

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого  
Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций

Работа допущена к защите

Директор ВИФШ

\_\_\_\_\_ В.В. Журихина

«\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

**ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
РАБОТА БАКАЛАВРА**

**ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ДВИЖЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ  
МИКРОЧАСТИЦ В ПОТОКЕ ЖИДКОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ  
СТЕПЕНИ ИХ ПОЛИМЕРИЗАЦИИ**

по направлению подготовки 03.03.02 - «Физика»

Профиль 03.03.02\_08 – «Физика и технология наноструктур»

Выполнил  
студент гр. 3430302/70801

А.А. Тюшкевич

Руководитель  
доцент, к.ф.-м.н.

В.П. Каасик

Руководитель  
с.н.с СПбАУ к.ф.-м.н

А.С. Букатин

Консультант  
по нормоконтролю

В.П. Каасик

Санкт-Петербург – 2021

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ПЕТРА ВЕЛИКОГО**

**Институт физики, нанотехнологий и телекоммуникаций  
Высшая инженерно-физическая школа**

УТВЕРЖДАЮ

Директор ВИФШ

\_\_\_\_\_  
В.В. Журихина

«10» февраля 2021 г.

**ЗАДАНИЕ**

**на выполнение выпускной квалификационной работы**

студенту гр. 3430302/70801 Тюшкевич Андрей Андреевич

1. Тема работы: Исследования динамики движения полимерных микрочастиц в потоке жидкости в зависимости от степени полимеризации
2. Срок сдачи студентом законченной работы: 16.05.2021
3. Исходные данные по работе: Научная статья по динамике эмульсии в микрофлюидных чипах, над которой велась работа в нашей лаборатории: «The study of monodisperse water-in-oil macroemulsion dynamics in a microfluidic chip», под авторством Ноздрюхина Д. и др., послужила отправной точкой в начале исследований эмульсионных потоков полимерных капель. Также исследовалось влияние полимеризации, поэтому были изучены работы, посвященные её кинетике: «Polymerization kinetics of polyacrylamide gels» - Gelfi C. и др., «Kinetics and Mechanisms of Acrylamide Polymerization from Absolute, Online Monitoring of Polymerization Reaction» - Ahmet G. и др.
4. Содержание работы (перечень подлежащих разработке вопросов):
  - Исследование динамики монодисперсной эмульсии типа «вода-в-масле» размером 40-70 мкм. в прямоугольном канале микрофлюидного устройства.
  - Разработка алгоритма анализа движения эмульсии в микроканале по изображениям, полученным с оптического микроскопа, с помощью языка программирования Python.
  - Исследование изменения динамики движения монодисперсной эмульсии «вода-масло» при полимеризации полиакриламидного геля и геля PEGDA внутри капель эмульсии.
5. Перечень графического материала (с указанием обязательных чертежей): графики с экспериментальными зависимостями.
6. Консультанты по работе: Букатин Антон Сергеевич, к.ф.-м.н, с.н.с. Академического Университета РАН им. Ж.И. Алферова, доцент кафедры Нанобиотехнологий.

7. Дата выдачи задания 08.02.2021

Руководитель ВКР

доцент, к.ф.-м.н. \_\_\_\_\_ Каасик В. П.  
(подпись) инициалы, фамилия

Задание принял к исполнению 10.02.2021  
(дата)

Студент \_\_\_\_\_ Тюшкевич А. А.  
(подпись) инициалы, фамилия

## РЕФЕРАТ

На 50с., 22 рисунка, 5 таблиц, без приложений.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** МИКРОФЛЮИДИКА, ЭМУЛЬСИЯ, КИНЕТИКА ПОЛИМЕРИЗАЦИИ, СУСПЕНЗИЯ, ЛАМИНАРНЫЙ ПОТОК, ДИНАМИКА КАПЕЛЬ.

Тема выпускной квалификационной работы: «Исследование динамики движения полимерных микрочастиц в потоке жидкости в зависимости от степени полимеризации».

Данная работа посвящается исследованию динамики эмульсионный потоков полимерных капель в микрофлюидном канале в зависимости от степени их полимеризации. Задачи, которые решались в ходе исследования:

1. Разработка топологий и изготовление микрофлюидных чипов для проведения исследований динамики полимерных микрочастиц.

2. Разработка алгоритма анализа движения эмульсии в микроканале по изображениям, полученным с оптического микроскопа, на языке программирования Python.

3. Исследование динамики движения монодисперсной эмульсии «вода-масло» диаметром 30-60 мкм в прямоугольном канале микрофлюидного устройства.

4. Исследование изменения динамики движения монодисперсной эмульсии «вода-масло» при полимеризации полиакриламидного геля и геля PEGDA внутри капель эмульсии.

Работа проведена в лаборатории Нанобиотехнологий Академического Университета Ж. И. Алферова, где находились необходимые материалы и оборудование для исследования. Была проведена видеосъемка полимерных капель эмульсии в потоке жидкости прямоугольного канала микрофлюидного чипа. Анализ изображения проводился с помощью программы, специально написанной на языке программирования Python. Программа производила трекинг капель по последовательности изображения, тем самым записывая индивидуальные траектории.

В результате были проанализированы изменения динамики потока капель эмульсии-суспензии. Разработаны топологии микрофлюидных чипов для генерации эмульсии диаметром 30-70 мкм, а также отработаны методики исследования процесса полимеризации полимерных капель полиакриламида и полиэтиленгликоль диакрилата (PEGDA). Полученные результаты открывают зародившееся поле исследований динамики эмульсионных потоков, а также могут использоваться для определения степени и условий полимеризации гидрогелевых микрочастиц в микрофлюидном канале.

## ABSTRACT

On 50p., 22 figures, 5 tables, without appendices.

**KEY WORDS:** MICROFLUIDICA, EMULSION, KINETIKA OF POLYMERIZATION, SUSPENSION, LAMINAR FLOW, DINAMIKA OF DROPS.

The subject of the graduate qualification work is «Study of the dynamics of the movement of polymer microparticles in a fluid flow, depending on the degree of polymerization».

The given work is devoted to the study of the dynamics of emulsion flows of polymer droplets in a microfluidic channel depending on the degree of polymerization. The research set the following goals:

1. Development of topologies and manufacture of microfluidic chips for conducting research on the dynamics of polymer microparticles.

2. Development of an algorithm for analyzing the movement of an emulsion in a microchannel based on images obtained from an optical microscope in the Python programming language.

3. To investigate the dynamics of movement of a monodisperse emulsion «water-oil» with a diameter of 30-60 microns in a rectangular channel of a microfluidic device.

4. Investigation of changes in the dynamics of the movement of monodisperse emulsion "water-oil" during the polymerization of polyacrylamide gel and PEGDA gel inside the emulsion droplets.

The work was fulfilled in the laboratory of Nanobiotechnologies of the Academic University Zh. I. Alferov, where the necessary materials and equipment for research were located. Video filming of polymer emulsion droplets was carried out in a liquid flow of a rectangular channel of a microfluidic chip. Image analysis was carried out using a program written in the Python programming language. The program tracked the drops along the image sequence, thereby recording individual trajectories.

As a result, changes in the dynamics of the flow of droplets of the emulsion-suspension were analyzed. Topologies of microfluidic chips have been developed to generate emulsions with a diameter of 30-70 microns, as well as methods for studying the process of polymerization of polymer drops of polyacrylamide and polyethylene glycol diacrylate (PEGDA) have been developed. The performed analysis opens an arising field of studies of the dynamics of emulsion flows and can also help in determining the degree of polymerization of hydrogel droplets in a microfluidic channel.

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	7
ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР .....	9
1.1. Капли эмульсии и микрочастицы суспензии.....	9
1.2. Кинетика и механизм полимеризации .....	10
1.3. Гидрогели .....	13
1.4. Капельная микрофлюидика .....	15
1.5. Динамика микрофлюидных капель.....	18
1.6. Постановка целей и задач исследования .....	21
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ .....	22
2.1. Оборудования, материалы и реагенты.....	22
2.2. Изготовление микрофлюидных чипов для формирования капель.....	26
2.3. Теоретическое обоснование формирования капель .....	29
2.4. Экспериментальная установка .....	31
2.5. Формирование гидрогелевых микрочастиц .....	32
2.6. Анализ эмульсионных потоков .....	34
2.7. Исследование динамики полученных частиц.....	39
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	47
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	48

## ВВЕДЕНИЕ

В последнее время активно развивается область изготовления материалов, произведенных из различных коллоидных растворов и микрогранул. Микрочастицы, изготовленные из эмульсии под воздействием полимеризации, находят множество применений в биологических и медицинских приложениях. Процесс производства таких частиц нуждается в точных технологиях, контролирующих параметры капель эмульсии в жидкости. Микрофлюидика, как дисциплина, была создана как раз для решения подобных задач, а в частности для работы с жидкостями на микроуровне. Специфика устройств позволяет проследивать весь процесс формирования суспензии непосредственно в микрофлюидном чипе. Технологии производства полимерных капель усложняются, стало возможно манипулировать некоторыми параметрами микрочастиц, их формой и составом. Такие частицы используют в таргетированной доставке лекарств, в качестве компонент чернил для биопечати, в изготовлении дисплеев и сенсоров.

