (1.8.A ábra) [67]. A csatorna összeszűkítése és kiszélesítése (1.8.C ábra) a bifurkációs elv kiterjesztése. A sejtek a szűkület utáni jóval nagyobb térfogatárammal rendelkező főágot választják [68].



1.8. ábra – Sejtmentes régió a Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaszeparációs eszközökben. [69]

A *filtrációs részecskeszeparációs eszközöket* is megtalálhatjuk a mikrofluidikai elválasztóeszközök között. A mikroszatornában elhelyezett szűrő vagy akadály kerülhet a csatorna végére (*dead-end filtration*) [70]–[72], vagy a folyadékáramlással párhuzamosan a csatorna oldalára (*tangential flow filtration, cross-flow filtration*). Utóbbi módszereknél a szűrő pórusain átférő részecskék és a folyadék egy része a nyomáskülönbség miatt átjut a membránon, a nagyobb részecskéket tartalmazó folyadék azonban továbbáramlik. Ennek a módszernek az előnye a membrán oldalán történő folyamatos áramlás, mely megakadályozza, hogy a részecskék összetapadjanak és eltömítsék a szűrőberendezést [73], [74]. Mehendale eszköze különböző méretű sugárirányban elhelyezett akadályokkal (*Radial Pillar Device, RAPID*) kombinálja a csatornavégi és az átáramoltatásos filtrációt [75].

A filtráció mellett az *ülepítést* is használják mikrofluidikai eszközökben. Az elválasztás alapelve ennél a megközelítésnél az alakos elemek és a plazma sűrűségének különbségéből adódó gravitációs ülededés. A kicsi sűrűségkülönbségből adódóan azonban a vér alakos elemeinek ülededési sebessége csupán  $0,27\text{--}3,8\ \mu\text{m/s}$  között mozog [69]. Ezt az értéket több faktor is befolyásolhatja, függ a paciens nemétől, egészségi állapotától, és mértékének megváltozása indikátora a szervezetben jelen levő gyulladással járó folyamatnak. Az alacsony ülededési sebességből adódóan a mikrofluidikai eszközök is alacsony térfogatárammal üzemelnek [76].

Az alacsony, stabil térfogatáram a PDMS gázpermeabilitását vagy a kapillaris hatást kihasználva [77], [78] érhető el. A nyomás az eszköz előzetes vákuumozásával [79] vagy külön pneumatikus csatornát létrehozva fecskendőn keresztül szabályozható [80]. Közös tulajdonsága még ezeknek az eszközöknek, hogy a teljes vér elválasztására eltömődés miatt nem alkalmasak, előzetes hígítást igényelnek [81].

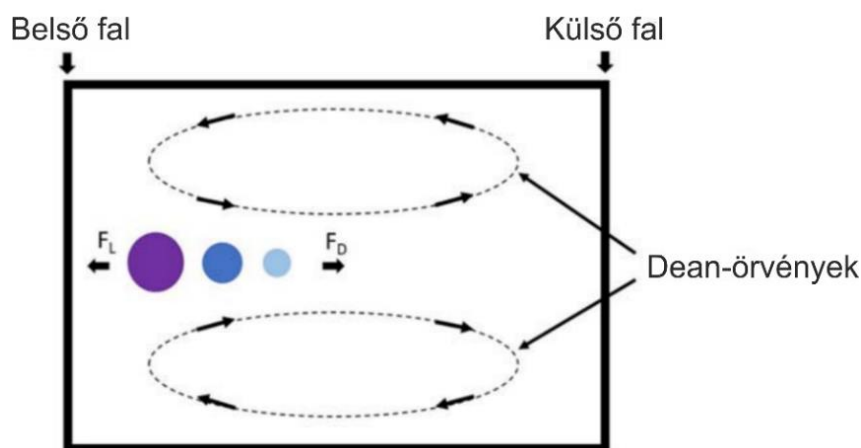
1.2. táblázat – Passzív plazmaszeparációs mikrofluidikai eszközök karakterisztikus jellemzői

Elválasztás alapelve	Kutatócsoport	Áteresztőképesség térfogatáram ( $\mu\text{l}/\text{min}$ )	Hematokrit érték (Hct)	Elválasztás hatékonysága (%)	Hozam (%)
Zweifach-Fung bifurkáció	Yang és társai [63]	$1,67 \cdot 10^{-4}$	45%	100	15-25
Zweifach-Fung bifurkáció + görbület	Faivre és társai [67]	$3,33 \cdot 10^{-3}$	16%	100	24
Zweifach-Fung bifurkáció + szűkület	Sollier és társai [68]	0,1	1:20-as hígítás	99	10,7
<i>Dead-end</i> filtráció	Thorslund és társai [72]	150	20%	-	91
<i>Cross-flow</i> filtráció	Geng és társai [74]	-	1:20-as hígítás	-	-
Gravitációs ülepités + <i>Cross-flow</i> filtráció	Tachi és társai [76]	0,1	20%	-	8
Gravitációs ülepités	Dimov és társai [79]	50	37%	100	-

### 1.3.2.2. Méret szerinti elválasztás

Az *aktív részecskeszeparátorok* működésében is külső energiaforrás játszik főszerepet. A *dielektroforézis alapú* eszközök polarizált részecskék elválasztását végzik el inhomogén elektromos mező segítségével. Az elválasztás paramétereit az elektromos mező frekvenciájának szabályozásával lehet finomhangolni [82]. Az optikai *lézercsipesz* alkalmazható mikrofluidikai csatornában is részecskék csapdázására. A lézer által létrehozott Gauss-nyalábban az energia a nyalábtengely körül kis területen koncentrálódik, a fényszóró részecskékre a nyaláb közepe felé mutató gradiens erő hat [83]. A technika alkalmas részecskék méret szerinti osztályozására a lézer hullámhosszának, energiájának valamint a csapda alakjának változtatásával [84]. Az *akusztóforézis alapú* szeparátorok akusztikus állóhullámok segítségével választják el a részecskéket. Ezzel az elválasztási módszerrel azonos méretű de különböző sűrűségű részecskék elválasztása is lehetséges [85]. A *mágneses* mikroszeparátorok külső mágneses teret használnak mágnesesen jelölt részecskék elválasztására a többi részecskétől. A mágneses teret a mikrocsatorna alján elhelyezett ferromágneses struktúrák lokálisan felerősíthetik, segítve ezzel az elválasztást [86], [87].

A *passzív elválasztási módszerek* között is szerepel a *Dean-örvényen alapuló* elválasztás [88], mely esetén a spirális csatornában az örvények a részecskéket a belső ívhez szorítják (1.9. ábra). A belső ívnél azonban a részecskékre ható közegellenállás és a felhajtóerő ellentétes irányú. A két erő nagyságától függően a részecske cirkulálni kezd vagy egyensúlyi állapotba kerül, így alakul ki a részecskék méret szerinti elválása és fókuszálása [89]. Ezt az elválasztási módszert jellemzően nagy térfogatáramok mellett használják [90].

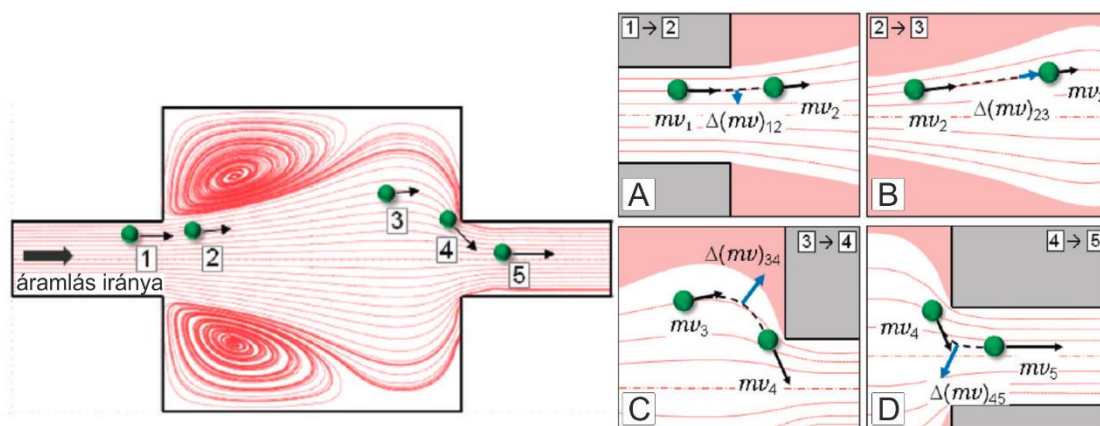


1.9. ábra – Dean-örvények használata részecskék méret szerinti szeparációjára. A részecskékre ható felhajtóerő (lift,  $F_L$ ) és közegellenállás (drag,  $F_D$ ) egyensúlyi helyzete méretfüggő. A részecskék beállva erre az egyensúlyi pontra méretük szerint fókuszálódnak. [89]

A többnyílású mikrocsatornák egymás után többször kiszélesítik, majd összenyomják az áramlást (*Multiorifice Flow Fractionation*, MOFF). Amikor a csatorna szélessége változik, a részecskékre tehetetlenségi erő hat. A kiszélesedésbe érve (1.10.A ábra) a részecske lendületet veszít, a változás iránya pedig a csatorna középvonala felé mutat. A kiszélesedésben a közeggel együtt haladó (1.10.B ábra) részecske tovább veszít lendületéből az áramlás lelassulása miatt, a tehetetlenségi erő iránya azonban egybeesik a trajektória irányával. A szűkülethez közeledve (1.10.C ábra), ahol az áramlás összeszűkül és felgyorsul, a részecske lendületet nyer, a centrifugális erő iránya pedig a csatorna oldalfala felé mutat. A szűkületen áthaladva (1.10.D ábra) a részecskének újra növekszik a lendülete, a centrifugális erő itt viszont a középvonal felé mutat. A lendületváltozások során fellépő tehetetlenségi erő készteti a részecskéket az áramlás irányára merőleges elmozdulásra (laterális migráció), amikor a részecske új áramvonalra tér át. A részecske laterális migrációs sebességét a következő képlettel írhatjuk le:

$$U_{LM} = \frac{\rho_p d^2 U^2}{18\mu D_h} \quad (1.11)$$

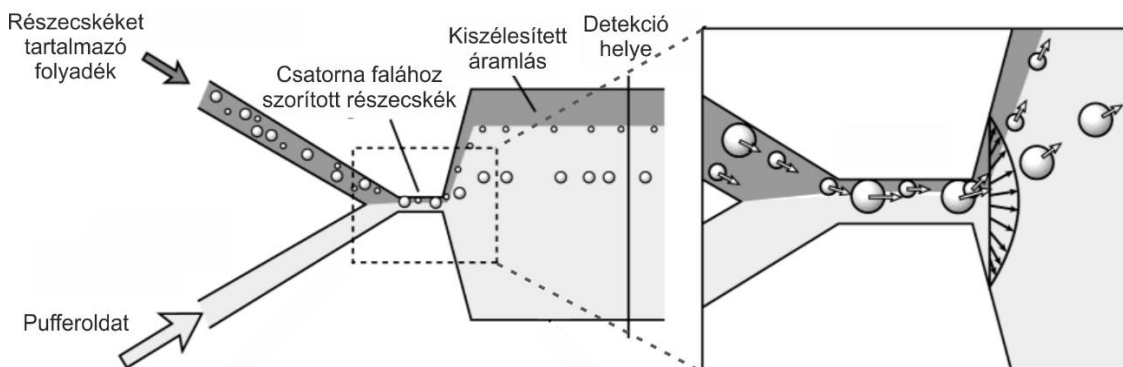
ahol  $\rho_p$  a részecske sűrűsége,  $d$  a részecske átmérője,  $U^2$  az áramlás sebessége,  $\mu$  a dinamikai viszkozitás,  $D_h$  pedig a mikrocsatorna karakterisztikus hossza. Az 1.8 egyenletben az oldalirányú elmozdulás négyzetesen függ a részecske átmérőjétől, így az eszköz alkalmas a részecskék méret szerinti elválasztására.



1.10. ábra – Többnyílású mikrocsatorna (Multiorifice Flow Fractionation) szeparációs működési elve. A részecskére a csatorna kiszélesedésbe érve tehetetlenségi erő hat (A) a csatorna középvonala felé; majd a kiszélesedésen áthaladva (B) a trajektória irányába. A kiszélesedés végéhez közeledve a centrifugális erő (C) a csatorna fala felé, majd a szűkületen áthaladva (D) ismét a csatorna középvonala felé mutat.

[91] alapján

A *Pinched Flow Fractionation* (PFF) a lamináris áramlás tulajdonságait használja ki [92]. A részecskéket tartalmazó folyadékot oldalról egy nagysebességű pufferfolyadék áramlattal a mikrosatorna falához szorítják (1.11. ábra). A kisebb részecskék tömegközéppontja közelebb esik a csatorna falához, mint a nagyobb részecskéké, így előbbiek a csatorna falához közelebbi áramvonalat követik [93]. A lamináris áramlást kiszélesítve az áramvonalak megtartják eredeti struktúrájukat, így a divergens áramlás alkalmas a részecskék méret szerinti különválasztására.



1.11. ábra – *Pinched Flow Fractionation* működési elve: a mikrosatorna falához szorított részecskék tömegközéppontjuknak megfelelően méretük szerint más áramvonalat követnek, az áramlás kiszélesítésénél méret szerint különválnak. [92]

## 1.4. Számítógépes modellezés használata a mikrofluidikai eszközök tervezésében

### 1.4.1. Számítógépes modellező szoftverek

A mikrosatornák tervezésekor és vizsgálatakor a számítógépes modellezés sok kérdésre választ adhat. A modellezés általában célszoftver használatával történik (pl. Ansys Fluent, COMSOL, OpenFoam), néhány speciális esetben saját fejlesztésű modellt használnak. Legtöbb esetben az eszközök áramlástanai vizsgálata a cél CFD (*Computational Fluid Dynamics*) szoftverrel, de gyakori az összetett modellek használata is (pl. koncentrációeloszlás, elektromos modell, mágneses modell).

Az Ansys szoftvercsalád melynek 2000-ben a CFX és 2006-ban a Fluent is része lett széleskörűen elterjedt modellezési platform. A munkafolyamat során a geometria létrehozása után a peremfeltételek megadása és hálózás, majd a fizikai paraméterek beállítása után történik a modell futtatása. A megoldó a véges térfogat módszert használja az egyenletek diskretizációjánál. Lee és munkatársai [89] mikroalgák szeparációját, valamint olaj és víz kétfázisú rendszerét modellezték, Huang és társai [94] eritrociták gravitációs elválasztását

modellezték az Ansys CFX szoftverrel. Guo és csapata [95] a HbA1c hosszú távú vércukorszint jelző molekula detektálását végző mikrofluidikai chip PCR kamrájának hőeloszlását modellezték Ansys Fluent szoftverrel. Tottori és Nisisako [96] is ezzel a szoftverrel végezte el párhuzamos DLD csepp szeparációs eszközük áramlásvizsgálatát.

A COMSOL csoport 1998-ban adta ki az első COMSOL Multiphysics szoftvert, melynek 2010 óta része az áramlásmodellezésre alkalmas CFD modul [97]. A diszkretizáció véges elemes módszerrel történik. A geometria létrehozása és a peremfeltételek és paraméterek beállítása után történik a hálózás, majd az eredmény számítása. A mikrofluidikai eszközök modellezésére mára már számos kutatócsoport használja. Paie és csoportja részecskék háromdimenziós fókuszálását modellezte [98]. Banerjee és munkatársai olyan CMF eszköz koncentrációeloszlás modelljét készítettek el, ami tetszőleges hígításra beprogramozható [99]. Ray és társai összetett kétdimenziós kétfázisú modellben vizsgálták a mágneses térbe helyezett mikrocsatornában történő ferrofluid cseppképződést [100]. Pelt és kutatótársai olyan mágneses szállítószalag működését optimalizálták, mely a mágneses gyöngyöket külső forgó mágneses tér segítségével egyenletes sebességgel továbbítja [101].

Az OpenFoam nyílt forráskódú C++ alapú áramlásmodellező szoftver 2000-ben vált mindenki számára elérhetővé. A szoftver egyik specialitása a parciális differenciálegyenletekre hasonlító szintaxis, ami egyszerűbbé és átláthatóbbá teszi speciális egyenletek bevitelét és megoldását. A geometria, számítási háló és a peremfeltételek, paraméterek leírása szövegfájlokkal történik. Hoang és társai kétfázisú áramlás modellezését végezték el mikrocsatornában a beépített VOF (*volume-of-fluid*) módszerrel két teszt esetben, hogy azokat korábban ismert és kísérleti eredményekhez hasonlítsák [102]. Roghair és csoportja OpenFoam alapú elektrohidrodinamikai modellt hozott létre, a VOF modellt a Gauss-törvénnyel és a szabad töltésekre vonatkozó transzportegyenlettel kiegészítve [103]. Malekzadesh és Roohi szintén a VOF technikát alkalmazta cseppképződés és cseppmozgás vizsgálatára T-mikrocsatornában [104]. Dich és munkatársai kétfázisú áramlási modellel vizsgálták szelepmentes elektromágneses mikropumpájukat [105].

A fent említett szoftvereken kívül néhány speciális esetben a kutatócsoportok saját fejlesztésű modellt használnak. Egy ilyen modell a MOPSA (*Microfluidics-optimized Particle Simulation Algorithm*). Mivel a COMSOL a részecsketrajektóriák számításánál nem veszi figyelembe a részecskék kiterjedését a csatornák szűkületeinél (a részecske átmegy ott is, ahol nem férne át), nem alkalmas sem részecskeszűrők, sem a DLD módszerrel történő részecskeszeparálás modellezésére [106]. Wang és munkatársai olyan algoritmust alkalmaztak ennek megoldására,



ami pont helyett kétdimenziós körökként modellezi a részecskéket, így pontosabb eredményeket kapnak. Taher és társai [107] nagy integráltságú ún. VLSI (*Very Large Scale Integration*) mikrofluidikai hálózat modellezésére hozott létre egyszerűsített modellt. Az ellenállás hálózatként való áramlásmodellezést csatolták az advekción-diffúziós transzportegyenlet egydimenziós megoldásával.

A szoftvereket áttekintve láthatjuk, hogy az áramlásmodellezésnél a véges térfogatok módszere az elterjedtebb, a végeselemes módszer alkalmazása azonban – melyet a COMSOL használ – könnyebbé teszi különböző fizikai modellek egymásra építését az egységes számítási háló használatával.

#### 1.4.2. Mikrokeverő és szeparátor modellek

A szakirodalmat áttekintve találhatunk számos olyan példát, melyben a mikrokeverő tervezését számítógépes modellezéssel segítették. Chen és munkatársai a kígyó keverő különböző variációit vizsgálták háromdimenziós modellekkel [40]. Feng, Ren és Jiang [41] olyan háromdimenziós geometriát modellezett, ami a hatékonyabb keverés elérésére a szétválaszt és újraegyesít módszert alkalmazza. Hossein és csoportja [43] Tesla keverő vizsgálatához és optimalizációjához hozta létre a csatorna háromdimenziós modelljét. Woo és társai [108] túltelített L-hisztidin oldat kristályosodását vizsgálták mikrokeverőben 3D-s numerikus modell segítségével. Ezekben a modellekben közös, hogy a keverést, illetve keveredést koncentrációmező számításával és a koncentrációeloszlás vizsgálatával tanulmányozták.

A *halszáлка keverőt* is több kutatócsoport vizsgálta numerikus modellezés segítségével (ld. 1.1. táblázat). Hassel és csoportja [54] a keverő geometriákat az áramlási tulajdonságok alapján minősítette a másodlagos, transzverzális áramlást számszerűsítve. Forbes és társai [58] valamint Du és társai [56] az áramvonalak segítségével is vizsgálta a halszáلكák forgató hatását, azonban a legtöbb numerikus modellezésen alapuló tanulmányban [49], [51], [52], [55]–[57], [59] a molekuláris diffúzió alapuló koncentrációeloszlás alapján definiált keverési index segítségével minősítik a keverőket. Aubin és társai [53] részecskék trajektóriáinak elemzésével minősítették a keverőket a részecskék átlagos távolságával jellemezve a rendszert. Kang és Kwon [50] is részecskék trajektóriáját elemzi a halszáлка keverőben, módszerüknek a színes részecskék követése (*Colored Particle Tracking Method, CPTM*) nevet adták, a különböző keverő geometriák hatékonyságát általuk definiált információs entrópiával minősítik. A halszáлка keverőnél alkalmazott trajektória modellek a részecskékre mint tömeggel és kiterjedéssel nem rendelkező pontokra tekintenek.

Mikrofluidikai eszközzel történő részecskeszeparációnál kétféle dolgot is vizsgálhatunk: a részecskék szeparációját az oldattól (pl. vér alakos elemeinek elválasztása a plazmától), vagy a részecskék méret szerinti szeparációját. A plazmaszeparációs eszközök numerikus modellezésére Huang és társai [109] vérplazma elválasztását tanulmányozták kétdimenziós áramlási modell segítségével. Az áramlási kép alapján állapították meg, hogy mekkora az a legkisebb részecske sugár, ami már nem lép be a plazmát tartalmazó oldalcsatornába. Doyeux és csoportja [64] a Zweifach-Fung effektust vizsgálta kétdimenziós numerikus modell segítségével, ahol az egy részecskére ható erőket írták le, ahogy az áthalad a csatornaelágazáson. Shamloo és társai [110] is ezt az effektust vették alapul plazmaszeparációs eszközük optimalizálásához. Direkt keresési eljárást (*Pattern Search* algoritmust) alkalmaztak a kétdimenziós áramlási és trajektóriamodelleken. Bhagat és kutatócsoportja [111] folytonos plazmaszeparációs mikroszatornájukban háromdimenziós koncentrációeloszlás modell alkalmazásával vizsgálták a Dean örvények kialakulását különböző térfogatáramok esetén. Zheng és társai [112] keringő tumorsejteket elválasztó 3D mikrofilter csatornáik vizsgálatához készítették el a mikroszatorna áramlási modelljét. Guan és csoportja [113] spirális mikroszatornában vizsgálta az áramlási mezőt háromdimenziós lamináris áramlási modellben. Raghavan és társai [114] felületi akusztikus hullámok segítségével választották szét részecskéket méretük szerint mikrocseppben. Ennek modellezését Ansys CFX szoftverrel végezték el. Furlani mágneses térbe helyezett vörösvértestek mozgását modellezte saját matematikai modelljével [115]. Liu és munkatársa [86] különböző magnetoforetikus mobilitással rendelkező részecskéket választott szét mágneses mikroszatorna segítségével. A mágneses tér modellezéséhez Ansys végelelemes modellt használtak, míg a magnetofórezis egyenletét Matlabban oldották meg.

A mikrofluidikai rendszerek tervezésénél és vizsgálatánál is alapvető fontosságúvá vált tehát a jelenségek numerikus modellezése, ami a megszokott mérnöki gyakorlatnak megfelelően felgyorsítja és költségkímélőbbé teszi a fejlesztési lépéseket, de alátámasztja és segíti az kialakuló fizikai folyamatok megértését is.

## 2. Célkitűzések

A mikrofluidikai mintaelőkészítő egységek fontos részét képezik a modern diagnosztikai rendszereknek. A részecskéket is tartalmazó biológiai minták esetében ez olyan összetett feladat, melyet a legtöbb piacon kapható mikrofluidikai alapon működő analitikai módszer esetében a vizsgálat előtt a chipen kívül, nagy méretű készülékeken kell elvégezni. A mikrofluidikai rendszerek képesek lehetnek ezen funkciók integrált módon történő megoldására.

A mikrofluidikai és laboratórium egy chipen rendszerek tervezésének mára szerves része lett a numerikus modellezéssel segített paraméteroptimalizálás. A mikroszatornák tervezésénél minden esetben fontos szempont volt azok nagyobb, komplex rendszerbe való integrálhatósága. Tekintetbe véve, hogy a mikroszkopikus méretekben a fizikai folyamatok lefolyása nagy eltérést mutathat a makroszkopikus tartományokban megszokottól, a mikrofluidikai rendszerek tervezése nagy körültekintést igényel. A makroszkopikus körülmények hatásait ugyanúgy figyelembe kellett veyük, mint a lokálisan, pl. mikroszkopikus méretű részecskék közelében tapasztalható folyamatokat. Az állandósult állapotok meghatározása helyett egyre inkább felmerült az igény tranzienst, időfüggő folyamatok leírására is. Ezek az elvárások komoly kihívással állítják szembe a kereskedelmi forgalomban elérhető szoftvereket is, amelyek csak jelentős egyszerűsítések árán, vagy extrém futási idők mellett képesek eredményeket szolgáltatni a rendszer viselkedéséről. Különösen igaz ez a kiterjedéssel rendelkező alakos elemek viselkedésének leírására, amelyek tekintetében a szakirodalom is jelentős hiányosságokra hívja fel a figyelmet, hiszen a modellek ezeket a részecskéket általában kiterjedés nélküli tömegpontként veszik figyelembe.

Kutatómunkám célja az volt, hogy a mikroáramlási rendszerek multimodális modellezésével megismerhessem, beazonosíthassam a mikroszatornák komplex geometriája, illetve külső hatások által befolyásolt összetett áramlási folyamatokat, különös tekintettel a kiterjedéssel rendelkező objektumok viselkedésére a mikrofluidikai rendszerekben. Dolgozatomban különböző alapfunkciókat integráló mikrofluidikai rendszerek viselkedését elemzem. Mikrokeverők és mikroszeparátorok működését vizsgáltam alakos elemek jelenlétében és javaslatot tettem azok optimális geometriájára és működtetési paramétereire.

- A halszálla mikrokeverő egy fotonikai elven működő bioszenzor mikrofluidikai mintaelőkészítő egységének részét képezi. Tervezésénél arra a kérdésre kerestem a választ, hogy a folyadéktranszport egy adott úthosszán mi az optimális szélessége és elrendezése a halszálláknak a megfelelő keveredés elérése érdekében.

- A mikroszeparátorok esetében kétféle elválasztási feladat megoldása volt a cél: a részecskék áramlástól való elválasztása, valamint a részecskék méret szerinti elválasztása. A plazmaszeparáció az első kategóriába tartozik. A Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaelválasztást alkalmaztam kaszkád rendszerben hatékonyan egy csatornafal menti sejtmentes réteg kialakításával és a kivezetések után történő újbóli létrehozásával. Az elválasztott vérplazma később egy nanopórusokon keresztüli transzportmodulációt kihasználó diagnosztikai eszköz bemenete lehet.
- A plazmaelválasztás autonóm, külső meghajtást nem igénylő mikrofluidikai chipekben különösen nagy kihívást jelent. Az MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoportjával való együttműködés keretei között olyan eszközt terveztünk, mely külső mintaelőkészítés nélkül alkalmas emberi vérminta AB0 vércsoportjának meghatározására. A plazmaszeparáció a diagnosztikai ötlet fontos része, melynek kialakulása adja a teszt eredményét. A tervezés során olyan mikrosatorna modellt terveztem, melynek alján a letapadt vörösvértestek elrendezése véletlenszerű. Különböző csatornalefedettségek esetén vizsgáltam meg az akadályok áramlásmódosító hatását. Célunk az volt, hogy a plazmaszeparáció a teszt során szabad szemmel is, egyértelműen kiolvasható legyen.
- A részecskék áramlástól való elválasztásának feladata a mágneses részecskék csapdázása is a mikrosatornában. Munkám során olyan multidomén modellt hoztam létre, mely képes a chip alatt elhelyezett mágneses terét és a mikrosatornában létrehozott áramlást egyszerre kezelni a paramágneses részecskék trajektóriájának kiszámításánál. A mikrosatorna egy aptamer szelekciós rendszer alegysége lesz, mely a mágneses részecskékhez kötődött molekulákat választja el a többi molekulától. Úgy kellett őket a csatornában csapdáznunk, hogy a folyamatos mosást is biztosítani tudjuk, de egy jó affinitású aptamert se veszítsünk el ezalatt. A modellezésnél különböző térfogatáramok mellett vizsgáltam a csapdázott részecskék arányát, hogy meghatározzam azt az áramlástanai működtetési tartományt, ami mellett az egység el tudja látni a feladatát.
- A részecskék méret szerinti elválasztásának feladata egy légszennyezettséget vizsgáló eszköz fejlesztésénél merült fel. A mikrofluidikai mintaelőkészítő alegység feladata pollenek méret szerinti elválasztása passzív hidrodinamikai módszerrel. A közel azonos sűrűségű részecskék elválasztása a hagyományos laboreszközökkel is kihívást jelent. A tervezés során kétféle hidrodinamikai részecskeszeparációs módszer együttes alkalmazása mellett értékeltem a részecskék elválasztásának hatékonyságát. Megvizsgáltam azt is, hogy a rendszer optimális működtetési paraméterei alkalmasak lehetnek-e a magas nyíróerő ellenére vér alakos elemeinek elválasztására.

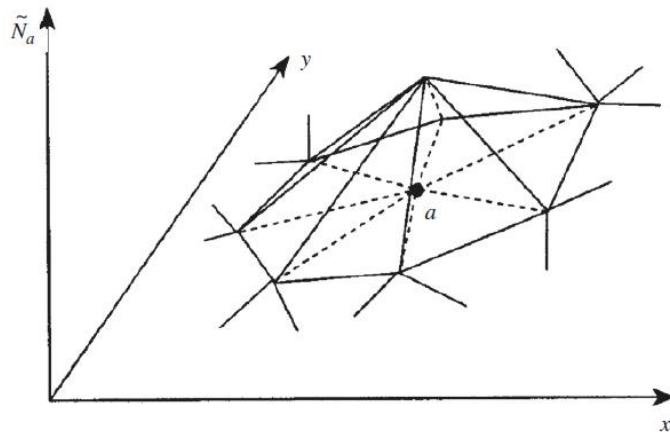
### 3. Módszertan

#### 3.1. Végelelemes numerikus modellezés

Az áramlástanai modellezés (Computational Fluid Dynamics, CFD) alapját a megoldandó parciális differenciálegyenlet (Partial Differential Equation, PDE) diszkretizációja adja. A diszkretizáció során a PDE közelítése modellegyenletekkel történik, melyek numerikus módszerekkel megoldhatók. A megoldás a PDE valós megoldásához közelítő megoldás. A végelelemes módszernél egy  $u$  függő változó (pl. nyomás, hőmérséklet stb.) közelítése  $u_h$  függvénnyel történhet, mely a bázisfüggvények lineáris kombinációjából adódik:

$$u_h = \sum_i u_i \psi_i \quad (3.1)$$

ahol  $\psi_i$  az  $i$ . bázisfüggvényt,  $u_i$  pedig a közelítő függvény  $i$ . együtthatóját jelöli. [116]



3.1. ábra – Bázisfüggvény háromszög hálók esetén. [116]

A végelelemes módszer egyik előnye, hogy nagy szabadságot nyújt a háló sűrűségének megválasztásában [117].

A folytonos áramlású mikrofluidikai eszközök modellezéséhez modellezésénél a Navier-Stokes egyenlet írja le a folyadékok áramlásának fizikáját:

$$\rho \left( \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right) = -\nabla p + \nabla \cdot \left( \mu (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) - \frac{2}{3} \mu (\nabla \cdot \mathbf{u}) \mathbf{I} \right) + \mathbf{F} \quad (3.2)$$

ahol  $\mathbf{u}$  a folyadék sebessége,  $p$  a nyomás,  $\rho$  a folyadék sűrűsége és  $\mu$  a folyadék dinamikai viszkozitása,  $\mathbf{I}$  az egységtenzor,  $\mathbf{F}$  a folyadéokra ható egyéb erők. Az egyenlet első része az

inerciális erőket, második részének első tagja a nyomást, második tagja a viszkózus erőket, míg harmadik tagja a külső erőket írja le (pl. gravitáció, mágneses tér). A Navier-Stokes-egyenletet a kontinuitási egyenlettel együtt oldható meg:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (3.3)$$

A kontinuitási egyenlet képviseli a tömegmegmaradást, míg a Navier-Stokes-egyenlet a lendületmegmaradást.

A mikrokeverők modellezésénél a következő konvekciós-diffúziós egyenlet alapján számoljuk a koncentrációt:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla c = D \Delta c + R \quad (3.4)$$

ahol  $c$  a koncentráció,  $D$  a diffúziós együttható,  $R$  a reakciótag.

Az áramlásba helyezett részecskékre ható erőket a Stokes-törvény írja le:

$$\frac{d}{dt} (m_p \mathbf{u}_p) = 3\pi\mu d_p (\mathbf{u} - \mathbf{u}_p) \quad (3.5)$$

ahol  $m_p$  a részecske tömege,  $\mathbf{u}_p$  a részecske sebessége,  $\mu$  a folyadék dinamikai viszkozitása,  $d_p$  a részecske átmérője.

A mágneses részecskék modellezésénél az állandó mágnes által keltett mágneses tér számítása az alábbi egyenlettel történik:

$$-\nabla \cdot (\mu_0 \nabla V_m - \mu_0 \mathbf{M}_0) = 0 \quad (3.6)$$

ahol  $\mu_0$  a közeg permeabilitása  $V_m$  az állandó mágnes mágneses erőterének skalárpotenciálja,  $\mathbf{M}$  pedig a mágnesezettség.

Az áramlásba helyezett mágneses részecskékre ható erőket a következő egyenlet írja le:

$$\frac{d}{dt} (m_p \mathbf{u}_p) = 3\pi\mu d_p (\mathbf{u} - \mathbf{u}_p) + (\mathbf{m}_{dip} \cdot \nabla) \mathbf{B} \quad (3.7)$$

ahol  $\mathbf{m}_{dip}$  a részecskék dipólus momentuma,  $\mathbf{B}$  pedig a mágneses térerősség.

A numerikus modellezés egyik legfontosabb alapja a *számítási háló*, mely a modell geometriájának számítási pontokra való felosztása. CFD valamint a diffúzió alapú modellezés esetén kiemelten fontos a megfelelő elrendezésű és felbontású háló használata. Modelljeimben a végesselemes modellek esetén általánosan elterjedt tetraédes hálót használtam, melynek sűrűsége anizotróp, azaz a mikrocsatorna geometriájának kisebb részleteinél sűrűbb. Mivel a mikrocsatornában a csatorna fala és közepe közötti távolság kicsi, a sebességkülönbség viszont a lamináris áramlás parabolikus profiljának megfelelően jelentős, a COMSOL fizika alapú (*Physics Controlled*) beépített hálózója a csatorna fala mentén két rétegben négyzetes, finomabb felbontású határréteg hálót (*Boundary Layer Mesh*) alkalmaz.

A differenciálegyenletek numerikus megoldásánál fontos szerepet kapnak a *kezdeti feltételek* mellett a *peremfeltételek* is. A megoldás során egy-egy rácspontra jellemző egyenlet megoldása a szomszédos rácspontok értékeinek figyelembevételével történik. A mikrocsatornák be- és kimenetén, valamint a falakon azonban nincs szomszédos elem, ami alapján számolni lehetne. Virtuális mezőket hoz létre a modell, melyek értékeit a megfelelő peremfeltételek adják.

A modellek peremfeltételei – a differenciálegyenleteknek megfelelően – háromféle módon határozhatók meg. A legegyszerűbb peremfeltétel a *Dirichlet* peremfeltételnek felel meg, ahol a virtuális mezők értéke egy megadott, konstans érték. Ezt a peremfeltételt használtam a mikrocsatornák kimenetén az áramlási modellben (rögzített referencianyomás) vagy a mikrocsatorna falain, ahol a sebesség értéke nulla (*no slip*).

Peremfeltételként függvényt is megadhatunk a virtuális mező értékeire. Ezt a megközelítést alkalmaztam a koncentrációs modell bemenetének definiálásakor. *Neumann* peremfeltétel esetén a függvény normálirányú deriváltjának értékét adjuk meg a virtuális mezőkre. Ezt a peremfeltételt használtam a koncentrációs modellnél is a csatorna falain, ahol az anyag kiáramlása nulla (*zero flux*).

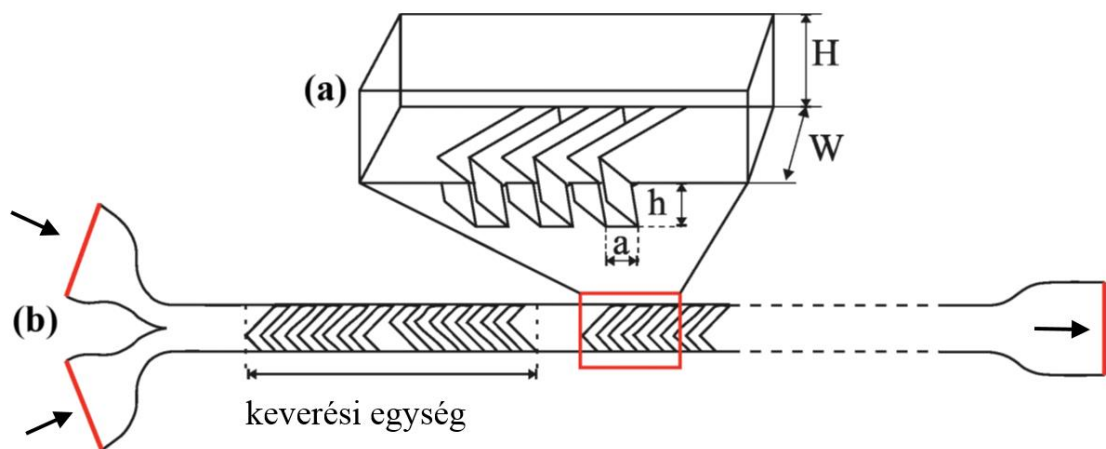
*Periodikus* peremfeltétel esetén a megoldási tartomány kimenetén lévő értékeket adjuk meg virtuális értéként a bemenet melletti virtuális mezőkre. Ezt a peremfeltételt alkalmaztam a kigyó keverő konvergencia-vizsgálatánál, ahol a kimeneti koncentrációs mezőt visszacsatolva a bemenetre kaptam meg a mikrocsatorna meghosszabbítását.

Az áramlási-, koncentrációs- és mágneses mezők számításánál kezdeti feltételként nulla kiindulási mezőt adtam meg a térfogatra vonatkozólag, minden esetben.

A végesselemes modellek futtatása a következő konfigurációval rendelkező szerveren történt: Ubuntu operációs rendszer, 64 szál, 2,3 GHz órajelű HP 781913-B21 Xeon 16Core E52698V3 processzor, 384 GB memória.

### 3.1.1. Mikrokeverők tervezése és modellezése

A különböző modellezési stratégiák bemutatására és összehasonlítására különböző halszálka-keverő geometriákat terveztem [42]. A mikrocsatorna keresztmetszete  $100\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ , a másodlagos, keresztirányú csatornák (halszálkák) mélysége  $100\ \mu\text{m}$  (3.2. ábra). A halszálkák az irodalomban javasolt optimális érték [48] alapján  $45^\circ$  szöget zárnak be a csatorna falával, elhelyezkedésük aszimmetrikus, az optimális  $0,68$  aszimmetria érték [49] alapján a csatornát harmadolják. Egy keverési egységet két ellentétesen eltoltszálka sorozat alkot (3.2. ábra). A paramétervizsgálat során a keverők hosszát minden esetben  $6000\ \mu\text{m}$ -ben rögzítettem a chipen rendelkezésre álló hely alapján, valamint a hatékonyság összehasonlíthatóságának érdekében. A halszálkák fél keverési ciklusonkénti darabszámát  $4$  és  $6$  között változtattam.  $4$  db halszálka alatt a folyadék által megtett fordulat nem elegendő. A halszálkák szélességének alsó értékét a gyártási technológia határozta meg. A  $100\ \mu\text{m}$  mély halszálkák geometriája a nagy oldalarány miatt  $30$  mikron alatti szélesség esetén jelentősen torzulna. Aubin és társai [53] a keverő geometriájának numerikus vizsgálatával megmutatták, hogy  $50\ \mu\text{m}$  feletti halszálka szélesség esetén a keverés hatékonysága romlik, így a halszálkák szélességét  $30$ - $40\ \mu\text{m}$  között, részegységenkénti számukat pedig  $4$  és  $6$  között változtattam. A paramétereket a 3.1. táblázat foglalja össze, a modellek háromdimenziósak.



