

А.Л. Буляница^{1,2}, Н.А. Есикова², А.А. Евстрапов³

БЫСТРОЕ ПРОТОТИПИРОВАНИЕ МНОГОСЛОЙНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ



^{1,2}Антон Леонидович Буляница,
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра
Великого,
Институт аналитического приборостроения Российской
академии наук, Россия, Санкт-Петербург
Тел.: (812)552-6750, E-mail: bulyanitsa_al@spbstu.ru



²Надежда Александровна Есикова,
Институт аналитического приборостроения Российской
академии наук, Россия, Санкт-Петербург
Тел.: (812)363-0728, E-mail: elpis-san@yandex.ru.



³Анатолий Александрович Евстрапов,
Институт аналитического приборостроения Российской
академии наук
Россия, Санкт-Петербург
Тел.: (812)363-0719, E-mail: an_evs@mail.ru.

Аннотация

Рассмотрен метод быстрого прототипирования микрофлюидного полимерного чипа с субмиллиметровыми размерами сечения рабочих каналов. Принципиально важным условием являлся выбор недорогого метода создания микрочипа в условиях научно-исследовательской лаборатории на этапе проверки его работоспособности и предварительного подбора геометрии, как устройства в целом, так и его основных функциональных элементов. В работе использован метод «ксурографии» (xurography), заключающийся в формировании структуры чипа в тонких пленках на режущем плоттере и последующем их соединении между собой с помощью адгезивных слоев. В результате была создана работоспособная конфигурация микрофлюидного устройства, обеспечивающая смешивание

двухкомпонентной пробы и перенос продукта реакции к зоне детектирования. Для модельного объекта по заданным характеристикам в приближении метода моментов были получены оценки дополнительного размывания концентрационного пика и подтверждено повышение эффективности перемешивания компонентов при использовании серпантинного микроканала. В Институте аналитического приборостроения РАН метод ксурографии используется для оперативного прототипирования микрофлюидных устройств с рабочими каналами шириной свыше 300 мкм и глубиной от 100 мкм.

Ключевые слова: прототипирование, полимерный микрофлюидный чип, ксурография, смешивание пробы, полимерная пленка, адгезивный слой

Введение

Микрофлюидика находит широкое применение в различных сферах, включая: проведение анализов биологических проб и проб окружающей среды; реализацию реакций микросинтеза химических веществ и лекарственных препаратов; создание систем, имитирующих функции живых организмов (орган-на-чипе) и множество других [1 – 4]. При разработке методик анализа, а также при изучении возможности реализации тех или иных стратегий исследования на микрочипе, одной из важных задач является производство небольших количеств микрофлюидных чипов для проверки работоспособности предложенных подходов и выбора приемлемого конструктива. Это определяет стоимость исследований, поскольку стоимость изготовления микрофлюидных чипов для небольшой серии (10...50 штук) зависит от применяемой технологии формирования микроструктур и герметизации.

Прямые методы (лазерные технологии и подобные) позволяют гибко менять конфигурацию чипов, однако требуется трудоемкий подбор режимов изготовления и сопутствующие работы, что приводит к нерентабельности изготовления на заказ единиц-десятков деталей. Работа на оборудовании для лазерных методов требует соответствующего помещения, квалифицированного персонала.

Все более широкое распространение в микрофлюидике находит 3D принтинг [5, 6], для печати как мастер-форм, так и самих чипов. Однако, с точки зрения пространственного разрешения для микрофлюидики подходят стереолитографические технологии, а свойства материалов, используемых при печати, необходимо дополнительно исследовать для каждой конкретной задачи.

Другим распространенным прямым методом получения микрофлюидных чипов с (суб)миллиметровыми структурами является применение фрезера с ЧПУ. Однако, данный метод не позволяет получать

многоуровневые структуры и, все-таки, является дорогим для мелких серий изделий.

В непрямых методах формования микроструктур в полимерных материалах (экструзионное литье, импринтинг и др.) наиболее дорогостоящей является мастер-форма и соответствующая оснастка так что цена чипа напрямую зависит от их количества в серии/партии. Эти методы подходят для средне и крупносерийного производства, но не для мелких серий.