Получают микрочастицы суспензии из монодисперсной полимерной эмульсии с помощью полимеризации. Степень полимеризации влияет на свойства микрочастиц, регулировка данного процесса гарантирует достижения желаемых характеристиками раствора. Микрофлюидные устройства позволяют проводить полимеризацию в ламинарном потоке жидкости, осуществляя хороший контроль эмульсии, но такие потоки, из-за хаотичности процессов взаимодействия капель и возникновения дополнительных граничных условий порождают новые проблемы, связанные с динамикой жидкости в канале.

Актуальной задачей становится изучение поведения эмульсии в потоке жидкости во время полимеризации, описание изменения взаимодействий между каплями дисперсной фазы в потоке непрерывной фазы.

В связи с этим целью работы стало исследование динамики движения полимерных микрочастиц в потоке жидкости в зависимости от степени их полимеризации. В соответствие с назначенной целью были поставлены следующие задачи:

– Разработка топологий и изготовление микрофлюидных чипов для проведения исследований динамики полимерных микрочастиц.

– Разработка алгоритма анализа движения эмульсии в микроканале по изображениям, полученных с оптического микроскопа, на языке программирования Python.

– Исследовать динамику движения моодисперсной эмульсии «вода-масло» диаметром 30-60 мкм в прямоугольном канале микрофлюидного устройства.

– Исследование изменения динамики движения моодисперсной эмульсии «вода-масло» при полимеризации полиакриламидного геля и геля PEGDA внутри капель эмульсии.

Работа была выполнена на базе лаборатории нанобиотехнологий Санкт-Петербургского национального исследовательского Академического университета Российской академии наук.

Результаты были представлены на 2 конференциях: «Saint-Peterburg OPEN 2021», Санкт-Петербург, 25-28 мая 2021; «SPb-РОЕМ 2021», Санкт-Петербург, 25-28 мая 2021.

Бакалаврская работа включает в себя введение, две главы, заключение, список литературы из 37 наименований, состоит из 50 страниц, содержит 22 рисунка.



## ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

### 1.1. Капли эмульсии и микрочастицы суспензии

Эмульсия представляет собой дисперсную систему из микроскопических капель жидкости, рассеянной в другой жидкости. Эмульсию разделяют два основных вида по типу вещества в дисперсной фазе: «масло в воде» и «вода в масле». Такая система сама по себе термодинамически неустойчива, капли начинают слипаться, коллоидный раствор возвращается в первоначальное состояние – в две отдельные фазы. Для сохранения капель эмульсии применяются различные химические эмульгаторы (поверхностно активные вещества) [34], они уменьшают межфазное напряжение, повышают энергию смешивания и создают стабильную границу раздела двух фаз жидкости [35].

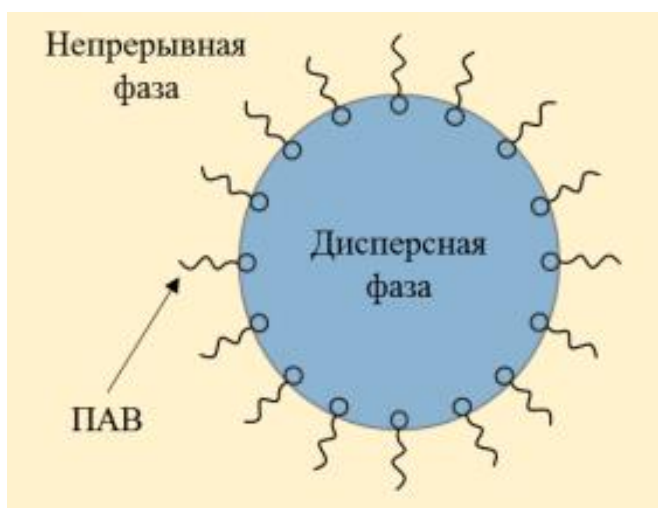


Рис. 1.1. Схема стабилизации капель с помощью поверхностно-активных веществ, ПАВ, [36].

Коллоиды и гранулы нашли свое применение в производстве разнообразных высокотехнологичных материалов. Эмульсия, изготовленная из полимерных капель, в дисперсной фазе которой рассеяны мономеры, под воздействие процесса полимеризации обеспечивает формирование моодисперсных частиц суспензии. Обычные методы получения полимерных частиц сферической формы ограничены диапазоном энергий межфазной фазы, влияющим на размер частицы. В настоящее время разрабатывается множество инновационных подходов

производства и формирования капель различной геометрической формы [16], структуры [23], тем самым открывая новые применения материалов на базе коллоидов.

Для получения больших частиц суспензии используют методы консолидации, вызванной испарением. Макроэмульсия создается под воздействием больших сил сдвига. Мономеры сшиваются или полимеризуются, сопутствующие растворы испаряются, образуя твердые частицы. Средний размер таких частиц можно контролировать силой сдвига и скоростью перемешивания, однако распределение по размерам остается широким, такие капли не поддаются сортировке и не находят применения в высокотехнологичных сферах. Не стоит забывать, что некоторые растворы могут не переносить сильного механического и термического воздействия, что тоже является недостатком данной технологии производства частиц.

Появилась необходимость в технологии, которая позволит создавать капли разной геометрии и структуры, для большого числа различных полимеров. Прежде чем говорить об актуальных методах формирования монодисперсной эмульсии, стоит затронуть процессы, происходящие в капле под воздействием полимеризации. От механизма протекания реакции полимеризации зависят механические и химические свойства получившегося полимера. Понимание внутренних процессов и их кинетики даёт возможность управлять характеристиками гранул и помогает оптимизировать методы синтеза капель различной полимерной природы.

## **1.2. Кинетика и механизм полимеризации**

Методы синтеза полимеров классифицируются по механизму роста макромолекулярной цепи и природе активного центра. На примере акриламидных мономеров проследим процесс образования полимерных звеньев радикальной полимеризацией. Он состоит из трех шагов: инициирования, роста и обрыва цепи [37].

Процесс инициирования полимеризации включает два этапа. Первый – это создание свободных радикалов.



где  $I_2$  – это инициатор,

$I^*$  - первичный радикал, образованный при разложении инициатора,

$k_d$  – константа скорости, характеризующая процесс.

Вторым этапом является создание первого радикала, путем взаимодействия с мономером.



где  $m$  – мономер,

$k_i$  – параметр, характеризующий скорость протекания реакции,

$R_1$  – радикал.

При высоких температурах процесс полимеризации может начаться и без добавления в систему инициаторов. В таком случае появление радикалов происходит через разложения небольшого количества перекисных примесей в результате процесса окисления. Для комнатных температур используют окислительно-восстановительное инициирование в среде мономера. Свободные радикалы образуются в качестве промежуточных продуктов. В случае, когда инициатором полимеризации акриламида является персульфат аммония, есть два способа начала реакции, сульфат-радикал и гидроксильный радикал.



Для полимеров другой природы активацией реакции может служить облучение светом высоких энергий. Он носит название радиационно-химического. Достоинством его применения является возможность мгновенного контроля интенсивности и длительности излучения, что существенно для проведения некоторых исследовательских работ.

Рост полимерной цепи реализуется последовательным присоединением молекул мономера к радикалам, появляющимся на этапе инициации.



$n$  – степень полимеризации или число мономерных звеньев в макромолекуле, а нижние индексы соответствуют количеству мономерных звеньев в растущей цепи.

Скорость процесса уменьшается с конверсией, молекулярная масса стремительно возрастает к концу протекания реакции. Обрыв цепи происходит в основном из-за диспропорционирования или рекомбинации.