3.2. ábra – A halszálka-keverő paramétereit: (a) a csatorna szélessége ( $W$ ) és magassága ( $H$ ), a halszálkák mélysége ( $d$ ) és szélessége ( $a$ ), valamint a mikrofluidikai rendszer vázlatát a bemenetekkel, kimenettel és egy keverési egységgel.



3.2. táblázat – A halszálka-keverők paramétervizsgálatánál használt értékek.

Halszálka szélesség	Halszálkák száma egy részegységben	Keverési egységek száma	Név
30 $\mu\text{m}$	4	6	30/4/6
30 $\mu\text{m}$	6	4	30/6/4
35 $\mu\text{m}$	4	5	35/4/5
35 $\mu\text{m}$	5	4	35/5/4
40 $\mu\text{m}$	4	5	40/4/5
40 $\mu\text{m}$	5	4	40/5/4

A modellezés során kétféle megközelítéssel vizsgáltam a keverőket. A diffúzió alapú modell a vizsgált anyag diffúziójával számolva ad képet annak koncentrációeloszlásáról. A transzport alapú modell a részecskék trajektóriáit számítja ki a mikroszatornában. Mindkét megközelítés első lépése a stacionárius áramlási mező számítása a Navier-Stokes egyenlet numerikus megoldása alapján. A csatorna bemeneténél lamináris áramlás peremfeltételt állítottam be 0,002 m/s átlagsebességgel, a kimeneten pedig egy rögzített referencianyomást adtam meg minden modell esetében. A csatorna falainál tapadási feltételt (*no slip*) feltételeztem a lamináris áramlásnak megfelelően. A beállított peremfeltételeket a 3.2. táblázat foglalja össze. A szobahőmérsékletű víz fizikai tulajdonságait állítottam be minden modell esetén (sűrűség: 1000 kg/m<sup>3</sup>, kinematikai viszkozitás: 10<sup>-6</sup> m<sup>2</sup>/s). A lokális Reynolds-szám számolt maximum értéke 0,0112 volt 0,002 m/s átlag bemeneti sebességgel számolva, az átlagos Reynolds-szám pedig 0,00244, a lamináris áramlási modell tehát helytálló megközelítés.

3.3. táblázat – A halszálka-keverők modelljében beállított peremfeltételek összefoglalása

Név	Modell	Peremfeltétel	Érték
Bemenet	Áramlás	Lamináris áramlás átlagsebesség megadásával	0,002 m/s
Bemenet	Trajektória	Részecske bemenet	6000 részecske egyenletes eloszlással
Bemenet <sub>1</sub>	Koncentráció	Koncentráció	100 mol/m <sup>3</sup>
Bemenet <sub>2</sub>	Koncentráció	Koncentráció	0 mol/m <sup>3</sup>
Csatorna fala	Áramlás	Tapadás ( <i>no slip</i> )	-
Csatorna fala	Trajektória	Visszapattanás ( <i>Bounce</i> )	-
Csatorna fala	Koncentráció	Neumann ( <i>no flux</i> )	-

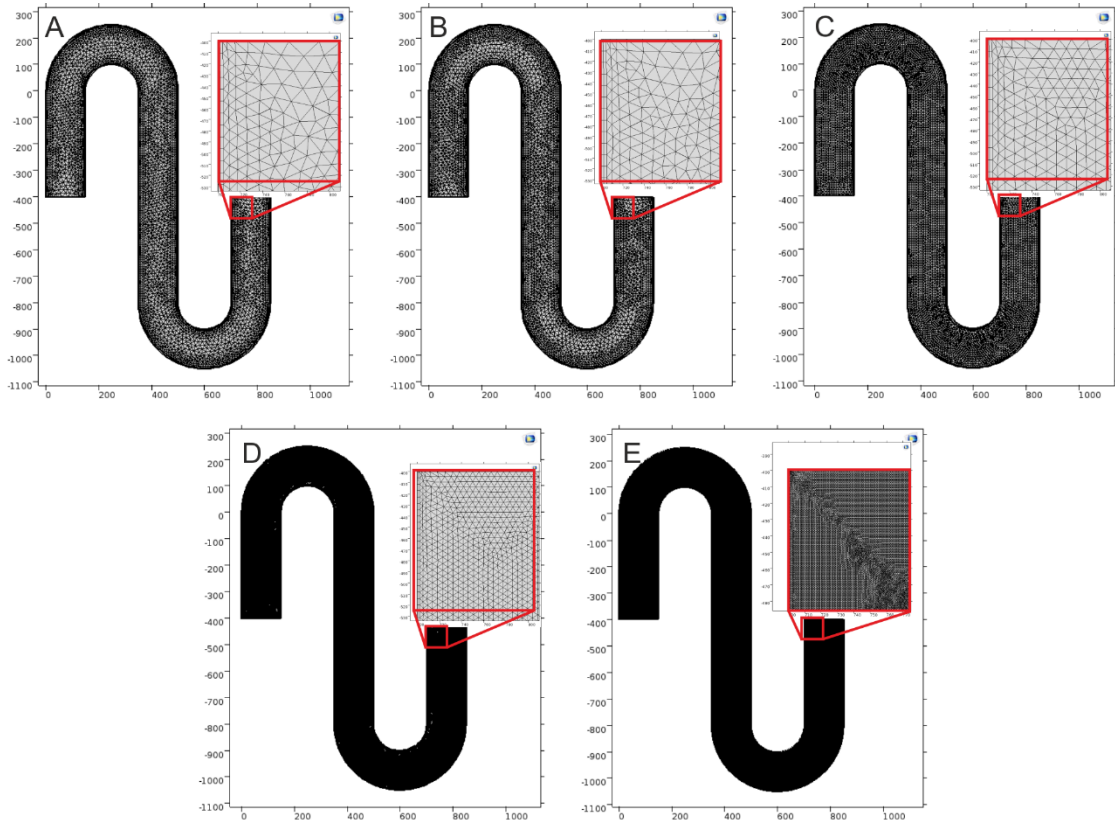
A diffúziós modell esetében a bemeneti koncentráció  $100 \text{ mol/m}^3$  a csatorna bal, míg  $0 \text{ mol/m}^3$  a csatorna jobb oldalán. A diffúziós együtthatót  $10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$  értékre állítottam be, melynek nagyságrendje megegyezik a mérésnél használt festék diffúziós együtthatójával. Ennél a megközelítésnél a számítási háló konvergenciavizsgálata szükséges a numerikus diffúzió minimalizálásához. A részecskemodell esetén a bemeneten 6000 db részecskét indítottam el egyenletes eloszlással. A részecskék gömb alakúak  $6 \text{ }\mu\text{m}$  átmérővel, sűrűségük  $1100 \text{ kg/m}^3$ , mely a vörös vértetek tulajdonságaihoz hasonló. A csatornák falain visszapattanás (*Bounce*) peremfeltételt állítottam be.

A keverés modellezése diffúziós modell esetén további megfontolásokat kíván. A nem megfelelő hálófelbontás numerikus diffúzióhoz vezet, mely hamis képet ad a keveredésről [118]. A numerikus diffúzió jelenségét a kétdimenziós kígyókeverő példáján keresztül mutatom be. Ebben a csatornában alacsony sebesség esetén a kis felületen az anyag hosszú ideig diffundálhat, míg végighalad a csatornán. A keverés jóságát rögzített térfogatáram mellett a mikroszatorna hossza határozza meg. A konvergenciavizsgálat során a hálófelbontást addig növeljük, míg a számítási eredmények közötti különbség elfogadhatóan alacsony lesz (3.4. ábra). Az eredmények jó összehasonlításához minél hosszabb csatornát alakítunk ki. A hosszú csatorna magas hálófelbontással való modellezésének számítási igénye nagy, ennek megfelelően ahhoz, hogy a felbontást a meglévő számítási kapacitás mellett növelni tudjam, olyan modellt készítettem, mely a keverő egy részegységét tartalmazza periodikus peremfeltétellel. A számítási igényes áramlási modell erre az egy részegységre fut le, azt feltételezve, hogy a csatorna további egységeiben is ilyen áramlási profil alakul ki. A diffúziós modellben a modellezendő egységek száma indexként jelenik meg (nullától indítva). A modellben visszacsatolást definiálunk a kimenet és a bemenet közé (*General Extrusion* operátor) egy meghatározott eltolással, mely az egység hossza. A bemeneten differenciálegyenlet peremfeltételt definiálunk (Boundary ODEs and DAEs) a  $c_b$  mező számítására, melyben a forrástag a kimeneti  $c$  koncentrációmező. A diffúziós modell bemeneti peremfeltételének megadásakor if-else elágazást alkalmazhatunk egyetlen kifejezésben:

$$\text{if}(\text{Index}, c_b, 1 * (x < 75[\mu\text{m}])) \quad (3.8)$$

ahol *Index* a keverési egység sorszáma,  $c_b$  pedig a visszacsatolt koncentrációs mező. A program nulla index esetén a bemeneten olyan bemeneti koncentrációmezőt ad meg, hogy a csatorna egyik felén 1 legyen az érték, míg a másik felén pedig nulla, nullától eltérő index esetén pedig a visszacsatolt koncentrációs mezőt ( $c_b$ ) használja fel. A különböző felbontású számítási hálók paramétereit a 3.3. táblázat tartalmazza.

A modellből kapott adatok feldolgozásához Matlab programot készítettem. A modellből exportált fájl tartalmazza a részecskék kimeneti metszeten vett x-y koordinátáit. Az adatfeldolgozó függvény a részecskék kimenetén való elhelyezkedését fejezi ki olyan formában, hogy az a mérések intenzitásgörbéivel összevethető legyen. A csatorna keresztmetszetét egyenlő részekre osztva hisztogramot készít a kimenetről, az intervallumokba eső részecskék számára illesztett görbét pedig normalja.



3.3. ábra – Konvergenciavizsgálat számítási hálói a kígyó keverőnél. A keverő egyre finomabb számítási hálót a COMSOL előre definiált hálófelbontás-beállításai, valamint a legnagyobb felbontású háló további finomítása adta.

3.3. táblázat – Elemszámok a periodikusan visszacsatolt kígyó keverő számítási hálójánál.

<b>Felbontás neve</b>	<b>Elemszám</b>
Fine	66 748
Finer	75 316
Extra fine	83 516
Extremely fine	290 702
Extremely fine + refinement	1 143 340

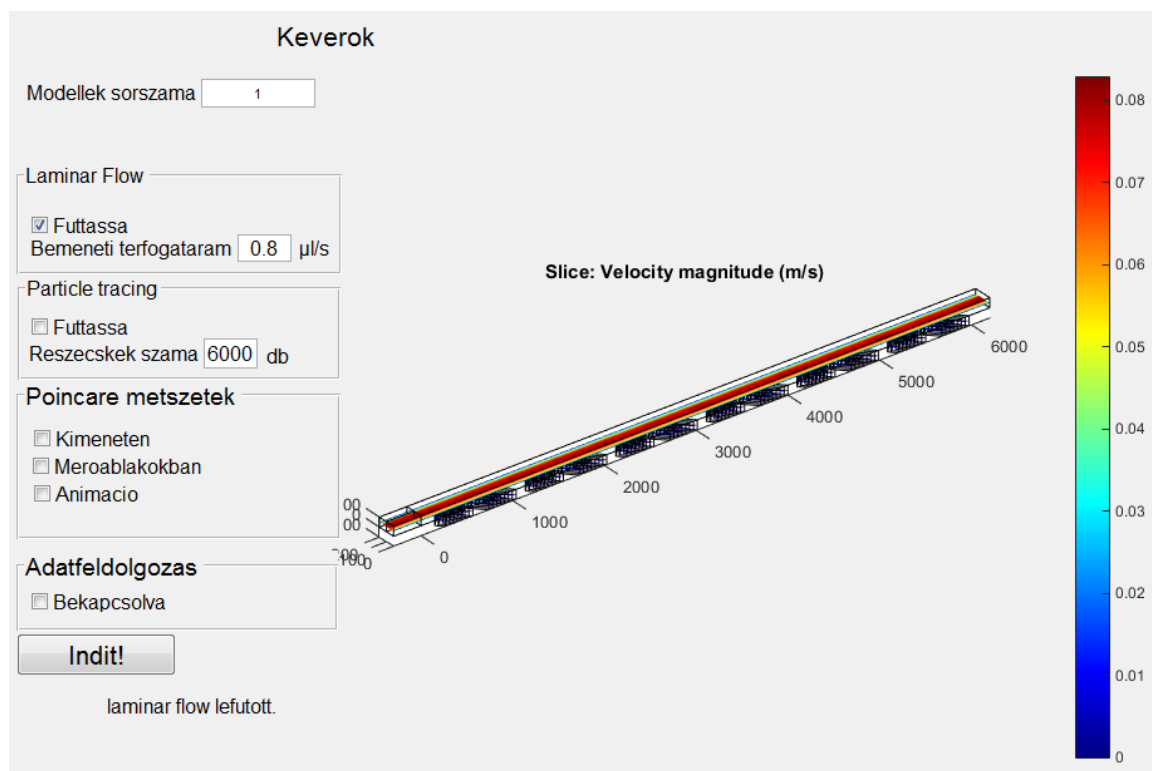


3.4. ábra – Numerikus diffúzió jelensége a kígyó keverőn szemléltetve. A keverőt egyre finomabb hálóbontással modellezve jól látszik, hogy a jól kevert régió (zöld színnel) egyre később jön létre a csatornáknban. A konvergencia vizsgálat utolsó két modellje között a különbség nehezen észrevehető.

A keverők működésének vizsgálatához olyan animációt készítettem, melyben a csatorna hossza mentén haladva a részecskék trajektóriáját merőlegesen metsző Poincaré felületeket követhetjük, megfelelően az időben kialakuló útvonaluknak. Az animáció elkészítéséhez szükséges képkockákat a Matlabban írt függvényel készítettem el.

A modellek konzisztens beállítása és az eredmények gyors áttekinthetősége érdekében grafikus felületű Matlab programot készítettem, melyben lehetőség van a futtatandó modellek sorszámának megadására, a sebesség és a részecskék számának beállítására, és a modellek futtatására. A program az értesítési területen folyamatosan kommunikál a folyamatban lévő műveletekről, valamint a modelledményeket grafikusán megjeleníti (3.5. ábra). A *Laminar Flow* és a *Particle Tracing* modulok külön-külön is futtathatók, azonban az előbbi futtatásának bekacsolásánál a második futása is aktiválódik, hogy az új sebességmezőre történjen a részecsketrajektóriák kiszámítása. Lehetőség van az adatfeldolgozás, valamint az

animációkészítés bekapcsolására is, ekkor újabb futtatás nem szükséges. A modell futása közben a COMSOL saját állapotjelzője jelenik meg, ami részletes információkkal szolgál a futás állapotáról.



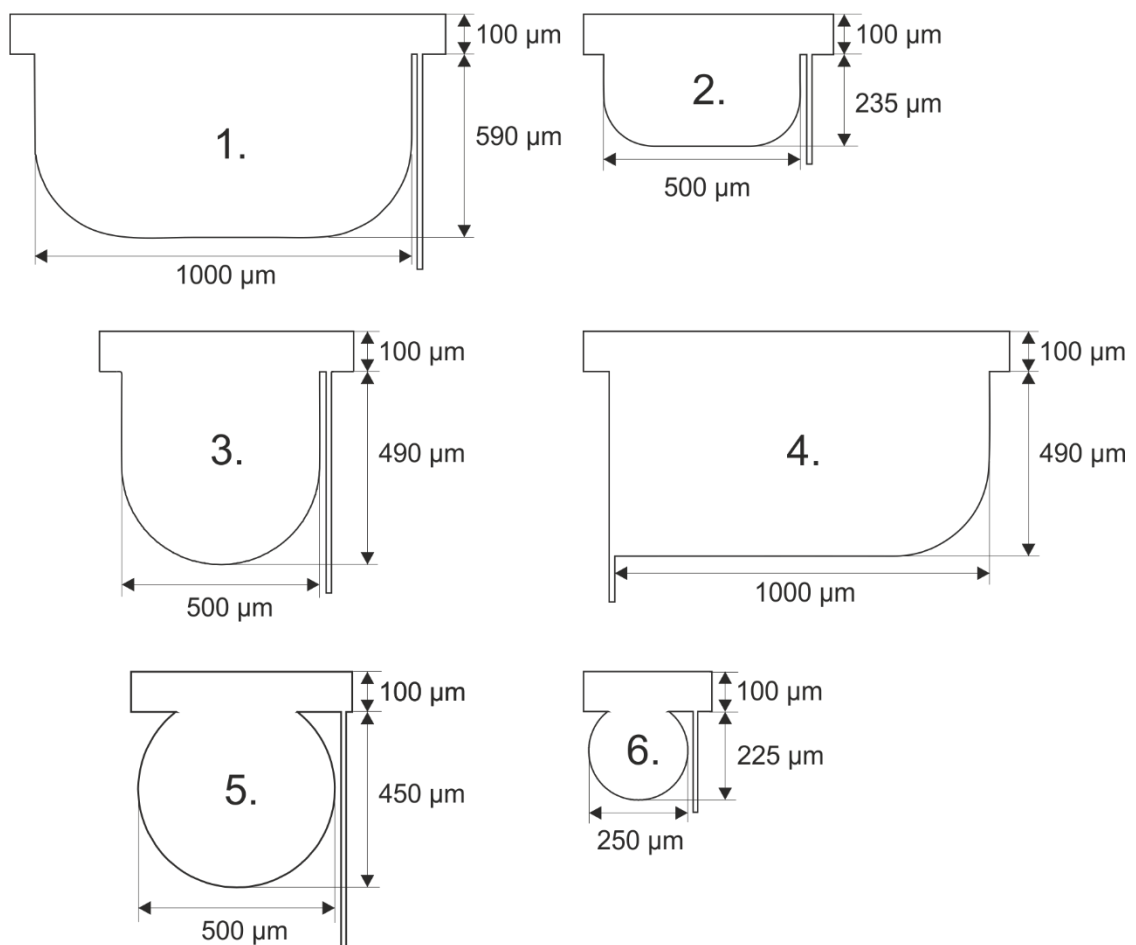
3.5. ábra – A modellek futtatását és az adatfeldolgozást végző Matlab program grafikus felülete. Ahhoz, hogy a programfelület minden platformon gond nélkül megjelenjen, ékezetmentes karaktereket használtam.

A trajektóriamodellnél a keverők hatékonyságának meghatározására szintén Matlab programkódot írtam. A hatékonyság mérőszáma a csatorna kimenetén a középvonaltól jobbra vagy balra elhelyezkedők részecskék számának aránya bemeneti részecskeszámhoz viszonyítva a csatorna egyik tőrfeléről indított részecskék esetén. Ez a mérőszám ideális keveredés esetén 0,5.

A részecskesokaság relatív átlagtávolságának kiszámításához a csatorna középvonaláról indítottam el 400 db részecskét. A részecskéket z koordinátájuk szerint sorba rendeztem, majd a kezdetben egymás mellett elhelyezkedő részecskék távolságát (az x koordináta figyelembevétele nélkül) számítottam ki, átlagoltam minden időlépésben, majd a keverő karakterisztikus hosszával, a keresztmetszettel normáltam. Az így kapott görbére exponenciális függvényt illesztve kaptam meg a keverőkre vonatkozó Ljapunov exponenst. A fázisportré elkészítéséhez a trajektóriák z koordinátáit ábrázoltam az y koordináták függvényében minden időlépésre.

### 3.1.2. Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaelválasztó eszközök modelljei

A Zweifach-Fung bifurkáció elvét kihasználó kaszkád elrendezésű vérplazmaelválasztó eszközöknél a szeparáció hatékonyságának növelése érdekében különböző geometriákat terveztem és vizsgáltam meg, melyektől azt vártam, hogy a fal mellett egy részecskeszegény réteget hoznak létre a kivezetések előtt, majd a következő kivezetés előtt visszaépítik azt. Hat különböző, sorszámokkal megjelölt geometriát terveztem, melyek paraméterei a 3.6. ábrán láthatók. A főcsatornák szélessége  $100\ \mu\text{m}$ , a kivezető csatornáké  $10\ \mu\text{m}$ . Az eszköz modellje kétdimenziós.



3. 6. ábra – A kaszkád plazmaszeparációs eszköz részecskeszegény rétegét létrehozó geometriák, és későbbiekben használt sorszámaik. Az ábrán látható függőleges kivezetések szélessége minden esetben  $10\ \mu\text{m}$ . A folyadék áramlása balról jobbra történik, a lefelé elágazó vékony kapilláris vezet el a sejtmentes oldatot, a vérplazmát.

A szeperációs eszközök modellezésénél a geometria importálása után a számítási hálót készítettem el. A csatornák falánál egy vékony rétegben finomabb, négyszög alakú hálót definiáltam, a csatornák közepe felé pedig háromszögháló található (3.7. ábra). A különböző geometriákra vonatkozó számítási hálók elemszámait a 3.4. táblázat foglalja össze.

3.4. táblázat – Számítási hálók elemszáma a plazmaszeperációs eszközök modelljeinél

Csatorna formája	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Elemzés	91 813	97 540	13 0404	10 2543	115 371	108 640

3.7. ábra – Számítási háló az 5. geometriánál. A csatorna falai mellett négyszögletű, míg a csatorna belső részén háromszög-háló található. Az éles sarkoknál és peremeknél a háló sűrűbb.

A stacionárius áramlási mezőt a Navier-Stokes-egyenlet megoldásával számolja a program. A bemeneten lamináris beáramlás (*Laminar inflow*) peremfeltételt állítottam be, a kimeneten pedig referencianyomás peremfeltételt (*Pressure*). A csatorna falain a lamináris áramlásnak megfelelő tapadás peremfeltétel van (*No slip*). A beállított peremfeltételeket a 3.5. táblázat foglalja össze. A folyadék tulajdonságainak megadásakor a szobahőmérsékletű víz paramétereit állítottam be (sűrűség:  $1000 \text{ kg/m}^3$ , kinematikus viszkozitás:  $10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ ). A kiszámított áramlási mezőre helyezi rá a program a részecskéket és számolja ki a trajektóriákat a Stokes-törvény alapján. A bemeneten 2000 darab részecskét helyeztem el egyenletes eloszlással. A csatorna falain visszapatató (*Bounce*) peremfeltételt adtam meg. A kimeneten a részecskék „megfagynak”

(Freeze), nem hagyják el a csatornát, de megtartják sebességüket. A részecskék tulajdonságainak megadásakor a vörös vértetek közelítő paramétereit állítottam be (sűrűség:  $1100 \text{ kg/m}^3$ , részecskék átmérője:  $6 \mu\text{m}$  [119], [120]). A részecskék köralakúak.

3.5. táblázat – A plazmaszeparációs eszközök modelljében beállított peremfeltételek összefoglalása

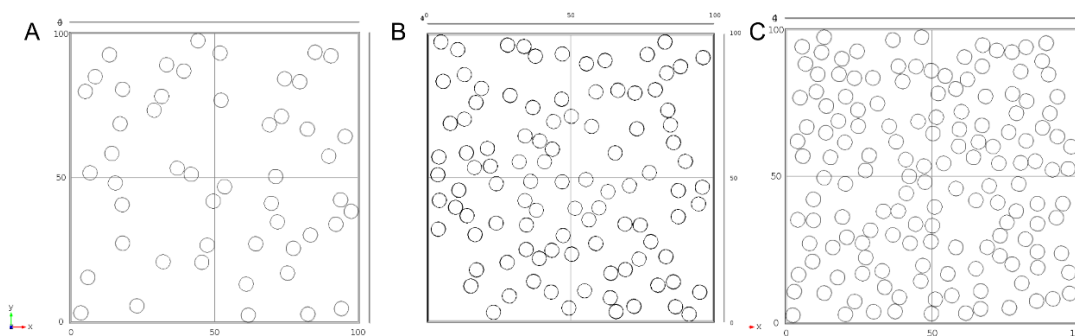
Név	Modell	Peremfeltétel	Érték
Bemenetek	Áramlás	Lamináris áramlás átlagsebesség megadásával	0,01-5 $\mu\text{l/s}$
Kimenet	Áramlás	Referencianyomás	400-2000 Pa
Kimenet	Trajektória	Részecskék “megfagyasztása” (Freeze)	-
Minta bemenet	Trajektória	Részecske bemenet	2000 részecske egyenletes eloszlással
Csatorna fala	Áramlás	Tapadás (no slip)	-
Csatorna fala	Trajektória	Visszapattanás (Bounce)	-

A szeparációs eszközök működésének kiértékelését Matlab programban írt kóddal végeztem el. A sejtmentes réteg vastagságának kiszámításához a trajektóriamodell teljes adathalmazát importáltam, majd elkészítettem az adathalmaz Poincaré-metszeteknek megfelelő részadatait. A metszeteken kiszámítottam a csatorna falához legközelebb eső részecske távolságát a faltól, mely a sejtmentes réteg vastagságának felel meg.



### 3.1.3. Funkcionalizált csatornafelületen csapdázott vörösvértestek hidrodinamikai hatása szabad vörösvértestek mozgására

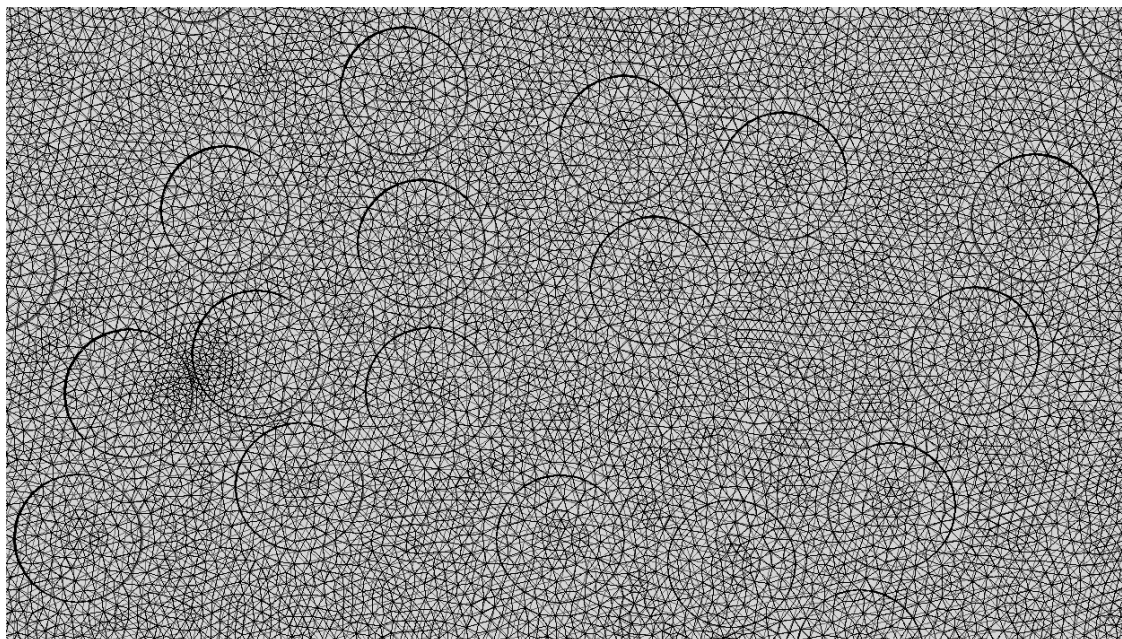
A mikrocsatorna funkcionalizált felületéhez tapadt csapdázott vörösvértestek befolyásolják a körülöttük kialakuló áramlást, és a karakterisztika megváltozása diagnosztikai jelként használható egyszerű, autonóm mikrofluidikai rendszerben. A lokalizált vörösvértestekre geometriai akadályokként tekintettem, melyeket a számítások során egyszerű, hengeres geometriával modelleztem. A kísérlet során letapadó sejtek véletlenszerű geometriájának utánzásához a modell akadályait is véletlenszerűen helyeztem el a csatornában saját, Matlab szkripttel, mely a koordináták meghatározása után a COMSOL modellfájlban létrehozta az akadályok létrehozásához szükséges utasításokat. Négyféle geometriát vizsgáltam: az üres csatornát, valamint a 10%, 20% és 30% teljes lefedettséget adó elhelyezkedést (3.8.ábra). A sejtek átmérőjét  $4\ \mu\text{m}$ -nek, magasságukat  $2\ \mu\text{m}$ -nek definiáltam, a vizsgált terület  $10\ 000\ \mu\text{m}^2$ , a csatorna magassága pedig  $5\ \mu\text{m}$  volt, a modell háromdimenziós. A számítási háló tetraéder elemekből állt (3.9. ábra), az átlagos elemszám 7,5 millió.



3.8. ábra – Véletlenszerűen letapadt vörösvértestek geometriája – 10% (A), 20% (B) és 30% (C) lefedettség esetén

A stacionárius áramlási mező számítása a Navier-Stokes-egyenlet alapján történik. A bemeneten  $0,05\ \text{m/s}$  bemeneti sebesség (*Normal inflow velocity*) peremfeltételt, a kimeneten referencianyomás peremfeltételt (*Zero pressure*) állítottam be. A csatorna falain a lamináris áramlásnak megfelelő tapadás peremfeltételt definiáltam (*No slip*). A beállított peremfeltételeket a 3.6. táblázat foglalja össze. A folyadék tulajdonságainak megadásakor a szobahőmérsékletű víz paramétereit állítottam be (sűrűség:  $1000\ \text{kg/m}^3$ , kinematikai viszkozitás:  $10^{-6}\ \text{m}^2/\text{s}$ ). Az áramlási sebességmező számítása után a részecskéket az eredmény mezőre helyezi rá a program, és kiszámítja a trajektóriákat a Stokes-törvény alapján. A bemeneten 200 darab gömb alakú részecskét helyeztem el egyenletes eloszlással. A csatorna falain kitapadás (*Stick*) peremfeltétel volt megadva a funkcionalizált mikrocsatornának megfelelően. A kimeneten a részecskék „megfagynak” (*Freeze*), nem hagyják el a csatornát, de

megtartják sebességüket. A részecskék paramétereit a kísérleteknél mért vörösvérttest paramétereknek megfelelően állítottam be (sűrűség:  $1030 \text{ kg/m}^3$ , részecskék átmérője:  $4 \mu\text{m}$ ). A részecskék gömb alakúak.



3.9. ábra – A számítási háló részlete a letapadt vörösvérttestek körül.

3.6. táblázat – A kitapadt vörösvérttestek hatásait vizsgáló modellben beállított peremfeltételek összefoglalása

Név	Modell	Peremfeltétel	Érték
Bemenetek	Áramlás	Normális irányú sebesség homogén eloszlással (Normal inflow velocity)	0,05 m/s
Kimenet	Áramlás	Referencianyomás	0 Pa
Kimenet	Trajektória	Részecskék “megfagyasztása” (Freeze)	-
Minta bemenet	Trajektória	Részecske bemenet	200 részecske egyenletes eloszlással
Csatorna fala	Áramlás	Tapadás (no slip)	-
Csatorna fala	Trajektória	Visszapattanás (Bounce)	-

A vörösvérttestek mozgásának számszerűsítéséhez Matlabban dolgoztam fel a kapott modelleredményeket. Az előzetes kísérletek alapján azt vártuk, hogy a letapadó vörösvérsejtek úgy módosítják az áramlást, hogy a szabad vörösvérttestek csatorna irányú áramlási sebessége

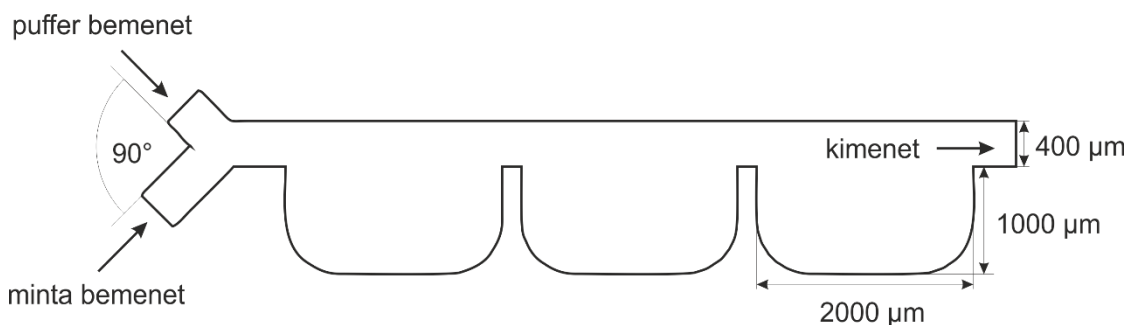
lecsökken, az oldalirányú viszont megnő, emiatt az alakos elemek elválasztódnak a plazmától. A trajektóriák alapján számítottam az alakos elemek kumulált oldalirányú elmozdulását a következő egyenlet alapján:

$$Q = \sum_{n=1}^N \frac{\sqrt{\Delta y_n^2 + \Delta z_n^2}}{\Delta x} \quad (3.9)$$

ahol  $\Delta x=L/N$  időlépésenkénti elmozdulás L hossz mentén,  $\Delta y_n = y_n - y_{n-1}$  és  $\Delta z_n = z_n - z_{n-1}$  a részecske elmozdulása y és z irányokba két időlépés között.

### 3.1.4. Részecskék méret szerinti szeparációjára alkalmas mikrofluidikai chip tervezése és modellezése

A passzív hidrodinamikai részecskeszeparátor geometriájának tervezésénél többféle hidrodinamikai jelenséget is kombináltunk, javítva ezzel a szeparációs hatásfokot. A mikrochip két bemenettel rendelkezik. Egyik bemeneten a különböző méretű részecskék érkeznek homogén hely szerinti eloszlásban, alacsony beáramlási sebességgel, míg a másik bemeneten egy pufferfolyadék magasabb beáramlási sebességgel (3.10. ábra). A PFF elven működő szeparációs eszközökhöz hasonlóan a pufferoldat itt is a csatorna oldalfalához kényszeríti a részecskéket, melyek méretük szerint a faltól eltérő távolságú trajektóriát követnek a későbbiekben, a szeparációs kamrákban pedig a szűkületeknél fellépő nyíróerő tovább segíti a részecskék különválását. A modellezett mikrofluidikai csatorna háromdimenziós, magassága  $50\ \mu\text{m}$ .



3.10. ábra – Méret szerinti szeparációt végző mikrofluidikai chip modellje.

Ennek megfelelően a számítási háló tetraédes szerkezetű, elemszáma 16 388 839 db. A stacionárius áramlási modellnél a bemeneteken lamináris beáramlás peremfeltételt állítottam be az értéket  $0,01\text{-}5\ \mu\text{l/s}$  között változtatva. A csatorna falain az áramlási sebességet nullának tekintetem (*No slip* peremfeltétel), a kimeneten referencianyomást állítottam be. A folyadék tulajdonságainak megadásakor a víz paramétereit vettem figyelembe (sűrűség:  $1000\ \text{kg/m}^3$ , kinematikai viszkozitás:  $10^{-6}\ \text{m}^2/\text{s}$ ). A részecskék trajektóriáját a stacionárius áramlási mezőbe helyezve számolja ki a program. A bemeneten 5000 db részecske helyezkedett el egyenletes eloszlással. A csatorna falain visszapattanó (*Bounce*) peremfeltételt adtam meg. A kimeneten a részecskék „megfagynak” (*Freeze*), nem hagyják el a csatornát, de megtartják sebességüket. A beállított peremfeltételeket a 3.7. táblázat foglalja össze. A részecskék tulajdonságainak megadásakor a vörös vértetek paramétereit állítottam be (sűrűség:  $1100\ \text{kg/m}^3$ , részecskék átmérője:  $6\ \mu\text{m}$  [119], [120]). A részecskék gömb formájúak. A bemeneti paraméterek közül az áramlási sebességeket változtattam  $0,01$  és  $5\ \mu\text{l/s}$  között.

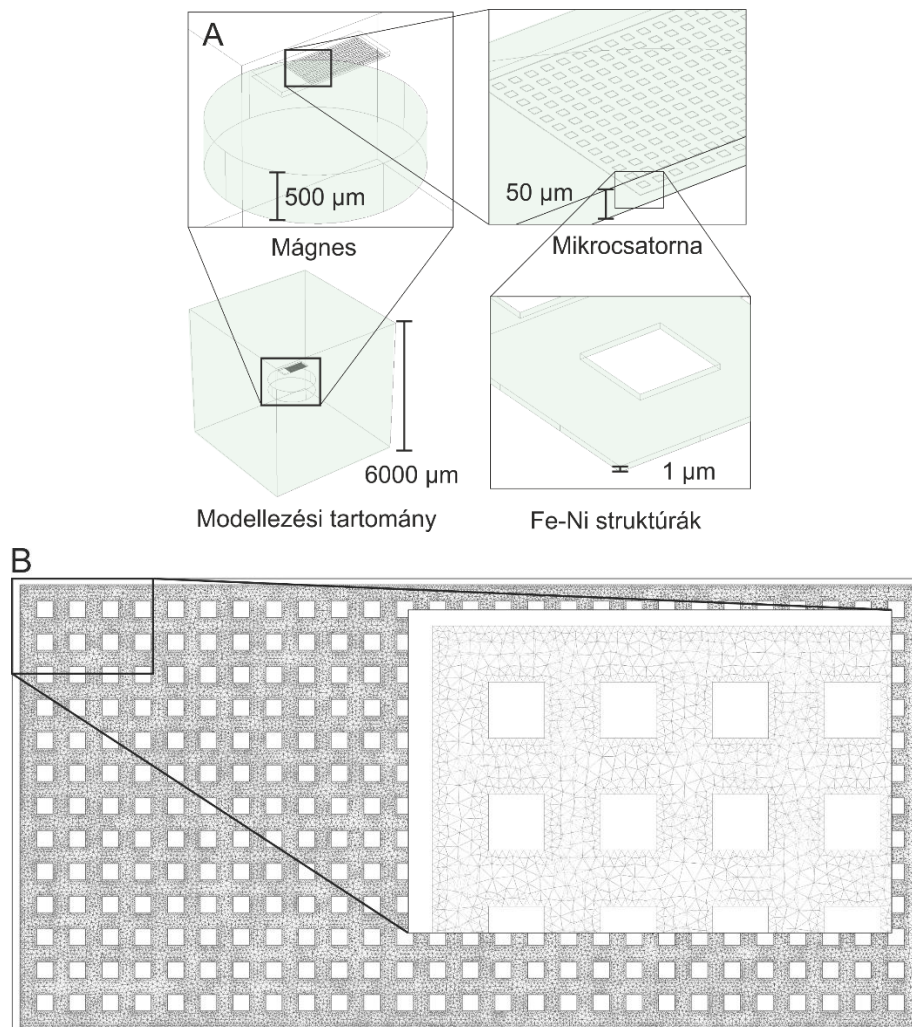
3.7. táblázat – A méret szerinti elválasztási eszköz modelljében beállított peremfeltételek összefoglalása

Név	Modell	Peremfeltétel	Érték
Bemenetek	Áramlás	Lamináris áramlás térfogatáram megadásával	0,01-5 $\mu\text{l/s}$
Kimenet	Áramlás	Referenciaryomás	0 Pa
Kimenet	Trajektória	Részecskék “megfagyasztása” ( <i>Freeze</i> )	-
Minta bemenet	Trajektória	Részecske bemenet	5000 részecske egyenletes eloszlással
Csatorna fala	Áramlás	Tapadás ( <i>No slip</i> )	-
Csatorna fala	Trajektória	Visszapattanás ( <i>Bounce</i> )	-

Ahhoz, hogy az eredmények a mérési eredményekkel is összevethetők legyenek az intenzitásgörbéhez hasonló eredményre volt szükség. A COMSOL-ból kimentett trajektóriaadatokról Matlabban kettéválasztottam a két részecskeméret kimeneti koordinátáit, majd a kimeneti sík kétdimenziós koordinátaadatait alakítottam egy egydimenziós hisztogram görbévé a magasság mentén összegezve a pontokat. Mivel a modell kimenete a részecskék középpontja, a méréseknél pedig az intenzitás összefügg a részecskék méretével, az adatfeldolgozás során a részecskék középpontjait méretüknek megfelelő átmérőjű körlap pontjaival egészítettem ki sugaruk mentén 40 ponttal, 36 fokként. Az új ponthalmazon végeztem el a hisztogram számítást, majd a hisztogramokat úgy normáltam, hogy integráljuk 1 legyen. Az elválasztás hatékonyságának számszerűsítéséhez az átfedés értékét a két görbe pontonként vett minimumának integrálja adta.