Таким образом, выбор метода быстрого и относительно дешевого прототипирования многоуровневых микрофлюидных чипов со структурами (суб)миллиметрового размера в условиях лаборатории и без дополнительного дорогостоящего оборудования является актуальной задачей.

Авторы [7] предложили использовать для быстрого прототипирования метод «ксурографии» (xurography), заключающийся в прорезании структуры чипа в тонких пленках на режущем плоттере и последующем соединении их между собой с помощью адгезивных слоев. Метод нашел широкое распространение для создания многослойных микрофлюидных чипов из пластика и резин, простых мастер-форм, оптических масок и электродов для микроустройств [8]. Размеры получаемых данным методом структур – от 75 мкм, определяются характеристиками режущего плоттера и используемого материала. При этом глубина канала или реакционной камеры создаваемого микрофлюидного чипа зависит только от толщины используемого полимера и адгезионного слоя.

Другие методы изготовления микроструктур из полимерных материалов для биологических и медицинских применений по-прежнему актуальны и активно развиваются, о чем свидетельствуют зарубежные и отечественные публикации последних лет [9 – 12].

Данная публикация является развитием работ коллектива авторов, посвященных созданию и совершенствованию технологий изготовления микрофлюидных устройств для биомедицинских исследований в условиях научно-исследовательской лаборатории. Полученные ранее результаты отражены в материалах конференций «Современное машиностроение: Наука и образование» прошлых лет [13, 14].

Методы

Был выбран метод ксурографии с применением режущего плоттера Silhouette Cameo 4 (цена 35-40 тыс. руб.). Согласно публикациям, на подобном плоттере вырезали элементы для микроустройств из нитроцеллюлозной бумаги для блоттинга, силиконовой резины (размер минимального элемента 400 мкм) [15], бумаги [8].

В качестве материала микрофлюидного чипа использовался поликарбонат APC 810 (Китай) толщиной 125, 175, 250, 500 мкм. Одноуровневые (трехслойные) чипы проще всего герметизировать имеющимися в продаже пленками для проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), однако для получения многоуровневой структуры (четыре и более слоев) необходимо использовать двусторонний адгезив. В работе изучались варианты применения: клеопереносящих листов ORABOND 1377S (чистый акрилатный клей, аналог 200MP от 3М, толщиной 120 мкм) и клеопереносящие листы ORABOND 1375S (аналог 200MP от 3М толщиной 60 мкм). Применение более толстого адгезива приводит к его выдавливанию (затеканию) в структуры (каналы и реакционные камеры) чипа при склейке. Для качественного связывания слоев чипа применялся термопресс WT-QS90 фирмы Wtong (Китай). Все использованное оборудование и материалы легко доступны в России и относительно недорогие.

Результаты

Метод ксяурографии позволяет не только легко и быстро получать прототипы микрофлюидных чипов, но и интегрировать в них функциональные элементы. Для апробации метода была выбрана геометрия пятислойного чипа, приведенная на рисунке 1 и состоящая из следующих элементов: вход для реагентов, вход для образца с мембранным фильтром, смеситель/реактор, мембрана для сбора анализа или проведения реакции/фильтрации, выход. В зависимости от интегрированных мембран, такая топология позволяет решать разнообразные задачи, например, выделять ДНК/РНК из пробы и сорбировать их на мембране. В зависимости от задачи далее можно провести элюцию, либо же вырезать мембрану пробойником и поместить в пробирку для ПЦР-РВ анализа.