Кинетика радикальной полимеризации зависит в первую очередь от скорости иницирования [12]. Концентрации инициаторов  $[I_2]$  в приближении первого порядка можно выразить:

$$[I_2] = [I_2]_0 \exp(-k_d t), \quad (1.6)$$

где  $t$  – время.

Тогда кинетические уравнения для концентрации мономеров  $[m]$  и удлиняющегося радикала  $[R]$  выглядят:

$$\frac{dR}{dt} = 2Fk_d[I_2] - k_t[R]^2, \quad (1.7)$$

где  $F$  – доля радикалов, которые приводят к образованию цепочки.

Общая скорость процесса равна скорости исчезновения мономера в системе:

$$\frac{d[m]}{dt} = -2Fk_d[I_2] + k_p[R][m] \sim k_p[R][m], \quad (1.8)$$

Аппроксимация для квазистационарного состояния даёт:

$$\frac{d[I^*]}{dt} = \frac{d[R]}{dt} \sim 0 \quad (1.9)$$

После аппроксимации концентрация радикалов выражается формулой

$$0 = \frac{d[R]}{dt} = 2Fk_d[I_2] - k_t[R]^2 \quad (1.11)$$

Что дает:

$$[R] = \sqrt{\frac{2Fk_d[I_2]}{k_t}} \quad (1.12)$$

Если  $[I_2]$  уменьшается незначительно во время реакции, тогда концентрация мономером в первом приближении можно выразить:

$$[m] = [m]_0 e^{-\kappa t}, \quad (1.13)$$

где  $\kappa = k_p[R]$ .

Из кинетики полимеризации можно рассчитывать число звеньев в макромолекуле или степень полимеризации. Эта величина характеризует среднечисловую массу полимера, равную числу молекул мономера, участвующих в процессе образования полимерных цепей, деленному на число получившихся материальных цепей.

При эмульсионной полимеризации, происходящей в каплях эмульсии, процесс может протекать с большими скоростями, с образованием высокомолекулярного водорастворимого геля. В результате формируется дисперсия частиц гидрофильного полимера. Полученный материал, называемый гидрогелем, характеризуется высокой монодисперсностью и механической устойчивостью. В некоторых случаях его применение предпочтительнее порошков или гранул, поскольку они имеют невысокую вязкость, легки в обращении и хранении.

### 1.3. Гидрогели

Гидрогели представляют собой сеть гидрофильных полимеров, обладающих свойством набухать и удерживать в своем объеме большое количество воды, с сохранением структуры за счет химического или физического сшивания отдельных полимерных цепей. Благодаря значительному содержанию воды, гидрогели обладают высокой гибкостью и хорошо имитируют естественные ткани [7]. Данный материал часто можно встретить в современных лабораториях по изготовлению «биочернил» для биопечати.

Сшивки или связи между полимерами гидрогеля, можно разделить на физические и химические [19]. Физические связи – это обычно водородные связи и гидрофобные взаимодействия. Такой гидрогель также называют «обратимым». Химические сшивки состоят из ковалентных связей между нитями полимера. Полученные таким путем гидрогели называют «необратимые». Один из методов инициирования реакции полимеризации или сшивки – это воздействие на него излучения или фотолитография. В этом методе фотоинициаторы добавляются к раствору будущего гидрогеля, под воздействием света они расщепляются, образуя свободные радикалы, запуская тем самым реакцию полимеризации между полимерными цепями. Геометрическая структура и размер фотошаблона определяют окончательный рисунок (матрицу) [3][11].

Одной из основных причин использования гидрогеля является широкий спектр его механических свойств [9]. Изменяя концентрацию полимера в гидрогеле, можно менять модули Юнга, сдвига и упругости в диапазоне 5 порядков величины. Аналогичный эффект наблюдается при изменении концентрации сшивки. Такая большая вариативность механической жесткости является причиной того, почему гидрогели так привлекательны в биомедицинских приложениях.

На свойства гидрогеля также сильно влияет структура и дизайн образовавшейся сетки. Материал из одиночной поперечно-сшитой сетки показывает плохие механические свойства, для увеличения его прочности часто используют аналоги с двойной сеткой или многослойные, изготовленные путем объединения химических и физических сшивок [5].

По своим свойствам гидрогель является наиболее подходящим материалом для имитации естественного внеклеточного матрикса (ECM). Особые типы гидрогелей специально разрабатываются в качестве имплантов для искусственных мышц, клеточных каркасов и органов [14][20]. Однако точный дизайн структур из гидрогеля для данных целей еще не разработан. Геометрия и узоры усложняются по мере открытия новых методов биопечати [21].

Ключевым для матриц на гидрогеле является то, что они обладают не только вязкоупругими свойствами, но также разной проницаемостью для различных типов молекул, белков, биоактивных агентов и т. д. Поэтому гидрогели часто используются как материал для проведения опытов *in vitro*, а также в тканевой инженерии [13]. Чтобы лучше имитировать анизотропную сложную структуру тканей тела, были разработаны гидрогели с системой иерархии, содержащие несколько слоев с различными биохимическими и механическими свойствами.

Гидрогели на данный момент имеют обширную область применения. В частности, в технологии биопечати, комбинируя клеточные и неклеточные компоненты гидрогеля, можно формировать объемные (3D) конструкции, которые могут имитировать человеческую кожу или другие органы [27][31]. Гидрогель зарекомендовали себя в качестве материала для контактных линз [22]. Некоторые гидрогели чувствительны к внешним воздействиям, обладают способностью определять изменения pH [17], температуры или концентрации метаболитов и восстанавливаться после удаления раздражителя. Существуют системы доставки лекарств на основе гидрогеля с замедленным высвобождением [1]. В таких системах физические или химические воздействия используются в качестве триггера для высвобождения лекарственного препарата.

Перспективной и активно используемой технологией по формированию гидрогелей, суспензий и множества других структур из полимерных капель является капельная микрофлюидика.

#### **1.4. Капельная микрофлюидика**

С разработки микрофлюидных устройств, позволяющих формировать капли одной жидкости в потоке другой, начала активно развиваться область «капельной микрофлюидики». Каждая капля представляет собой изолированную капсулу, в которой можно проводить эксперимент. Благодаря такому подходу при проведении одного и того же опыта в тысячах капель одновременно

происходит эффективный набор статистики. Фаза, разбившаяся на капли, называется дисперсной, транспортный поток – непрерывной. Капли представляют из себя объекты сферической формы, объемом от нескольких пико- до нанолитров, что соответствует диаметрам капли от единиц до сотен микрометров.

Основным преимуществом капельной микрофлюидики для современной биологии и медицины является высокая частота образования капель (порядка нескольких кГц) и чувствительность (вплоть до отдельных молекул). К тому же, с развитием данных технологий стала возможно контролировать параметры образования макроэмульсии, например, размер капель [30], концентрацию эмульсии или частоту генерации. Монодисперсность позволяет достигать одинаковых физико-химических условий в каждой капле, необходимых во многих экспериментах.

Благодаря универсальным технологиям помимо прочего капельная микрофлюидика находит широкое применение при скрининге новых перспективных лекарственных препаратов [29], проведении генетических исследований методом цифровой капельной ПЦР [26], а также синтезе полимерных микрочастиц [15]. Также в настоящее время изучается потенциал капельной микрофлюидики для изготовления новых «умных» материалов, оптических систем [24], и идентификационных меток [10].

Для образования макроэмульсии существует два типа методов – активные, основанные на использовании внешних сил [8], и пассивные, использующие специализированную топологию микрофлюидных каналов. Последние находят активное применение в биологии и медицинской диагностике, поскольку не оказывают никаких воздействий на биологические объекты. К тому же, пассивные генераторы эмульсий проще в изготовлении и дешевле, что делает возможным их одноразовое использование, а это первая мера по предотвращению загрязнения пробы.