### 3.1.5. Mágneses részecskék elválasztásának modellje

A magnetoforetikus szeparáció jelenségének modellezéséhez megalkotott multi-domén modellben együtt kellett figyelembe vennem a mágneses tér és az áramlási mező részecskemozgásra gyakorolt hatását a trajektóriamodel megoldásánál. Ebben az esetben a geometriai részegységek eltérő karakterisztikus méretei is megnehezítik a modellalkotást. Míg a neodímium mágnes 500  $\mu\text{m}$  vastag, a paramágneses fémbevonat vastagsága csak 1  $\mu\text{m}$  (3.11. ábra). A modell hálófelbontásának (3.11. ábra) is alkalmazkodni kell ezekhez a méretekhez a jó memóriakihasználás érdekében.



3.11. ábra – Karakterisztikus méretek a modellben (A). Míg a mágnes vastagsága 500  $\mu\text{m}$ , a paramágneses fémé 1  $\mu\text{m}$ . A teljes modellezési tartomány 6 mm. A hálófelbontásnak (B) is alkalmazkodnia kell a többféle méretskálához a megfelelő memória-felhasználás érdekében.

A mágneses részecskeszeparátor modelljének számítási hálója tetraéder elemekből állt, a hálópontok száma 12 974 404 db volt. A modell három fizikai rétegből állt. Az első réteget a

stacionárius mágneses modell adta, mely állandó mágneset modellezett (*Magnetic field, no current*). A modellezési tartomány peremén mágneses szigetelés (*Magnetic insulation*) peremfeltételt állítottam be. A modellezési tartományra a levegő (1), a mikroszatornára a víz (1), a mágnesezhető mikrofémrétegre pedig a permalloy (Fe-Ni) relatív permeabilitását (8000) állítottam be. A neodímium mágnes mágnességét remanens indukcióval definiáltam, mely  $z$  irányú, 1,3 T nagyságú. A mágnes erősségének beállításához magnetométerrel végeztem méréseket a kísérletnél használt mágnesen. A második fizikai réteget a stacionárius lamináris áramlási mező számítása adja. Az áramlási modellnél a bemeneten lamináris beáramlás peremfeltételt állítottam be 3-5  $\mu\text{l/s}$  térfogatárammal. A csatorna falain az áramlási sebességet nullának tekintem (*No slip* peremfeltétel), a kimeneten referencianyomást állítottam be (*Zero pressure*). A folyadék tulajdonságainak megadásakor a víz paramétereit vettem figyelembe (sűrűség: 1000  $\text{kg/m}^3$ , kinematikai viszkozitás:  $10^{-6}$   $\text{m}^2/\text{s}$ ). A harmadik fizikai rétegben a részecskék trajektóriáját számolja ki a program figyelembe véve a stacionárius mágneses teret és az áramlási mezőt. A bemeneten 500 db részecske helyezkedett el egyenletes eloszlással. A csatorna falain kitapadás (*Stick*) peremfeltétel volt megadva. A kimeneten a részecskék „megfagynak” (*Freeze*), nem hagyják el a csatornát, de megtartják sebességüket. A beállított peremfeltételeket a 3.8. táblázat foglalja össze. A részecskék fizikai tulajdonságainak beállításánál a mágneses *Dynabead* (Invitrogen) részecske fizikai paramétereit vettem figyelembe (sűrűség: 1050  $\text{kg/m}^3$ , átmérő: 6  $\mu\text{m}$ ). A részecskék gömb alakúak, közepüket egy 8 nm körüli vas-oxid mag alkotja [121], melyet polimer burok vesz körül. Kis méretű mágnesezhető közepük és a gyártó által adott meghatározás miatt [122] szuperparamágneses részecskékként tekintünk rájuk a modellben.

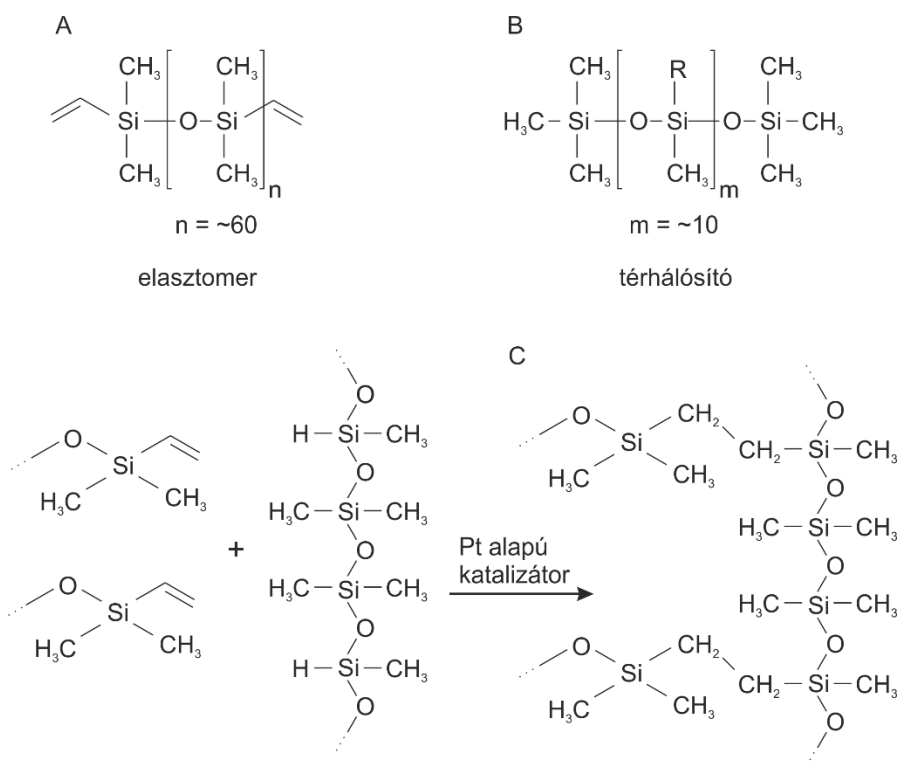
3.8. táblázat – A mágneses szeparátor eszköz modelljében beállított peremfeltételek összefoglalása

Név	Modell	Peremfeltétel	Érték
Modellezési tartomány pereme	Mágneses	Mágneses szigetelés ( <i>Magnetic insulation</i> )	-
Mágnes	Mágneses	Remanens indukció	1,3 T
Bemenet	Áramlás	Lamináris áramlás átlagsebesség megadásával	3-20 $\mu\text{l/s}$
Kimenet	Áramlás	Referencianyomás	0 Pa
Csatorna fala	Áramlás	Tapadás ( <i>No slip</i> )	-
Kimenet	Trajektória	Részecskék “megfagyasztása” ( <i>Freeze</i> )	-
Bemenet	Trajektória	Részecske bemenet	500 részecske egyenletes eloszlással
Csatorna fala	Trajektória	Kitapadás ( <i>Stick</i> )	-

## 3.2. Mikrofluidikai eszközök kialakítása

### 3.2.1. Mikrofluidikai csatornák megvalósítása polimerben kétrétegű lágy litográfia technológiával

A mikrofluidikai csatornák kialakítására és a gyors prototípuskészítésre a poli-dimetil-sziloxán (PDMS) megfelelő anyag. A PDMS szilícium bázisú polimer, mely a szilikon alapú elasztomer és a platinát tartalmazó térhálósító 10:1 arányú keverékéből addíciós reakcióval állítható elő. A reakció mindkét komponense (3.12. A, B ábrák) tartalmaz vinil csoporttal lezárt sziloxán oligomereket, a térhálósító ezen felül keresztkötött sziloxán oligomereket is legalább három szilikon-hidrogén kötéssel. Ezeken a kötésekön keresztül tudnak a vinil csoport kettős kötésének felbomlásával a sziloxán oligomerek keresztkötéseket kialakítani egymással (3.12. C ábra). A sok reakciós hely sok keresztkötést tesz lehetővé, így stabil háromdimenziós struktúra alakítható ki.

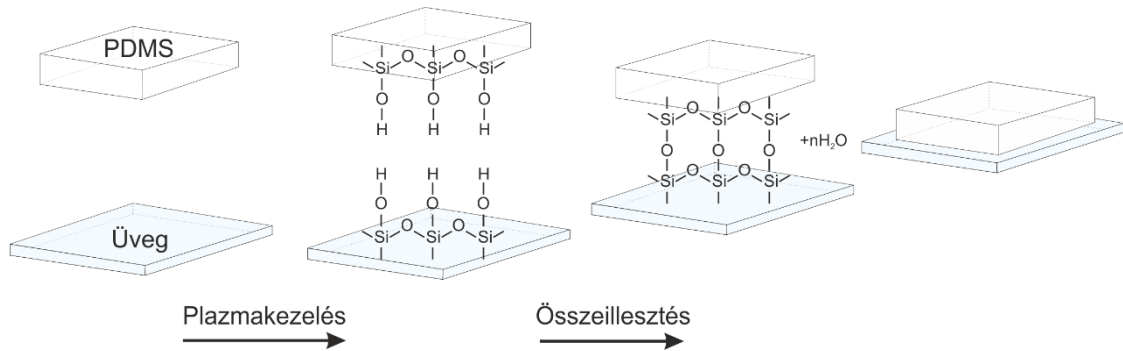


3.12. ábra – A PDMS két komponense: elasztomer (A) és térhálósító (B) és a belőlük kialakuló térhálós polimer (C).

A PDMS szobahőmérsékleten két nap alatt szilárdul meg. Hőkezeléssel a keresztkötések kialakulása felgyorsítható, a polimer későbbi stabilitására azonban kedvezőtlen hatással van [123]. Polimerizálódás után az öntőformáról eltávolítva lyukasztóval egyszerűen

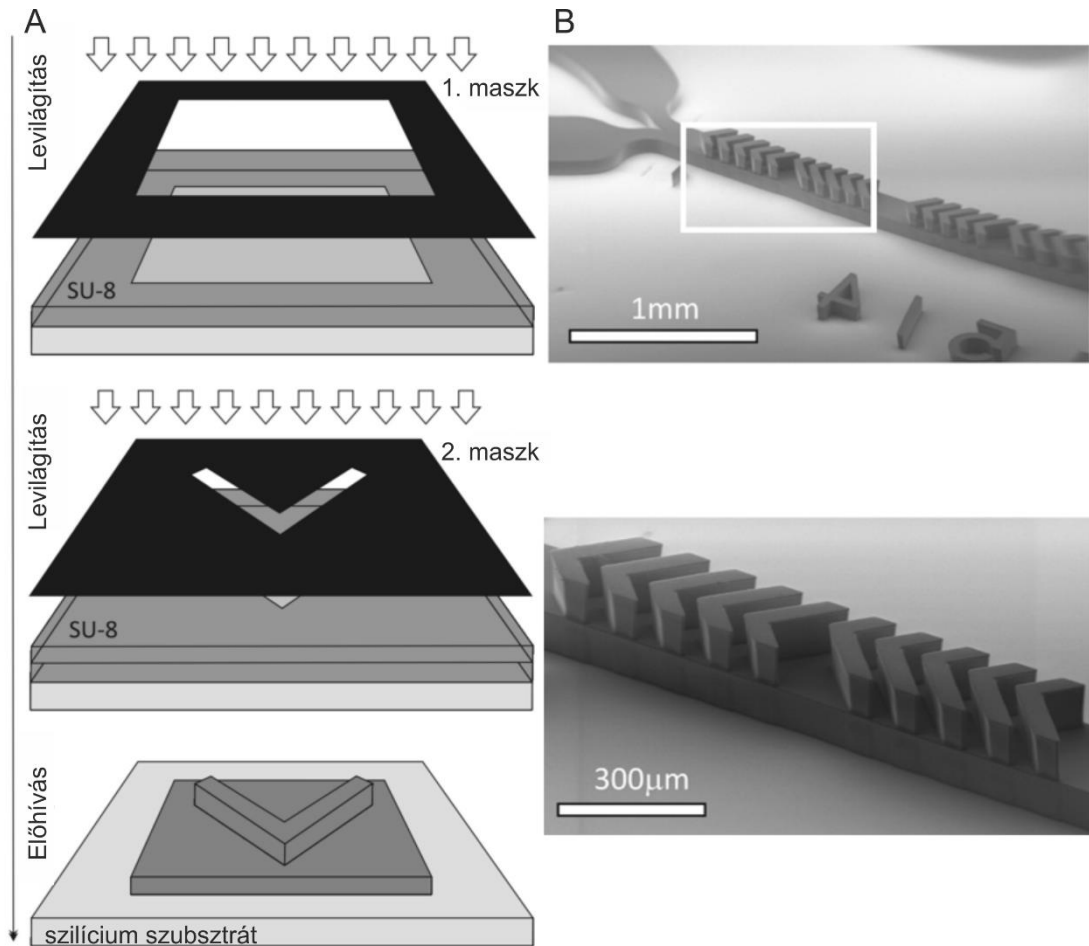


kialakíthatók a ki- és bemenetek. Lyukasztás után oxigénplazmás felületaktiválás során (200 W plazma teljesítmény, 100 kPa kamra nyomás és 1400–1900 sccm oxigénáramlás Terra Universal Plasma Preen Cleaner/Etcher) a szilíciumról lelógó metil csoportok hidroxilcsoportokra cserélődnek (3.13. ábra). Az így létrejött szilanol csoportok és az üveg szilika csoportjai víz kilépésével kovalens kötést alakítanak ki, így az üveg-PDMS rendszer jól szigetelt.



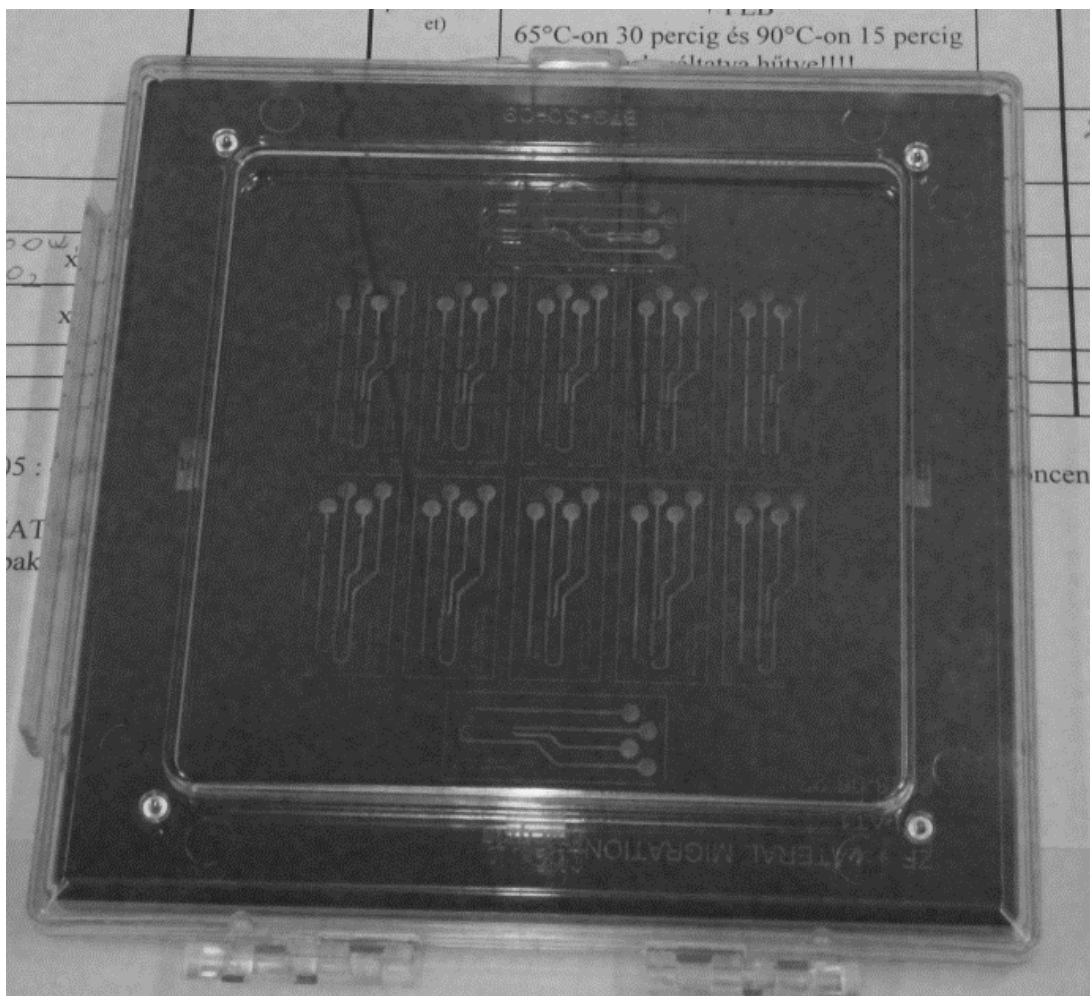
3.13. ábra – A PDMS üveghez való kovalens kötésének kialakítása oxigénplazmás kezeléssel.

A PDMS szerkezetek öntéses formázásához a mikrométeres felbontású öntőforma litográfias eljárással kialakítható SU-8 epoxi alapú fotoreziszt réteg felhasználásával. Az SU-8 epoxi alapú negatív tónusú fotoreziszt, amely megfelelő vastagságban felvihető és jó felbontással strukturálható a hagyományos litográfias eljárások segítségével. (3.14. ábra) A szilícium szeleteket a levilágítás előtt 300°C-on dehidratálják hidrofób felületet kialakítva, majd megtörténik a fotoreziszt lakk (SU-8 negatív fotoreziszt) felvitele az első rétegben centrifugával (Brewer Science Cee 200CBX spin-coater), mely az egyenletes területet biztosítja. A lakkréteget ezután 65°C-on 50 percig, majd 90°C-on 20 percig hot plate-en szárítják majd relaxáltatják. Ezután következik az első réteg levilágítása (Süss MicroTech MA6 maszkillesztő), majd újabb hőkezelés (65°C-on 30 percig, majd 90°C-on 15 percig). A második réteg felvitele, szárítása és relaxáltatása után a maszkot az előzőleg levilágított pozicionáló markerekhez illesztik, majd a második réteget is levilágítják, hőkezelik és relaxáltatják. Az előhívás során a negatív fotorezisztnek azon részei oldódnak ki, melyek nem kaptak fényt a levilágítás során, a megmaradt részek pedig öntőformaként szolgálnak a PDMS strukturált polimerizációjához. Egy öntőformáról több mikrofluidikai chip is készülhet, ha a lakk ép marad a megszilárdult polimer eltávolításakor.



3.14. ábra – A kétrétegű SU-8 mikromegmunkálás litográfiai lépései (A) és a 3D-s SU-8 öntőforma elektronmikroszkópos felvétele (B). [124]

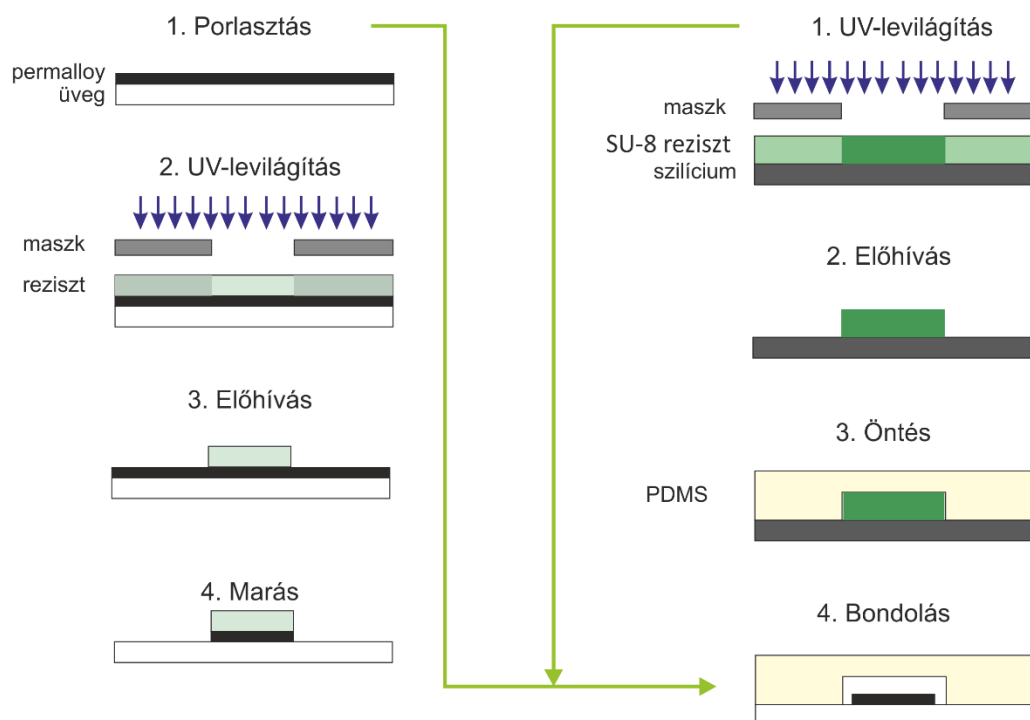
A mikrokeverők lágy litográfias kialakítása kétrétegű öntőforma alkalmazását igényli. Ennek megfelelően két különböző funkciót ellátó réteghez két külön litográfias maszk is készül. Az első réteg tartalmazza a mikrocatornát és a rezervoárokat, míg a halszálka struktúrák és a ki- és bemenetek a második rétegben kapnak helyet. A két réteg pontos egymásra helyezését pozicionáló markerek segítik. A két litográfias maszk üveglemezre felvitt krómrétegben kerül kialakításra, a krómmaszk (3.15. ábra) esetében az ábrafelbontás körülbelül 1 µm.



3.15. ábra – Mikrofluidikai csatornák krómmaszkja.

### 3.2.2. Magnetoforetikus elven működő részecskezeseparátor létrehozása

A mágnesezhető struktúrákat tartalmazó mikrofluidikai chipek két szerkezeti részből álltak. Az egyik üvegchip tartalmazta a mágnesezhető fém struktúrákat, a másik pedig a PDMS-ben kialakított mikrofluidikai csatornákat. A permalloy réteg üveg (Borofloat) hordozón készül. A vákuumporlasztással leválasztott fém rétegre fotoreziszt lakkréteg kerül, majd a megfelelő maszkon keresztül UV fényel levilágítják, előhívják, és a maszkolt területek kivételével marással eltávolítják a fémréteget. Erre kerül rá a mikrokeverőknél bemutatott módon megmunkált PDMS, mely tartalmazza a mikrocsonnákat, valamint a be- és kimeneteket (3.16. ábra). A két chipet oxigénplazmában történő felületaktiválást követően kovalens kötással kötik össze.

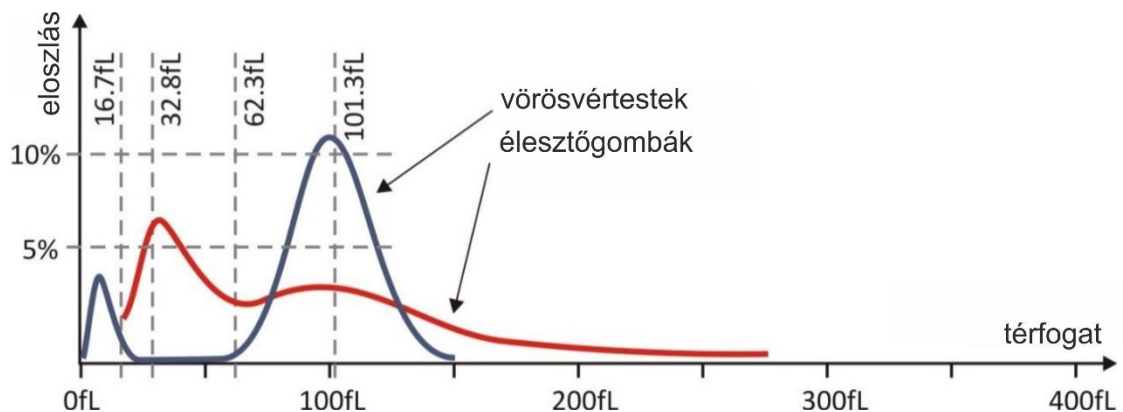


3.16. ábra – Magnetoforetikus csapdázásra alkalmas mikrofluidikai eszköz gyártási lépéssora. A mágnesezhető fémbevonat és a mikrofluidikai csatorna kialakítása külön történik.

### 3.3. Mikrofluidikai eszközök vizsgálata fénymikroszkópiával

Az átlátszó és jó optikai tulajdonságokkal rendelkező PDMS-ből készült és mikroszkóp tárgylemezre rögzített mikrofluidikai eszközök jól vizsgálhatók fénymikroszkópiai módszerekkel. A mikrokeverőkben végbemenő diffúzió alapú keveredés vizsgálatára először fluoreszcensen megjelölt humán szérum albumint (HSA) használtunk (diffúziós állandója:  $6,1 \cdot 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$ ), azonban ez a PDMS felületén kitapadt, így a csatorna falát bevonva jelentős zajként jelent meg a mérésben. A zaj csökkentése miatt az eszközöket mérés előtt jelöletlen ökor szérum albumin (BSA) oldattal kezeltük a nemspecifikus bekötődés kiküszöbölése érdekében. A mérések elvégzésére egy Zeiss AxioVert A1 invertált fluoreszcens mikroszkóp állt rendelkezésemre. Az eszközök vizsgálatához a mikroszkóp FITC szűrőkészletét használtam (Zeiss Filter Set 38, EX BP 470/40, EM BP 525/50) A mérés képeit a mikroszkóphoz tartozó szoftverben (Zeiss ZEN [125]) veszteségmentes .czi formátumban [126] rögzítettem. Ezeket a fájlokat az ImageJ szoftverrel [127] végeztem intenzitásanalízist.

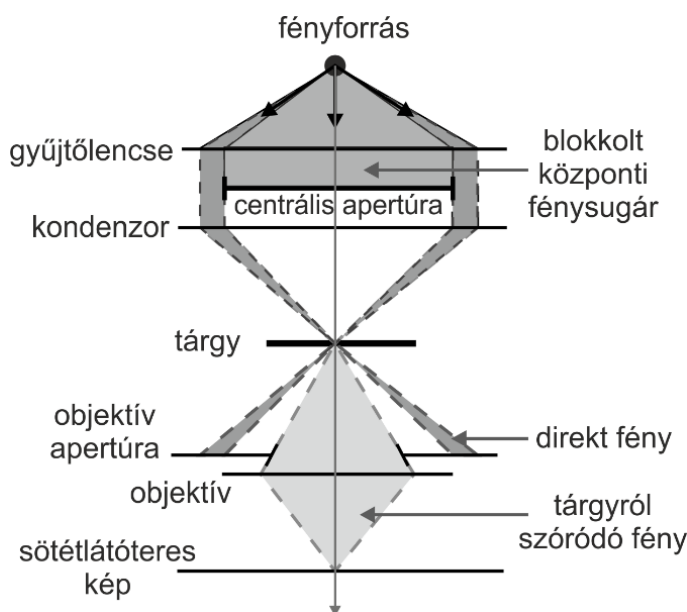
A trajektória alapú modell validálásához először élesztőgombákat használtunk, mint vörösvértést modellt. A gomba oldaton sejtszámláló automatával mérést végeztünk, mely alapján a gombák méreteloszlása a vörösvértetek méreteloszlását jól közelíti (3.17. ábra).



3.17. ábra – A vörösvértetek és az élesztőgomba méreteloszlás-görbéje. A két sejtfele méreteloszlása hasonló tartományban mozog, ami jó jelöltté teszi az élesztőt a vörösvértetek áramlásban való mozgásának modellezésére.

A mérésekhez a mikroszkópot sötét látóterés módban használtam, melynél a mikroszkóp kondenzor lencséje nagy szögű fénybeesést biztosít a tárgyra, valamint a középső látóteret kitarjuk. A képképzéskor így csak a tárgyról szórt fénysugarak jutnak be a mikroszkóp szenzorjára. A felvételen így az áthaladó gombák világos színnel jelennek meg, mely alkalmasá

teszi a mérést arra, hogy a csatornában való keresztmetszeti eloszlásukat az intenzitásanalízis jól becsülje.



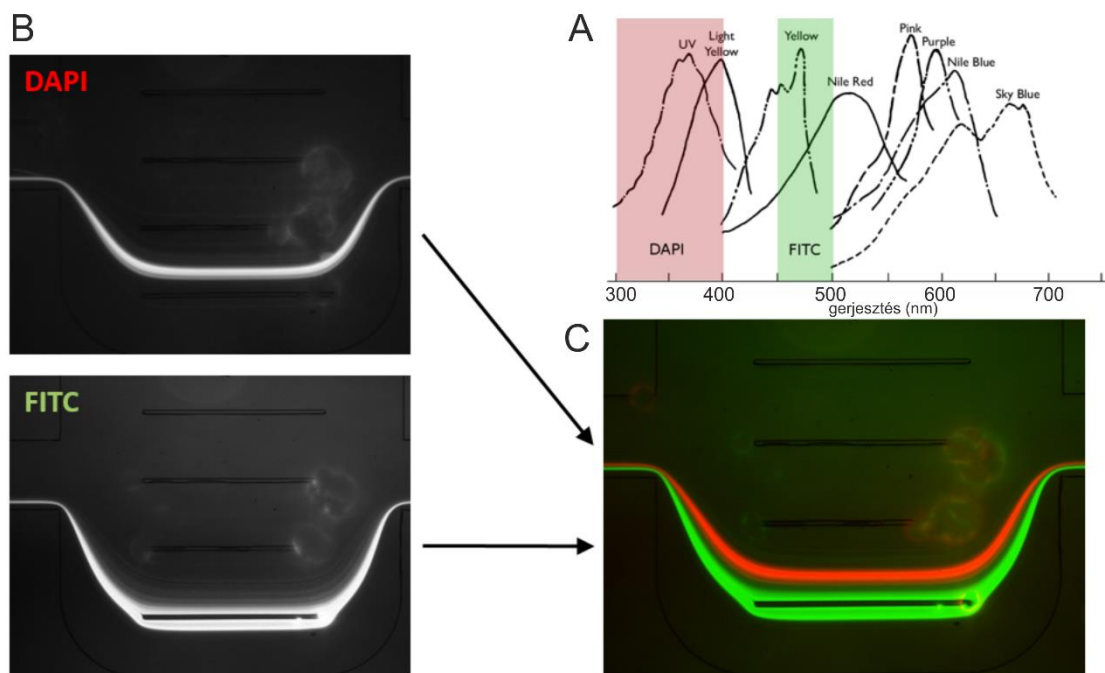
3.18. ábra – Sötét látóterű mikroszkóp működési elve inverz mikroszkópelrendezés esetén. A fényforrásnál a centrális apertúra blokkolja megvilágító nyaláb közepét, így a tárgyról közvetlenül továbbhaladó fénysugarak nem, csak az arról szóródott fotonok érik el az objektívet. [128]

A kaszkád plazmaszeparációs eszközök vizsgálatát is sötétlátóteres mikroszkópiás módszerrel végeztem el. A mérési adatok feldolgozásánál itt a mérőablakoknál vett értéket a bemeneti intenzitással normáltam.

A méret szerinti szeparáció vizsgálata esetén fluoreszcensen jelölt polisztirol gyöngyöket használtam. A méréshez a következő összetételű keveréket készítettem el: 100  $\mu\text{L}$  1% w/v 10  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngy oldata (Spherotech Inc. FP-10052-2 Fluorescent Yellow), 200  $\mu\text{L}$  1% w/v 16  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngy oldata (Spherotech Inc. FP-15040-2 Fluorescent UV) és 2 ml desztillált víz. A kétféle méretű gyöngy különböző fluoreszcens jelöléssel volt ellátva. A 10  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngy a FITC szűrőpárral (Zeiss Filter Set 38, EX BP 470/40, EM BP 525/50), a 16  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngy pedig a DAPI szűrő készlettel (Zeiss Filter Set 49 EX G 365, EM BP 445/50) adott jelet. A gyöngyök méretének és jelölésüknek megválasztásánál megvizsgáltuk a laborban rendelkezésre álló gyöngy méretek jelerősségét, és azt találtuk, hogy a 6  $\mu\text{m}$  és 10  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngyök közül – melyeket először szerettünk volna vizsgálni – az előbbi méretéből adódóan nem adott megfelelő erősségű jelet a rendelkezésre álló gerjesztés mellett. A 16  $\mu\text{m}$  átmérőjű gyöngy pedig a legnagyobb méretű volt, amiket a 25  $\mu\text{m}$  magasságú mikrocsatorna be tudott fogadni. A kétféle fluoreszcens megjelölés közül a Yellow erősebb jelet adott az FITC szűrő készlettel, mint az UV a DAPI gerjesztéssel. Így a kisebbik méretű gyöngynél választottuk

az erősebb jelet adó megjelölést. A kétféle szűrővel készült képeket a mikroszkóphoz tartozó szoftverben (Zeiss ZEN [125]) veszteségmentes .dzi formátumban [126] rögzítettem, majd a program beépített függvényével kétszatornás kompozit képet készítettem (3.19. C ábra).

A mikrofluidikai chipet számítógép vezérelt fecskendőpumpához csatlakoztattam. A mikrokeverők és a szeparációs eszközök két bemenettel és egy kimenettel rendelkeznek, melyeket teflon (Omnifit), illetve szilikon csővel csatlakoztattam a pumpákhoz és a gyűjtőedényhez. A fecskendőpumpánál a kívánt térfogatáramot számítógépvezérelt rendszeren keresztül lehet beállítani a fecskendő térfogatának kiválasztása után. A beállított térfogatáram értékek 0,01-10  $\mu\text{l/s}$  között voltak.



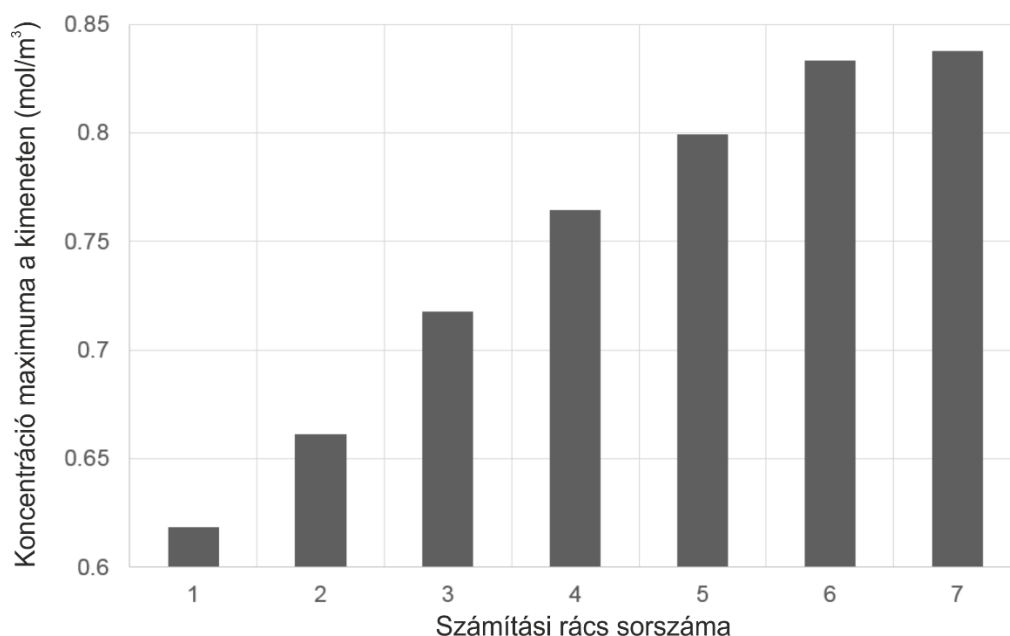
3.19. ábra – A 10 és a 16 mikron átmérőjű polisztirol gyöngyök gerjesztési spektruma (UV és Yellow) a DAPI és a FITC szűrőpárok gerjesztési sávjai mellett (A), a két szűrőkészlettel készített képek (B) és a képekből kombinált kompozit kép (C).

A fecskendőpumpa meghajtása egyenletes, a mérés közben néhány alkalommal mégis pulzálást, nem egyenletes folyadékáramlást, valamint lassú válaszdőt lehet tapasztalni. Ezt a jelenséget a csatlakozásoknál hirtelen megnőtt nyomás, a csövek tágulása és a PDMS csatorna rugalmassága okozhatja. A részecskéket tartalmazó kísérletek során további áramlásingadozást okozhatnak a csatornában történő lerakódások, és az összetapadt részecskékből kialakuló akadályok el is tömíthetik a kimenetet. Emiatt a PDMS mikrochipek élettartama rövid, a plakkok nehezen eltávolíthatók, így kevés kísérletet lehetett egy-egy eszközzel elvégezni.

## 4. Eredmények bemutatása és értékelése

### 4.1. Mikrokeverők koncentrációalapú és trajektóriaalapú modellezése

Kevezőrendszerek viselkedésének vizsgálata esetén kézenfekvő megoldás a koncentrációeloszlás modellezése az áramlási mező mellett. Ezt a modellt választva azonban számolnunk kell a numerikus diffúzió jelenségével, mely nem elég finom számítási hálófelbontás mellett hamis képet ad a keveredés valós mértékéről. A numerikus diffúzió kiküszöbölése érdekében konvergenciavizsgálatot végeztem a megfelelő számítási háló kiválasztásához, amelynek felbontása elég pontos eredményt ad kezelhető időn belül. A konvergenciavizsgálat során választunk egy paramétert, majd addig futtatjuk a modellt egyre nagyobb felbontással, amíg a paraméter értékének futásról futásra történő megváltozása egy elfogadási küszöb alá nem csökken. A halszálka kevező számítási hálójának konvergenciavizsgálatához a kimeneti felületen mért legnagyobb koncentrációértéket választottam vizsgálandó paraméterként, a vizsgált hálók elemszámát a 4.1. táblázat tartalmazza. Ez az érték kis mértékű keveredés mellett magas, míg a numerikus diffúzió által okozott keveredés mértékével arányosan csökken. Az értékeket a hálók elemszámának függvényében megvizsgálva (4.1. ábra) azt találtam, hogy a 6. hálófelbontás jól közelíti a 7. nagyfelbontású háló eredményét (0,5%-os eltérés), így ezt a felbontást használtam a későbbi számítások elvégzéséhez a különböző geometriák esetében.



4.1. ábra – Koncentráció maximuma a kimeneten a számítási háló felbontásának függvényében.