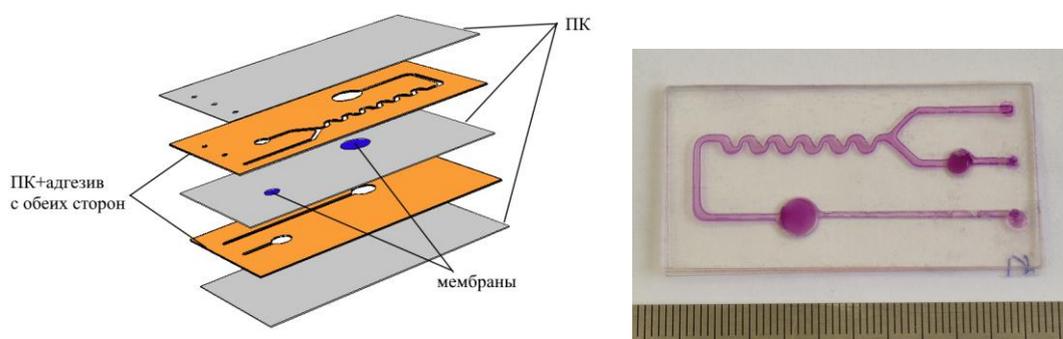


Рис. 1. Схема сборки и изображение чипа, полученного методом ксяурографии

На рисунке 1 (слева) приведена схема сборки чипа. Для минимизации площади контакта адгезива с пробой и реагентами, он наносился на листы поликарбоната (ПК) до вырезания структур. Слои, обозначенные серым цветом, имеют толщину 250 мкм, слои оранжевого цвета содержат с обеих сторон клеевой слой толщины 60 мкм. Для лучшей фиксации мембран диаметр камеры перед ними по ходу течения жидкости был примерно на 1 мм меньше, чем диаметр камеры за мембранами. Изображение образца полученного чипа, заполненного красителей, так же приведено на рисунке 1 (справа). Геометрические характеристики канала: ширина 1 мм, глубина 250 мкм.

Отметим, что в верхней части чипа имеется фрагмент серпантинного канала, содержащий несколько поворотов со средним радиусом кривизны 1 мм. Помимо реализованной возможности формирования канала большей длины на ограниченной площади пластины, изгибы канала позволяют провести дополнительное перемешивание двухкомпонентной пробы с повышением равномерности распределения ее компонент по микроканалу.

Поскольку средний радиус кривизны изгибов канала не очень мал (практически равен ширине канала), то дополнительный эффект перемешивания в сравнении с конвективно-диффузионным переносом вещества по прямолинейному каналу такой же длины будет не очень существенный. Однако, в разделе Расчетные оценки этот эффект на примере модельного объекта, имеющего коэффициент диффузии в водной среде буфера равный 10^{-9} м²/с будет оценен по величине добавленной средней дисперсии концентрационного пика компоненты.

Расчетные оценки

Для оценок дисперсии будет применен классический метод моментов [15]. На его основе для больших диффузионных времен t массопереноса были получены оценки усредненной по ширине канала добавленной дисперсии концентрационного пика как для случая пуазейлевого конвективного параболического скоростного профиля [16], так и для случая движения вещества в поле вращений, что соответствует изгибному каналу [17, 18]. В обоих случаях использовано упрощающее положение о том, что микроканал представляет собой совокупность прямоугольных щелей равной ширины.

Были заданы следующие параметры расчетов: ширина канала w равна 1 мм, соответственно, его полуширина $h = 0.5$ мм. Средний радиус кривизны изгибающегося канала R_c равен 1 мм, общая длина микроканала 18.8 мм. Средняя скорость конвективного движения 0.1 мм/с. Т.о. время движения (загрузки) составит около 3 минут (188 с).

При расчетах скорости (максимальная и средняя) делятся на характерный масштаб длины, либо h , либо w ; коэффициент диффузии делится, соответственно, на h^2 (либо w^2) и далее обозначается, как D_0 . Коэффициент динамической вязкости считается равным 10^{-3} Па·с, что соответствует значению этой характеристики для воды при температурах близких к комнатным. Характеристическое число Пекле (Pe) определяется комбинацией конвективной скорости, масштабом длины и коэффициентом диффузии. Соответствующие значения применительно к прямолинейному каналу и каналу с изгибами при различном выборе конвективной скорости (максимальное либо среднее значение) используются в расчетных формулах.

Для прямолинейного канала средняя по сечению добавленная дисперсия пика определяется, как

$$\langle s_1^2 \rangle = \left(2 + \frac{16}{945} Pe^2 \right) D_0 t - \frac{4}{1575} Pe^2 \quad (1)$$

Подставив значение числа Пекле 75, получим добавленную дисперсию пика в единицах квадрата масштаба длины (h^2), что в размерных координатах дает 14.76 мм².