Чтобы шел процесс генерации эмульсии, в пассивных устройствах создаются условия для возникновения гидродинамической неустойчивости, в результате которой дисперсная фаза будет дробиться на отдельные микрокапли в



окружающем потоке непрерывной фазы. Для этого используется три основных топологии: flow-focusing генераторы (Рис. 1.4.А), в которых дисперсная фаза распадается на капли при её фокусировке непрерывной фазой, T-injector генераторы (Рис. 1.4.Б), где дисперсная фаза распадается на пересечении потоков и со-flowing генераторы (Рис. 1.4.В), основывающиеся на распаде дисперсной фазы на капли при соосном течении фаз [25]

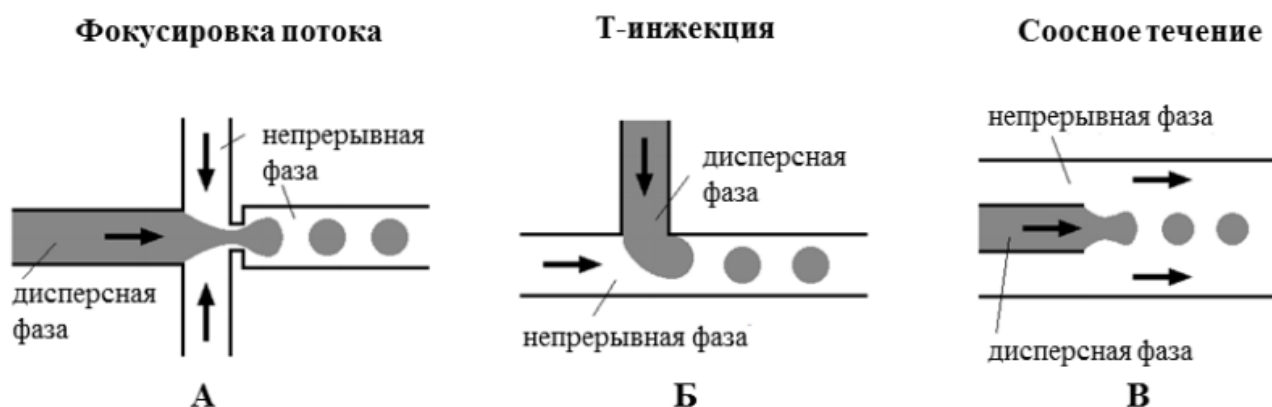


Рис. 1.2. Основные топологии пассивных генераторов капель: фокусировка потока(А), Т-инжекция(Б), соосное течение потоков (В) [36].

Методами капельной микрофлюидики возможно формирование не только эмульсий «вода-масло», но и монодисперсных полимерных микрочастиц из гидрогелей с заданными физическими и биологическими свойствами. Появляется возможность создавать капли различной структуры и геометрии (Рис. 1.3). Контролируется три аспекта: форма, конфигурация модулей и микроструктура. Два или все три аспекта могут одновременно регулироваться для проектирования функциональных частиц. Кроме того, в эти полимереры могут быть упакованы биологические активные молекулы и лекарственные средства, выделение которых в заданном пространстве позволит воздействовать на клетки, управлять формированием и развитием ткани или оказывать необходимое воздействие на участок организма.

Также, активно развивается микрофлюидный синтез двойных гидрогелевых суспензий типа «среда 1 –гидрогель – среда 2» с различной толщиной

гидрогелевой оболочки (т.н. core-shell структуры), позволяющими изолировать в твердые капсулы реагенты для проведения анализов или вести разработки в области создания искусственных клеток. Актуален синтез частиц-янусов из системы двух гидрогелей для создания дисплеев [32] или микромоторов [18].

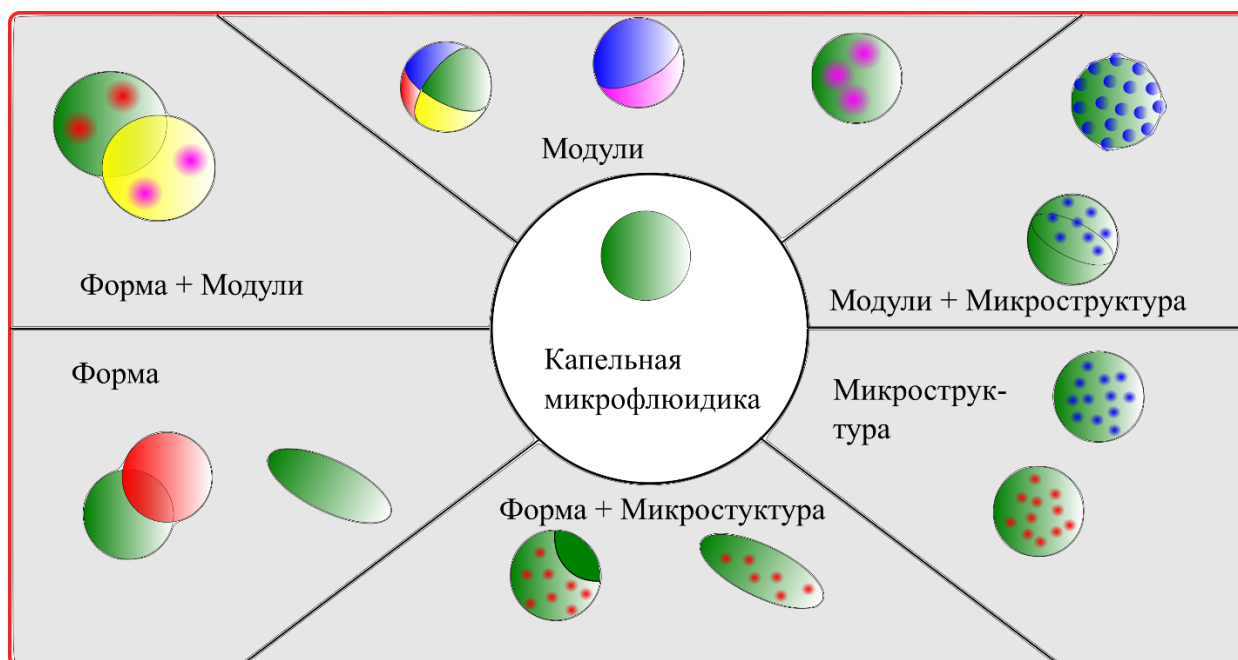


Рис. 1.3. Классификация микрочастиц, изготовленных методами капельной микрофлюидики: по форме, конфигурации модулей и микроструктуре [15].

Благодаря возможности точного контроля размеров, формы, физических характеристик получаемых сфероидов, капельная микрофлюидика является перспективным набором методов для изготовления высоко монодисперсных гидрогелевых микрочастиц для физических и биомедицинских применений.

### 1.5. Динамика микрофлюидных капель

Понимание неравновесных систем сильно отстает от понимания систем, находящихся в тепловом равновесии, поскольку становится недоступным предсказание поведения системы через нахождения минимума функционала свободной энергии. Существование основополагающих принципов, управляющих неравновесными системами, остается открытым вопросом. Особенно сложно описывать системы, в которых в динамике преобладают диссипативные силы,

распространяющиеся моды в такой системе быстро затухают без поддержки притока энергии.

Неравновесные системы многих тел с далекодействующими взаимодействиями повсюду в природе, к примерам можно отнести газ электронов в материалах, заряженные частицы в плазме, гравитационное осаждение частиц в жидкости. Тем не менее, часто в таких системах, основанных на взаимодействиях между частицами, понимание коллективных явлений остается неясным. Двумерная система капель эмульсии богата явлениями и поддается теоретической обработке благодаря линейности уравнений вязкого течения и низкой размерности. Тесное сравнение между экспериментом и теорией может рассказать подробнее о возникновении коллективных мод колебаний и одночастичных силовых полей.

Научной группой был проведен анализ динамики одномерного потока капель типа «вода в масле» [2]. Продемонстрировано, что капли в таком потоке проявляют природу гидродинамической кристаллической решетки, по которой распространяются коллективные продольные или поперечные вибрации. На большом расстоянии капли воздействуют друг на друга, что отражается на характере их движения в потоке. Распространение колебаний получилось описать акустическими фононами и связать с пелотон эффектом, когда передвижение близи соседа помогает уменьшить сопротивление, тем самым увеличивая скорость. Аналогично можно объяснить происхождение поперечных волн, если начать рассматривать дипольные силовые поля капель. Когда две соседние капли отклонены симметрично, наблюдается компенсация сил (рис. 1.4 (а)), в случае антисимметричных отклонений, силы на среднюю каплю складываются (рис. 1.4 (б)). Объединение таких конфигураций в подобие треугольника демонстрирует как вследствие асимметрии сил, приложенных к крайним каплям, можно наблюдать перемещение треугольного пика вдоль потока.