A 6. hálófelbontás jól közelíti (0,5%-os eltérés) a nagyfelbontású háló eredményét.

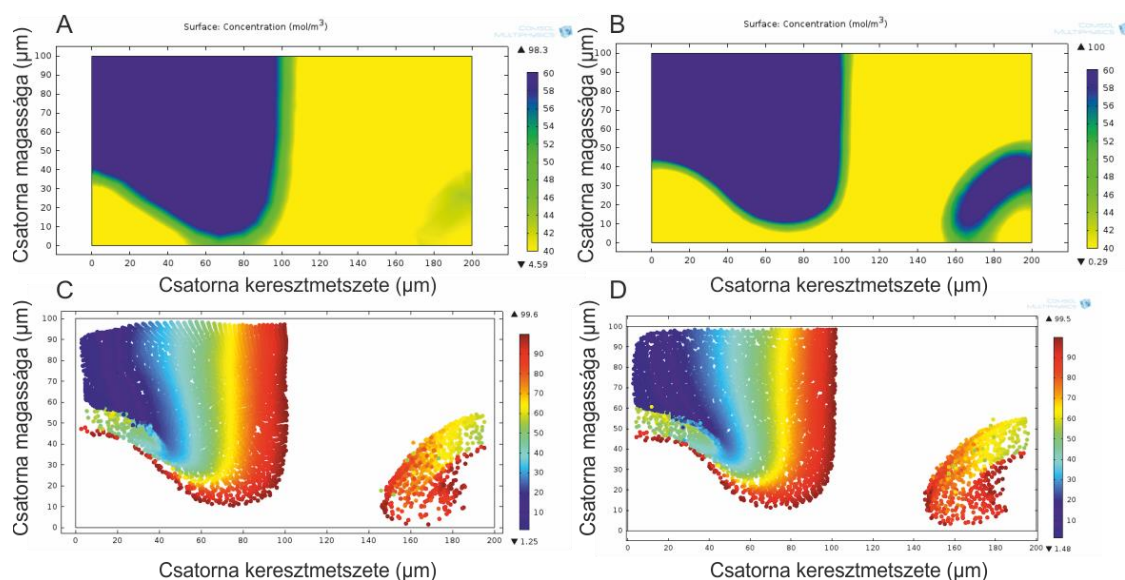


4.1. táblázat – Elemszámok a periodikusan visszacsatolt keverő számítási hálójánál.

Háló sorszáma	1	2	3	4	5	6	7
Elemzés	65 536	82 484	269 874	577 799	990 719	1 782 481	7 695 238
Futásidő	100 s	113 s	175 s	411 s	1103 s	3796 s	11529 s

A koncentrációalapú modell konvergenciavizsgálatát egy keverő egységen végeztem el, melynél a kimeneti koncentrációmezőt a 3.1.1. fejezetben leírtak alapján visszacsatoltam a bemenetre, így modellezve a következő keverési egységet. A kimeneti koncentrációeloszlást négy modellezett egység után vizsgáltam. A további számításokat azonban már nem ezen az egyszerűsített modellen végeztem el, mivel a háromdimenziós esetben az áramlási mezőt ebben nem tekinthetjük egységről egységre megegyezőnek a másodlagos transzverzális áramlás létrejötte miatt.

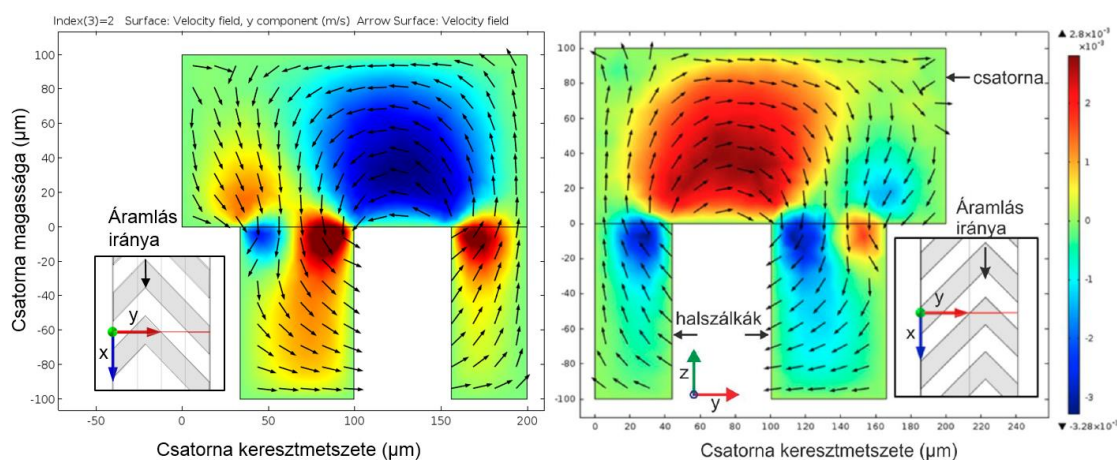
A részecskemodell is lefuttattam a 4.1. táblázat 1-6 hálófelbontásaival, az itt tapasztalt eltérés azonban a koncentrációs modell kimeneteivel összevetve elenyésző volt (4.2. ábra). A legnagyobb felbontású hálón a trajektóriamodel futásideje 411 s volt, míg az 1-5 hálók esetében 265-296 s között mozgott. A trajektóriamodel alkalmazásánál a 6-os háló esetén tehát a futásidő egy nagyságrenddel csökkent. A részecsketrajektóriák további modellezéséhez a 4. háló beállításával megegyező hálót használtam, a számítási háló elemszáma a 40/5/4 geometria esetében körülbelül 700 000.



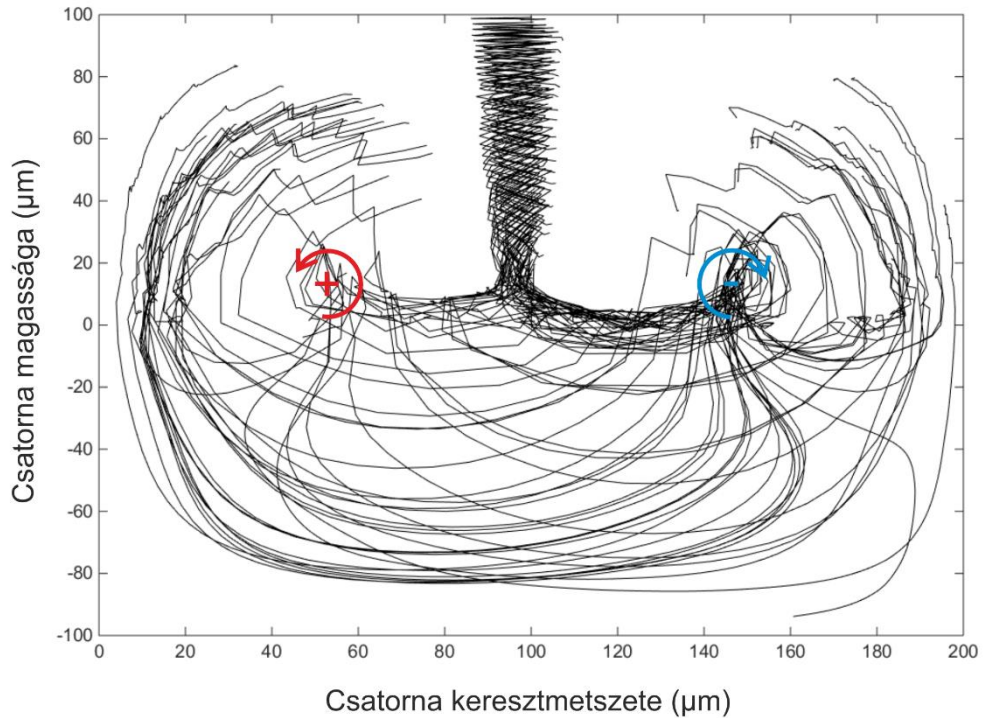
4.2. ábra – A koncentrációmező és részecskeloszlás a kimeneten a legrosszabb (A, C) és a legjobb (B, D) felbontású számítási háló mellett. A koncentrációalapú modellben a hálófelbontás csökkentésével jelentős az információvesztés, a részecskemodellnél kicsi az eltérés (13% a legjobb és a legrosszabb felbontású háló esetében).

Az áramlási mező  $y$  irányú komponenseinek megjelenítésével (4.3. ábra) jól láthatóvá válik a transzverzális csatornák (halszálkák) által generált másodlagos áramlás, mely a halszálkák aszimmetrikus elhelyezkedése miatt a keverő első alegységébe eső csatornarészben pozitív irányú örvényt generál. A keverő második alegységében, ahol a halszálkák csúcsa szimmetrikusan a csatorna ellenkező oldalára esik, az örvény iránya megfordul, így az áramlást az 1.3.1.2 fejezetben bemutatott váltakozó örvényes keverő működéséhez hasonlóan egyszer az egyik középpont körül, egyszer a másik középpont körül ellentétes irányban forgatja meg. Ez a két forgáscentrum a 150 részecsketrajektória segítségével megjelenített fázisportrén (4.4. ábra) is megjelenik. A fázistér mikrokeverők esetében megegyezik a konfigurációs térrel. A forgatás iránya itt azonban nem időben, hanem térben változik, így az áramlásnak nem szükséges időfüggőnek lennie a keverő kaotikus viselkedéséhez.

A koncentrációmezőt a csatorna hosszára merőleges metszeteken a mérőablakokban jelenítettük meg (4.5.B-E ábrák). A csatorna hossza mentén előrehaladva a forgó áramlás egyre többet kever át a nagy koncentrációjú oldatból (kék) a pufferoldatba. A kimeneten a csatorna legfelső részében a két folyadék korlátozottan keveredett össze, a középső és alsó részekben azonban jó a keveredés. A koncentrációmezőket a kísérleti eredményekkel (4.5.A ábra) összevetve szintén láthatjuk, hogy a kék és a sárga festék keveredése nem teljes, a csatorna hosszán egy vékony sárga csík húzódik végig, ami megfeleltethető a modell metszetein látott keveretlen régióval.

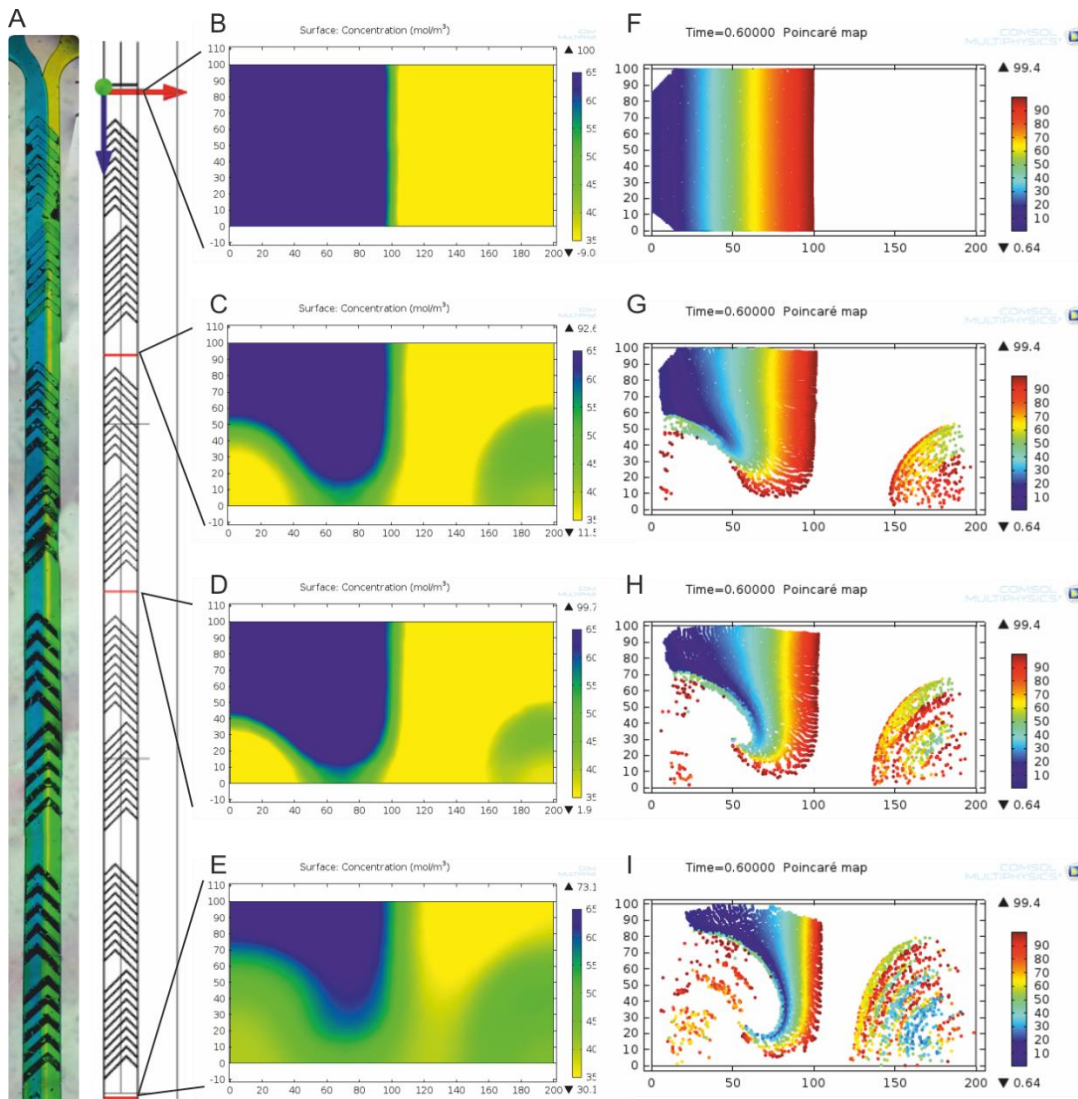


4.3. ábra – Az áramlási sebességmező  $y$  komponense a keverő keresztmetszetén. Piros színekkel a jobbra, míg kékekkel a balra elmozduló folyadékrészeket ábrázoltam. Látható, ahogy egy keverési ciklusban a halszálkák az áramlást először balra, majd jobbra forgatják. [124]



4.4. ábra – A halszájka-keverő fázisportréja. A másodlagos transzverzális áramlás két centrumként jelenik meg. A keverő alegységei először negatív (kékkel), majd pozitív (pirossal) irányba forgatják meg az áramlást és a részecskéket.

A nemlineáris dinamikus rendszerek viselkedésének elemzésénél általános módszer a Poincaré-metszet vizsgálata. A részecsketrajektóriákat a mikrocsatornára merőlegesen metsszük el, azok a részecskék, amelyek bármelyik időpillanatban áthaladtak a metszeten, az áthaladás helyén pontokként jelennek meg. A halszájka-keverő működésének jobb megértéséhez a részecskéket kezdeti y-koordinátájuk szerint színezttem meg (4.5 F-I ábrák). A csatorna mentén előrehaladva egy keverési ciklus alatt a részecskék egy része átkerült a csatorna másik oldalára, majd egy részük visszakerült a többi részecske közé keveredve. A kimenetnél így azt tapasztaljuk, hogy az átkeveredett részecskék rétegelve helyezkednek el, ahol meleg és hideg tónusok (tehát nagyobb és kisebb kezdeti y-koordinátájú részecskék) váltják egymást. A részecskemodellben tehát olyan részleteket figyelhetünk meg, amik a koncentrációs modellben rejtve maradtak. Míg a diffúziós modellben a molekulák populációként nem megkülönböztethető módon jelennek meg, addig a trajektóriamodellel lehetővé teszi az egyes részecskék helyzetének azonosítását.



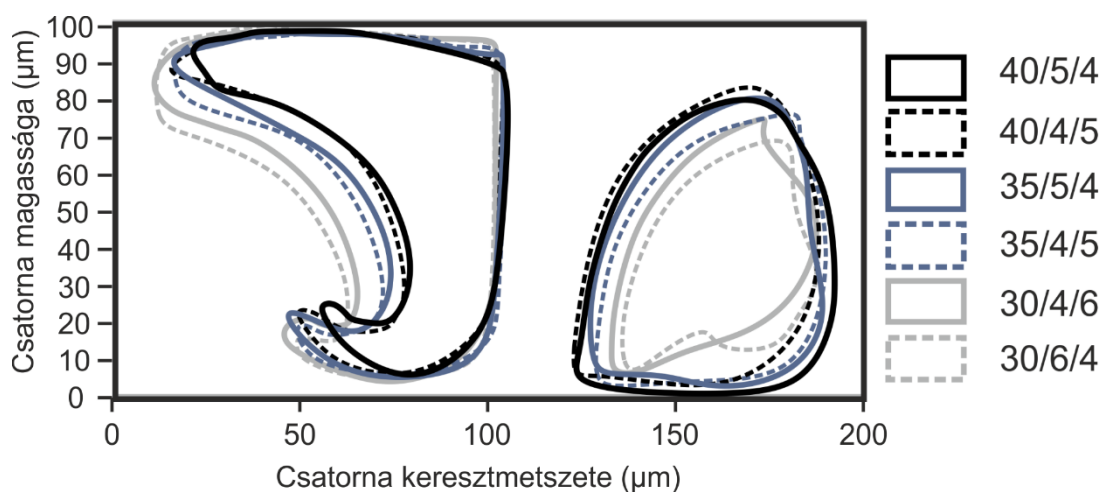
4.5. ábra – Mikroszkópfelvétel a halszálka-keverőről (A) valamint a diffúzió alapú (B-E) és a transzportalapú modellezés (F-I) eredményeinek összevetése. A részecskék trajektóriájának Poincaré-metszetein jól megfigyelhető a részecskék rétegzett elrendezése, a létrejött többszörös felületen az oldatok közötti diffúzió is gyorsabban végbemehet. [124]

A keverés hatékonyságát megvizsgáltam különböző geometriai paraméterekkel rendelkező keverők esetében. A különböző szerkezetek hatékonyságának jellemzésére származtatott mérőszámokat definiáltam az összehasonlíthatóságukat szem előtt tartva. A Poincaré-metszeteken a részecskék által elfoglalt területet megjelölve (4.6. ábra) látszott, hogy a bal oldalról indított részecskék területe zsugorodik, míg a jobb oldalra átkevert részecskék területe nő a keverés hatékonyságának növekedésével (4.2. táblázat). A trajektória modell esetén a keverési hatékonyságot a 3.1.1. fejezetben leírtak szerint definiáltam.



4.2. táblázat – Keverés hatékonysága a különböző halszálka elrendezéseknél.

Név	30/4/6	30/6/4	35/4/5	35/5/4	40/4/5	40/5/4
<b>Hatékonyság</b>	0,1984	0,2105	0,2998	0,3655	0,4513	0,4526



4.6. ábra – A különböző paraméterrel rendelkező keverők hatékonyságának összevetése. A részecskék által elfoglalt területeket megjelölve láthatóvá válik, ahogy a bal oldalon elfoglalt terület zsugorodik, a jobb oldalon elfoglalt terület pedig nő a keverés hatékonyságának növekedésével. [124]

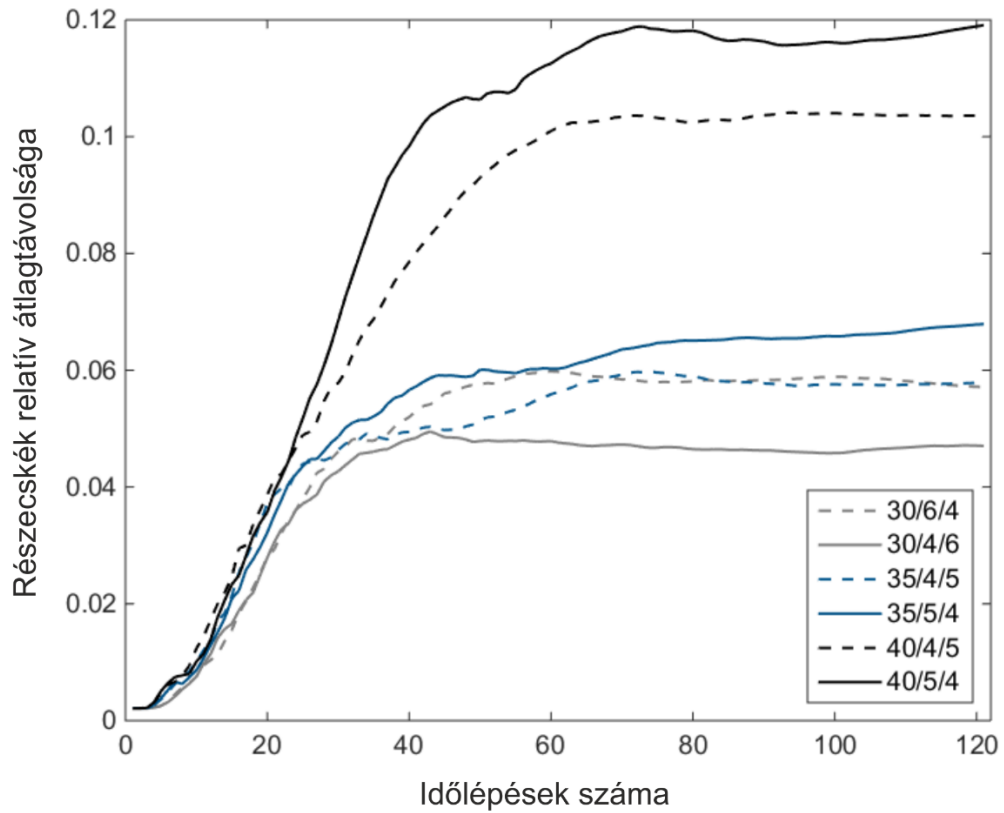
Azok a keverők hatékonyabbnak bizonyultak, melyek több halszálkát tartalmaztak egy-egy keverési egységen belül, annak ellenére, hogy a halszálkák darabszámának növelésével a keverési egységek számát csökkentettük. A leghatékonyabb keveredést a 40/5/4-es elrendezés biztosította, ahol a halszálkák szélessége 40 µm, egy keverési alegység 5 db halszálkát tartalmaz, és a keverő 4 keverési egységből áll. Hatékonysága 0,4526 volt (az optimális keveredésnél ez az index 0,5 lenne), mely a duplája a legkevésbé hatékony keverőének, a 30/4/6-os elrendezésnek. A keverés hatékonysága javult a halszálkák vastagságának növelésével, kevesebb keverési ciklus mellett is. A számított Ljapunov-kitevők (4.3. táblázat) pozitív számok, így a rendszer megfelel a kaotikus rendszerek egyik követelményének.

4.3. táblázat – Számított Ljapunov kitevők a különböző geometriai elrendezéseknél

Név	30/4/6	30/6/4	35/4/5	35/5/4	40/4/5	40/5/4
<b>Ljapunov kitevő</b>	0,1535	0,1571	0,1658	0,1577	0,1669	0,1597

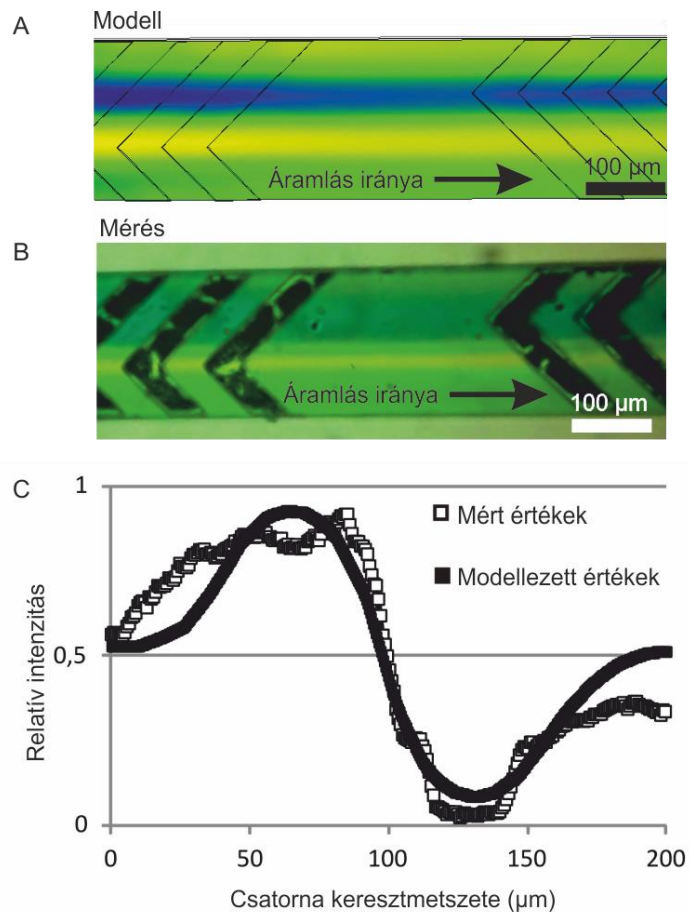
A részecskék átlagos relatív távolsága az utolsó időlépésnél (4.7. ábra) képet adhat a keverés hatékonyságáról. A 30/6/4 és a 30/4/6 elrendezésnél azonban itt felcserélődött a sorrend. Kisebb méretű halszálkáknál a több keverési ciklus mellett a részecskék átlagos távolsága nagyobb. A

háromféle halszálkavastagság azonban jól elkülönül, 40 mikronos halszálkánál mindkét elrendezési forma mellett nagyobb lesz a kimeneti távolság, mint a többi méretűnél.



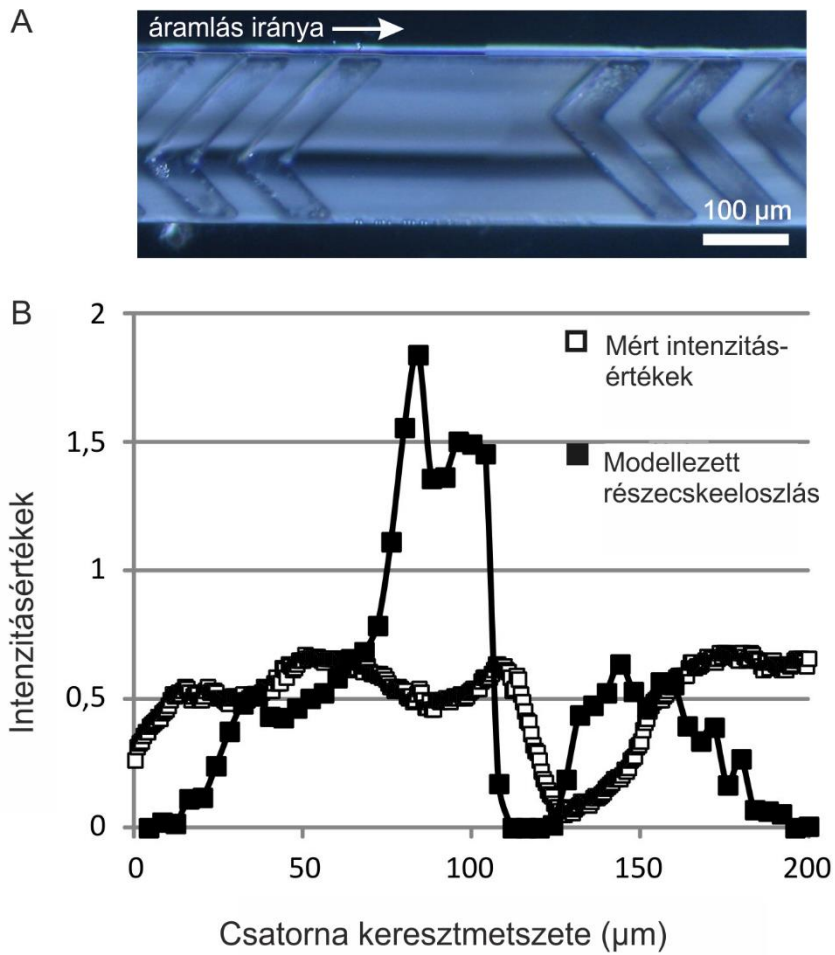
4.7. ábra – Részecskék relatív átlagtávolsága az időlépések függvényében. A távolság meredeken nő, amíg el nem éri a maximális értéket.

A kétféle modellezési módszert két különféle mérési módszerrel hasonlítottam össze. A diffúziós modell eredményeinek validálásához ételfestékekkel és fluoreszcensen jelölt HSA-val végeztem méréseket (4.8. ábra). A relatív pixelintenzitásokat felvéve és összevetve (4.8. C ábra) látszik a két festék keveredése és a jó egyezés a modell és a mérés eredménye között.



4.8. ábra – A modell (A) és a mérés (B) eredményeinek összehasonlítása. A relatív pixelintenzitásokat felvéve és összevetve (C) látszik a jó egyezés, a mérési hibát figyelembe véve. [124]

Az élesztőgombák sötétlátóteres mikroszkópiával felvett trajektóriáin is látszik a kevert és keveretlen régiók váltakozása (4.9.A ábra) amit a modell is mutatott (4.9.B ábra). A mérésnél az éles csúcs elmaradása azzal magyarázható, hogy a feldúsult, fedésben lévő élesztőgombák a sötétlátóteres mikroszkópfelvételen alacsonyabb összintenzitást adnak (az intenzitás tehát nem lineáris függvénye az adott képsíkban található gombák számának). A képen a sötétebb sáv is megjelenik, ami a kiszegényedett folyadéksávot mutatja. A kísérleti eredmények karakterisztikája megfelel a szimulációs eredményeknek, de a valóságban a keveredés hatékonyabbnak tűnik a halszájka keverőben, a részecskék eloszlása egyenletesebb.



4.9. ábra – A részecskemodell validálása élesztőgombák sötétlátóteres mikroszkópiás vizsgálatával (A).

A képen megfigyelhető a kevert és a keveretlen régiók váltakozása. Az intenzitásanalízisnél (B) a részecskeszegény régió jó egyezést mutat az élesztőgombaszegény régióval, a mérésnél az intenzitáscsúcs azonban korlátozottabban jelenik meg. [124]









## 4.2. Részecskék elválasztása

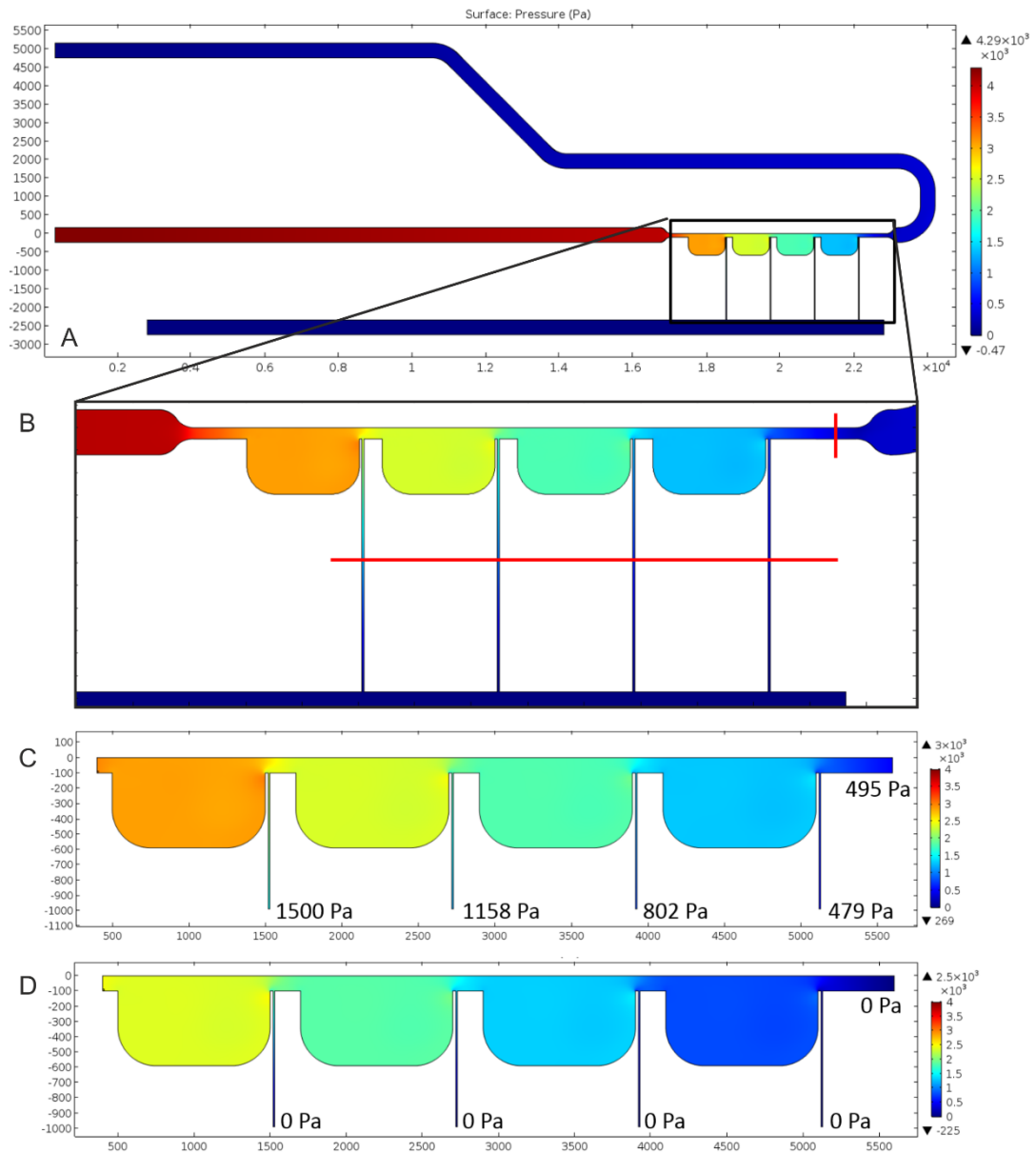
### 4.2.1. Zweifach-Fung-effektuson alapuló szeparátor

A vizsgált komplex mikrocsatorna rendszer feladata a plazma elválasztása a sejtes elemektől. Az elválasztás hatékonyságának növelése érdekében kaszkád rendszert alakítottam ki a Zweifach-Fung-effektust kihasználó vérplazma szeparátor szerkezetekből. Mivel az egyes plazma elválasztó csatornák után elvékonyodik vagy megszűnik a hidrodinamikai hatások miatt kialakult sejtmentes réteg, olyan geometriát alkalmaztam, mely a leválasztás után újra képes építeni ezt a réteget. Hatféle geometrián vizsgáltam meg a csatorna különböző jellegű kiszélesedéseinek hatását a sejtmentes réteg kialakulására, valamint a plazmaleválasztás hatékonyságára. Az eszközök hidrodinamikai vizsgálatának első lépése az áramlási kép megfigyelése különböző térfogatáram-tartományokban. Alacsony térfogatáram mellett (0,01-0,05  $\mu\text{l/s}$ ) a kamrában az áramlás szimmetrikus, örvények nem alakulnak ki (4.11.A ábra). A bemeneti térfogatáramok növelésével (0,5-1  $\mu\text{l/s}$ ) egyes (pl. az 1., 2. és 4. sorszámú) geometriák esetén a kamrában már örvény alakul ki, az áramlás aszimmetrikussá válik (4.11.B ábra). Nagyobb térfogatáramok mellett (2-6  $\mu\text{l/s}$ ) az örvény közepe egyre inkább jobbra vándorol (a bemenettől távolodva), majd a kamrában két ellentétes irányú örvény jelenik meg (4.11.C ábra). A második örvény kialakulása már jól láthatóan veszélyeztetheti a megfelelő elválasztást a pl. 4. geometria esetében, ahol a kivezetés a kamra alján található. A kialakuló második örvény csapdába ejtheti a részecskéket rontva ezzel a kivezetett plazma tisztaságát.

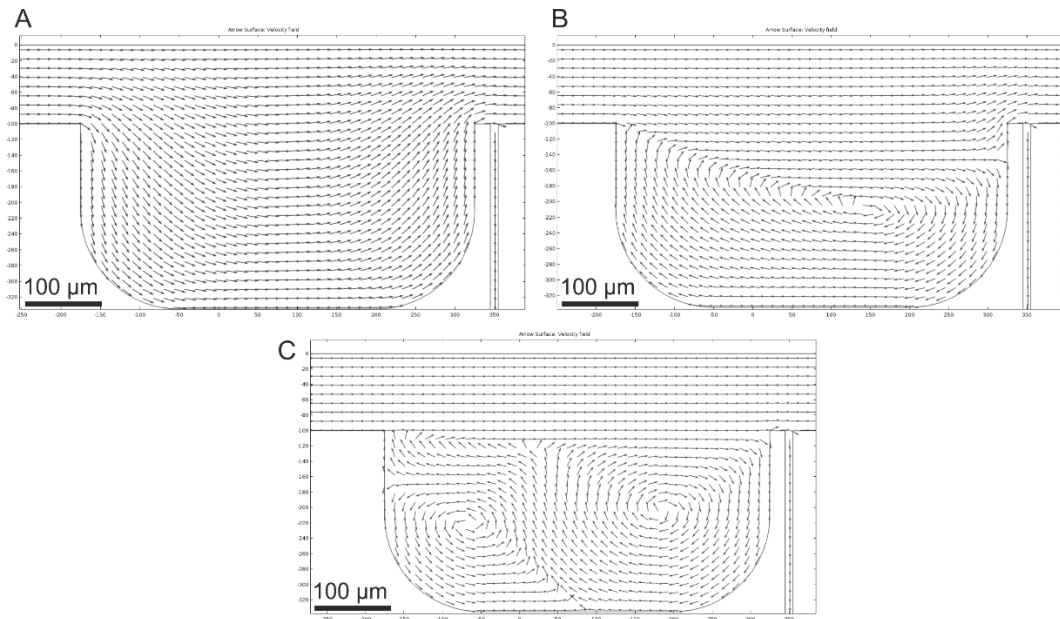
Az áramlástanai elemzés részeként megvizsgáltam azt is, hogy melyik geometriánál milyen arányban áramlik ki a folyadék a főág kimenetén és az oldalcsatornákon (4.4. táblázat). Ebből az arányból a szeparátor várható hozamára következtethetem. Megállapítottam, hogy a 6. geometria esetében a legmagasabb a várható hozam, itt a teljes kimenet 2,3 százaléka hagyja el az eszközt a mellékcsatorna irányában, a főcsatorna és egy-egy mellékcsatorna kimeneti térfogatáramának aránya nagyságrendileg 1000:1 és 10 000:1 között mozog. Ez a hozam nagyjából ötszöröse az első geometria esetében számítottak, ahol csak a folyadék 0,4 százaléka távozik a kaszkád kimenetekeken. A csatornában a nyomáseloszlást úgy állítottuk be, hogy a teljes mikrofluidikai chip áramlástanai modelljét elkészítettük, majd az oldalcsatornában a vizsgált térfogat kimeneteinek helyeinél számolt nyomásértékeket állítottuk be peremfeltételként (4.10. ábra). Ennek eredményeként a kivágatban is a teljes chipre jellemző nyomáseloszlást kaptuk, melyet összevetve azzal az alapesetel, ahol a kimenetek referencianyomása nulla, jól látható a különbség (4.10.C-D ábrák). Az oldalcsatornákon a valóságnál nagyobb nyomásesés nagyobb kimeneti térfogatáramot eredményez.

4.4. táblázat – A különböző geometriák hatása az elválasztás hozamára a modellezés alapján.