Для расчета добавленной дисперсии в поле вращений число Пекле рассчитывается не по максимальной, а по средней скорости, но в качестве масштаба длины берется не полуширина, а ширина канала. Т.о. в соответствующей расчетной формуле (2) значение числа Пекле будет 100.

$$\langle s_2^2 \rangle = \left(2 + \frac{1}{15} \frac{w^2}{Rc^2} Pe^2 \right) D_0 t - \frac{17}{1860} \frac{w^2}{Rc^2} Pe^2 \quad (2)$$

Аналогичный предыдущему варианту пересчет средней дополнительной дисперсии размывания концентрационного пика даст 34.64 мм², т.е. практически вдвое больше.

Очевидно, что увеличение дисперсии связано с большей равномерностью распределения компонент по каналу, а это, в свою очередь свидетельствует о повышении эффективности перемешивания.

Обсуждение

Разумеется, геометрические характеристики устройства и режимы массопереноса не подбирались с целью оптимизации данной конструкции, как смесителя, но рассмотренный эффект усиления размывания компонент представляет собой дополнительное сопутствующее преимущество, наряду

с возможностью размещения более длинного канала на ограниченной площади пластины.

Геометрические характеристики канала (ширина 1 мм, глубина 0.25 мм) в большей степени соответствуют субмиллиметровому, а не микронному диапазону размеров. Эти сечения микроканалов имеют достаточно малое гидравлическое сопротивление, в связи с чем, для обеспечения скоростей конвективного движения пробы даже не рассматриваемые 0.1 мм/с, а на порядок больших – 1 мм/с, потребуются достаточно малые градиенты давления при гидравлическом вводе и перемещении проб. Т.о., открываются возможности использования широкой номенклатуры насосов, и их выбор не будет существенным ограничением при проектировании микрофлюидной системы для биологического или иммунного анализа.

Как говорилось ранее, использованный метод ксюрографии оказался эффективным при прототипировании полимерных многослойных микрофлюидных чипов с конфигурацией, показанной на рисунке 1 (справа). Помимо конвективно-диффузионного переноса жидкой водоподобной пробы созданный микрофлюидный чип позволяет обеспечивать эффективное пассивное перемешивание двухфазных жидкостей, что расширяет круг его возможных аналитических применений.

Заключение

Ксюрографии является быстрым и недорогим методом прототипирования микрофлюидных устройств в лаборатории. Применение одной из самых популярных моделей режущих плоттеров (Silhouette Cameo 4) позволяет получать многослойные чипы из поликарбоната с толщиной слоя от 100 мкм до 250 мкм. Во время сборки чипа в него легко интегрировать разнообразные функциональные элементы, например, мембраны для различного применения. Следует подчеркнуть, что для создания рабочего прототипа микрофлюидного чипа с использованием описанной технологии требуется минимальное и вполне доступное в России оборудование, а именно: плоттер Silhouette Cameo 4. и термопресс WT-QS90 фирмы Wtong, оба производства Китая.

Использование ксюрографии относится к актуальным быстроразвивающимся методам прототипирования. Однако, даже в библиометрической базе данных Elibrary все авторы публикаций имеют зарубежные аффилиации. При этом, поисковое задание по слову «xurography» позволяет выделить 56 публикаций (на 21.04.2025 г.), из 842

которых только 2 опубликованы до 2013 года, около половины (26) относятся к 2022-24 гг.