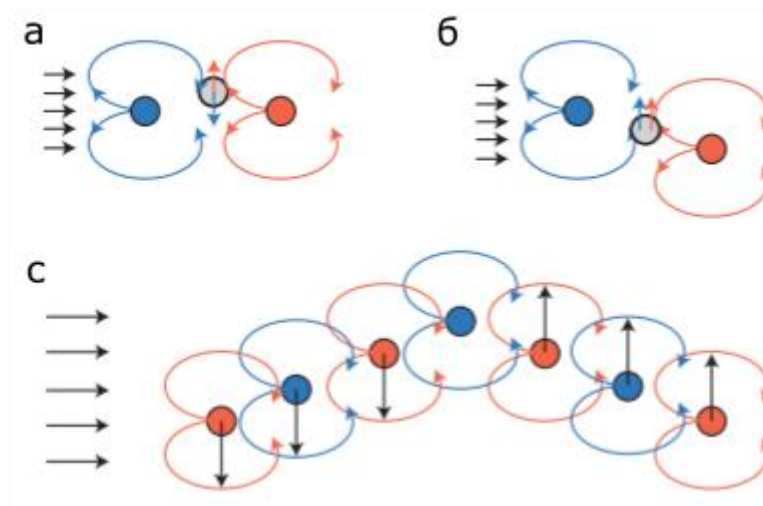


Рис. 1.4. Взаимодействие ближайших соседей в поперечном направлении – силы на среднюю каплю компенсируются (а) или складываются (б), в зависимости от конфигурации: треугольная поперечная волна, распространяющаяся со скоростью масла (с).

Таким образом изучение динамики уже двумерных ансамблей капель эмульсии может послужить многообещающей экспериментальной и теоретической базой в подходе к физике неравновесных систем.

В данной работе мы провели исследования двумерного потока эмульсии, а также рассмотрели влияния полимеризации на взаимодействие капель. В жидкой капле, в отличие от суспензии, возникают вторичные потоки, они препятствуют перемещению и увеличивают сопротивление при взаимодействии. По мере затвердевания дисперсной фазы, в зависимости от степени полимеризации, данное явление ослабевает. Также при полимеризации меняется межфазное взаимодействие, твердость капель, а следовательно, и характер деформаций. Все эти явления влияют на их динамику, наблюдение и описание потока таких капель может выявить закономерности между их поведением и процессами, происходящими внутри капли. А полученные результаты могут использоваться для определения степени и условий полимеризации гидрогелевых микрочастиц в микрофлюидном канале.

## 1.6. Постановка целей и задач исследования

### Цель работы:

Исследование динамики движения полимерных микрочастиц в потоке жидкости в зависимости от степени их полимеризации.

### Основные задачи:

- Разработка топологий и изготовление микрофлюидных чипов для проведения исследований динамики полимерных микрочастиц.
- Разработка алгоритма анализа движения эмульсии в микроканале по изображениям, полученных с оптического микроскопа, на языке программирования Python.
- Исследование динамики движения моодисперсной эмульсии «вода-масло» диаметром 30-60 мкм в прямоугольном канале микрофлюидного устройства.
- Исследование изменения динамики движения моодисперсной эмульсии «вода-масло» при полимеризации полиакриламидного геля и геля PEGDA внутри капель эмульсии.

## ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### 2.1. Оборудование, материалы и реагенты

#### Материалы для изготовления капель

1) Деионизованная вода

Использовалась для разбавления растворов мономеров гидрогелей. Для деионизации использовался прибор Millipore Milli-Q.

2) Минеральное масло (mineral oil 330779 light, Sigma-Aldrich)

Использовалось в качестве непрерывной фазы при формировании макроэмульсий. Плотность масла 0.838 г/мл при 25 °С,

3) Поверхностно-активное вещество (ПАВ) Abil EM 180 (Evonik Industries)

Неионогенное поверхностно-активное вещество (ПАВ) при добавлении в непрерывную фазу (масло) в концентрации 3-5 % стабилизировало эмульсию и предотвращало коалесценцию капель. Обеспечивает стабильность эмульсии при температурах от -5 °С до 40 °С.

4) Раствор акриламида/бис-акриламида 29:1 (Bio-Rad)

Водный раствор мономера полиакриламида и поперечно связывающего агента. Применяется в качестве молекулярного сита для геля электрофореза белков и нуклеиновых кислот. В работе использовался для формирования гидрогелевых микрочастиц.

5) Пероксидисульфат аммония (Bio-Rad)

Является инициатором полимеризации раствора акриламида/бис-акриламида. Добавлялся в непрерывную фазу при формировании гидрогелевых микрочастиц в концентрации 0.2-0.3%.

6) TEMED (Sigma-Aldrich)

N, N, N', N'-тетраметилэтилендиамин (TEMED) является катализатором полимеризации раствора акриламида/бис-акриламида. Растворяется как в воде, так и в масле. Добавлялся в непрерывную фазу в концентрации 1.5%.

7) Полиэтиленгликоль диакрилат (PEGDA) (Bio-Rad)

Представляет собой чистый гидрогель, который быстро загустевает при комнатной температуре в присутствии фотоинициатора и УФ-излучения. Гидрофильный и эластичный, может быть использован в качестве материала для инкапсуляции биологических молекул. В работе использовался для формирования эмульсии.

#### 8) IRGACURE 2959 (Sigma-Aldrich)

Радикальный фотоинициатор полимеризации УФ-источником, на частоте 365 нм.

### **Материалы для изготовления микрофлюидных чипов**

#### 1) Полидиметилсилоксан (ПДМС) (Sylgard 184, DowCorning)

Состоит из силиконовой основы и отвердителя. Для изготовления микрофлюидных чипов используется смесь основы с отвердителем в соотношении 10:1. Процесс полимеризации происходит при температуре 65-70 °С в течение 3-4 часов.

#### 2) Покровные стекла (Menzel-Gläser)

Размеры 24 x 50 x 0.17 мм.

#### 3) Предметные стекла (Menzel Gläser)

Размеры 25 x 75 мм.

#### 4) Гидрофобизирующий агент ClearVue Rain Repellent (Turtle Wax Inc.)

Применялся для гидрофобизации каналов микрофлюидного чипа.

### **Оборудование для изготовления микрофлюидных чипов**

#### 1) Сушильный шкаф SNOL 67/350

Низкотемпературная лабораторная электропечь с естественной конвекцией, поддерживает постоянной заданную температуру. Максимальная температура 350 °С. Использовался для отверждения ПДМС.

#### 2) Эксикатор с вакуумным насосом (WP6122050, Millipore)26

Использовался для дегазации ПДМС перед заливкой мастер-формы. Способен обеспечивать вакуум до 200 мбар.

### 3) Установка плазменной обработки (Plasma Finish)

Установка применялась для обработки стекла и ПДМС-реплики в кислородной плазме для их прочного связывания.

### 4) Кремневые мастер-формы

Использовались в качестве шаблонов для отливки микрофлюидных чипов с заданной топологией методом «мягкой» литографии.

### 5) Стилеты для биопсии кожи (Integra Miltex)

Диаметр: 1 и 4 мм. Применялись для формирования входных и выходных отверстий в микрофлюидных чипах.

## **Оборудование для проведения экспериментальных исследований**

### 1) Оптический микроскоп Leica 4000B LED

Работал в паре с камерой (xiC) для контроля процесса образования капель и съемки динамики движения в прямоугольном канале.

### 2) Микрофлюидный контроллер давления (разработан в лаборатории нанобиотехнологий СПбАУ)

Использовался для подачи жидкостей в микрофлюидный чип при постоянном давлении 1-50 кПа. Основан на электропневматических интерфейсах ITV0001 (SMC). Источником сжатого воздуха для контроллера служил компрессор 2xOF302-40B (Jun Air). Для передачи давления в пробирку 1.5 мл (Axygen Scientific Inc.) использовался пневможидкостный интерфейс, представляющий из себя герметичную насадку с входным каналом для воздуха и выходным для жидкости, изолированными прокладкой из ПДМС (соотношение силиконовой основы к отвердителю 20:1). Детали пневможидкостного интерфейса были изготовлены на 3D-принтере Designer X PRO (Picaso 3D) из АБС-пластика (акрилонитрилбутадиенстирол).

### 3) Весы Cubis (Sartorius)



Высокоточные аналитические весы (точность  $10^{-5}$  г) использовались для приготовления дисперсной и непрерывной фазы, а также для смешивания компонентов ПДМС.

4) Дозаторы Biohit Proline (Sartorius)

Механические дозаторы с варьируемыми объемами в диапазоне 0.1-1000 мкл использовались для приготовления дисперсной и непрерывной фазы, а также для гидрофобизации чипов.

5) Предметное стекло с напылением ИТО

Сопротивление: 311 Ом. Тонкие пленки оксида индия, легированного оловом (indium tin oxide, ИТО), широко используется в качестве прозрачных проводящих покрытий. Применялись для поддержания постоянной температуры внутри чипа.