Geometria	1. geometria	2. geometria	3. geometria	4. geometria	5. geometria	6. geometria
						
<b>Hozam</b>	0,4 %	1 %	1,1 %	1,1 %	1,4 %	2,3 %

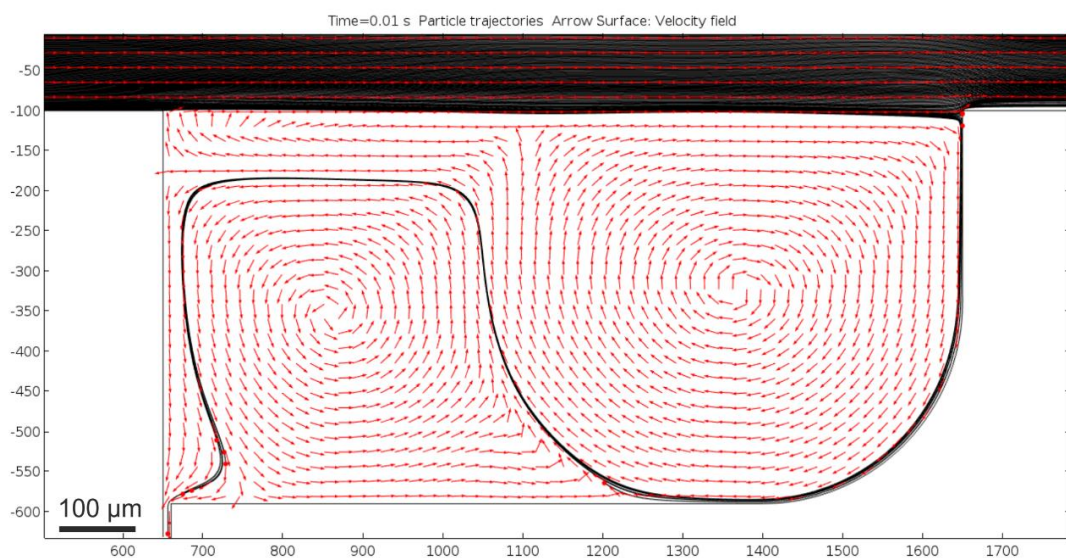


4.10. ábra – Nyomás peremfeltétel beállítása a teljes mikrofluidikai chip áramlási modellje (A) alapján. A teljes chipen a kivágat kimeneteinek megfelelő helyen (pirossal jelölve) (B) számolt nyomásértékeket állítottuk be a kivágat kimenetein peremfeltételként (C). A kivágat kimenetein alapértelmezettként használt 0 Pa referencianyomás érték különböző nyomáseloszlást eredményez.



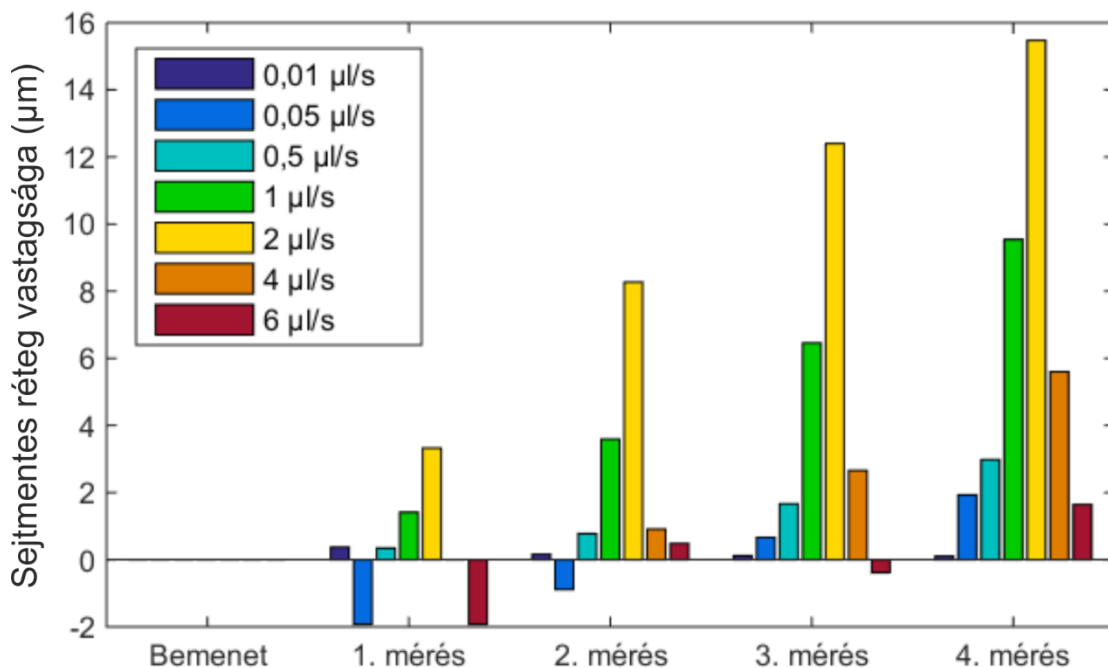
4.11. ábra – Modellezett áramlási mező a csatorna kiszélesedésénél. Alacsony térfogatáram ( $0,01 \mu\text{l/s}$ ) esetén (A) az áramlás szimmetrikus, a kamrában nem jelenik meg örvény. Közepes térfogatáram ( $1 \mu\text{l/s}$ ) tartományban (B) a kamrában az áramlás aszimmetrikussá válik, örvény alakul ki. Magas térfogatáram ( $6 \mu\text{l/s}$ ) esetén (C) a kamrában két ellentétes irányú örvény jelenik meg. A vékony függőleges csatornáknak tervezzük a sejtmentes plazma elvezetését.

A sejtmentes réteg kialakulását trajektóriamodellen vizsgáltam meg. A részecsketrajektóriákat az áramlási képpel összevetve megfigyelhetjük, ahogy a 4. geometria esetén a részecskék  $6 \mu\text{l/s}$  térfogatáram mellett belépnek a második örvénybe, és távoznak a kamrából kivezető oldalsó csatornán (4.12. ábra).



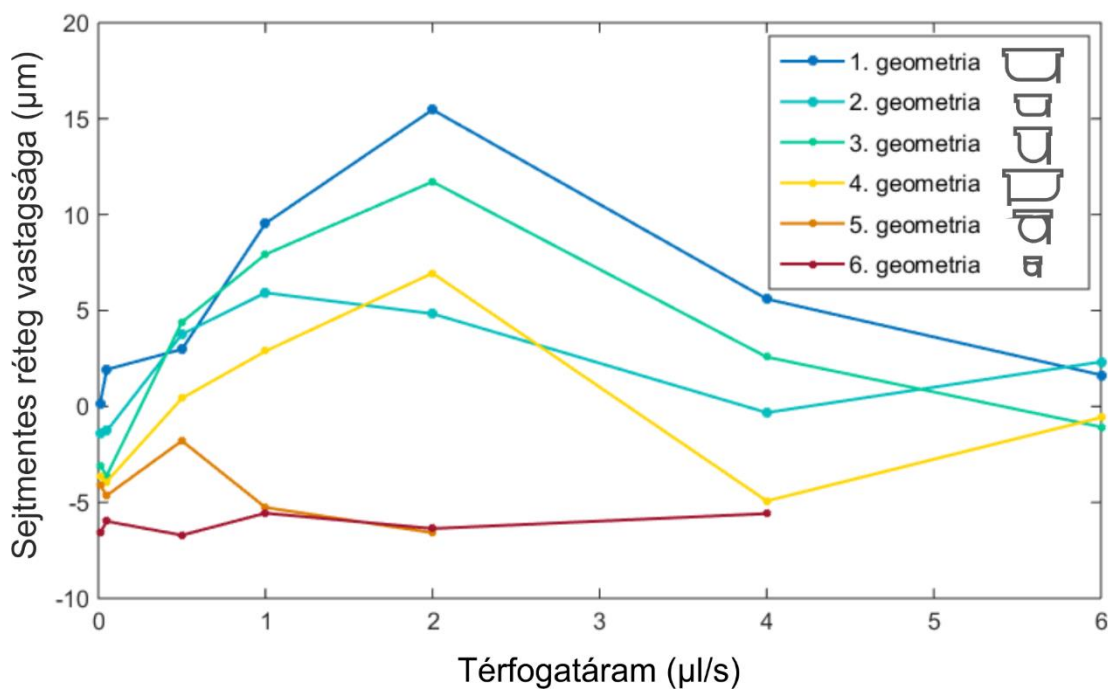
4.12. ábra – Áramlási mező (pirossal) és részecsketrajektóriák (feketével) a 4. geometriánál  $6 \mu\text{l/s}$  térfogatáram esetén. A részecskék a második örvénybe belépve elhagyják a kamrát az oldalsó csatornán, mely a plazmaelválasztás tisztaságára kedvezőtlenül hat.

A sejtmentes réteg kialakulásának és a kivezetés utáni újra felépülésének jellemzésére az oldalfalhoz legközelebb eső, a csatorna fő kimenetén távozó részecske faltól vett távolságát mértük meg a szűkületekben. Az első kamra előtti mérést tekintetem referenciának, ezt az értéket kivonva a többi mérés eredményéből kaptam meg a részecske elmozdulásának irányát. Negatív értékek esetén a részecske a csatorna falához közelebb került, az oldalszatórnákon távozó folyadék rész és részecskék helyét elfoglalva. Az 1. geometriát tartalmazó szeparátor volt az, amelyiknél a legkevesebb negatív értéket kaptam, a kimenetek pedig minden térfogatáram esetén pozitív tartományban maradtak (4.13. ábra).



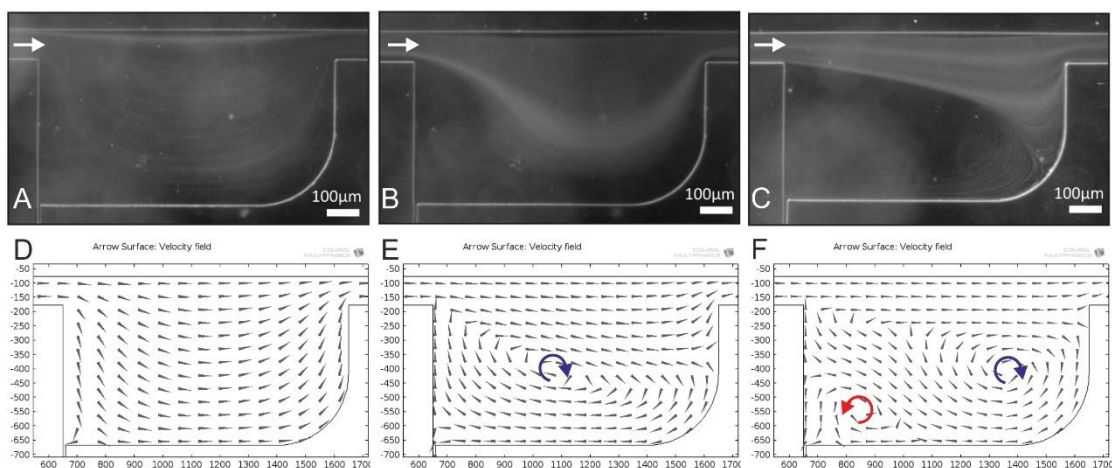
4.13. ábra – Sejtmentes réteg kialakulása és újraépülése az első geometria esetén. Negatív érték esetén a részecske a csatornafal felé mozdult el.

A kimeneti rétegvastagság térfogatáramfüggését megvizsgálva képet kapunk a szeparátorok működési karakterisztikájáról (4.14. ábra). Az 1-4. geometriákat tartalmazó szeparátoroknak jól meghatározható működési optimuma van. Alacsony térfogatáramok (0,01-0,05 µl/s) esetén, ahol az áramlás szimmetrikus volt, a kamrákban a sejtmentes réteg vastagsága minimális, a 2-6. geometriák esetén negatív, tehát a részecskék az oldalszatórnák irányába mozdultak, vagy azokon távozhattak. A középső tartományban (0,5-2 µl/s) a szeparátorok hatékonysága megnő, a sejtmentes réteg számított vastagsága az 1-4. geometriák esetén pozitív tartományba kerül. Magasabb térfogatáramok mellett (4-6 µl/s) az eszközök hatékonysága újra csökken a kialakuló örvények miatt. Ezen eredményeknek megfelelően, a további alkalmazhatóság szempontjából az 1-3 geometriának van relevanciája, ezért ezeket az szerkezeteket vizsgáltam részletesebben.



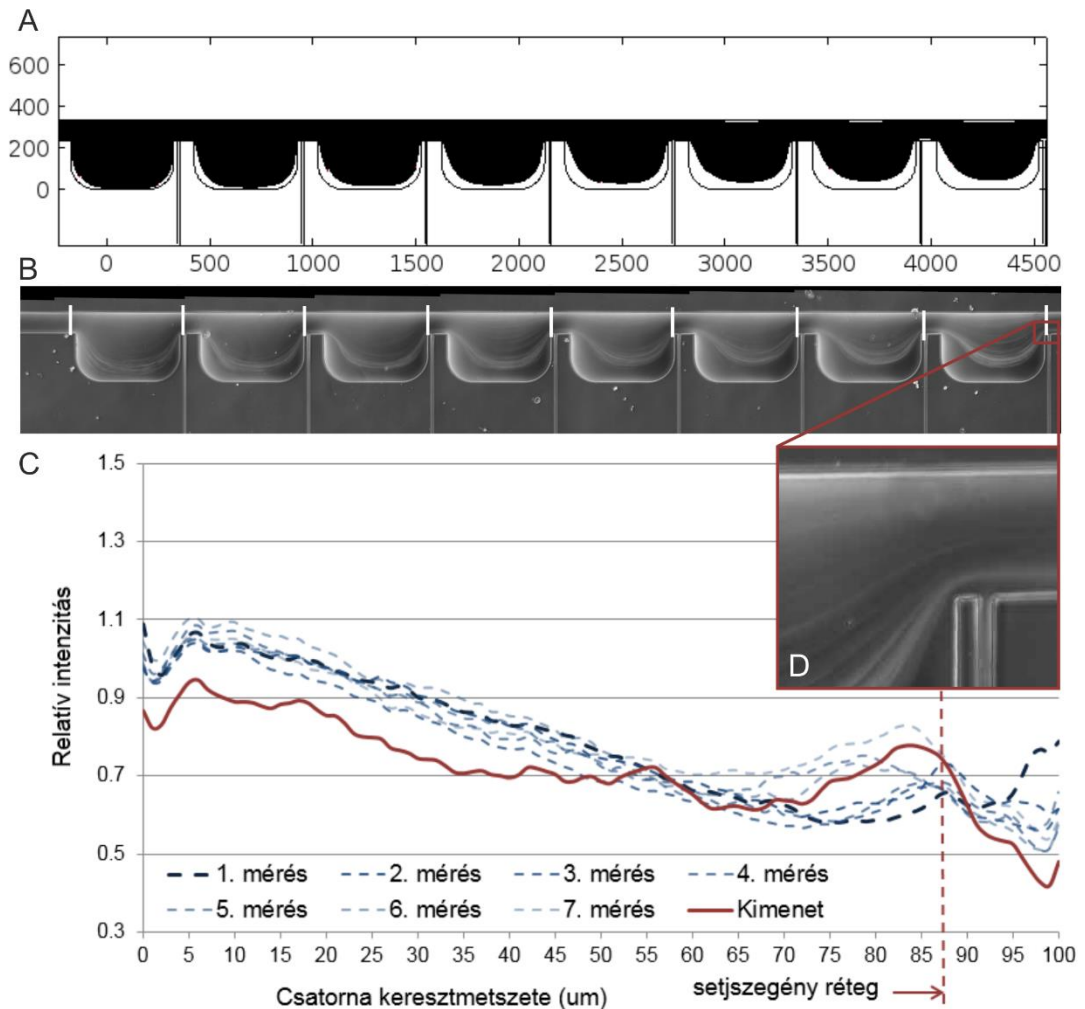
4.14. ábra – Sejtmentes réteg vastagsága a térfogatáram függvényében. A szeparátorok 0,5-4  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram tartományban működnek optimálisan.

A mérések során is sikerült megfigyelni, ahogy a különböző térfogatáram-tartományokban megváltozik az áramlási kép (4.15. ábra), alacsony tartományban (0,5  $\mu\text{l/s}$ ) az áramlás a kamrában szimmetrikus volt, közepes tartományban (1  $\mu\text{l/s}$ ) a kamrában örvény alakult ki, az áramlás aszimmetrikussá vált, magasabb térfogatáramértékek mellett (5  $\mu\text{l/s}$ ) a kamrában két ellentétes irányú örvény alakult ki, a második örvény a részecskéket az oldalcsatorna felé terelte.



4.15. ábra – Mért (A-C) és modellezett (D-F) áramlási mező a csatorna kiszélesedésénél a 4. geometria esetében. Magasabb térfogatáramoknál örvények alakulnak ki a csatornában. A második örvény (pirossal) megjelenésénél a részecskék az oldalcsatornán is távoznak (C). [129]

A kaszkád rendszer vizsgálata esetén, a második geometriánál  $4 \mu\text{l/s}$  térfogatáram mellett felvett mérést a modellel összevetve (4.16. ábra) azt tapasztaltuk, hogy a felvételen a részecskék a modellezett trajektóriákhoz hasonlóan a kamrákon áthaladva egyre inkább elhúzódnak a csatorna alsó falától. A bemenettel normált intenzitásgörbéken nyomon követhetjük a sejtszegény réteg kialakulását. A kimeneten mért sejtmentes réteg vastagsága  $12 \mu\text{m}$  volt.

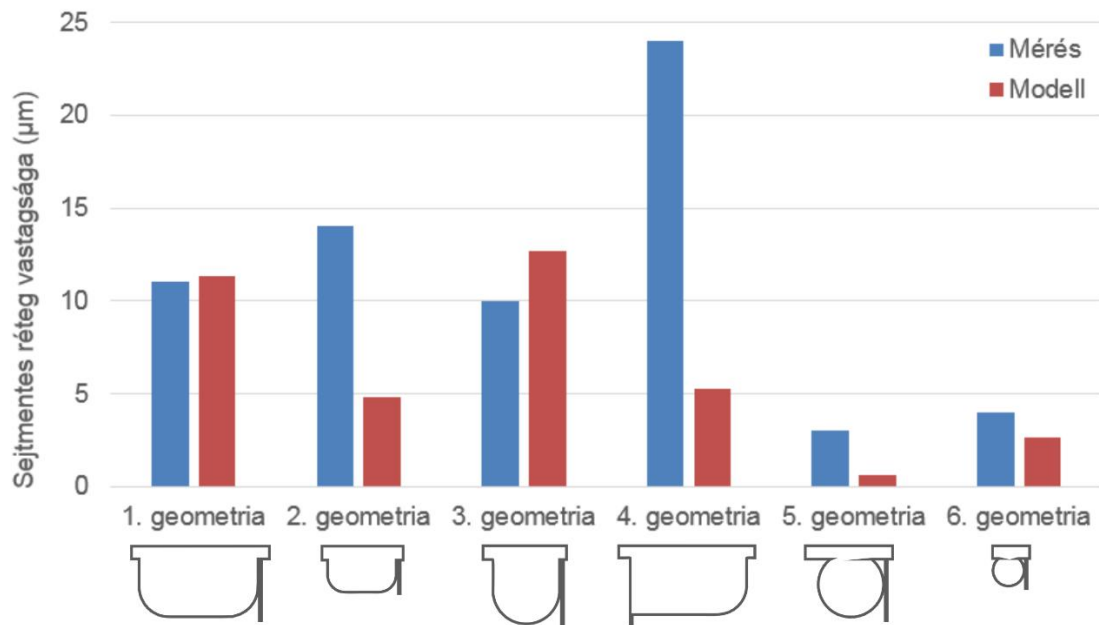


4.16. ábra – Modellezett (A) és mért részecsketrajektóriák (B) a 2. geometria esetében. A fehér vonallal jelölt mérőhelyeken felvett intenzitásgörbéken (C) a sejtmentes réteg kamráról-kamrára kialakul. A nagyításon (D) a kialakult sejtszegény réteg sötét sávként jelenik meg.

Az intenzitáselemzést elvégezve a hatféle geometria esetén megmértem a kimeneteken a sejtmentes réteg vastagságát minden esetben  $4 \mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáram mellett (4.17. ábra). Mivel ezek az adatok már a bemeneten mért intenzitásértékkel normáltak, így a bemeneti sejtmentes réteg vastagságok nem kerültek levonásra. A modellezett kimeneti értékekből az összehasonlíthatóság miatt itt nem vontam le a bemeneti sejtmentes rétegvastagságot, így itt nem szerepelnek negatív számok. A mért eredményeket a 2. és a 4. geometria kivételével jól



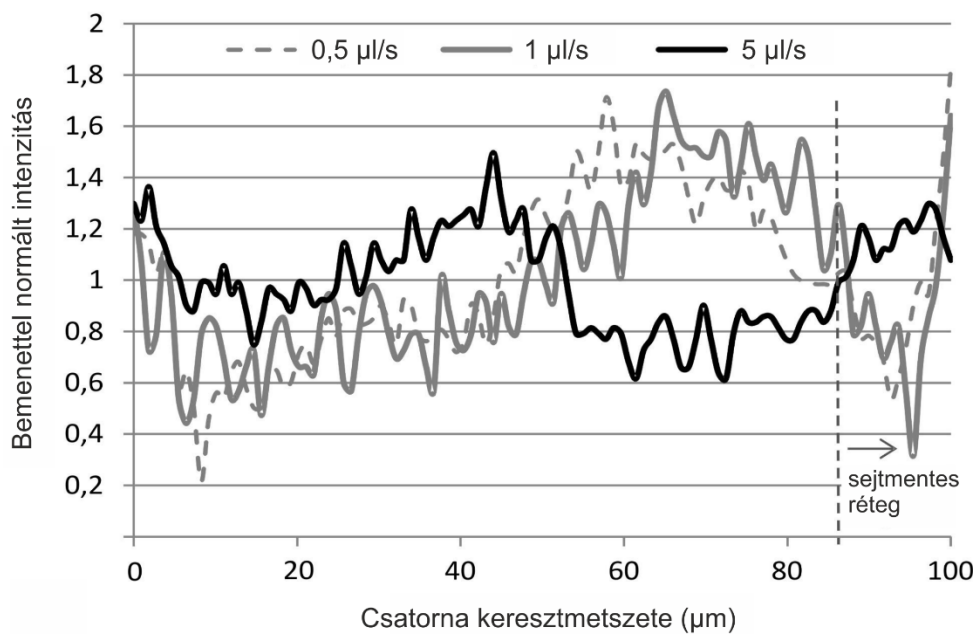
közelítették a modelleredmények. Mindkét eltérésnél a modell jóval alábecsülte a sejtmentes réteg vastagságát, ami a gyártás vagy a mérések során elzáródott oldalcsatornák áramlási hatása miatt lehetett a valóságban vastagabb. A mérések alapján a kád formájú (1., 2. és 4.) geometriák bizonyultak a szeparáció hatékonyságának növelésére legalkalmasabbnak. A modellezés és a mérés szerint a kör alakú (5. és 6.) geometriák kevésbé alkalmasak a sejtmentes réteg visszaépítésére a kivezetések után.



4.17. ábra – Mért (kék) és modellezett (piros) sejtmentes réteg vastagság a különböző geometriájú kamrákkal ellátott szeparációs eszközöknél.

A mérések során sikerült azt is megfigyelni, hogy az eszközök hatékonysága különböző térfogatáram-tartományokban eltérő – ahogy azt a modellezett eredmények alapján várhattuk. A 4. geometriát tartalmazó eszközben (4.18. ábra) 0,5 µl/s és 1 µl/s térfogatáramok esetén egyre vastagabb volt a sejtmentes réteg, 5 µl/s esetén azonban már nem alakult ki.

A trajektória alapú részecskeviselkedés-modellezéssel, valamint az eredmények mérésekkel történő összevetésével, ellenőrzésével megmutattam, hogy a különböző geometriájú kiszélesítések alkalmazásával, megfelelő bemeneti térfogatáram-tartomány esetén a kiterjedéssel rendelkező részecskékre ható hidrodinamikai erők kihasználásával a mikroszaturna fala mellett sejtmentes réteg alakítható ki, mely a kaszkád elrendezésnél is visszaépülhet. Ez a sejtmentes régió javíthatja a plazmaszeparáció hatékonyságán Zweifach-Fung típusú vérszeparátor szerkezetek esetén.

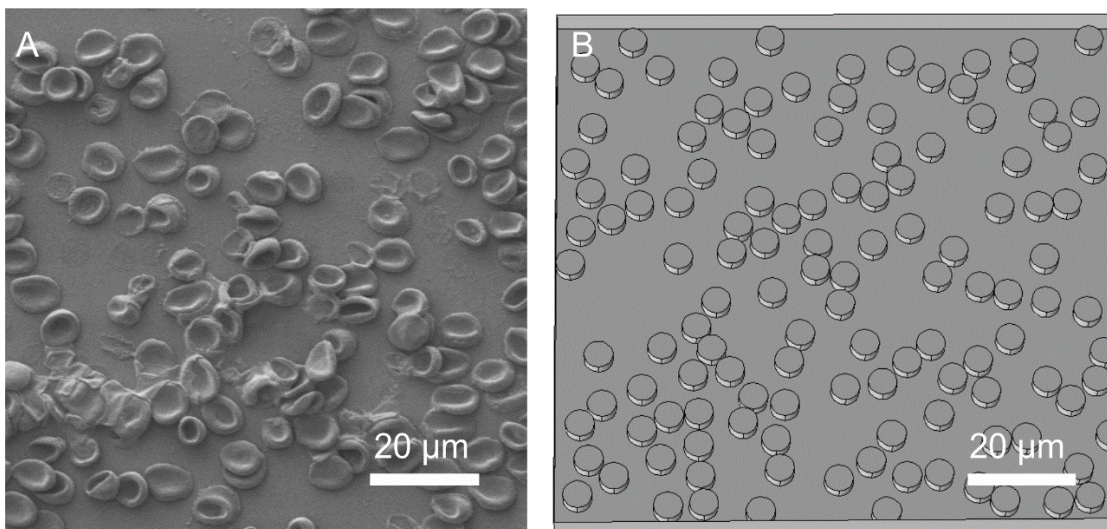


4.18. ábra – Sejtmentes réteg kialakulása a mikrofluidikai csatornában különböző térfogatáramok mellett. A kimeneten mért intenzitásértékeket a bemeneten mért értékekkel normáltuk, hogy elkerüljük az egyenetlen bemeneti eloszlásból származó hibát. [129]



#### 4.2.2. Véletlenszerűen elhelyezkedő akadályok hatása a mikrocsatornában kialakuló áramlásra

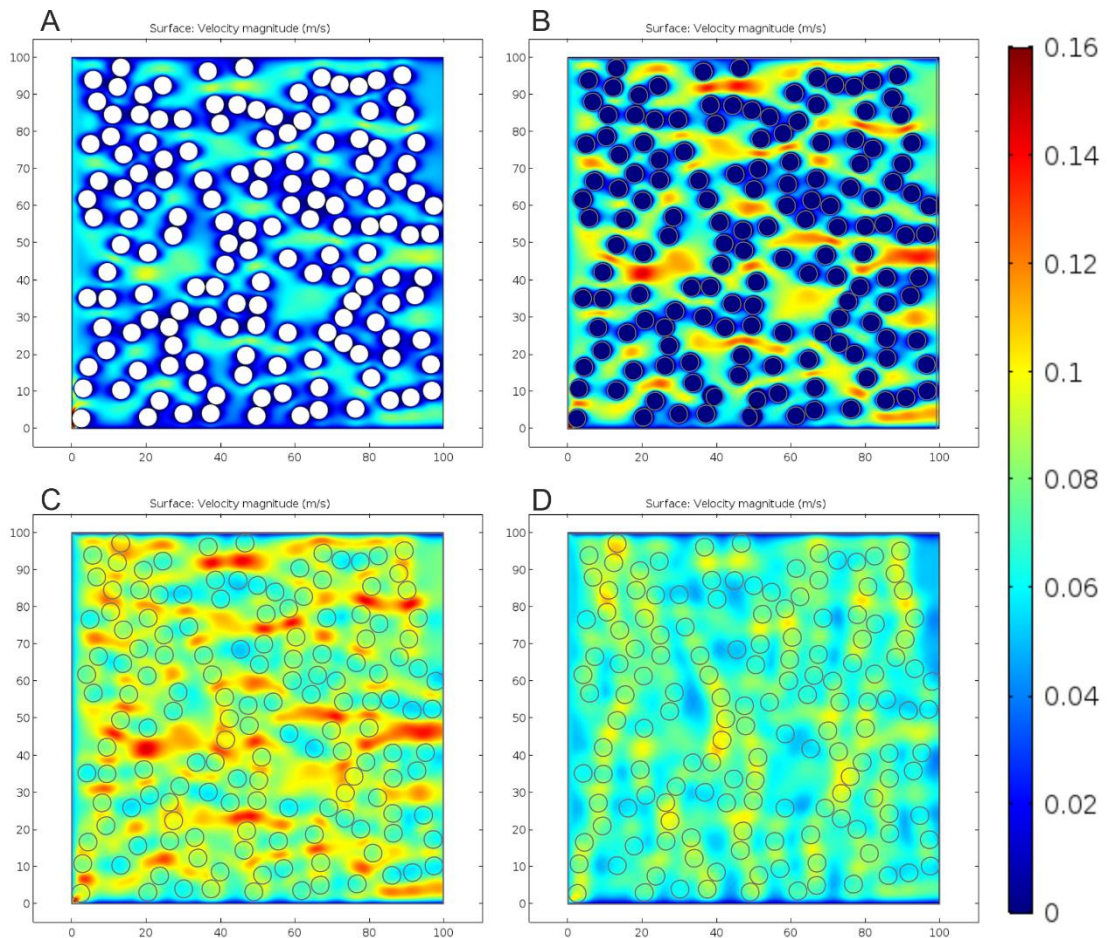
A mikrocsatornák falára tapadt alakos elemek áramlásmódosító hatása nem csak parazita jelenségként értelmezhető, de kihasználható diagnosztikai célokra is, megfelelő receptorréteg alkalmazása mellett. Ennek vizsgálatához különböző arányú lefedettséget adó, véletlenszerűen elrendezett akadályokat hoztam létre a vizsgált csatornageometriában, és elemeztem a körülöttük kialakuló áramlási viszonyokat. A kísérlet során használt csatorna receptorréteggel ellátott felületéről készített elektronmikroszkópos felvétel (4.19. ábra) alapján a csatorna alján elhelyezett akadályokat tartalmazó geometriát úgy készítettem el, hogy az akadályok ne fedjenek át.



4.19. ábra – Letapadt vörösvértestek elektronmikroszkópos felvétele (A) és a véletlenszerűen elhelyezett 2 µm magas, 6 µm átmérőjű akadályok a mikrocsatornában (B).

Az akadályok áramlásmódosító hatását a sebességmezőről különböző magasságban készült x-y metszeteken (4.20.4.20. ábra) figyelhetjük meg. Az 5 µm magas csatornában 30% lefedettség esetén 1 µm-nél az áramlás lelassult, a fehér színnel jelölt akadályok között csak nagyobb köztes terekben gyorsult fel (4.20.4.20.A ábra). 2 µm magasságban (4.20.4.20.B ábra) az akadályok tetején az áramlás sebessége a tapadási peremfeltételnek megfelelően 0 m/s, itt az akadályok közötti szűkebb területeken is felgyorsul az áramlás. 3 µm magasságban (4.20.4.20.C ábra) 1 µm-rel az akadályok felett is hasonló az áramlási kép az alacsonyabb réteghez, az akadályok közti hézagok felett magasabb az áramlási sebesség. 4 µm magasságban (4.20.4.20.D ábra) szintén tapasztalhatunk lokálisan nagyobb sebesség értékeket, itt azonban a szigetszerűen elhelyezkedő akadályok felett találhatóak ezek a maximumok.

Az akadályok hatását a csatornában haladó részecskék (vörösvértestek) mozgására trajektóriamodell alkalmazásával vizsgáltam. A fejlesztett diagnosztikai módszer alapja a csatornában áramló szabad véresejtek folytonos közeghez (vérplazma) viszonyított sebességének megfigyelése. Hogy megvizsgáljam, milyen csatornamagasságig domináns a letapadt vörösvértestek áramlámódosító hatása, 7  $\mu\text{m}$  magas csatornában 2-6  $\mu\text{m}$  magasság között mikrononként növeltem a részecskék kiindulópontjának z-koordináta értékét, majd kumulált oldalirányú elmozdulást számoltam 30%-os csatornalefedettség esetén. A legnagyobb oldalirányú eltérést, 15,6  $\mu\text{m}$ -t a 2  $\mu\text{m}$ -es indítási magasságnál tapasztaltam (4.5. táblázat), de a részecskék még 6  $\mu\text{m}$  magasságból indítva is elmozdultak oldalra, az áramlámódosító hatás ezen a magasságon is érvényesült, a részecskék elmozdulása itt 9,2  $\mu\text{m}$  volt. A hatás maximalizálása érdekében az 5  $\mu\text{m}$ -es csatornamagasság és a 2  $\mu\text{m}$  indítási magasság mellett döntöttem, figyelembe véve a vörösvértestek geometriai méreteit, ami egyébként megfelelt a kísérleti tapasztalatoknak is.



4.20.4.20. ábra – Sebességmező x-y metszetei az 5  $\mu\text{m}$  magas csatornában 1  $\mu\text{m}$ -nél (A), 2  $\mu\text{m}$ -nél (B), 3  $\mu\text{m}$ -nél (C) és 4  $\mu\text{m}$ -nél (D) a csatorna aljától mérve. A 2  $\mu\text{m}$  magas akadályok áramlámódosító hatása 2  $\mu\text{m}$ -rel az akadályok felett is jelentős.

4.5. táblázat – Kumulált y-z-irányú elmozdulások különböző magasságokból indított részecskéknél 7  $\mu\text{m}$ -es csatornamagasság esetén

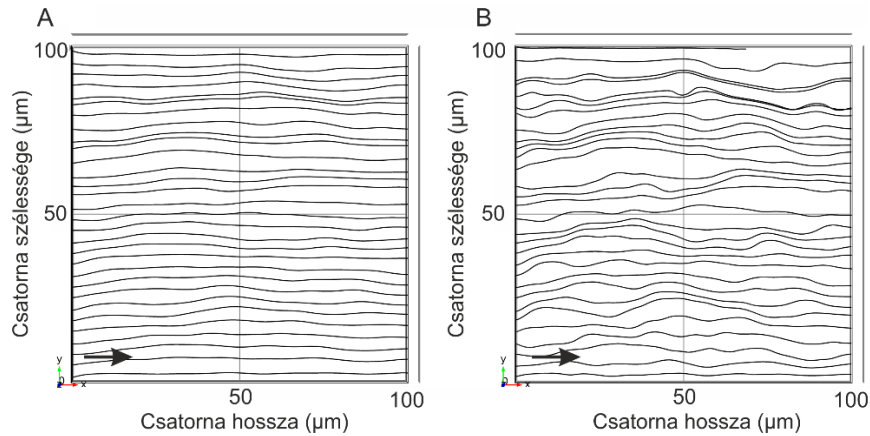
<b>Magasság</b>	2 $\mu\text{m}$	3 $\mu\text{m}$	4 $\mu\text{m}$	5 $\mu\text{m}$	6 $\mu\text{m}$
<b>Kumulált elmozdulás</b>	15,6 $\mu\text{m}$	10,9 $\mu\text{m}$	11,5 $\mu\text{m}$	9,1 $\mu\text{m}$	9,2 $\mu\text{m}$

A funkcionizált mikrocsatorna különböző lefedettségei mellett is megvizsgáltam a részecskék mozgását, ami a diagnosztikai módszer érzékenységére ad információt. Az üres csatornában (4.22.A ábra) is volt a részecskék mozgásának y és z irányú komponense (4.6. táblázat) a lamináris áramlás parabolikus sebességprofiljából adódóan, ami miatt az áramlási rétegek sebességkülönbsége a részecskéket enyhén a csatorna közepe felé fókuszálta. 10% csatornalefedettség, azaz 50 db letapadt részecske esetén a részecskék kumulált elmozdulása 15,94  $\mu\text{m}$  volt, a trajektóriákat tekintve (4.22.B ábra) a letapadt részecskék tisztán ábrázolódnak. 20% csatornalefedettség, azaz 100 db letapadt részecske mellett (4.22.C ábra) 24,33  $\mu\text{m}$  volt az elmozdulás, 30% lefedettségnél, 150 db letapadt részecskét elhelyezve (4.22.D ábra) pedig 41,52  $\mu\text{m}$ . 30%-nál nagyobb lefedettség esetén a letapadt részecskék túl sűrűn helyezkednek el, így az őket kerülgető áramlásba helyezett részecskék szigetekként kevesebb oldalirányú mozgással kerülnek ki őket, a kumulált elmozdulás visszaesik (4.6. táblázat).

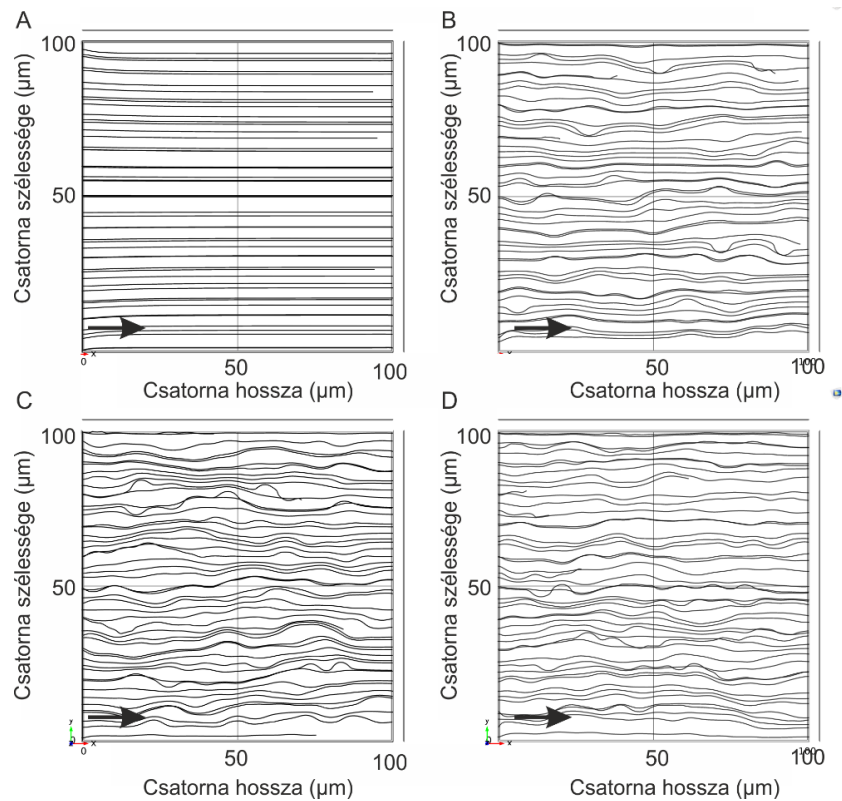
A modell eredményeit mérési eredményekkel vettem össze. A mikroszkóp videófelvételeit Ungai-Salánki Rita készítette, azok trajektóriaelemzését Papp Krisztián végezte el. Két 100  $\mu\text{m}$  széles mikrocsatornát vizsgáltak meg, egy alacsonyabb és egy magasabb lefedettséggel rendelkezőt. Az alacsonyabb lefedettségnél a vörösvértesteket másfél percig, a magas lefedettségű terület esetén 11 és fél percig áramoltatták a vércsoport érzékeny anti-A és anti-B antitestekkel funkcionizált területet tartalmazó mikrocsatornában (4.23.A ábra). A látóteret 4 db egyenlő, körülbelül 30  $\mu\text{m}$  hosszú területre osztották fel, majd megszámozták a különböző területekre jutó letapadt vörösvérsejteket. A 10-30% lefedettségnek a 61 db, 94 db és a 151 db vörösvérsejtet tartalmazó kamrák feleltethetők meg (4.23.B ábra). A videófolyam elemzésével meghatározták a letapadt részecskék felett áramló 30 db vörösvértest trajektóriáját (4.23.C ábra), majd kiszámolták a részecskék területenkénti átlagos oldalirányú eltérését (4.23.D ábra). A Friedmann és Dunn statisztikai elemzések alapján a részecskék oldalirányú elmozdulásának szignifikáns növekedését tapasztalták a lefedettség függvényében [78], mely egybeesik a modellezés során tapasztaltakkal.