Работа выполнена в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-00444-25-00.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Марченкова М.А., Чапек С.В., Муханова Е.А., Солдатов А.В., Ковальчук М.В. Микрофлюидные процессы как элемент природоподобных технологий. Российские нанотехнологии. 2024, 19(3), С. 386-389.
- [2] На А.С. Microfluidic method as a promising technique for synthesizing antimicrobial compounds, *Fine Chemical Technologies*, 2021, 16(6), pp. 465-475.
- [3] Шубина М.А. Технология формирования полимерных микрофлюидных систем для исследования клеточных структур. *Наука настоящего и будущего*. 2024, 2, С. 261-264.
- [4] Мыльникова А.Н., Ощепков М.С., Соловьева И.Н., Московцев А.А., Колесов Д.В. Применение микрофлюидных технологий в современной биотехнологии, *Химическая промышленность сегодня*, 2023, 6, С. 2-8.
- [5] Duarte, L.C., Figueredo, F., Chagas, C.L.S. et al. A review of the recent achievements and future trends on 3D printed microfluidic devices for bioanalytical applications, *Analytica Chimica Acta*, 2024, 1299. p. 342429.
- [6] Saha, R., Sarkar, M., Choudhury, S.S., et al. Evolution of 3d printing technology in fabrication of microfluidic devices and biological applications: a comprehensive review, *Journal of Micromanufacturing*, 2024, 7(1), pp. 110-140.
- [7] Bartholomeusz, D.A., Boutté, R.W., Andrade, J.D. Xurography: rapid prototyping of microstructures using a cutting plotter. *Journal of Microelectromechanical systems*, 2005, 14 (6), pp. 1364-1374.
- [8] Shahriari, S., Patel, V., Selvaganapathy, P.R. Xurography as a tool for fabrication of microfluidic devices, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 2023, 33 (8), p. 083002.
- [9] Pattanayak, P., Singh, S.K., Gulati, M. et al. Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives. *Microfluid Nanofluid*, 2021, 25, Num. 99.
- [10] Якимов А.С., Пряжников А.И., Пряжников М.И., Минаков А.В. Изготовление микрофлюидных чипов из полидиметилсилоксана с фрезерованной канализированной поверхностью для моделирования нефтеотдачи при заводнении пористой породы. *Записки Горного института*. 2022, 253, С. 105-114.

- [11] Kim, Jy, O'Hare, D. Monolithic nano-porous polymer in microfluidic channels for lab-chip liquid chromatography. *Nano Convergence*, 2018, 5, Num. 19.
- [12] Liu, X., Sun, A., Brodský, J. et al. Microfluidics chips fabrication techniques comparison. *Sci Rep*, 2024, 14, Num 28793.
- [13] Bulyanitsa, A.L., Esikova, N.A., Evstrapov, A.A. Automated Device for Surface Modification and Synthesis of Functional Layers in Microfluidic Chips. 2024. *Lecture Notes in Mechanical Engineering*. pp. 115-122.
- [14] Буляница А.Л., Есикова Н.А., Евстратов А.А. Многоканальная система подготовки микрофлюидных чипов для ПЦР-анализа. *Современное машиностроение: Наука и образование*. 2024. С. 365-376.
- [15] Aris, R. On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube. *Proc Roy Soc Lond A*, 1956, 235, pp. 67–77.
- [16] Буляница А.Л. Математическое моделирование в микрофлюидике: основные положения, *Научное приборостроение*, 2005, 15(2), С. 51-66.
- [17] Nagai, M., Tada, K., Shibata, T. Rapid prototyping of PDMS microchannels for animal and plant cells using cutting plotter and double casting, *Mechanical Engineering Letters*, 2018, 4, pp. 18-00377-18-00377.
- [18] Wang, J., Lin, Q., Mukherjee, T. Analytical dispersion model for efficient simulation of complex electrophoresis systems, *Proceeding of 7th Int. Conferences on Miniaturized Chemical and Biochemical Systems, MicroTAS'03*, 2003, Squaw Valley, USA, pp. 135-138.

A.L. Bulyanitsa^{1,2}, N.A. Esikova², A.A. Evstrapov²

RAPID PROTOTYPING OF MULTILAYER POLYMER MICROFLUIDIC DEVICES

¹Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia;

²Institute for Analytical Instrumentation RAS, St. Petersburg, Russia.

Abstract

A method of rapid prototyping of a microfluidic polymer chip with submillimeter cross-sectional dimensions of working channels is considered. A fundamentally important condition was the choice of an inexpensive method for creating a microchip in a research laboratory at the stage of checking its operability and pre-selecting the geometry of both the device as a whole and its main functional elements. The paper discusses the method of "xurography", which consists in forming the chip structure in thin films on a cutting plotter and

then connecting them to each other using adhesive layers. As a result, a workable configuration of the microfluidic device was created, which ensures mixing of the two-component sample and transfer of the reaction product to the detection zone. For the model object, estimates of additional dilution of the concentration peak were obtained based on the specified characteristics in the approximation of the method of moments and an increase in the mixing efficiency of components using a serpentine microchannel was confirmed. At the Institute for Analytical Instrumentation of the Russian Academy of Sciences, the xyrography method is used for operational prototyping of microfluidic devices with working channels over 300 microns wide and 100 microns deep.