6) Источник питания программируемый, Tektronix PWS4323

Выдаваемое напряжение: 0-32 В, ток 0-3 А, мощность: 96 Вт. Базовая погрешность по напряжению 0,03%, по току 0,05%. Использовался для обеспечения питания ультрафиолетового диода и нагрева микрофлюидных чипов при формировании полиакриламидных капель на стекле с напылением ИТО.

7) Встряхивался типа «Vortex» на одну пробирку ELMi V-3

Скорость вращения гнезда, об/мин 50-4500. Амплитуда вращения гнезда, 3мм. Применялся для смешивания растворов дисперсной и непрерывной фазы.

8) Светодиод с системой охлаждения

Рабочая длина волны: 365 нм. Рабочее напряжение: 12 В. Находился на расстоянии 5 см. над микрофлюидным чипом. Применялся для облучения капель из PEGDA приводя к их полимеризации.

## 2.2. Изготовление микрофлюидных чипов для формирования капель

Для формирования макроэмульсии, представляющей собой капли «вода-в-масле», использовались пассивные микрофлюидные генераторы, образование эмульсии в которых осуществляется за счет возникновения неустойчивости в месте соприкосновения двух несмешивающихся жидкостей. В данном исследовании был выбран метод фокусировки потока, поскольку с помощью него возможно формирование монодисперсных капель в широком диапазоне размеров.

Величина апертуры чипа составляла 15 мкм и 10 мкм, ширина первичного канала составляла 60 мкм, такая конструкция обеспечивает стабильный однорядный режим генерации. Далее ширина выходного канала увеличивается до 1 мм, длина канала составляет 37 мм, такой удлинённый канал был спроектирован, чтобы проследить весь процесс полимеризации и его влияние, на динамику капель. Сразу после входных отверстий в микрофлюидном чипе были созданы фильтрующие элементы с размерами пор 15 мкм для непрерывной фазы и 30 мкм для дисперсной фазы (рис. 2.1.).

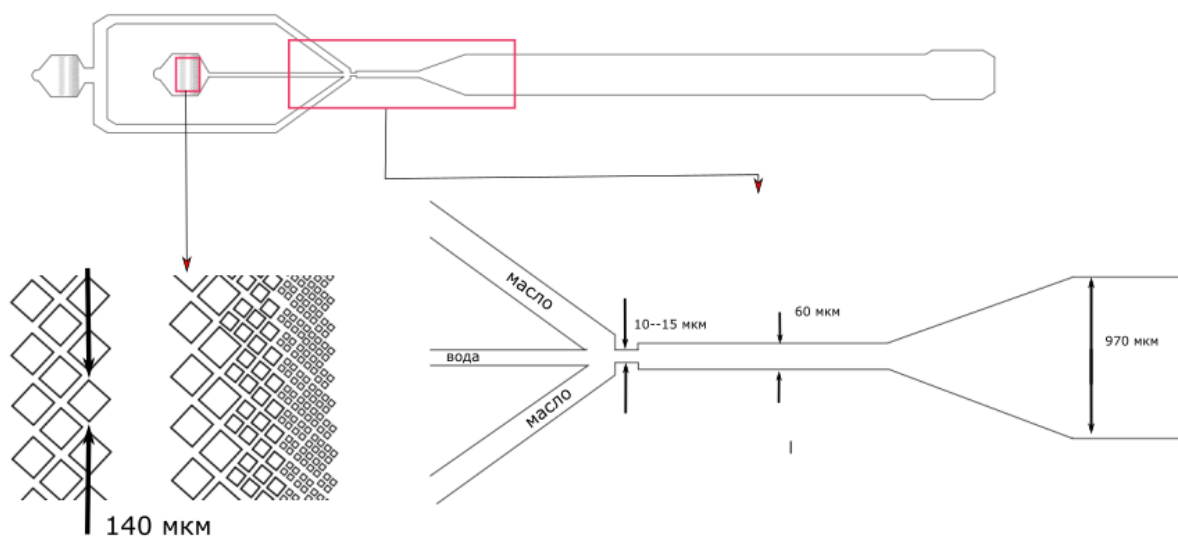


Рис. 2.1. Топология микрофлюидного генератора капель. Работает по принципу фокусировки потока. На изображении также указаны фильтрующие элементы.

Помимо полимеров, используемых в качестве материалов для производства микрофлюидных чипов, также используют кремний, кварц или стекло.

Методами лазерной абляции или селективного травления получается изготовить многоразовый чип, но технологический процесс в этом случае является сложным, долгим и дорогим, чипы не всегда получается хорошо промывать для повторного использования. Поэтому для простоты используют оптически-прозрачные полимеры, в этом они не уступают стеклу и кварцу, а также являются более биосовместимыми, чем кремний. Чаще всего используют полидиметилсилоксан (ПДМС): он термоустойчив, химически инертен, прозрачен, биосовместим и легкодоступен.

Для отливки микрофлюидных чипов с заданной топологией каналов по методу «мягкой литографии» используются специальные кремниевые шаблоны - мастер-формы [4]

Для изготовления кремниевой мастер-формы сначала методом лазерной фотолитографии на установке Heidelberg DWL-66fs изготавливались фотошаблоны. Поскольку глубина каналов на различных участках разная, то требуется два фотошаблона.

Процесс изготовления фотошаблона указан на схеме (Рис. 2.2.). На стеклянную подложку напыляется хром, после чего на центрифуге наносится позитивный фоторезист AZ1505. Далее, на лазерном литографе производится экспонирование фоторезиста по заданной геометрии микрофлюидных каналов. Поскольку AZ1505 позитивный, то на поверхности стекла остаются только те участки, которые не были экспонированы. Затем происходит травление хрома и удаление остатков фоторезиста.

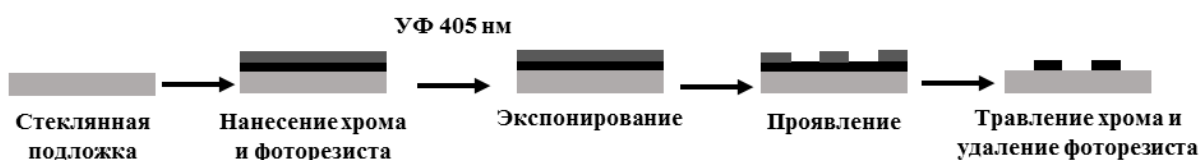


Рис. 2.2. Схема изготовления фотошаблона.

После этого, при помощи центрифуги на кремниевую подложку наносится фоторезист SU8-2025 слоем толщиной 30-50 мкм. Затем выполняется его

экспонирование по фотошаблону на установке контактной фотолитографии SUSS MJB4. Далее происходит отжиг при 95 °С и проявление с помощью SU8-Developer (Рис. 2.3.А). После проявления на подложке остаются проэкспонированные области по форме микроканалов. Для создания двухслойных структур шаги по созданию мастер-формы производятся повторно.

Следующим этапом является изготовление ПДМС-реплики по полученной мастер-форме. Для этого сначала, ПДМС с отвердителем в пропорции 10:1 тщательно перемешивается до однородной массы. Далее, смесь помещается на 40 минут в эксикатор для дегазации ПДМС. После этого мастер-форма покрывается слоем дегазированной смеси высотой 1.5-3 мм. Отверждение осуществляется в электрической печи при температуре 65-70 °С в течение 3-4 часов. По окончании отверждения, ПДМС-реплика отделяется от мастер-формы при помощи пинцета и скальпеля. Стиллетом для биопсии кожи, диаметром 1 мм, пробиваются отверстия для подводящих капилляров. Производится обработка ПДМС-реплики и стеклянной пластины в кислородной плазме, после чего они совмещаются друг с другом (Рис. 2.3.Б).