A vizsgált autonóm mikrofluidikai chipben a kezeletlen vérmintát két mikrocsatornába osztották szét, a csatornák egyik felszínét pedig anti-A és anti-B antitestekkel funkcionizálták. A, B és

AB vércsoportok esetén a két csatorna legalább egyikében kitapadtak a vörösvértestek, áramlásmódosító hatásuk miatt különböző hematokrit értékek mellett is megtörtént a plazmaszeparáció (4.23.E ábra) [78]. 0 vércsoport esetén nem tapasztaltak szeparációt. Az eszköz tehát alkalmasnak bizonyult az AB0 vércsoport meghatározására autonóm módon, mintaelőkészítési lépések nélkül is.



4.21. ábra – Részecskék trajektóriája a letapadt vörösvértesteket tartalmazó 7  $\mu\text{m}$  magas csatornában 5  $\mu\text{m}$  magasságból (A) és 2  $\mu\text{m}$  magasságból (B) indítva. Az akadályok fölött 3  $\mu\text{m}$ -rel haladó részecskék útja is módosul. [78]

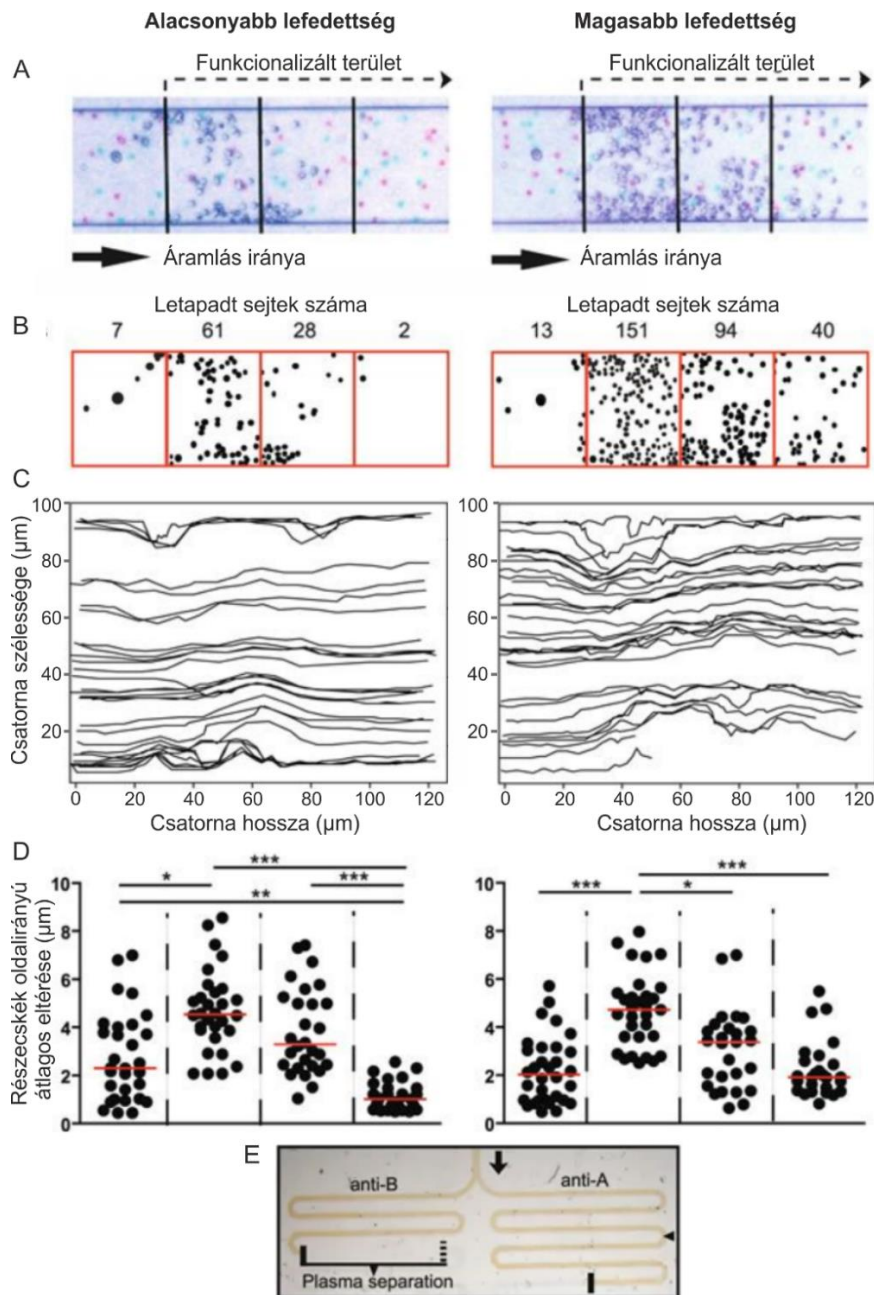


4.22. ábra – Részecsketrajektóriák a letapadt vörösvértesteket tartalmazó csatornában 0% lefedettség (A), 10% lefedettség (B), 20% lefedettség (C) és 30% lefedettség (D) esetén. [78]



4.6. táblázat – Kumulált y-z-irányú elmozdulások különböző csatorna lefedettségek esetén

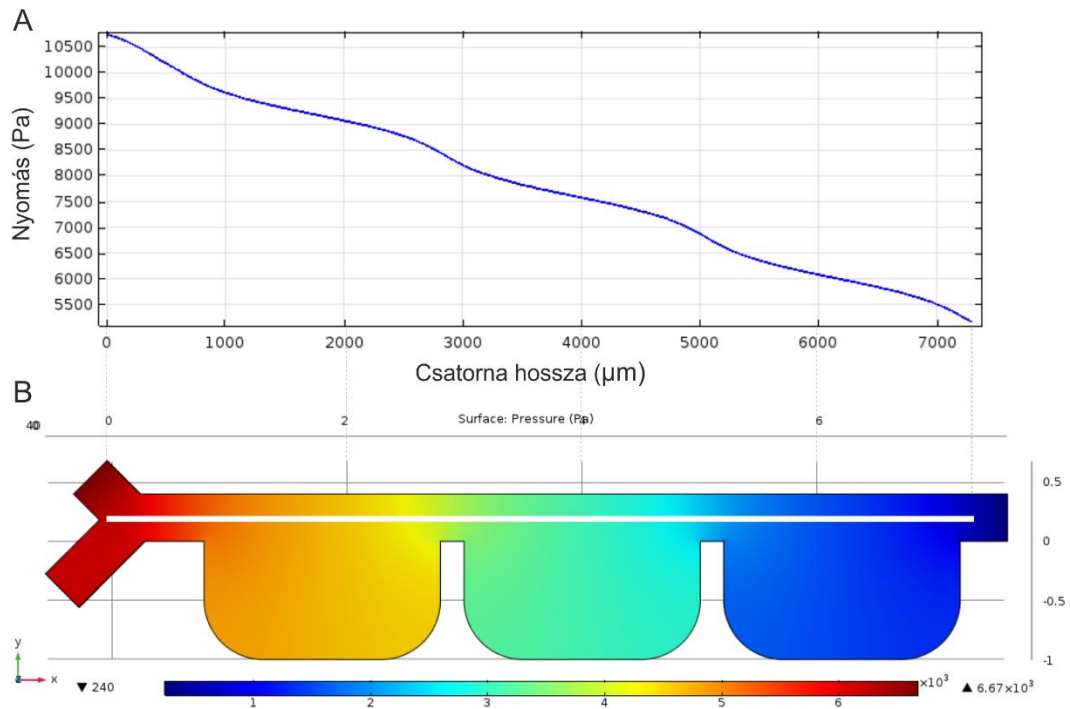
Lefedettség	0%	10%	20%	30%	40%
<b>Kumulált elmozdulás</b>	2,93 $\mu\text{m}$	15,94 $\mu\text{m}$	24,33 $\mu\text{m}$	41,52 $\mu\text{m}$	20,28 $\mu\text{m}$



4.23. ábra – A letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrocsatorna mérési eredményei. Mikrocsatorna mikroszkópos felvétele a funkcionizált terület megjelölésével (A), letapadt sejtek száma a funkcionizált területen, a vörösvértesteket fekete pont jelöli (B). 30 mozgó vörösvértest trajektóriája (C) és a részecskék oldalirányú átlagos eltérése a felosztott területeken belül, a csillagok a Friedman teszt és a Dunn próba alapján szignifikáns különbség van a részecskék oldalirányú átlagos eltérésében (\* $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ,  $n=30$ ). A piros vonalak a standard deviációt jelölik. (D). Az autonóm chipre B vércsoportú vért cseppentve az anti-B-vel felületkezelt csatornában jól látható volt a szeparáció (E). [78]

### 4.2.3. Részecskék méretfüggő viselkedése komplex geometriai elemeket tartalmazó mikrocsatornában

A szeparációt végrehajtó eszközök áramlástani vizsgálata segít értelmezni azokat a hidrodinamikai jelenségeket, melyek elősegíthetik a részecskék méret szerinti szétválását.

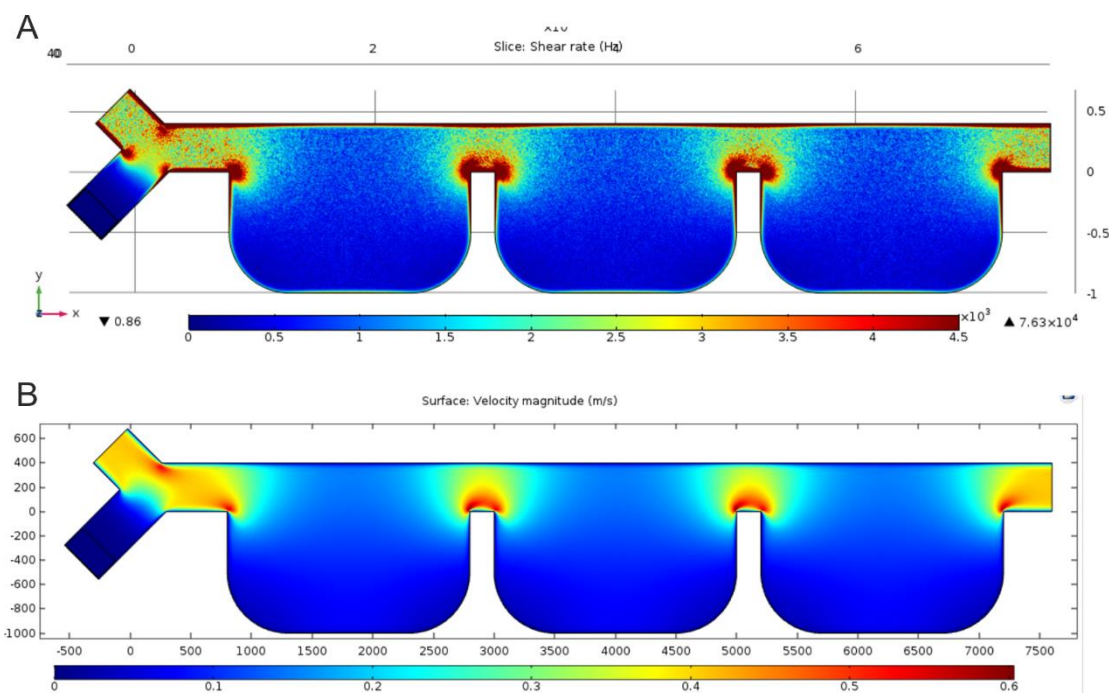


4.24. ábra – Nyomáseloszlás a mikrocsatornában. A diagram a fehér vonallal jelzett középvonal menti nyomáseloszlást mutatja. A nyomásesés nem egyenletes, a szűkületekben nagyobb a nyomás gradiens, mint a széles kamrákban.

A nyomáseloszlásra tekintve (4.24. ábra) láthatjuk, hogy a szűkületekben valósul meg a nyomásesés jelentős része, a kamrákon belüli nyomáscsökkenés alacsony. A mikrofluidikai rendszerek nyomásvezérelt rendszerek, a nyomásesés változása a mikrocsatornán belül sebességváltozással jár együtt. A csatorna szűkületeiben, ahol a nyomásgradiens nagyobb, a folyadék felgyorsul, a folyadékrétegek között így jelentős sebességkülönbség lép fel. A sebességgradienst nyírósebességnek (*shear rate*) nevezzük.

A 4.25. ábrán látható, hogy a szűkületekben a nagy nyomásesés mellett nagy a nyírósebesség is, mely a részecskék elválását segíti, de a csatornába helyezett sejtekre a túl nagy nyírás sejtkárosító hatással is lehet [130]. A csatorna alsó (minta) és felső (támaszfolyadék) bemenetén 0,01  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  a bemeneti térfogatáram. A támaszfolyadék alkalmazása esetünkben elősegíti

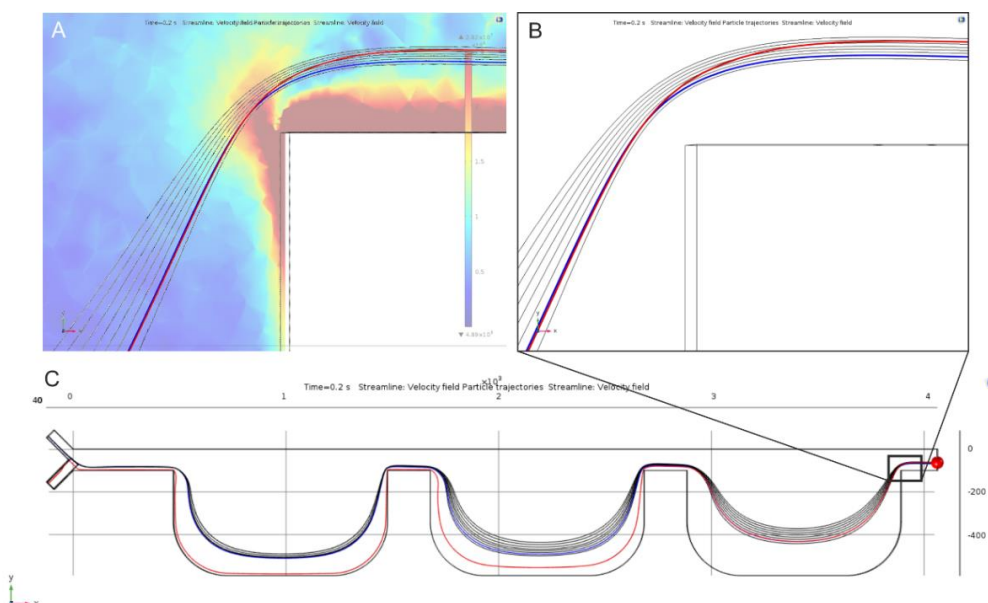
a nyírási jelenségek kialakulását és ezzel növeli a tervezett mikrofluidikai rendszer funkcionális hatékonyságát.



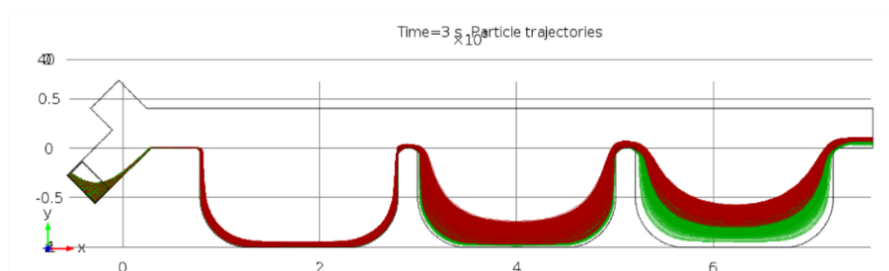
4.25. ábra – A mikrocsonában fellépő nyírósebességek (A) és sebességmező (B) a csatorna középsíkjában. A különböző sebességű folyadék rétegek között nyírófeszültség lép fel. A kialakuló nyíróerő a jelentős folyadéksebesség változásoknál, az alacsonyabb és a magasabb térfogatáramú bemenet találkozásánál, valamint a csatornaszűkületek szélén a legjelentősebb.

Egy részecske trajektóriáját az áramvonalakkal együtt megjelenítve (4.26. ábra) nyomon követhetjük a mikrocson szeparációs elvének működését. A részecske (pirossal jelölve) a szakirodalomban tapasztaltakkal összhangban [91] a szűkülethez érve letér az addig követett áramvonalról (kézzel jelölve), egy másik áramvonalon folytatja az útját. A harmadik kamrában a kézzel megjelölt áramvonallal egybeeső trajektória az első kamrában még a csatorna alsó szélé felé helyezkedett el. A kinagyított részen (4.26.B ábra) megfigyelhető az a pont, ahol a csatornaszűkületbe érve a többnyílású mikrocson szeparációs elve szerint a részecske a kézzel jelölt áramvonalról egy másik áramvonalra tér át. Az eltérés a magas nyírású csatornarésznél történik meg. A nyírósebességet a trajektóriával és az áramvonalakkal együtt megjelenítve (4.26.A ábra) látszik, hogy a részecske a magas nyírású csatornarészen tért le az addig követett áramvonalról. Az eltérés mértéke méretfüggő, így segíti a csatornaszűkület a részecskék méret szerinti elválasztását.

A részecskék egymáshoz viszonyított helyzetét a csatorna mentén haladva Poincaré-metszetek készítésével figyelhetjük meg. Ezek a metszetek (4.28. ábra) a részecsketrajektóriákat merőlegesen metszik, a részecskék középpontjai pontokként jelennek meg rajta. A pontokat méretük szerint színezve nyomon követhetjük a különböző méretű részecskék egymáshoz viszonyított helyzetét a mikroszatornán végighaladva. A metszeteken látszik, hogy a bemeneten összekevert részecskék (4.28.B ábra) méret szerinti szétválása a csatornaszűkületekben történik meg, a kiszélesedésekhez érve pedig távolabb kerülnek egymástól. A kimeneti keresztmetszeten számolt részecskeeloszlás ábrán látható, hogy a két populáció közt átfedő terület kicsi (4.28.J ábra). A számolt átfedés érték  $0,01 \mu\text{l/s}$  bemeneti minta és  $5 \mu\text{l/s}$  bemeneti támaszfolyadék térfogatáramok esetén  $0,316$  volt.



4. 25. ábra – Részecsketrajektória elválása a folyadék áramvonalaktól. A részecske trajektóriáját piros, az áramvonalakat fekete és kék vonalak jelölik. A színskála a nyírófeszültséget mutatja. Látható, hogy a részecske a magas nyírású csatornarészen tért le az addig követett áramvonalról. Az áramlás balról jobbra halad.



4.27. ábra – Modellezett részecsketrajektóriák. Az ábrán látszik, ahogy a bemenet közelében a puffery folyadék a csatorna jobb széléhez szorítja a részecskéket, majd a kiszélesedéseken és szűkületeken áthaladva a  $10 \mu\text{m}$  (zöld) és a  $16 \mu\text{m}$  (piros) átmérőjű részecskék elkezdnek elválni egymástól  $0,01 \mu\text{l/s}$  és  $5 \mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok esetén.



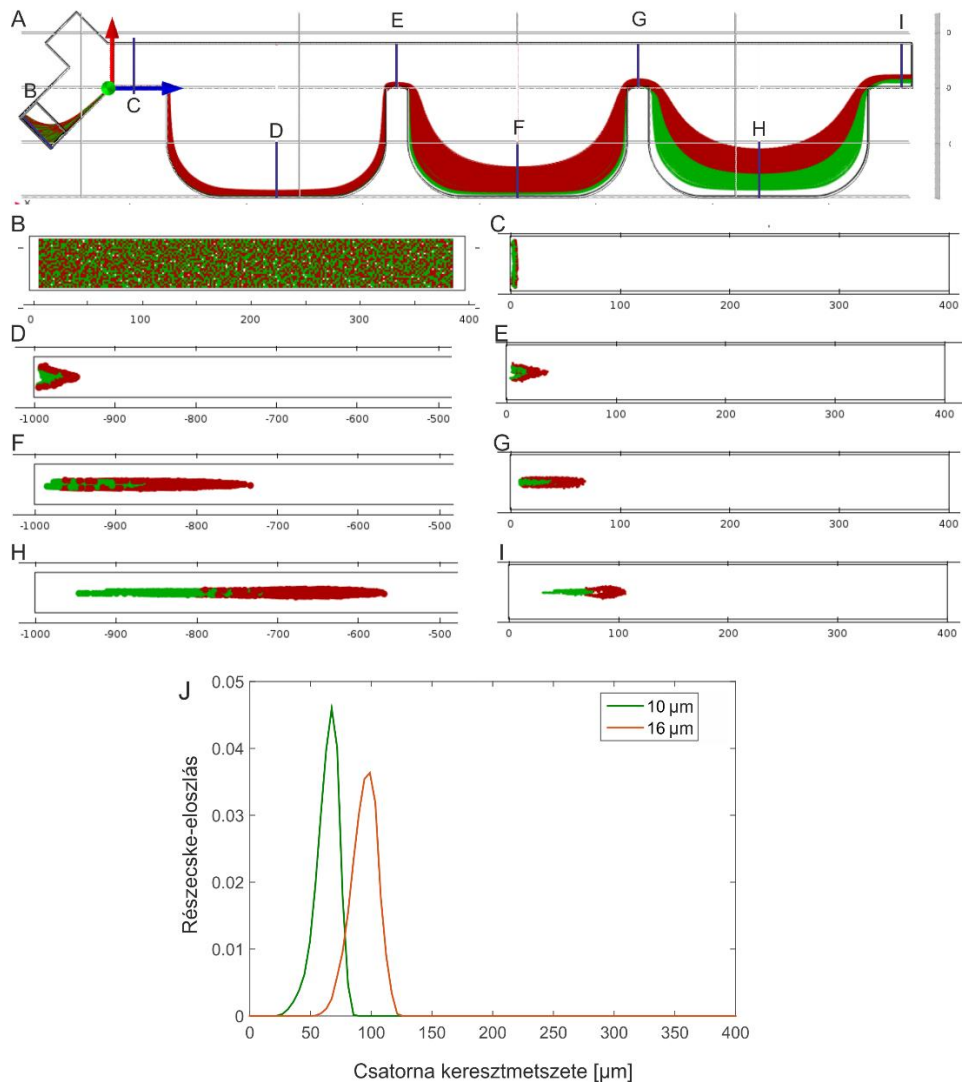
A részecskék közötti méretkülönbségnek is szignifikáns hatása van az elválasztás hatékonyságára. Az egyik részecske méretét 6  $\mu\text{m}$ -ben rögzítve és a másik részecske méretét változtatva figyeltük az elválasztás hatékonyságát jelző átfedő terület nagyságát (4.29. ábra). Ennek a területnek a mérete csökken a méretkülönbség növekedésével. Általánosságban megállapíthatjuk, hogy a kisebb részecskeméretre felé az elválasztást (trajektóriaváltást) generáló hidrodinamikai effektusok hatása csökken, vagyis egy bizonyos mérettartomány alatt az ilyen passzív módszer nem alkalmazható.

Kétféle térfogatáram párral (0,1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  valamint 1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  értékek) megvizsgálva az összefüggést jól látható, hogy ahol nagyobb a két bemeneti térfogatáram közti különbség, ott az átfedés görbéje meredekebben esik. Az elválasztás hatékonysága tehát gyorsabban javul. A két sebesség közötti különbséget azonban nem növelhetjük meg túlságosan a fellépő nyírófeszítés miatt, mely sejtapoptózishoz is vezethet [131]. A legnagyobb térfogatáram-különbség esetén (0,01  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok mellett) mért legnagyobb nyírósebesség érték a csatornán belül 4500  $1/\text{s}$ , mely a víz dinamikai viszkozitásával megszorozva 4,5 Pa, azaz 45  $\text{dyn/cm}^2$  nyírófeszítésnek felel meg. Leverett és munkatársai [131] 1500  $\text{dyn/cm}^2$  nyírófeszítés felett tapasztalta a vörösvértestek károsodását. Leytin cikkében [132] leírja, hogy 117-388  $\text{dyn/cm}^2$  érték mellett, mely kóros érzékület esetén fordul elő, megtörténik a vérelemezek-aktiváció, és apoptózist is előidézhethet. A fiziológiás nyírófeszítés az artériákban és arteriolákban 11-60  $\text{dyn/cm}^2$  között mozog [133]. Látható, hogy az alkalmazott paraméterek mellett a mikrocatornában fellépő legnagyobb nyírófeszítés nem lépi túl a fiziológiás körülményeket.

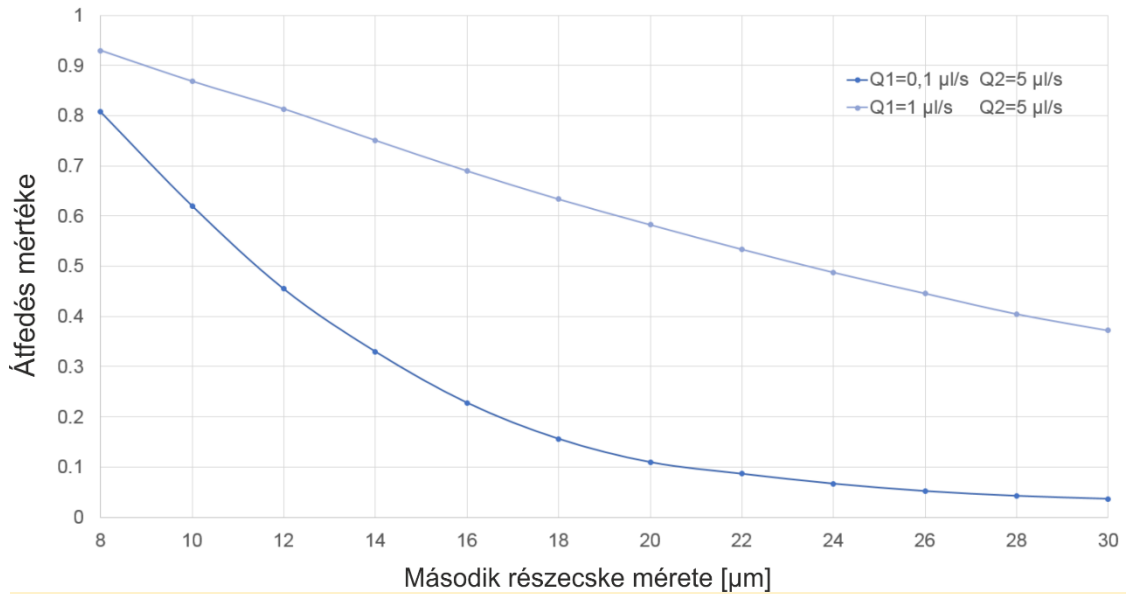
Megvizsgáltam a bemeneti térfogatáram-arány hatását is az elválasztás hatékonyságára. A pufferoldat bemeneti térfogatáramát ( $Q_2$ ) 5  $\mu\text{l/s}$  értékben maximalizáltam, hogy a túl magas nyírófeszítést elkerüljem és a numerikus megoldás stabil maradjon. A mintaoldat bemeneti térfogatáramánál ( $Q_1$ ) 0,01  $\mu\text{l/s}$  értéket állítottam be legalacsonyabb értéknek. A 4.30. ábrán foglaltam össze a különböző térfogatáram-arányok mellett tapasztalt átfedés értékeket. A nagyobb térfogatáram-arányok irányában javul az elválasztás hatékonysága (csökken az átfedő területek nagysága), adott arány esetén pedig a nagyobb összsebességet biztosító paraméterek mellett jelentősebb az effektus, ahogy az a hidrodinamikai nyírási jelenségek erősödése miatt várható. A tendenciát a mérési eredmények is alátámasztják.

A mikrocatorna hossza az elkészült kísérleti eszközön adott volt, de arra is szerettem volna választ kapni, hogy az adott bemeneti térfogatáram paraméterek és a PFF működési elvét figyelembe véve mennyire jelentős a szűkületek (számának) szerepe az elválasztás

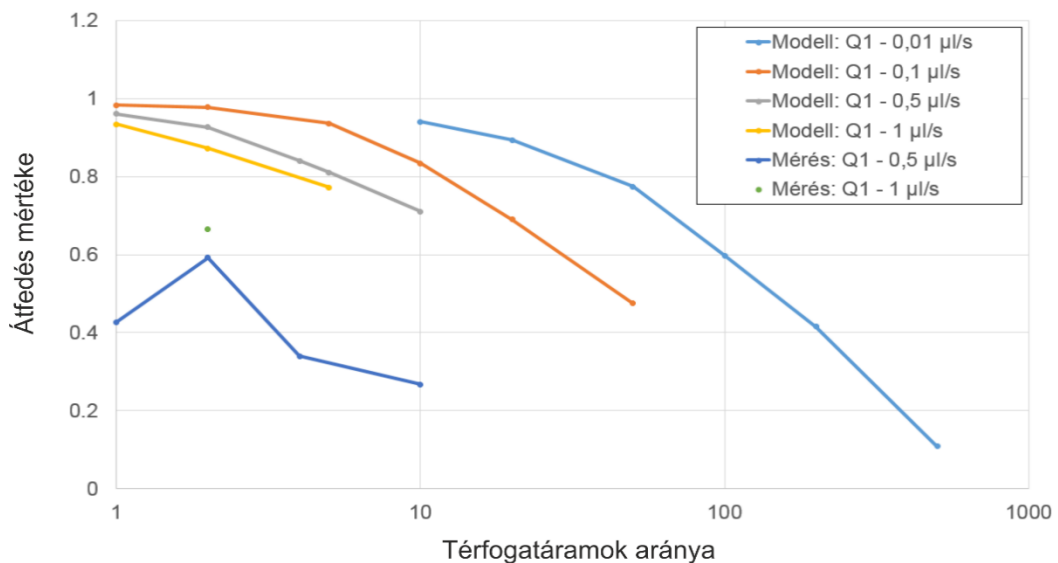
hatékonyságának növelésében. Meghosszabbítottam tehát a mikrocsonna modellt, hogy az eddigi három kamra és szűkület helyett hat kamrát és szűkületet vizsgálhassak. A modellezés során négyféle esetet vettem figyelembe, az első esetben az eddigi három szűkület után nem volt számottevő az elválasztás 0,1  $\mu\text{l/s}$  és 0,2  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok mellett. A második esetben történt ugyan elválasztás, de az nem volt hatékony, a térfogatáramok 0,5  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  voltak. A harmadik esetnek a leghatékonyabb elválasztást választottam 0,01  $\mu\text{l/}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok mellett. A negyedik esetet 2  $\mu\text{l/s}$  és 3  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramokkal úgy választottam ki, hogy szintén gyengébb legyen a szeparáció, de térfogatáramok összege 5  $\mu\text{l/s}$  legyen. A 4.31. ábra foglalja össze a modellszámítások eredményeit. Minden szűkület után megvizsgáltam a Poincaré metszetet, majd kiszámítottam az átfedést. Tapasztalataim alapján a szűkületek számának növelése csak ott javította számottevően az elválasztás mértékét, ahol az eddigi, három szűkületet tartalmazó csatornában is jelen volt ez a hatás, az átfedés mértéke 90% alatt volt. A kezdetben is hatékonyabban működő paraméterbeállítások melletti elválasztás nagyobb mértékben javult, vagyis a geometriai kontrakciók számának növelésével sem küszöbölhető ki a nagyobb tömegáram arány alkalmazása. Az eredmények alapján az mondható, hogy esetünkben 4-5 kontrakció beiktatása fölött már nem javul jelentősen a szeparációs határfok.



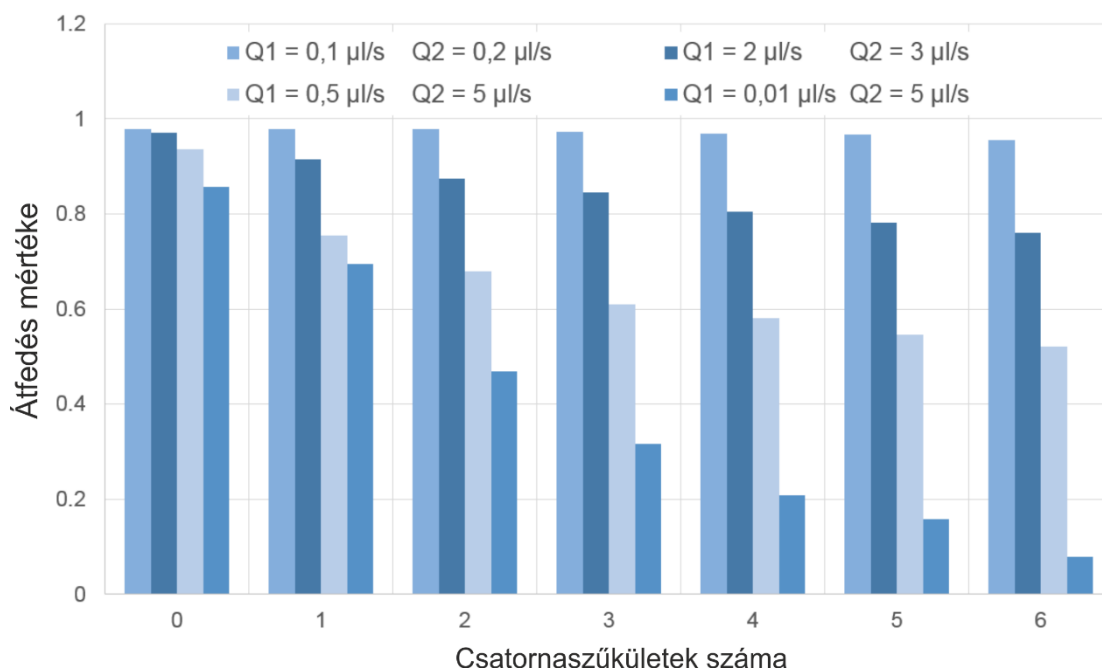
4.28. ábra – Poincaré metszetek a csatorna mentén. A metszetek helyét az A ábrán található vonalak jelölik. A bemenethez közel (B) a részecskék összekeverve helyezkednek el, a pufferozat a részecskéket a csatorna oldalához szorítja (C), majd a kiszélesedéshez érve a részecskék jobban széthúzódnak (D). A szűkületekben a két részecskeméret (10  $\mu\text{m}$  – zöld, 16  $\mu\text{m}$  – piros) egyre jobban elválik egymástól. A kimenetnél (I) a két részecskehalmaz jól elkülönül. A részecskék kimeneti metszetéből számolt eloszlási görbék (J). A két populáció közötti átfedés minimális 0,01  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok esetén.



4.29. ábra – Részecskék méretkülönbségének hatása az elválasztás hatékonyságára. Az egyik részecske méretét 6 µm-en rögzítve, és a másik részecske méretét változtatva látszik, hogy az eloszlások közötti terület csökken, az elválasztás hatékonysága tehát nő. Nagyobb sebességkülönbség esetén ez a görbe meredekebb.

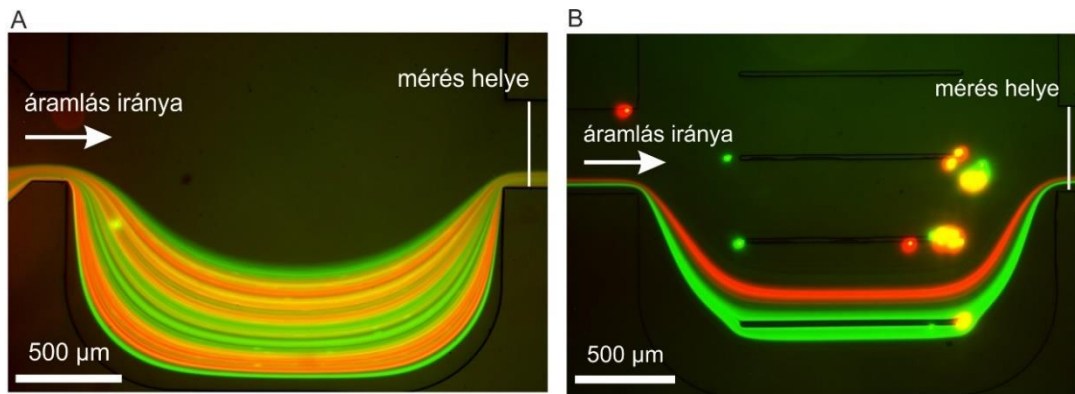


4.30. ábra – Bemeneti térfogatáram-arányok hatása az elválasztás hatékonyságára. Az arány növelésével javul az elválasztás hatékonysága. Minél kisebb a minta bemenetének térfogatárama, annál meredekebben javul az elválasztás hatékonysága. A részecskék mérete 10 µm és 16 µm.

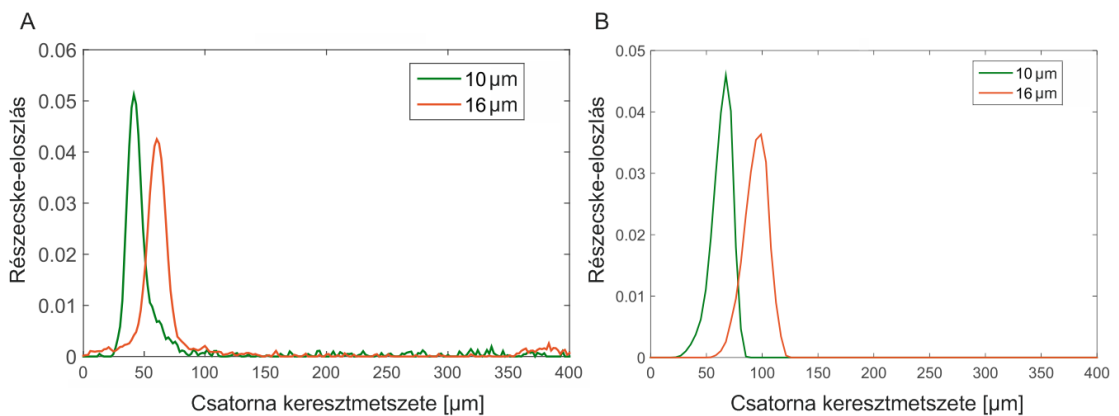


4.31. ábra – A csatornaszűkületek számának hatása az elválasztás hatékonyságára. Minél több kamrából és szűkületről áll a csatorna, annál hatékonyabb a részecskék elválasztása. A hatékonyság növekedése viszont csak olyan paraméterbeállítások mellett jelentős, ahol a kevesebb szűkületet tartalmazó csatornánál is elkezdődött az elválasztás.

A modelleredmények ellenőrzésére szolgáló mérések során a FITC és a DAPI szűrővel készített képeket egy kétcsatornás képpé kombinálva jelenítettem meg egymáson a kétféle részecskeméret trajektóriáit méret szerint megjelölve a bemeneti és a kimeneti mérőablakoknál 0,5 µl/s és 5 µl/s beállított bemeneti térfogatáramok esetén (4.32. ábra). Jól látszik, hogy míg a bemenetnél a trajektóriák nagy részben fedik egymást, a kimeneti mérőablaknál már elkülönül egymástól a két különböző méretű populáció. A mérés intenzitásgörbéjét a modellel a 4.33. ábrán összevetve tapasztalható, hogy a két részecskepopuláció átfedésének mértéke (0,316) sokkal nagyobb modellezett tömegáram-arány (0,01 µl/s és 5 µl/s) esetén közelíti meg a mérési eredményeket (0,345). Vagyis a kísérletek során nagyobb hatékonyságú szeparációt tapasztaltam a modellezettnél, már kisebb térfogatáram arányok beállítása esetén is. A többféle bemeneti térfogatáram mellett felvett intenzitásgörbe és az ezekből számolt átfedés értékek (4.30. ábrán) a mérésnél is megmutatta azt az összefüggést, amit a modellek esetében, a bemeneti térfogatáramok arányának növelésével, azaz nagyobb kezdeti nyírás mellett javult a szétválasztás aránya is. Itt a modelleknél számolt átfedés értékeknél alacsonyabb átfedést a térfogatáramok ingadozása, valamint a névleges értéknél kisebb bemeneti térfogatáram okozhatta.