Key words: prototyping, polymer microfluidic chip, xyrography, sample mixing, polymer film, adhesive layer

REFERENCES

- [1] Marchenkova, M.A., Chapek, S.V., Mukhanova, E.A., Soldatov, A.V., Kovalchuk, M.V. Microfluidic processes as an element of nature-like technologies. *Russian nanotechnology*, 2024, 19(3), pp. 386-389.
- [2] Ha A.C. Microfluidic method as a promising technique for synthesizing antimicrobial compounds, *Fine Chemical Technologies*, 2021, 16(6), pp. 465-475.
- [3] Shubina, M.A. Technology of polymer microfluidic systems formation for the study of cellular structures, *The science of the present and the future*, 2024, 2, pp. 261-264.
- [4] Mylnikova, A.N., Oshchepkov, M.S., Solovyova, I.N., Moskovtsev, A.A., Kolesov, D.V. Application of microfluidic technologies in modern biotechnology, *Chemical industry today*, 2023, 6, pp. 2-8.
- [5] Duarte, L.C., Figueredo, F., Chagas, C.L.S. et al. A review of the recent achievements and future trends on 3D printed microfluidic devices for bioanalytical applications, *Analytica Chimica Acta*, 2024, 1299. p. 342429.
- [6] Saha, R., Sarkar, M., Choudhury, S.S., et al. Evolution of 3d printing technology in fabrication of microfluidic devices and biological applications: a comprehensive review, *Journal of Micromanufacturing*, 2024, 7(1), pp. 110-140.
- [7] Bartholomeusz, D.A., Boutté, R.W., Andrade, J.D. Xurography: rapid prototyping of microstructures using a cutting plotter. *Journal of Microelectromechanical systems*, 2005, 14 (6), pp. 1364-1374.
- [8] Shahriari, S., Patel, V., Selvaganapathy, P.R. Xurography as a tool for fabrication of microfluidic devices, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 2023, 33 (8), p. 083002.

- [9] Pattanayak, P., Singh, S.K., Gulati, M. et al. Microfluidic chips: recent advances, critical strategies in design, applications and future perspectives. *Microfluid Nanofluid*, 2021, 25, Num. 99.
- [10] Yakimov, A.S., Pryazhikov, A.I., Pryazhikov, M.I., Minakov, A.V. Production of microfluidic chips from polydimethylsiloxane with a milled channeled surface for modeling oil recovery during porous rock waterflooding. *Journal of Mining Institute*, 2022, 253, pp. 105-114.
- [11] Kim, Jy, O'Hare, D. Monolithic nano-porous polymer in microfluidic channels for lab-chip liquid chromatography. *Nano Convergence*, 2018, 5, Num. 19.
- [12] Liu, X., Sun, A., Brodský, J. et al. Microfluidics chips fabrication techniques comparison. *Sci Rep*, 2024, 14, Num 28793.
- [13] Bulyanitsa, A.L., Esikova, N.A., Evstrapov, A.A. Automated Device for Surface Modification and Synthesis of Functional Layers in Microfluidic Chips. 2024. *Lecture Notes in Mechanical Engineering*. pp. 115-122.
- [14] Bulyanitsa, A.L., Esikova, N.A., Evstrapov, A.A. Multichannel microfluidic chip preparation system for PCR analysis, *Modern Mechanical engineering: Science and Education*, 2024. pp. 365-376.
- [15] Aris, R. On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube. *Proc Roy Soc Lond A*, 1956, 235, pp. 67–77.
- [16] Bulyanitsa, A.L. Mathematical modeling in microfluidics: the basic concept, *Scientific Instrumentation*, 2005, 15(2), pp. 51-66.
- [17] Nagai, M., Tada, K., Shibata, T. Rapid prototyping of PDMS microchannels for animal and plant cells using cutting plotter and double casting, *Mechanical Engineering Letters*, 2018, 4, pp. 18-00377-18-00377.
- [18] Wang, J., Lin, Q., Mukherjee, T. Analytical dispersion model for efficient simulation of complex electrophoresis systems, *Proceeding of 7th Int. Conferences on Miniaturized Chemical and Biochemical Systems, MicroTAS'03*, 2003, Squaw Valley, USA, pp. 135-138.