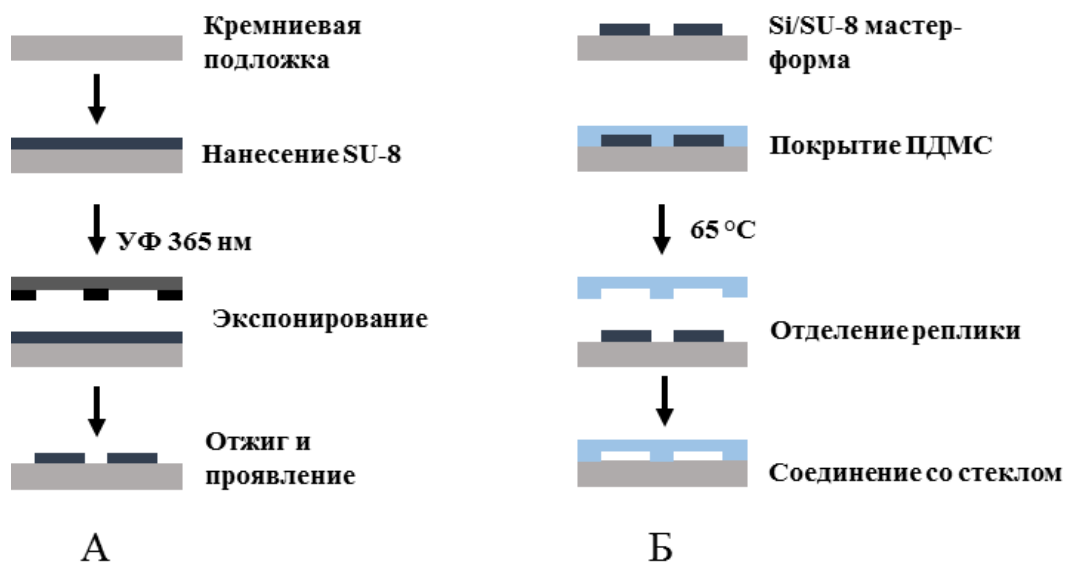


Рис. 2.3. Изготовление мастер-формы (А), схема изготовления чипа из ПДМС (Б).

После плазменной обработки между стеклом и ПДМС образуются ковалентные связи, за счет которых осуществляется прочное герметичное соединение [28]. В конце каналы чипа обрабатываются гидрофобизирующим агентом. Качество изделия оценивается при помощи оптического микроскопа. Фото готового чипа и мастер-формы приведено на рисунке 2.4.

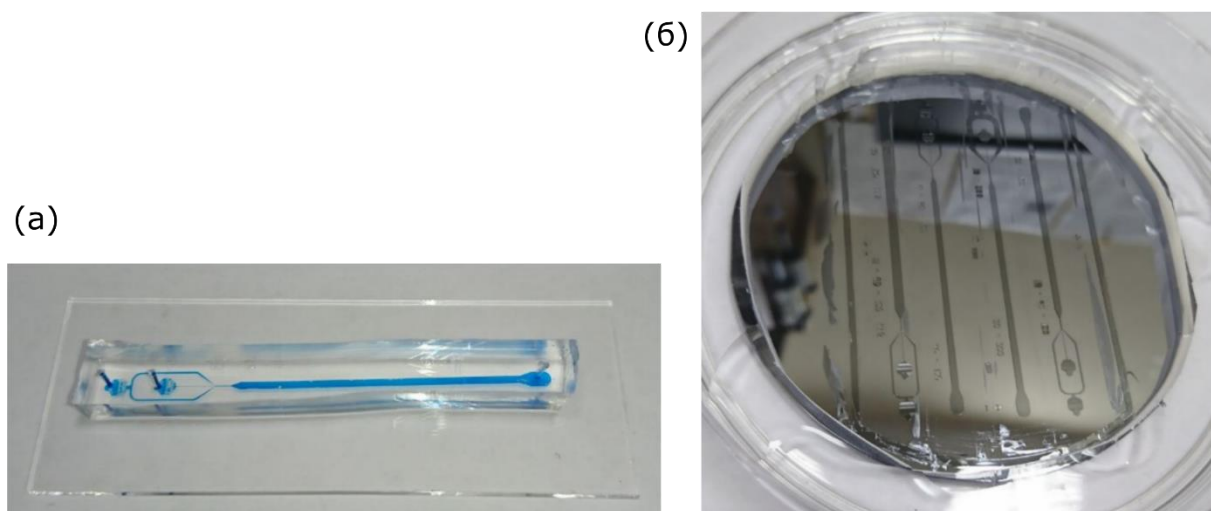


Рис. 2.4. Изображение готового микрофлюидного чипа, каналы заполнены синей краской для лучшей визуализации (а), изображение готовой мастер-формы (б).

### 2.3. Теоретическое обоснование формирования капель

Формирование капель начинается при попадании дисперсной фазы в область, где распространяется непрерывная фаза. Появляется граница раздела двух жидкостей, на которой действуют силы напряжения сдвига и поверхностного натяжения – эти силы влияют на процесс формирования капель и их движение в потоке. Отношения этих сил отражают характеристические числа.

Число Рейнольдса – соотношение инерционных и вязких сил:

$$Re = \frac{\rho v D}{\eta}, \quad (2.1)$$

где  $\rho$  - плотность жидкости,

$v$  – скорость потока,

$\eta$  – динамическая вязкость среды,

$D$  – гидравлический диаметр каналов.

Гидравлический диаметр вычисляется по формуле

$$D = \frac{4A}{P}, \quad (2.2)$$

где  $A$  – площадь поперечного сечения потока,

$P$  – периметр канала.

Микрофлюидные системы в силу размерного фактора характеризуются низкими числами Рейнольдса ( $Re < 1 \div 10$ ): при этом условии потоки являются ламинарными, и система уравнений Навье-Стокса в прямоугольном канале имеет точное решение в виде линейного профиля скоростей (течение Куэтта) или параболического профиля скоростей (течение Пуазёйля) [9] – именно такие профили скоростей жидкости могут наблюдаться в каналах микрофлюидного чипа (за исключением редких областей с нарушением ламинарности). В нашем случае,  $Re \leq 0,2$ .

Капиллярное число – отношение вязких сил и сил поверхностного натяжения:

$$Ca = \frac{\eta v}{\gamma}, \quad (2.3)$$

где  $\gamma$  – поверхность натяжения между двумя фазами.

При низких капиллярных числах ( $Ca < 10^{-2}$ ) поверхностные силы преобладают и образование капель определяется скоростями потоков непрерывной и дисперсной фаз. В нашем случае, капиллярные числа непрерывной и дисперсной фазы  $Ca \sim 2 \cdot 10^{-4}$ , что соответствует «капающему» режиму генерации эмульсии (рис 2.5).

На параметры формируемых капель влияют поверхностное натяжение, вязкость фаз, геометрическая структура чипа, смачиваемость стенок каналов и скорость потоков фаз. Исходя из вышесказанного, контролируемое формирование сферических капель должно происходить в условиях  $Ca < 10^{-2}$  и  $Re < 1$ , что соблюдается в применяемых микрофлюидных чипах.

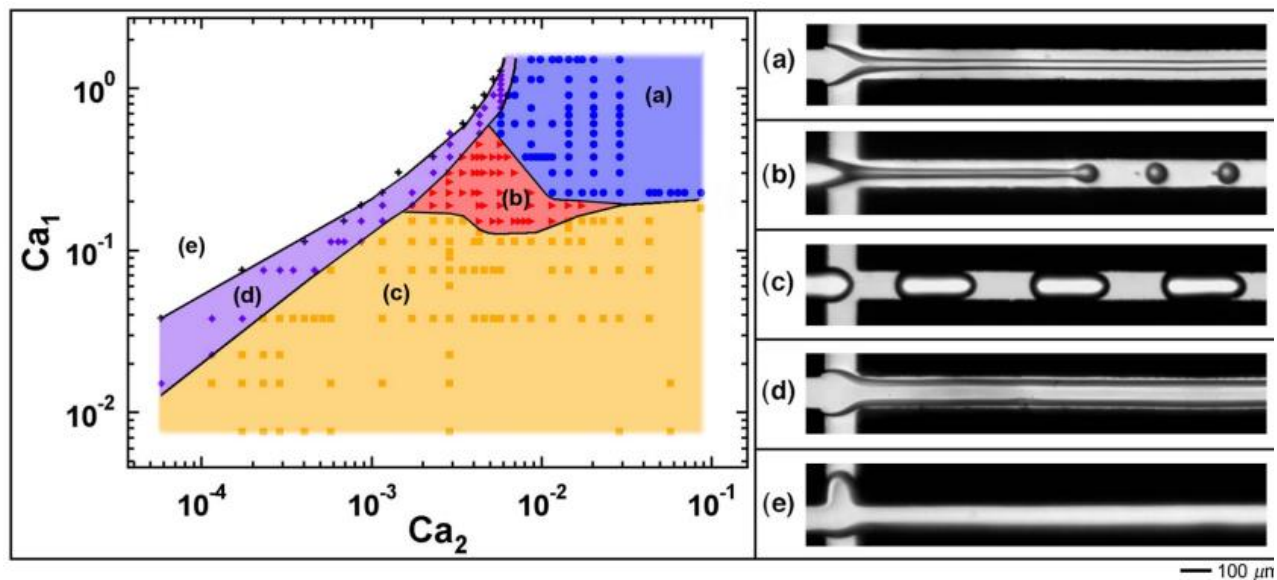


Рис. 2.5. На графике представлены режимы, возникающие при различных соотношениях капиллярных чисел дисперсной (1) и дисперсионной (2) фаз. (а) -нитеобразный режим; (b) – струйный режим; (c) – капающий режим; (d) – трубообразный режим, (e) – режим вязкого смещения [6].