4.32. ábra – Méréssel rögzített, két csatornából illesztett képek a bemeneti (A) és a kimeneti (B) mérőablakoknál. A  $10\ \mu\text{m}$  átmérőjű részecskéket zöld, a  $16\ \mu\text{m}$  átmérőjű részecskéket piros színnel jelöltük. A bemeneten még összekevert részecskék a kimenetre elválnak egymástól.

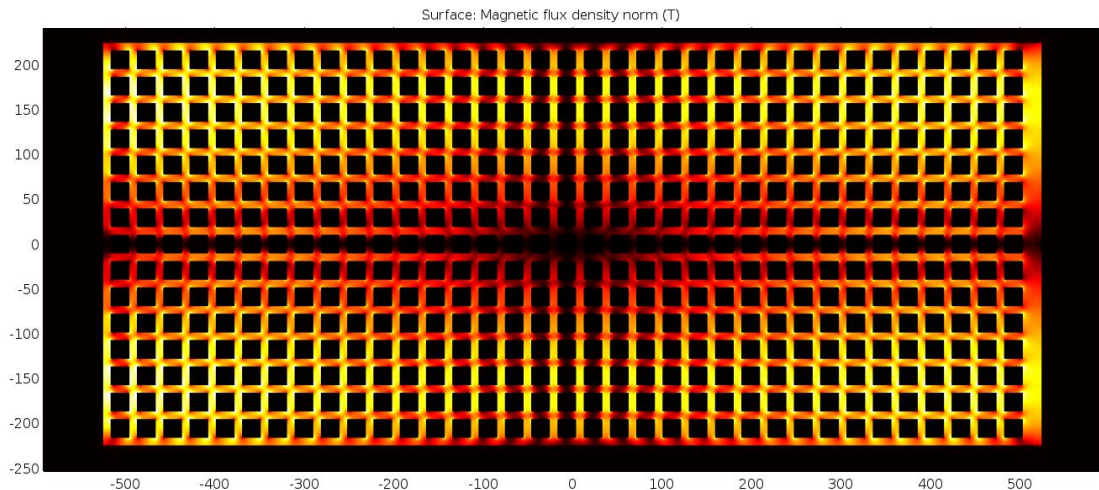


4.33. ábra – A mérés képének intenzitásanalízise (A) és a modell kimeneti részecskeeloszlása (B). A mérés és a modell kimeneti eloszlása jó kvalitatív egyezést mutat.

Megállapítható, hogy a trajektóriamodellel megfelelő módon írja le a komplex geometriával rendelkező csatornarendszerekben kialakuló hidrodinamikai hatásokat, és jó kvalitatív megbízhatósággal képes a különböző mérettel rendelkező részecskék (sejtek) viselkedését követni a bemutatott mikrofluidikai eszközökben. Ennek megfelelően a kidolgozott szimulációs technika hatékonyan segítheti diagnosztikai célú Lab-on-a-Chip eszközök mikrofluidikai rendszereinek tervezését.

#### 4.2.4. Mágneses módszerrel történő elválasztás

A mágneses módszerrel történő részecskeszeparáció típusai közül az időbeli szeparációt vizsgáltam a véges elemes modellezés segítségével. Ennél a szeparációnál a mágneses részecskéket megállítjuk és összegyűjtjük a csatornában a mágneses tér időbeli változtatásával, míg a folyadék továbbhalad. A mágneses fluxussűrűség képet ad az adott helyen átmenő mágneses erővonalak számáról. A csatorna aljára leválasztott permalloy (Fe-Ni ötvözet) réteg felületén vett fluxussűrűséget megjelenítve (4.34. ábra) megfigyelhetjük a réteg lokális mágneses erőter erősítő hatását. A hatás a négyzettrács élein erősebb, mint az élek közötti felületen, a részecskék nagyobb affinitással mozdulnak el ezek az élek felé, így alkalmasak lehetnek a részecskék lokális összegyűjtésére. A mágneses tér beállítása során egy kereskedelmi forgalomban kapható, a mérések során felhasznált Nd mágnes paramétereit vettem figyelembe, a mágneses térerősséget a mágnes felületétől 1 mm távolságban mérve, melynek nagyságát magnetométerrel ellenőriztem.

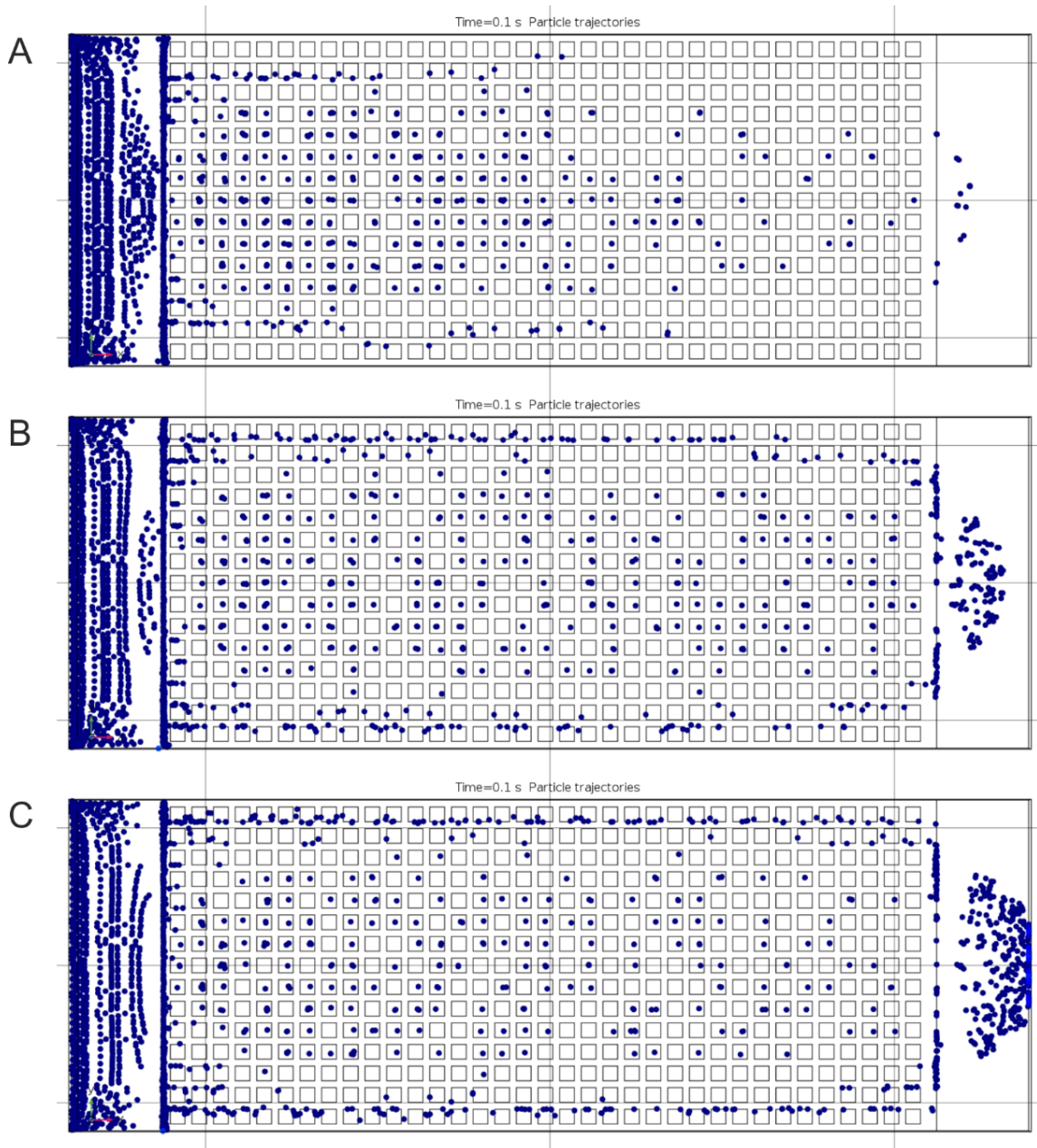


4.34. ábra – Mágneses fluxussűrűség a csatorna aljára leválasztott permalloy rétegen. A permalloy lokális mágneses teret erősítő hatása az éleken erősebb, mint a belső felületeken.

A mágneses modell felépítése után a lamináris áramlás modellezése következett, mely a négyzet keresztmetszetű, sima felületű csatornában az áramlásra jellemző parabolikus áramlási profilt hozta létre. A mágneses mező a folyadékra nem hat, de az eredmény adathalmazában a kiszámított mágneses mező is jelen van. Ebbe az áramlási mezőbe helyeztem bele a paramágneses részecskéket.

Különböző térfogatáramok mellett vizsgáltam a részecskék viselkedését, hogy képet kapjak a csapdázásuk során kialakuló térbeli eloszlásokról, valamint a paraméter függvényében a sikeresen csapdázott részecskék arányáról. 3  $\mu\text{l/s}$ -os térfogatáram mellett (4.35.A ábra) sok

részecske a csatorna aljára tapadt mielőtt elérte volna a fém segédrácsot. 4  $\mu\text{l/s}$ -nál (4.35.B ábra) szintén teljes volt a csapdázás, itt azonban a részecskék a rács kezdő éle után egyenletesebben oszlottak el a csatorna hossza mentén. 5  $\mu\text{l/s}$  térfogatáramnál (4.35.C ábra) és afelett a csapdázás nem teljes, a csatorna aljához tapadt részecskék aránya a térfogatáram növelésével folyamatosan csökken (4.7. táblázat). 5  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram alatti értékeknél tehát a részecskék 100%-a csapdázható az áramlás leállítása nélkül, 20  $\mu\text{l/s}$  felett azonban már 50%-nál nagyobb veszteséggel kell számolni. A fémrácsra letapadt részecskék aránya az összes letapadt részecskeszámától egy kevéssel elmarad.



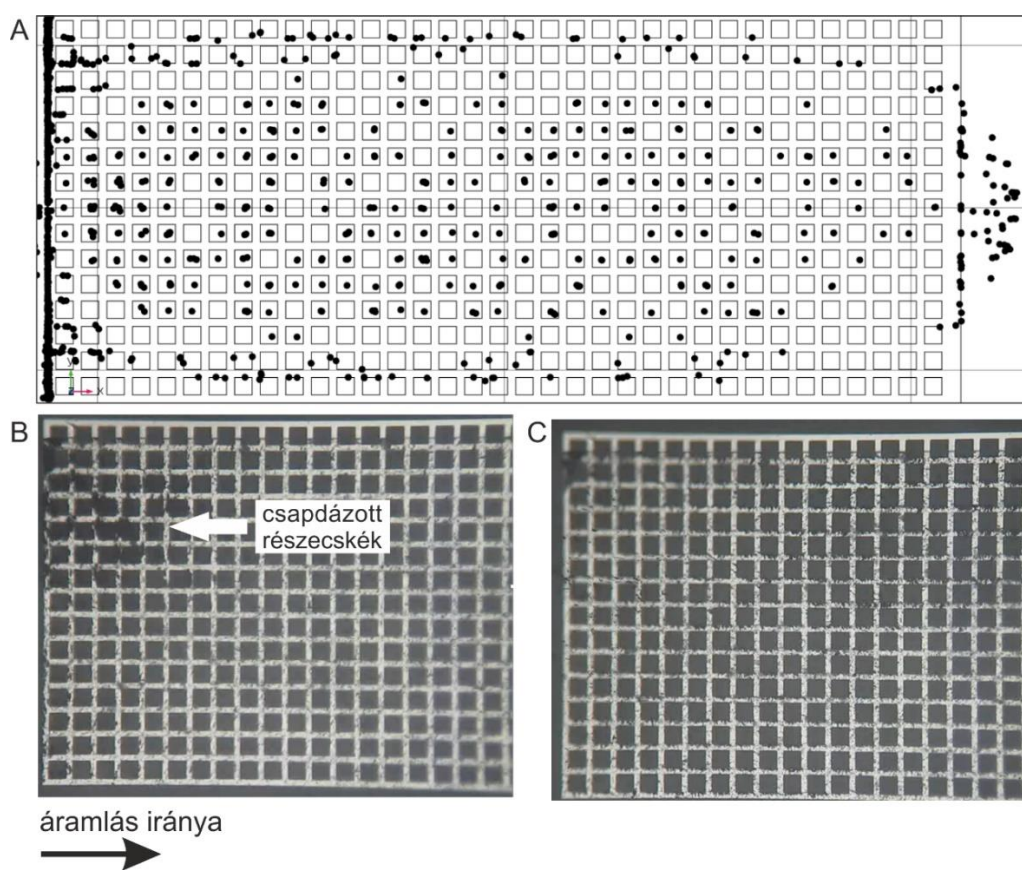
4.35. ábra – Mágneses részecskék csapdázása 3  $\mu\text{l/s}$  (A), 4  $\mu\text{l/s}$  (B) és 5  $\mu\text{l/s}$  (C) térfogatáramok esetén.



4.7. táblázat – Csapdázott részecskék aránya különböző térfogatáramok esetén

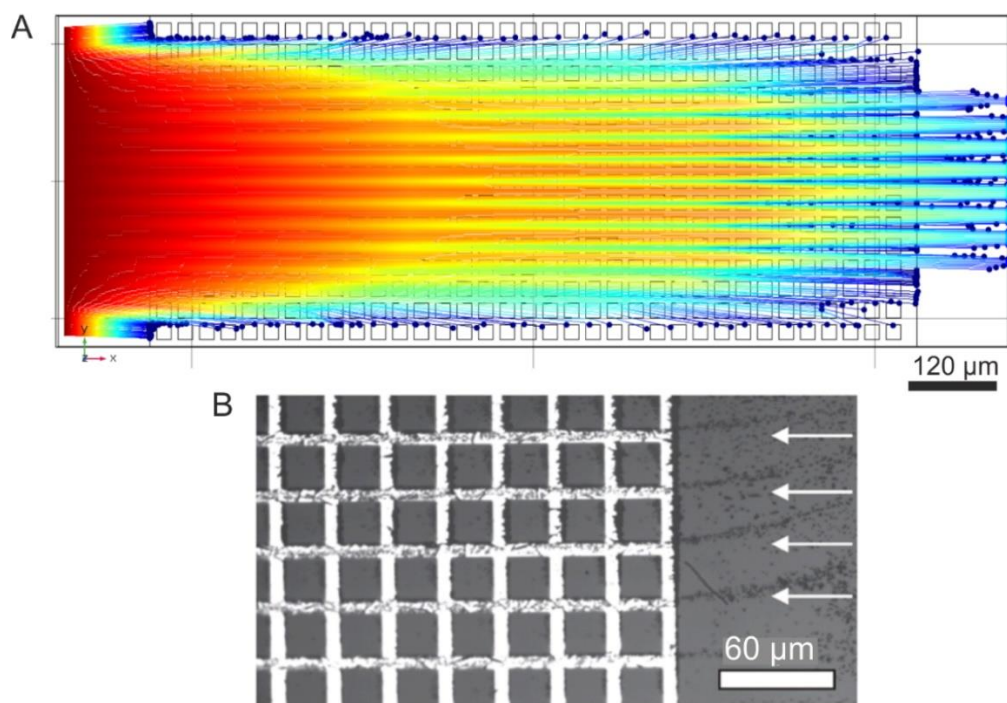
Térfogatáram ( $\mu\text{l/s}$ )	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<b>Rácson csapdázott részecskék aránya</b>	96%	83%	75%	68%	62%	59%	55%	52%	49%
<b>Csatornában csapdázott részecskék aránya</b>	100%	91%	80%	71%	65%	62%	58%	56%	51%

A modelleredményeket az elkészült eszközön végzett mérésekkel hasonlítottam össze. A mérés során a modellezett részecskékhez hasonlóan a mágneses részecskék a négyzetrács éleit részesítették előnyben különös tekintettel a belépőélre (4.36.B ábra).



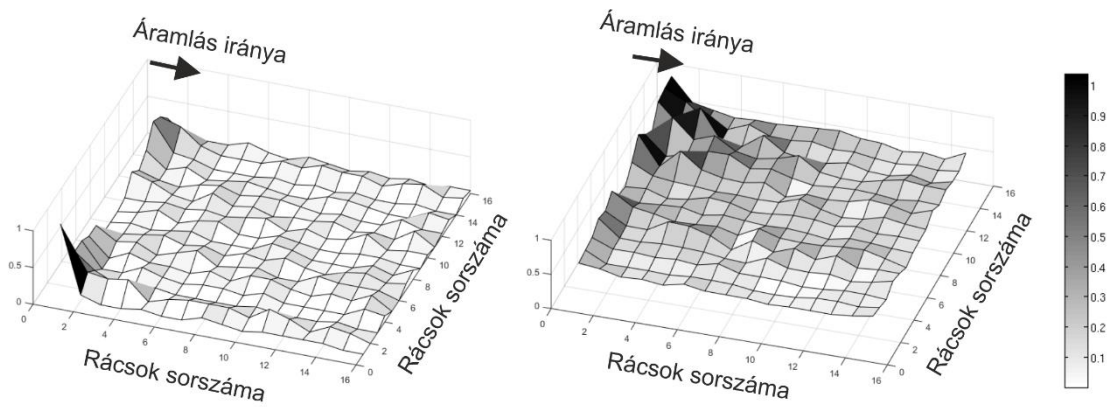
4.36. ábra – Részecskék teljes mágneses csapdázása a numerikus modellben  $3,5 \mu\text{l/s}$  térfogatáram mellett (A). A csapdázás az első élnél a legerősebb, a nagyobb sebességgel rendelkező részecskék eloszlanak a csatorna teljes hosszában. A részecskék elfogása és elengedése mikroszkópos felvételen (B), a részecskék itt is a belépő oldalt részesítik előnyben. A folyadék balról jobbra áramlik mindkét esetben.

A mérés során nagyobb térfogatáramok mellett azt tapasztaltuk, hogy a részecskék a négyzetrácsot a hosszanti élek mentén összegyűlve hagyják el (4.37.B ábra). A négyzetrács rendező hatását a modellezés során is megfigyeltem magasabb, pl. már  $5 \mu\text{l/s}$  térfogatáram mellett (4.37.A ábra).



4.37. ábra – Mágneses részecskék modellezett trajektóriája  $5 \mu\text{l/s}$  térfogatáramnál (A) és a mikrocsatornába helyezett mágneses részecskékről készült mikroszkópos felvétel (B). A modellezett részecskék színe azok aktuális magasságát jelöli. A modell és a mérés esetében is a rács élei mentén helyezkedik el több részecske, a rács elhagyásakor sorokba rendeződnek. A folyadék balról jobbra áramlik mindkét esetben.

A csapdázott részecskék modellszámítás és a mérés során megfigyelt térbeli eloszlását is összevetettem. A csatornát a négyzetrács mentén osztottam fel, majd megszámláltam az egyes cellákba jutó részecskéket a modell esetében, illetve a részecskék számának arányát a mérés során készített képeken. A kísérletek során a részecskék eloszlását összehasonlítottam az invertált képeken egyes cellában mérhető összintenzitással (fekete részecskéket feltételezve) (4.38. ábra). A modell esetében a csatorna bemeneténél jól látszik a parabolikus áramlási profilból adódó részecskeeloszlás, itt a csatorna két szélén lassabban haladó részecskék egy részének csapdázása már a négyzetrács kezdeti szakaszán megtörtént (4.37.A ábra). A mérésnél a részecskék a csatorna bal oldalán gyűltek össze (4.36.B ábra), mely az aszimmetrikus bemeneti részecskeeloszlással magyarázható a mikrocsatornában. Az áramlás irányában a csapdázott részecskék számának csökkenése ebben az esetben is tapasztalható.



4.38. ábra – Modellezett (a) és mért (b) részecskeeloszlás a négyzetrácson Matlab programmal kiértékelve. A részecskék többsége a csatorna elején kitapad, a részecskeszám az áramlási irányban folyamatosan csökken.

Az alkalmazott multimodális szimulációval egyszerre modelleztem a mágneses mező és az áramlási tér kialakulását, valamint ezek közös hatását paramágneses részecskék mozgására és csapódására a komplex mikrofluidikai rendszerben. A modell alkalmas aktív magnetoforetikus szeparációt megvalósító mikrofluidikai rendszerek kvalitatív előzetes jellemzésére és tervezésére.

## 5. Összefoglalás

### 5.1. Új tudományos eredmények

**I. Részecsketrajektória alapú csatolt végeelem modellt dolgoztam ki kaotikus mikrokeverők működésének hatékony leírására, mely alkalmas teljesítőképességük kvantifikálására és ezáltal eltérő geometriák összehasonlítására. A modell eredményeit kísérleti eredményekkel validáltam.**

**I.a. Összehasonlítottam a koncentráció- és a trajektóriaalapú modellek teljesítőképességét és erőforrásigényét. Megmutattam, hogy a trajektóriaalapú modell alkalmazásával a numerikus diffúzió hibája elkerülhető, ezáltal alacsonyabb hálófelbontás mellett, kisebb erőforrásigénnyel kvalitatívan megfelelő pontosságú szimulációs eredmény kapható közel egy nagyságrendnyi futásidőcsökkenés mellett. [F4, K9]**

A numerikus diffúzió jelensége megnöveli a mikrokeverők modellezésének számítási igényeit. Nem megfelelő hálófelbontás esetén a modell hamis diffúzióval túlbecsüli a keveredés mértékét. Trajektóriaalapú modellezésnél a numerikus diffúzió kiküszöbölhető, így kevésbé finom számítási hálófelbontás mellett is jó közelítő eredményt kaphatunk a keveredési jelenségek szimulációjakor (4.2. ábra). A számítási háló diffúziós modellezéséhez szükséges konvergenciavizsgálat során a mikrokeverő egy alegységére periodikusan visszacsatolt modellt készítettem, mely lehetővé tette a kb. 7 500 000 elemszámú hálón végzett számítást a rendelkezésre álló szerveren. A diffúziós modellnél elfogadott (0,5% hiba mellett) számítási hálón a futásidő 1 óra 3 perc 16 másodperc volt, míg a trajektóriaalapú modellnél csupán 6 perc 51 másodperc. A futásidő tehát közel egy nagyságrenddel csökkent a részecske alapú modellezés esetében. Míg a diffúziós modellben a molekulák populációként nem megkülönböztethető módon jelennek meg, addig a trajektóriamodellel lehetővé teszi az egyes részecskék helyzetének időfüggő követését.

**I.b. Elemeztem az aszimmetrikus halszáлка típusú kaotikus mikrokeverő geometriájának a részecskekeveredési hatékonyságra gyakorolt hatását. Megmutattam, hogy a halszáلكák vastagságának és ciklusonkénti darabszámának növelésével kevesebb keverési ciklus mellett is duplájára növelhető a keverés hatékonysága az általam vizsgált paraméterterben. [F1-F4, K1-K9]**

A korábbi vizsgálatok nem taglalták, hogy rögzített csatornahossz mellett mekkora az optimális halszáلكa szélesség, illetve a cikluson belüli darabszám: a több transzverzális csatorna kialakítása, vagy több keverési ciklus vezet-e jobb keveredéshez. E paraméterek

vizsgálatára hatféle geometriát hoztam létre háromféle halszálka szélességgel, valamint a halszálkák ciklusonkénti darabszámának és a ciklusok számának változtatásával. (3.1. táblázat). A keveredés hatékonyságát kétféle paraméterrel is jellemeztem: a csatorna két ellentétes térfélén adott pillanatban található részecskék arányszámával (4.2. táblázat), illetve a Ljapunov-kitevővel (4.3. táblázat). A keveredésről kvalitatív képet a Poincaré-metszetek befoglaló körvonalának definiálásával és azok területének összehasonlításával kaptam (4.6. ábra). A vizsgált geometriákba a halszálka csatornák szélességét változtattam 30-35-40  $\mu\text{m}$  között, és ennek megfelelően választottam meg a cikluson belüli számukat és a ciklusok számát is 4/6, 6/4, 4/5, 5/4, 4/5, 5/4. A legjobb keveredést a 40/5/4-es elrendezés nyújtotta 0,4526-os hatékonysági index mellett (az optimális keveredésnél ez az index 0,5 lenne – minkét térfélben ugyanannyi részecske lenne található), melynél a halszálkák szélessége 40  $\mu\text{m}$ , egy keverési alegység 5 db halszálkát tartalmaz, és a keverő 4 keverési egységből áll. A második legjobb keveredés szintén a 40  $\mu\text{m}$  széles halszálkákat tartalmazó 40/4/5-ös geometriához tartozott. Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a halszálkák szélességének és a keverési egységenkénti darabszámának növelésével a keveredés javítható kevesebb keverési ciklus mellett is. A legrosszabb és a legjobb hatékonyságú geometriák között az eltérés négyszeres volt.

**I.c. A szimulációs eredményeket mind molekula- mind részecskekeveredési kísérletekkel validáltam PDMS-ben kétrétegű lágylitográfiával megvalósított mikrofluidikai rendszerekben. Megállapítottam, hogy az általam definiált modell korlátozott erőforrásigény mellett is alkalmas mikrofluidikai rendszerek kvalitatív jellemzésére. [F1-F4, K1-K9]**

A halszálka-keverő mérése során megvizsgáltam a diffúzió- és a trajektóriaalapú keveredést is. A diffúzióalapú keveredés vizsgálatánál ételfestékkel kvalitatív, a fluoreszcensen jelölt HSA-val pedig kvantitatív mérési eredményekhez jutottam. A jelölt molekulával készített felvételen a csatorna kimenetén felvett intenzitásgörbét hasonlítottam össze a modell középvonalon vett kimeneti koncentráció-eloszlásával (4.8. ábra). Az eredmények jó egyezést mutattak. A trajektóriaalapú modell esetében az élesztőgombák sötétlátóteres mikroszkóppal készült felvételén vett kimeneti intenzitásgörbét vettem össze a modellezett kimeneti részecskeeloszlással (4.9. ábra). A mérési eredmény itt kismértékben eltért a modellezett eloszlástól, melyet azzal magyarázhatunk, hogy a feldúsult, fedésben lévő élesztőgombák a sötétlátóteres mikroszkópfelvételen alacsonyabb összintenzitást adnak (az intenzitás tehát nem lineáris függvénye az adott képsíkban található gombák számának). A görbén a lokális csökkenés helye megegyezik a modellezett eloszlás csúcs helyével.

**II. Az általam felépített trajektóriaalapú modell alkalmazásával vizsgáltam a részecsketranszport paraméterfüggését komplex mikrofluidikai szeparációs rendszerekben. A szimulációs eredmények alapján megvalósított mikrorendszerek viselkedésének kísérleti vizsgálata után javaslatot tettem a tervezett elválasztási funkciókhoz optimalizált eszközök strukturális felépítésére.**

**II.a. Zweifach-Fung bifurkáción alapuló vérplazma-szeparációs elvet alkalmazó kaszkád mikrofluidikai elrendezés esetén vizsgáltam ismétlődő áramlástranszformációs alrendszerek integrálásának hatását a plazmaelválasztásra. Modellszámításokkal és kísérleti módszerekkel bizonyítottam, hogy az általam javasolt geometria alkalmas sejtmentes réteg létrehozására és annak periodikus megújítására kaszkád rendszerben. [F5, K10, K11]**

Hatféle geometria hidrodinamikai vizsgálatát végeztem el, melynek során tanulmányoztam a különféle kiszélesedésekben megjelenő örvényeket, illetve meghatároztam kimeneti csatornáik plazmahozamát (4.4. táblázat). Trajektóriamoddellel vizsgáltam a sejtmentes réteg létrejöttét különböző térfogatáramok mellett a hat geometriában. Megállapítottam, hogy a kiszélesedéseket tartalmazó mikrocsatornáknak  $0,5\text{--}2\ \mu\text{l/s}$  térfogatáram-tartományban működési optimuma van (4.14. ábra). A mérések során igazoltam, hogy a különböző térfogatáram-tartományokban különböző módon alakulnak ki örvények a kamrákban (4.15. ábra). A hat geometriában a mérés során minden esetben kialakult a sejtmentes réteg, annak vastagságát azonban a 2. és a 4. geometria esetében a modell alábecsülte (4.17. ábra). A mért és a modellezett sejtmentes rétegvastagság közötti eltérést a gyártás, illetve kísérlet során eltömődött oldalcsatornákkal magyarázhatjuk. A kísérletek során sikerült igazolni a működési optimumot is a megadott térfogatáram-tartományban (4.18. ábra).

**II.b. Létrehoztam egy aktív időfüggő háromdimenziós magnetoforetikus elválasztási elvű modellt, amelyben a részecsketranszport aktív mágneses elven vezérelhető. A modell tartalmazza a mágnesezhető anyagok tulajdonságait és több mérettartományt és fizikai elvet kezel hierarchikusan. Kísérleti elrendezésben demonstráltam a szeparációs elv működését. [F6, K12, K13]**

A magnetoforetikus elven történő elválasztás során céloom a mágneses részecskék csapdázása volt a mikrocsatornában. A chip alatt elhelyezett neodímium mágnes által létrehozott mágneses teret a mikrocsatorna alján elhelyezett mágnesezhető permalloy réteg lokálisan felerősíti úgy, hogy a részecskék csapdázása megadott helyen történjen meg. A modellezés során a mágneses modellelre épült az áramlási modell, annak az eredményére pedig a trajektóriamoddellel. A modellezés során megvizsgáltam a permalloy négyzettrács hatását a mágneses részecskék csatornabeli eloszlására a térfogatáram függvényében (4.35. ábra).

Megállapítottam, hogy 4  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram alatti tartományban a részecskék csapdázása teljes, valamint 4-20  $\mu\text{l/s}$  térfogatáramtartományban a részecskék csapdázása 51-91%-os (4.7. táblázat). A modellezés során tehát meghatároztam azt a működési tartományt, melynél a részecskék csapdázása úgy lehetséges, hogy közben felettük folyadék áramlik. A kísérlet során a mágneses részecskék csapdázása sikeres volt (4.36. ábra), Magasabb térfogatáram mellett a részecskék a négyzetrács hosszanti élei mentén rendezve hagyták el a vizsgált területet, ahogy azt a modell mutatta (4.37. ábra).

### **III. Demonstráltam a trajektóriamodell alkalmazhatóságát LOC rendszerek tervezéséhez.**

#### **III.a. Trajektóriamodell segítségével modelleztem immobilizált vörösvértestek hatását az áramlási térre, illetve az áramlással együtt haladó sejtekre. Megmutattam, hogy a modell alkalmas a letapadt sejtek áramlásmódosító és sejtekre vonatkozó retenciók hatásának pontos leírására, ezáltal segítve a diagnosztikai eszköz működésének megértését és tervezhetőségét. Javaslatot tettem az optimális csatornamagasságra, ami a vörösvértestek legkisebb méretének közel kétszeresére adódik. [F7]**

A letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrocsatorna modellezése során a vizsgált csatornageometriák létrehozására Matlab szkriptet készítettem, mely a COMSOL-nak adott utasításokkal generálja a csatorna alján véletlenszerűen elhelyezkedő vörösvértesteket reprezentáló akadályokat. Az akadályok áramlásmódosító, és ezáltal a sejtek mozgására gyakorolt hatását a mozgó sejtek kumulált y-z irányú elmozdulásával jellemeztem. Összevettem 7  $\mu\text{m}$  magas csatorna esetén 2-6  $\mu\text{m}$  magasság között indított részecskék kumulált elmozdulását (4.21. ábra), mely alapján az 5  $\mu\text{m}$  magas mikrocsatorna használata, valamint a 2  $\mu\text{m}$  magas indítási magasság mellett döntöttem. Ezen paraméterek használata mellett megvizsgáltam az akadályok áramlásmódosító hatását, mely az 5  $\mu\text{m}$  magas mikrocsatornában 2  $\mu\text{m}$  magas akadályok mellett 4  $\mu\text{m}$  magasságban készített áramlási metszeten látható (4.20.4.20. ábra) Kiszámítottam a kumulált elmozdulást 0%, 10%, 20%, 30% valamint 40% csatornalefedettség esetén, mely alapján megállapítottam, hogy 30%-nál nagyobb lefedettség esetén a részecskék kumulált elmozdulása visszaesik (4.6. táblázat). mivel a felületi borítottság miatt az oldalirányú elmozdulások elmaradnak. A modell eredményeit kísérleti eredményekkel vettem össze, ahol a részecskék oldalirányú elmozdulásának csatornalefedettségtől való szignifikáns függését tapasztalták, mely függött a csatornalefedettségtől (4.23. ábra). A modell eredményei jó egyezést mutattak a kísérleti eredményekkel. A kísérletek alapján a letapadt vörösvértestek áramlásmódosító hatása képes volt a teljes vér vörösvértestjeit visszatartani, és plazmaszeparációt indukálni a mikrofluidikai rendszerben.

**III.b. Szimulációs és kísérleti eszközökkel vizsgáltam részecskék transzportjának térfogatáramtól és részecskemérettől való függését szekvenciális mikrofluidikai rendszerben. Megmutattam az áramlásszűkületek hatására kialakuló nyírófeszültség trajektóriamódosító hatását, mely megalapozza a részecskék méretfüggő szeparációját. Az elválasztás hatékonysága növelhető a kiszélesedések és a szűkületek számának növelésével. [F8, K14-K16]**

A méret szerinti szeparációt megvalósító mikrocsonna modellezésénél megvizsgáltam a nyomáseloszlást, valamint a nyírósebességet a kamrákat és szűkületeket tartalmazó geometriában. A nyomásesés jelentős része a szűkületekre jut (4.24. ábra), valamint a folyadékrétegek között fellépő sebességkülönbségből adódó nyírás is itt a legjelentősebb (4.25. ábra). A trajektóriamoddellel megmutattam, ahogy egy részecske a magas nyírású területen tér át egy csatorna középvonala felé eső áramvonalra arról az áramvonalról, amelyen eredetileg haladt (4.26. ábra). A két különböző részecskeméret együtt történő modellezésénél megmutattam, hogy a szűkületekben a részecskék méretük szerint különválnak (4.28. ábra). A szeparáció kvantitatív vizsgálatára a két részecskeeloszlás-görbe által átfedő területet vezettem be mérőszámként és megvizsgáltam a bemeneti térfogatáram-arányok hatását az elválasztás hatékonyságára. Az átfedés mértéke meredeken csökkent a térfogatáram-arány növekedésével (4.30. ábra). Két térfogatáram-aránypár, 0,1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  valamint 1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  mellett vizsgáltam a két részecske méretkülönbségének hatását az elválasztásra. A szeparáció hatékonysága mindkét esetben nőtt a második részecske méretének növekedésével, a növekedés azonban meredekebb volt a nagyobb térfogatáramkülönbség esetében (4.29. ábra). Megmutattam, hogy az elválasztás hatékonysága bizonyos mértékig javítható a szűkületek számának növelésével (4-5 szűkület alkalmazása), ez a változás azonban csak olyan paraméterek mellett jelentős, ahol egy szűkületet tartalmazó csatorna vizsgálata során is kimutatható a jelenség, tehát az átfedés 90% alatti volt (4.31. ábra). A kísérletek során készített többszörös felvételekkel, valamint azok intenzitáselemzésével megmutattam, hogy csatornában a 10  $\mu\text{m}$  és 16  $\mu\text{m}$  átmérőjű részecskék szeparációja végbemegy (4.32. ábra), 5  $\mu\text{l/s}$  és 10  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok mellett az átfedés mértéke csupán 27%-os. A mérések során igazoltam az elválasztás térfogatáram-arány függését.



## 5.2. Az eredmények hasznosíthatósága

Napjaink mikrofluidikai rendszerei a mintaelőkészítést – főleg részecskéket vagy sejtes elemeket tartalmazó minta esetén – az eszközhöz tervezett, finomhangolt részegységekkel valósítják meg. Az általam vizsgált keverést és a szeparációt különféle módszerekkel megvalósító mikrocatornák is ilyen rendszerekhez készültek, legtöbb esetben kutatócsoportok közötti együttműködés vagy Európai Unió projekt keretei között kerültek megvalósításra.

A halszájka mikrokeverő a P3SENS: *Polymer Photonic multiparametric biochemical SENSor for Point of care diagnostics* Európai Unió projekt mikrofluidikai mintaelőkészítő egységének része. Ez az egység felel a minta (puffer, szérum vagy teljes vér) előkészítéséért és a fotonikus bioszenzor érzékelési területére történő transzportjáért. A transzport során a keverő biztosította a minta és a reagensek keveredését azonos transzportutak mellett. A numerikus modellezés segítségével a csatornageometriát, nyomásesést és az úthosszakat úgy határoztuk meg, hogy az optimális geometriát definiáljuk a megfelelő keveredési folyamat biztosítására.

A Zweifach-Fung bifurkáción alapuló kaszkád mikrofluidikai szeparációs eszköz a CAJAL4EU: *Nanoszenzorok az orvosdiagnosztikában* projektben a nanopórus alapú diagnosztikai eszköz egyik lehetséges plazmaszeparációs mintaelőkészítő alegységként lett megtervezve. Az orvosdiagnosztikai platform 8 ország 25 partnerének szoros együttműködésének eredménye. A projekt egyik célja a detektálható biomarkerek spektrumának szélesítése is, mely specifikus aptamerek keresését is magába foglalja. A magnetoforetikus elven működő szeparációs eszköz kapcsán a SELEX aptamer szelektációs módszer mikrofluidikai megvalósításában való alkalmazhatóságát vizsgáltam meg. A módszer egyik fontos lépése a mágneses gyöngyhöz bekötődött aptamer jelöltek elválasztása a többi aptamertől a pufferoldat folyamatos áramoltatása mellett. A számítási és kísérleti eredmények alapján a tervezett mikrocatorna jó jelölt ennek a lépésnek a megvalósítására.

A részecskék méret szerinti szeparációját megvalósító szeparációs mikrocatorna a PAMIAQ: *Új típusú integrált, széles körben használható légszennyezőanyag érzékelőtechnológia fejlesztése* című Európai Unió projekt része. A különböző légszennyezőanyagok között a pollenek vizsgálatát is tervezik az eszközzel. A projekt részfeladatákként készült el a mikrofluidikai mintaszállítórendszer első verziója, melyet mesterséges részecskék szuszpenziójával elemeztünk, és bebizonyítottuk annak méret szerinti elválasztásra való alkalmasságát.

A letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrocsatorna vizsgálatának eredményei az MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoporttal való együttműködés keretében elkészült vércsoport meghatározásra alkalmas autonóm mikrofluidikai eszközben hasznosultak. Az eszköz a rácseppentett vért két csatornába szívja be, melyek anti-A-val és anti-B-vel kezeltek. Az A vagy B vércsoportú vörösvértestek kitapadnak a megfelelő oldalon, akadályt képezve a többi vörösvértest számára a csatornában. Így a kialakuló áramlási sebességváltozás, illetve a plazmaszeperáció szabad szemmel is megfigyelhető. A vércsoport esetén az anti-A-t tartalmazó csatornában történik szeperáció, B vércsoport esetén az anti-B-t tartalmazó ágban. AB esetén mindkettőben, 0 vércsoportnál pedig egyikben sem. Az eszköz chipen kívüli mintaelőkészítést és külső folyadékáramoltatást nem igényel.

A kifejlesztett trajektóriaalapú modellezési eljárás hatékonyan segítheti az optimális geometria tervezését további mintapreparációs mikrofluidikai rendszerek fejlesztése során is. Ennek megfelelően mind tudományos kutatások, mind ipari fejlesztések során alkalmazható.

## 6. Publikációs jegyzék

### 6.1. A tézisek alapjául szolgáló publikációk

#### 6.1.1. Folyóiratcikkek

- [F1] Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, and P. Fürjes, “Stochastic mixing in microfluidics integrable in bioanalytical systems,” *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 25, o. 1229–1232, 2011.
- [F2] P. Fürjes, Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, and I. Bársony, “Particle Mixing by Chaotic Advection in Polymer Based Microfluidic Systems,” *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 47, o. 454–457, 2012.
- [F3] P. Fürjes, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, Z. Fekete, D. Bernier, F. Dortu és D. Giannone, „PDMS microfluidics developed for polymer based photonic biosensors”, *MICROSYSTEM TECHNOLOGIES*, ápr. 2014.
- [F4] E. L. Tóth, E. G. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Optimized Simulation and Validation of Particle Advection in Asymmetric Staggered Herringbone Type Micromixers”, *MICROMACHINES*, köt. 6, sz. 1, o. 136–150, dec. 2014.
- [F5] E. L. Tóth, E. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Effect of Geometric Singularities on Plasma Separation Performance in Cascade Zweifach-Fung Bifurcations”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 120, o. 1083–1086, 2015.
- [F6] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, és P. Fürjes, „Simulation and experimental validation of particle trapping in microfluidic magnetic separation (MMS) system”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 168, o. 1458–1461, 2016.
- [F7] É. Sautner, K. Papp, E. Holczer, E. L. Tóth, R. Ungai-Salánki, B. Szabó, P. Fürjes, J. Prechl „Detection of red blood cell surface antigens by probe-triggered cell collision and flow retardation in an autonomous microfluidic system”, *SCIENTIFIC REPORTS*, köt. 7, sz. 1, o. 1008, 2017.
- [F8] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, és P. Fürjes, „Microfluidic Particle Sorting System for Environmental Pollution Monitoring Applications”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 168, o. 1462–1465, 2016.

## 6.1.2. Konferencia publikációk

- [K1] Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Design and Realisation Microfluidic Stochastic Mixers Integrable in Bioanalytical Systems, *MME 2011*, Tonsberg, Norway, 2011
- [K2] Z. Fekete, E. Holczer, E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Stochastic Mixing in microfluidics Integrable in bioanalytical Systems, *Euroensors 2011*, Athens, Greece,
- [K3] P. Fürjes, Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, I. Bársony: Particle mixing by chaotic advection in polymer based microfluidic systems, *Euroensors 2012*, Krakow, Poland, 2012
- [K4] P. Fürjes, E. Holczer, Z. Fekete, E. Tóth, F. Dortu, D. Giannone, Development of a polymer based microfluidics for polimer based photonic biosensors, *Microfluidics 2012*, Heidelberg, Germany, 2012
- [K5] P. Fürjes, Z. Fekete, E. Holczer, E. Tóth, K. Iván, I. Bársony, Chaotic mixing of particles in microfluidic systems, *Microfluidics 2012*, Heidelberg, Germany, 2012
- [K6] P. Fürjes, E. Holczer, E. Tóth, Z. Fekete, Polymer Based Microfluidics for Biomedical Applications, *MITT2013 Conference*, Budapest, Hungary, 2013
- [K7] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Design and comparison of micromixers using COMSOL simulations, *From Medicine to Bionics, 1st European Ph.D. Conference*, Budapest, Hungary, 2013
- [K8] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Z. Fekete, E. Holczer, Design, Realisation and Validation of Microfluidic Stochastic Mixers Integrable in bioanalytical Systems Using CFD Modeling, *BioCAS 2013*, Rotterdam, Netherlands, 2013
- [K9] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Optimization of the herringbone type micromixer using numerical modeling and validation by measurements, *Comsol Conference 2014*, Cambridge, United Kingdom, 2014 – **Best Poster Award**
- [K10] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Separation performance of cascade Zweifach-Fung bifurcations enhanced by inertial subsystems, *Microfluidics 2014*, Heidelberg, Germany, 2014
- [K11] E. L. Tóth, E. Holczer, K. Iván, P. Fürjes, Effect of geometric singularities on plasma separation performance in cascade Zweifach-Fung bifurcations, *Euroensors 2015*, Freiburg, Germany, 2015

- [K12] E. L. Tóth, A. Füredi, E., K. Iván, P. Fürjes, Multiphysics modelling of magnetic bead trajectories in microfluidic magnetic separation systems, *NanoBioTech 2015*, Montreux, Switzerland, 2015
- [K13] E. L. Tóth, A. Füredi, K. Iván, P. Fürjes, Simulation and experimental validation of particle trapping in microfluidic magnetic separation (MMS) system, *Euroensors 2016*, Budapest, Hungary, 2016
- [K14] E. Tóth, P. Fürjes, Trajectory model of particle transport in passive microfluidic systems, *Mátrafüred 2013*, Visegrád, Hungary, 2014
- [K15] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, P. Fürjes, Lateral migration based particle sorting in microfluidic systems, *From Medicine to Bionics, 3rd European Ph.D. Conference*, Budapest, Hungary, 2016
- [K16] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, P. Fürjes, Microfluidic particle sorting system for environmental pollution monitoring applications, *Euroensors 2016*, Budapest, Hungary, 2016

## 6.2. Egyéb publikációk

### 6.2.1. Folyóiratcikk

A. Nagy, E. L. Tóth, K. Iván, and A. Gáspár, “Design and modeling of microfluidic systems for multiple chromatographic separations,” *Microchemical Journal*, köt. 123, o. 125–130, Nov. 2015.

### 6.2.2. Konferencia publikációk

A. Nagy, E. Tóth, K. Iván, A. Gáspár, Simulation of microfluidic systems with COMSOL Multiphysics, *14<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis, CEEPUS*, Bratislava, Slovakia, 2014

A. Nagy, E. Tóth, K. Iván, A. Gáspár, Simulation of microfluidic systems by using COMSOL Multiphysics software, *30<sup>th</sup> International Symposium on Chromatography*, Salzburg, Austria, 2014

A. B. Tóth, E. Holczer, E. L. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Modelling and Characterisation of Droplet Generation and Trapping in Cell Analytical Two-Phase Microfluidic System, *Euroensors 2017*, Paris, France, 2017

## Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok témavezetőimnek, dr. Iván Kristófnak és dr. Fürjes Péternek a kilencedik éve tartó együttműködésért, szakmai és személyes támogatásukért. A közös munka során lelkesedésükkel biztattak ezen az új tudományterületen való elindulásra és a kutatómunka folytatására.

Köszönettel tartozom az MTA EK Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet igazgatóinak, hogy lehetővé tették, hogy bekapcsolódhassak az intézetben folyó kutatásokba, megismerhessem a Mikrotechnológia Osztály munkafolyamatait és használjam az országban egyedülálló tisztatéri kutatói infrastruktúrát. Köszönöm az Osztály munkatársainak és az itt dolgozó hallgatótársaimnak a motiváló légkört melyben együtt tudtunk fejlődni. Köszönöm Holczer Eszternek, Tóth Anna Borbálának és Füredi Adrienne-nek a mikrofluidikai chipek megvalósítását és mérések során nyújtott segítségüket. Hálával tartozom Erőss Magdolnának és Pajer Margitnak a tisztatérben végzett munkám során nyújtott türelmes útmutatásaikért.

Köszönet illeti az MTA-ELTE Immunológiai kutatócsoport tagjait, Ungai-Salánki Ritát, Prechl Józsefet és Papp Krisztiánt a letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrofluidikai chip mérése során a felvételek elkészítéséért és azok elemzéséért.

Hálával tartozom a PPKE Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori Iskola vezetőjének, dr. Szolgay Péternek, hogy a doktori iskolába befogadott, kutatásomat külső helyszínen lehetővé tette és támogatta. Köszönöm Vida Tivadarnének a sok figyelmet és bátorítást, mellyel az évek során fordult felém az adminisztrációs teendők közepette.

Köszönettel tartozom az Emberi Erőforrások Minisztériumának doktori ösztöndíjáért, mely lehetővé tette a doktori képzésben való részvételt, valamint a további források támogatásáért, melyek nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre: (NKFIH) EUREKA HU 13-1-2013-0016, FP7-ICT4-P3SENS (248304), ENIAC JU 120215, ENIAC\_08-1-2011-0006, VKSZ14-1-2015-0004, KAP15-061, KAP16-71005, KAP15-166, KAP17-1.1, KAP18-1.1, KTIA-NAP 13-1-2013-001. EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00002, az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásában.

Köszönetet mondok családomnak, akik az egyetemi tanulmányaim során végig támogattak. Köszönöm édesanyámnak, apósomnak és testvéreimnek, hogy segítségükkel időt biztosítottak a doktori disszertáció elkészültére. Végül, de nem utolsó sorban köszönöm férjemnek, Ádámnak, hogy egyetemi éveim alatt végig támogatott, példamutatásával a kutatói pálya követésére inspirált és e pályán is szerető társam maradt.

## Irodalomjegyzék

- [1] „DNA Sequencing Costs: Data”, *National Human Genome Research Institute (NHGRI)*. [Online]. Elérhető: <https://www.genome.gov/27541954/dna-sequencing-costs-data/>. [Elérés: 09-márc-2019].
- [2] H. M. Shapiro, *Practical Flow Cytometry*. John Wiley & Sons, 2005.
- [3] W. A. Bonner, H. R. Hulett, R. G. Sweet, és L. A. Herzenberg, „Fluorescence Activated Cell Sorting”, *Rev. Sci. Instrum.*, köt. 43, sz. 3, o. 404–409, márc. 1972.
- [4] I.-H. Cho, E.-H. Paek, Y.-K. Kim, J.-H. Kim, és S.-H. Paek, „Chemiluminometric enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)-on-a-chip biosensor based on cross-flow chromatography”, *Anal. Chim. Acta*, köt. 632, sz. 2, o. 247–255, 2009.
- [5] E. Valentine-Thon, K. Müller, G. Guzzi, S. Kreisel, P. Ohnsorge, és M. Sandkamp, „LTT-MELISA® is clinically relevant for detecting and monitoring metal sensitivity”, *Neuro Endocrinol. Lett.*, köt. 27, o. 17–24, 2006.
- [6] H. A. Erlich, „Polymerase chain reaction”, *J. Clin. Immunol.*, köt. 9, sz. 6, o. 437–447, nov. 1989.
- [7] Y. Xia és mtsai., „Monte Carlo modeling-based digital loop-mediated isothermal amplification on a spiral chip for absolute quantification of nucleic acids”, *Anal. Chem.*, köt. 89, sz. 6, o. 3716–3723, 2017.
- [8] S. C. Schuster, „Next-generation sequencing transforms today’s biology”, *Nat. Methods*, köt. 5, sz. 1, o. 16, 2007.
- [9] S. Behjati és P. S. Tarpey, „What is next generation sequencing?”, *Arch. Dis. Child. Educ. Pract. Ed.*, köt. 98, sz. 6, o. 236–238, dec. 2013.
- [10] J. Straiton, T. Free, A. Sawyer, és J. Martin, „From Sanger sequencing to genome databases and beyond”, *BioTechniques*, köt. 66, sz. 2, o. 60–63, 2019.
- [11] A. T. Pagnamenta és mtsai., „Exome sequencing can detect pathogenic mosaic mutations present at low allele frequencies”, *J. Hum. Genet.*, köt. 57, sz. 1, o. 70, 2012.
- [12] L. Coppin és mtsai., „Diagnosis of mosaic mutations in the MEN1 gene by Next Generation Sequencing”, *Eur. J. Endocrinol.*, köt. 1, sz. aop, 2018.
- [13] X. Lou és mtsai., „Micromagnetic selection of aptamers in microfluidic channels”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, köt. 106, sz. 9, o. 2989–2994, 2009.
- [14] J. Qian, X. Lou, Y. Zhang, Y. Xiao, és H. T. Soh, „Rapid Generation of Highly Specific Aptamers via Micromagnetic Selection”, *Anal. Chem.*, köt. 81, sz. 13, o. 5490–5495, júl. 2009.
- [15] „Aptamer-based point-of-care diagnostic platforms - ScienceDirect”. [Online]. Elérhető: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400517302873>. [Elérés: 09-márc-2019].

- [16]J. G. Bruno, M. P. Carrillo, A. M. Richarte, T. Phillips, C. Andrews, és J. S. Lee, „Development, screening, and analysis of DNA aptamer libraries potentially useful for diagnosis and passive immunity of arboviruses”, *BMC Res. Notes*, köt. 5, sz. 1, o. 633, 2012.
- [17]P. Nahid és mtsai., „Aptamer-based proteomic signature of intensive phase treatment response in pulmonary tuberculosis”, *Tuberculosis*, köt. 94, sz. 3, o. 187–196, 2014.
- [18]J. Vivekananda és J. L. Kiel, „Anti-Francisella tularensis DNA aptamers detect tularemia antigen from different subspecies by Aptamer-Linked Immobilized Sorbent Assay”, *Lab. Invest.*, köt. 86, sz. 6, o. 610, 2006.
- [19]S. Sharma, J. Zapatero-Rodríguez, P. Estrela, és R. O’Kennedy, „Point-of-Care Diagnostics in Low Resource Settings: Present Status and Future Role of Microfluidics”, *Biosensors*, köt. 5, sz. 3, o. 577–601, aug. 2015.
- [20]„Microfluidics Market | Size | Growth | Research Report 2017-2022”. [Online]. Elérhető: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/microfluidics-market>. [Elérés: 03-jan-2018].
- [21]„Microfluidics Market worth 8.78 Billion USD by 2021”. [Online]. Elérhető: <https://www.marketsandmarkets.com/PressReleases/microfluidics.asp>. [Elérés: 03-jan-2018].
- [22]„World Bio-MEMS & Microfluidics Market Forecast 2017-2027 - PHA0216”, *visiongain*. [Online]. Elérhető: <https://www.visiongain.com/Report/1948/World-Bio-MEMS-Microfluidics-Market-Forecast-2017-2027>. [Elérés: 03-jan-2018].
- [23]D. T. Chiu, D. Di Carlo, P. S. Doyle, C. Hansen, R. M. Maceiczky, és R. C. Wootton, „Small but perfectly formed? Successes, challenges, and opportunities for microfluidics in the chemical and biological sciences”, *Chem*, köt. 2, sz. 2, o. 201–223, 2017.
- [24]W. Stephenson és mtsai., „Single-cell RNA-seq of rheumatoid arthritis synovial tissue using low-cost microfluidic instrumentation”, *Nat. Commun.*, köt. 9, sz. 1, o. 791, 2018.
- [25]L. Shang, Y. Cheng, és Y. Zhao, „Emerging droplet microfluidics”, *Chem. Rev.*, köt. 117, sz. 12, o. 7964–8040, 2017.
- [26]G. Ben-Dov és J. Cohen, „Critical Reynolds number for a natural transition to turbulence in pipe flows”, *Phys. Rev. Lett.*, köt. 98, sz. 6, o. 064503, febr. 2007.
- [27]R. Fåhræus és T. Lindqvist, „The Viscosity of the Blood in Narrow Capillary Tubes”, *Am. J. Physiol. -- Leg. Content*, köt. 96, sz. 3, o. 562–568, jan. 1931.
- [28]H. Hinghofer-Szalkay és J. E. Greenleaf, „Continuous monitoring of blood volume changes in humans”, *J. Appl. Physiol.*, köt. 63, sz. 3, o. 1003–1007, 1987.
- [29]F. Okkels és P. Tabeling, „Spatiotemporal resonances in mixing of open viscous fluids”, *Phys. Rev. Lett.*, köt. 92, sz. 3, o. 038301, 2004.
- [30]I. Glasgow és N. Aubry, „Enhancement of microfluidic mixing using time pulsing”, *Lab. Chip*, köt. 3, sz. 2, o. 114–120, 2003.



- [31] R. H. Liu, J. Yang, M. Z. Pindera, M. Athavale, és P. Grodzinski, „Bubble-induced acoustic micromixing”, *Lab. Chip*, köt. 2, sz. 3, o. 151–157, aug. 2002.
- [32] F. Mugele, J.-C. Baret, és D. Steinhauser, „Microfluidic mixing through electrowetting-induced droplet oscillations”, *Appl. Phys. Lett.*, köt. 88, sz. 20, o. 204106, 2006.
- [33] J. Deval, P. Tabeling, és C.-M. Ho, „A dielectrophoretic chaotic mixer”, in *The Fifteenth IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, 2002*, 2002, o. 36–39.
- [34] T. G. Kang, M. A. Hulsen, J. M. J. den Toonder, P. D. Anderson, és H. E. H. Meijer, „A direct simulation method for flows with suspended paramagnetic particles”, *J. Comput. Phys.*, köt. 227, sz. 9, o. 4441–4458, ápr. 2008.
- [35] N.-T. Nguyen és Z. Wu, „Micromixers—a review”, *J. Micromechanics Microengineering*, köt. 15, sz. 2, o. R1–R16, febr. 2005.
- [36] Y. Xiang és H. H. Bau, „Complex magnetohydrodynamic low-Reynolds-number flows”, *Phys. Rev. E*, köt. 68, sz. 1, o. 016312, júl. 2003.
- [37] P. B. Howell Jr, D. R. Mott, J. P. Golden, és F. S. Ligler, „Design and evaluation of a Dean vortex-based micromixer”, *Lab. Chip*, köt. 4, sz. 6, o. 663–669, 2004.
- [38] N. Nivedita, P. Ligrani, és I. Papautsky, „Dean Flow Dynamics in Low-Aspect Ratio Spiral Microchannels”, *Sci. Rep.*, köt. 7, o. 44072, márc. 2017.
- [39] A. P. Sudarsan és V. M. Ugaz, „Fluid mixing in planar spiral microchannels”, *Lab. Chip*, köt. 6, sz. 1, o. 74–82, 2006.
- [40] X. Chen, T. Li, H. Zeng, Z. Hu, és B. Fu, „Numerical and experimental investigation on micromixers with serpentine microchannels”, *Int. J. Heat Mass Transf.*, köt. 98, o. 131–140, júl. 2016.
- [41] X. Feng, Y. Ren, és H. Jiang, „An effective splitting-and-recombination micromixer with self-rotated contact surface for wide Reynolds number range applications”, *Biomicrofluidics*, köt. 7, sz. 5, okt. 2013.
- [42] N.-T. Nguyen, *Micromixers: Fundamentals, Design and Fabrication*. William Andrew, 2012.
- [43] S. Hossain, M. A. Ansari, A. Husain, és K.-Y. Kim, „Analysis and optimization of a micromixer with a modified Tesla structure”, *Chem. Eng. J.*, köt. 158, sz. 2, o. 305–314, ápr. 2010.
- [44] S. Wiggins és J. M. Ottino, „Foundations of chaotic mixing”, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Math. Phys. Eng. Sci.*, köt. 362, sz. 1818, o. 937–970, 2004.
- [45] H. Aref, „Stirring by chaotic advection”, *J. Fluid Mech.*, köt. 143, o. 1–21, jún. 1984.
- [46] H. Aref, „The development of chaotic advection”, *Phys. Fluids 1994-Present*, köt. 14, sz. 4, o. 1315–1325, ápr. 2002.
- [47] T. Solomon, „Chaos and chaotic fluid mixing”, 2015.

- [48]A. D. Stroock, S. K. W. Dertinger, A. Ajdari, I. Mezić, H. A. Stone, és G. M. Whitesides, „Chaotic Mixer for Microchannels”, *Science*, köt. 295, sz. 5555, o. 647–651, jan. 2002.
- [49]C. A. Cortes-Quiroz, M. Zangeneh, és A. Goto, „On multi-objective optimization of geometry of staggered herringbone micromixer”, *Microfluid. Nanofluidics*, köt. 7, sz. 1, o. 29–43, 2009.
- [50]T. G. Kang és T. H. Kwon, „Colored particle tracking method for mixing analysis of chaotic micromixers”, *J. Micromechanics Microengineering*, köt. 14, sz. 7, o. 891, 2004.
- [51]Y. Z. Liu, B. J. Kim, és H. J. Sung, „Two-fluid mixing in a microchannel”, *Int. J. Heat Fluid Flow*, köt. 25, sz. 6, o. 986–995, 2004.
- [52]J.-T. Yang, K.-J. Huang, és Y.-C. Lin, „Geometric effects on fluid mixing in passive grooved micromixers”, *Lab. Chip*, köt. 5, sz. 10, o. 1140–1147, 2005.
- [53]J. Aubina, D. F. Fletcherb, és C. Xuereb, „Design of micromixers using CFD modeling”, *Chem Eng Sci*, köt. 60, o. 2503–2516, 2005.
- [54]D. G. Hassell és W. B. Zimmerman, „Investigation of the convective motion through a staggered herringbone micromixer at low Reynolds number flow”, *Chem. Eng. Sci.*, köt. 61, sz. 9, o. 2977–2985, 2006.
- [55]M. A. Ansari és K.-Y. Kim, „Shape optimization of a micromixer with staggered herringbone groove”, *Chem. Eng. Sci.*, köt. 62, sz. 23, o. 6687–6695, 2007.
- [56]Y. Du, Z. Zhang, C. Yim, M. Lin, és X. Cao, „A simplified design of the staggered herringbone micromixer for practical applications”, *Biomicrofluidics*, köt. 4, sz. 2, o. 024105, 2010.
- [57]S. Hossain, A. Husain, és K.-Y. Kim, „Shape optimization of a micromixer with staggered-herringbone grooves patterned on opposite walls”, *Chem. Eng. J.*, köt. 162, sz. 2, o. 730–737, 2010.
- [58]T. P. Forbes és J. G. Kralj, „Engineering and analysis of surface interactions in a microfluidic herringbone micromixer”, *Lab. Chip*, köt. 12, sz. 15, o. 2634–2637, 2012.
- [59]X. Chen és X. Wang, „Optimized modular design and experiment for staggered herringbone chaotic micromixer”, *Int. J. Chem. React. Eng.*, köt. 13, sz. 3, o. 305–309, 2015.
- [60]M. Amasia és M. Madou, „Large-volume centrifugal microfluidic device for blood plasma separation”, *Bioanalysis*, köt. 2, sz. 10, o. 1701–1710, okt. 2010.
- [61]S.-H. Liao, C.-Y. Chang, és H.-C. Chang, „A capillary dielectrophoretic chip for real-time blood cell separation from a drop of whole blood”, *Biomicrofluidics*, köt. 7, sz. 2, o. 24110, 2013.
- [62]K. Svanes és B. W. Zweifach, „Variations in small blood vessel hematocrits produced in hypothermic rats by micro-occlusion”, *Microvasc. Res.*, köt. 1, sz. 2, o. 210–220, 1968.
- [63]S. Yang, A. Ündar, és J. D. Zahn, „A microfluidic device for continuous, real time blood plasma separation”, *Lab. Chip*, köt. 6, sz. 7, o. 871–880, jún. 2006.

- [64]V. Doyeux, T. Podgorski, S. Peponas, M. Ismail, és G. Coupier, „Spheres in the vicinity of a bifurcation: elucidating the Zweifach–Fung effect”, *J. Fluid Mech.*, köt. 674, o. 359, 2011.
- [65]J. O. Barber, J. P. Alberding, J. M. Restrepo, és T. W. Secomb, „Simulated Two-Dimensional Red Blood Cell Motion, Deformation, and Partitioning in Microvessel Bifurcations”, *Ann. Biomed. Eng.*, köt. 36, sz. 10, o. 1690–1698, okt. 2008.
- [66]Y.-C. Fung, „Stochastic flow in capillary blood vessels”, *Microvasc. Res.*, köt. 5, sz. 1, o. 34–48, 1973.
- [67]M. Faivre, M. Abkarian, K. Bickraj, és H. A. Stone, „Geometrical focusing of cells in a microfluidic device: an approach to separate blood plasma”, *Biorheology*, köt. 43, sz. 2, o. 147–159, 2006.
- [68]E. Sollier, M. Cubizolles, Y. Fouillet, és J.-L. Achard, „Fast and continuous plasma extraction from whole human blood based on expanding cell-free layer devices”, *Biomed. Microdevices*, köt. 12, sz. 3, o. 485–497, 2010.
- [69]S. Tripathi, Y. V. B. V. Kumar, A. Prabhakar, S. S. Joshi, és A. Agrawal, „Passive blood plasma separation at the microscale: a review of design principles and microdevices”, *J. Micromechanics Microengineering*, köt. 25, sz. 8, o. 083001, aug. 2015.
- [70]K. J. Smith, M. May, R. Baltus, és J. L. McGrath, „A predictive model of separations in dead-end filtration with ultrathin membranes”, *Sep. Purif. Technol.*, köt. 189, o. 40–47, 2017.
- [71]B. Blankert, B. H. L. Betlem, és B. Roffel, „Dynamic optimization of a dead-end filtration trajectory: Blocking filtration laws”, *J. Membr. Sci.*, köt. 285, sz. 1–2, o. 90–95, nov. 2006.
- [72]S. Thorslund, O. Klett, F. Nikolajeff, K. Markides, és J. Bergquist, „A hybrid poly(dimethylsiloxane) microsystem for on-chip whole blood filtration optimized for steroid screening”, *Biomed. Microdevices*, köt. 8, sz. 1, o. 73–79, márc. 2006.
- [73]N. Debnath és M. Sadrzadeh, „Microfluidic Mimic for Colloid Membrane Filtration: A Review”, *J. Indian Inst. Sci.*, köt. 98, sz. 2, o. 137–157, jún. 2018.
- [74]Z. Geng, Y. Ju, Q. Wang, W. Wang, és Z. Li, „Multi-component continuous separation chip composed of micropillar arrays in a split-level spiral channel”, *RSC Adv.*, köt. 3, sz. 34, o. 14798–14806, 2013.
- [75]N. Mehendale, O. Sharma, C. D’Costa, és D. Paul, „A radial pillar device (RAPID) for continuous and high-throughput separation of multi-sized particles”, *Biomed. Microdevices*, köt. 20, sz. 1, o. 6, 2018.
- [76]T. Tachi, N. Kaji, Y. Okamoto, M. Tokeshi, és Y. Baba, „Simultaneous separation, metering and dilution of plasma from human whole blood using a microchip with an interchannel microstructure”, in *13th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2009*, 2009, o. 427–429.
- [77]M. S. Maria, P. E. Rakesh, T. S. Chandra, és A. K. Sen, „Capillary flow-driven microfluidic device with wettability gradient and sedimentation effects for blood plasma separation”, *Sci. Rep.*, köt. 7, o. 43457, márc. 2017.

- [78]É. Sautner és mtsai., „Detection of red blood cell surface antigens by probe-triggered cell collision and flow retardation in an autonomous microfluidic system”, *Sci. Rep.*, köt. 7, sz. 1, o. 1008, 2017.
- [79]I. K. Dimov, L. Basabe-Desmonts, J. L. Garcia-Cordero, B. M. Ross, A. J. Ricco, és L. P. Lee, „Stand-alone self-powered integrated microfluidic blood analysis system (SIMBAS)”, *Lab. Chip*, köt. 11, sz. 5, o. 845–850, 2011.
- [80]L. Xu, H. Lee, M. V. Brasil Pinheiro, P. Schneider, D. Jetta, és K. W. Oh, „Phaseguide-assisted blood separation microfluidic device for point-of-care applications”, *Biomicrofluidics*, köt. 9, sz. 1, o. 014106, 2015.
- [81]C.-C. Wu, L.-Z. Hong, és C.-T. Ou, „Blood cell-free plasma separated from blood samples with a cascading weir-type microfilter using dead-end filtration”, *J. Med. Biol. Eng.*, köt. 32, sz. 3, o. 163–168, 2012.
- [82]„Separation of human breast cancer cells from blood by differential dielectric affinity”. [Online]. Elérhető: <http://www.pnas.org/content/92/3/860.short>. [Elérés: 12-jan-2018].
- [83]K. O. Greulich, „Manipulation of cells with laser microbeam scissors and optical tweezers: a review”, *Rep. Prog. Phys.*, köt. 80, sz. 2, o. 026601, 2016.
- [84]D. McGloin, „Optical tweezers: 20 years on”, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Math. Phys. Eng. Sci.*, köt. 364, sz. 1849, o. 3521–3537, 2006.
- [85]J. Nam, H. Lim, C. Kim, J. Yoon Kang, és S. Shin, „Density-dependent separation of encapsulated cells in a microfluidic channel by using a standing surface acoustic wave”, *Biomicrofluidics*, köt. 6, sz. 2, o. 024120, máj. 2012.
- [86]C. Liu, L. Lagae, R. Wirix-Speetjens, és G. Borghs, „On-chip separation of magnetic particles with different magnetophoretic mobilities”, *J. Appl. Phys.*, köt. 101, sz. 2, o. 024913, 2007.
- [87]M. Hejazian, W. Li, és N.-T. Nguyen, „Lab on a chip for continuous-flow magnetic cell separation”, *Lab. Chip*, köt. 15, sz. 4, o. 959–970, febr. 2015.
- [88]D. H. Yoon, J. B. Ha, Y. K. Bahk, T. Arakawa, S. Shoji, és J. S. Go, „Size-selective separation of micro beads by utilizing secondary flow in a curved rectangular microchannel”, *Lab Chip*, köt. 9, sz. 1, o. 87–90, 2009.
- [89]M.-L. Lee és D.-J. Yao, „The Separation of Microalgae Using Dean Flow in a Spiral Microfluidic Device”, *Inventions*, köt. 3, sz. 3, o. 40, 2018.
- [90]D. D. Carlo, D. Irimia, R. G. Tompkins, és M. Toner, „Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels”, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, köt. 104, sz. 48, o. 18892–18897, nov. 2007.
- [91]J.-S. Park és H.-I. Jung, „Multiorifice Flow Fractionation: Continuous Size-Based Separation of Microspheres Using a Series of Contraction/Expansion Microchannels”, *Anal. Chem.*, köt. 81, sz. 20, o. 8280–8288, okt. 2009.

- [92] M. Yamada, M. Nakashima, és M. Seki, „Pinched Flow Fractionation: Continuous Size Separation of Particles Utilizing a Laminar Flow Profile in a Pinched Microchannel”, *Anal. Chem.*, köt. 76, sz. 18, o. 5465–5471, szept. 2004.
- [93] H. W. Nho, N. Yang, J. Song, J. S. Park, és T. H. Yoon, „Separations of spherical and disc-shaped polystyrene particles and blood components (red blood cells and platelets) using pinched flow fractionation device with a tilted sidewall and vertical focusing channels (t-PFF-v)”, *Sens. Actuators B Chem.*, köt. 249, o. 131–141, okt. 2017.
- [94] „Erythrocyte Separation Using Gravitational Field Flow Effect”. [Online]. Elérhető: <http://www.scirp.org/journal/PaperInformation.aspx?paperID=76393>. [Elérés: 31-aug-2018].
- [95] W. Guo és mtsai., „Biomedical analysis of HbA1c based on microfluidic chips”, in *2017 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)*, 2017, o. 1017–1020.
- [96] N. Tottori és T. Nisisako, „High-throughput production of satellite-free droplets through a parallelized microfluidic deterministic lateral displacement device”, *Sens. Actuators B Chem.*, köt. 260, o. 918–926, máj. 2018.
- [97] „Release History”. [Online]. Elérhető: <https://www.comsol.com/release-history>. [Elérés: 03-szept-2018].
- [98] P. Paiè, F. Bragheri, D. D. Carlo, és R. Osellame, „Particle focusing by 3D inertial microfluidics”, *Microsyst. Nanoeng.*, köt. 3, o. 17027, júl. 2017.
- [99] T. Banerjee, S. Ghoshal, és B. B. Bhattacharya, „COMSOL-Based Design and Validation of Dilution Algorithm with Continuous-Flow Lab-on-Chip”, *INAE Lett.*, köt. 2, sz. 2, o. 55–63, jún. 2017.
- [100] A. Ray, V. B. Varma, P. J. Jayaneel, N. M. Sudharsan, Z. P. Wang, és R. V. Ramanujan, „On demand manipulation of ferrofluid droplets by magnetic fields”, *Sens. Actuators B Chem.*, köt. 242, o. 760–768, 2017.
- [101] S. van Pelt, A. Frijns, és J. den Toonder, „Microfluidic magnetic bead conveyor belt”, *Lab. Chip*, köt. 17, sz. 22, o. 3826–3840, 2017.
- [102] D. A. Hoang, V. Van Steijn, L. M. Portela, M. T. Kreutzer, és C. R. Kleijn, „Modeling of low-capillary number segmented flows in microchannels using OpenFOAM”, in *AIP Conference Proceedings*, 2012, köt. 1479, o. 86–89.
- [103] I. Roghair, H. T. M. van den Ende, és F. Mugele, „An openfoam-based electrohydrodynamic model”, in *8th International Conference on Multiphase Flow, Jeju, Korea*, 2013.
- [104] S. Malekzadeh és E. Roohi, „Investigation of different droplet formation regimes in a T-junction microchannel using the VOF technique in OpenFOAM”, *Microgravity Sci. Technol.*, köt. 27, sz. 3, o. 231–243, 2015.
- [105] N. Q. Dich, T. X. Dinh, P. H. Pham, és V. T. Dau, „Study of valveless electromagnetic micropump by volume-of-fluid and OpenFOAM”, *Jpn. J. Appl. Phys.*, köt. 54, sz. 5, o. 057201, 2015.

- [106] J. Wang, V. G. J. Rodgers, P. Brisk, és W. H. Grover, „MOPSA: A microfluidics-optimized particle simulation algorithm”, *Biomicrofluidics*, köt. 11, sz. 3, o. 034121, máj. 2017.
- [107] A. Taher, B. Jones, P. Peumans, és L. Lagae, „A Simplified Model for Species Transport in Very Large Scale Microfluidic Networks”, o. V001T12A005, jún. 2018.
- [108] X. Y. Woo, R. B. Tan, és R. D. Braatz, „Modeling and computational fluid dynamics-population balance equation- micromixing simulation of impinging jet crystallizers”, *Cryst. Growth Des.*, köt. 9, sz. 1, o. 156–164, 2008.
- [109] C.-T. Huang, P.-N. Li, C.-Y. Pai, T.-S. Leu, és C.-P. Jen, „Design and simulation of a microfluidic blood-plasma separation chip using microchannel structures”, *Sep. Sci. Technol.*, köt. 45, sz. 1, o. 42–49, 2009.
- [110] A. Shamloo, P. Vatankhah, és M. A. Bijarchi, „Numerical optimization and inverse study of a microfluidic device for blood plasma separation”, *Eur. J. Mech.-BFluids*, köt. 57, o. 31–39, 2016.
- [111] A. A. S. Bhagat, S. S. Kuntaegowdanahalli, és I. Papautsky, „Continuous particle separation in spiral microchannels using dean flows and differential migration”, *Lab. Chip*, köt. 8, sz. 11, o. 1906, 2008.
- [112] S. Zheng és mtsai., „3D microfilter device for viable circulating tumor cell (CTC) enrichment from blood”, *Biomed. Microdevices*, köt. 13, sz. 1, o. 203–213, 2011.
- [113] G. Guan és mtsai., „Spiral microchannel with rectangular and trapezoidal cross-sections for size based particle separation”, *Sci. Rep.*, köt. 3, o. 1475, márc. 2013.
- [114] R. V. Raghavan, J. R. Friend, és L. Y. Yeo, „Particle concentration via acoustically driven microcentrifugation: microPIV flow visualization and numerical modelling studies”, *Microfluid. Nanofluidics*, köt. 8, sz. 1, o. 73, 2010.
- [115] E. P. Furlani, „Magnetophoretic separation of blood cells at the microscale”, *J. Phys. Appl. Phys.*, köt. 40, sz. 5, o. 1313, 2007.
- [116] „The Finite Element Method for Fluid Dynamics - 7th Edition”. [Online]. Elérhető: <https://www.elsevier.com/books/the-finite-element-method-for-fluid-dynamics/zienkiewicz/978-1-85617-635-4>. [Elérés: 27-júl-2018].
- [117] „Detailed Explanation of the Finite Element Method (FEM)”. [Online]. Elérhető: <https://www.comsol.com/multiphysics/finite-element-method>. [Elérés: 27-júl-2018].
- [118] R. B. Lantz, „Quantitative Evaluation of Numerical Diffusion (truncation Error)”, *Soc Pet Eng AIME Pap U. S.*, köt. SPE-2811, jan. 1970.
- [119] „Density of Blood - The Physics Factbook”. [Online]. Elérhető: <https://hypertextbook.com/facts/2004/MichaelShmukler.shtml>. [Elérés: 21-jan-2018].
- [120] M. Kutz, *Standard Handbook of Biomedical Engineering and Design*. McGraw-Hill, 2003.

- [121] G. Fonnum, C. Johansson, A. Molteberg, S. Mørup, és E. Aksnes, „Characterisation of Dynabeads® by magnetization measurements and Mössbauer spectroscopy”, *J. Magn. Mater.*, köt. 293, sz. 1, o. 41–47, 2005.
- [122] „Dynabeads Products & Technology for Magnetic Bead Separation - HU”. [Online]. Elérhető: <https://www.thermofisher.com/uk/en/home/brands/product-brand/dynal/dynabeads-technology.html>. [Elérés: 17-jún-2019].
- [123] M. Liu, J. Sun, és Q. Chen, „Influences of heating temperature on mechanical properties of polydimethylsiloxane”, *Sens. Actuators Phys.*, köt. 151, sz. 1, o. 42–45, 2009.
- [124] E. L. Tóth, E. G. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Optimized Simulation and Validation of Particle Advection in Asymmetric Staggered Herringbone Type Micromixers”, *Micromachines*, köt. 6, sz. 1, o. 136–150, dec. 2014.
- [125] „ZEISS ZEN Microscope Software for Microscope Components”. [Online]. Elérhető: <https://www.zeiss.com/microscopy/int/products/microscope-software/zen.html>. [Elérés: 09-febr-2018].
- [126] Y. Sucaet és W. Waelput, „Hardware and Software”, in *Digital Pathology*, Springer International Publishing, 2014, o. 15–29.
- [127] C. A. Schneider, W. S. Rasband, és K. W. Eliceiri, „NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis”, *Nature Methods*, 28-jún-2012. [Online]. Elérhető: <https://www.nature.com/articles/nmeth.2089>. [Elérés: 30-nov-2017].
- [128] E. Tóth, „Vér alakos elemeinek viselkedése funkcionális mikrofluidikai szerkezetekben”, Pázmány Péter Katolikus Egyetem, Budapest, 2013.
- [129] E. L. Tóth, E. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Effect of Geometric Singularities on Plasma Separation Performance in Cascade Zweifach-Fung Bifurcations”, *Procedia Eng.*, köt. 120, o. 1083–1086, 2015.
- [130] S. Regmi, A. Fu, és K. Q. Luo, „High Shear Stresses under Exercise Condition Destroy Circulating Tumor Cells in a Microfluidic System”, *Sci. Rep.*, köt. 7, o. 39975, jan. 2017.
- [131] L. B. Leverett, J. D. Hellums, C. P. Alfrey, és E. C. Lynch, „Red blood cell damage by shear stress”, *Biophys. J.*, köt. 12, sz. 3, o. 257–273, 1972.
- [132] V. Leytin és mtsai., „Pathologic high shear stress induces apoptosis events in human platelets”, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, köt. 320, sz. 2, o. 303–310, júl. 2004.
- [133] „Platelets and shear stress | Blood Journal”. [Online]. Elérhető: <http://www.bloodjournal.org/content/88/5/1525?sso-checked=true>. [Elérés: 23-jan-2019].