## 2.4. Экспериментальная установка

Для ввода жидкостей в микрофлюидный чип использовался контроллер давлений, позволяющий поддерживать постоянное давление воздуха в пробирке с образцом в пределах 1-50 кПа. Под действием сжатого воздуха в герметичном пневможидкостном интерфейсе, жидкость из пробирки вытесняется в микрофлюидный чип, где осуществлялось формирование капель. Далее, полученные капли через выходной капилляр собирались в пробирку. Наблюдение за процессом генерации капель и их движением к выходному капилляру осуществлялось при помощи скоростной камеры (x1С) при скорости съемки до 100 кадров в секунду. Схема установки представлена на рисунке 2.6.

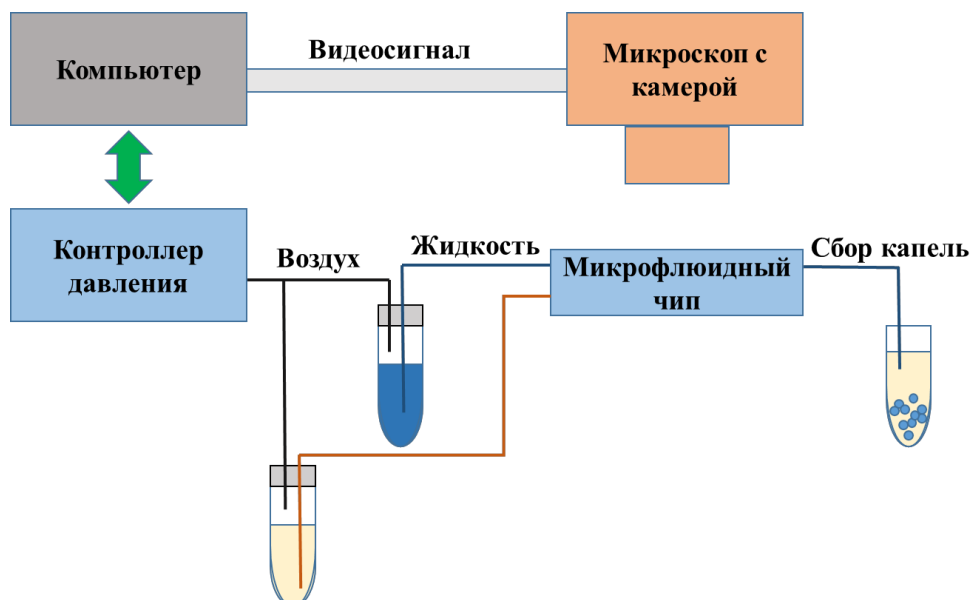


Рис 2.6. Принципиальная схема экспериментальной установки.

## 2.5. Формирование гидрогелевых микрочастиц

Общая схема генерации гидрогелевых микрочастиц является двухэтапной: на первом этапе осуществляется формирование эмульсии, на втором этапе в эмульсии проводится реакция полимеризации, т.е. осуществляется переход эмульсия-суспензия. Готовым продуктом является суспензия монодисперсных полимерных сферических микрочастиц в масляной среде.

В качестве полимеров суспензии были выбраны полиакриламид, формирующийся мономерами акриламида, и поли-(этиленгликоль) диакрилат (PEGDA), длинные цепи этого мономера гидрофильны, полимер образуется в результате сшивания.

### Акриламид

Для полимеризации акриламида требуется его контакт с инициатором полимеризации - пероксидисульфатом аммония и катализатором полимеризации TEMED. Удобство использования такого набора веществ состоит в том, что TEMED хорошо растворяется как в воде, так и в масле, то есть, добавляя его в масло, а пероксидисульфат аммония в воду, можно обеспечить длительную генерацию капель без отверждения акриламида в исходной пробирке. Реакция полимеризации начинается с момента контакта фаз в области генерации за счет



диффузии TEMED из непрерывной в дисперсную фазу, и продолжается в течение следования капли по чипу. Для этой задачи и был изготовлен чип с длинным каналом для осуществления полимеризации непосредственно в чипе: данный подход предотвращает коалесценцию и деформацию капель в выходном капилляре за счет механических воздействий (вибрация стола, перемещение столика микроскопа и пр.).

В качестве дисперсной фазы для полиакриламидных капель использовалась следующая смесь:

- 630 мкл деионизованной воды,
- 335 мкл 30% раствора акриламида/бис-акриламида,
- 30 мкл 10% раствора персульфата аммония,
- 5 мкл меченных флуоресцеином микрочастиц, диаметром 1 мкм.

Данный раствор эквивалентен 10%- раствору акриламида с добавлением 3% персульфата аммония.

В качестве непрерывной фазы использовалось минеральное масло с добавлением 4% ПАВ Abil EM180 и 1,5% TEMED.

Для капель акриламида также использовался нагревательный элемент, который располагался под чипом и нагревал его до 50°C. Нагрев среды обеспечивает увеличение диффузии и скорейшее попадание катализатора в дисперсную фазу, а также увеличивает скорость реакции сшивки, тем самым ускоряя процесс полимеризации, уменьшая при этом вязкость непрерывной фазы.

## **PEGDA**

В качестве дисперсной фазы для приготовления гидрогелевой капли PEGDA использовалась следующая смесь:

- 828 г PEGDA
- 348 г деионизированной воды
- 24 г фотоинициатора Irgacure 2959, 2% раствора

Для непрерывной фазы тоже самое, что и для полиакриламида, только без добавления катализатора TEMED.

Микрочастицы PEGDA в микрофлюидном чипе были полимеризованы УФ светодиодом, установленным на расстоянии в 5 см от микроканала, для предотвращения процесса полимеризации полимера до образования капель, все капилляры и место генерации было накрыто фольгой. Плотность мощности излучения на волне 365 нм составляла  $4.2 \text{ мВ/см}^2$ .

Процесс формирования капель осуществлялся в микрофлюидном генераторе эмульсии, описанном в п.2.2. представленной работы. Генерация шла при давлении непрерывной фазы 12 кПа и давлении дисперсной в 9 кПа. Вязкость раствора акриламида близка к вязкости воды и не зависит от его концентрации, поэтому формирование полиакриламидной эмульсии осуществлялось только в капляющем режиме

С оптического микроскопа велось наблюдение места генерации, представленном на рисунке 2.7., проводилась корректировка давлений. В данных чипах возможно контролировать диаметр капель в пределах 15-80 мкм.

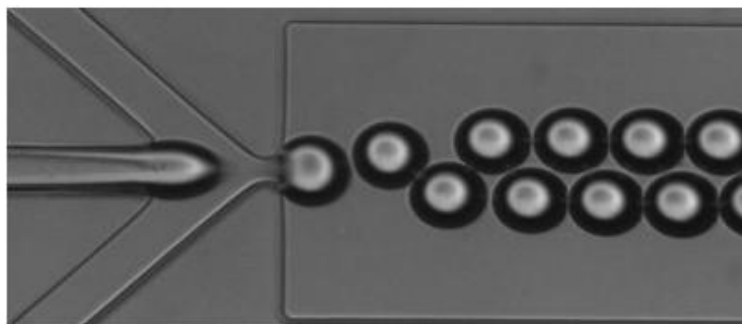


Рис 2.7. Генерация гидрогелевых капель.

## 2.6. Анализ эмульсионных потоков

### Акриламид

Для капель акриламида были взяты чипы с апертурой 10 мкм, они больше всего подходили для формирования монодисперсных капель размерами 40–60 мкм. Давление, подаваемое для дисперсной фазы, составляло 7–9 кПа, для непрерывной 10–12 кПа. Такое малое давление было выбрано специально, чтобы процесс полимеризации проходил непосредственно в канале, а также успел

проявить свою природу на динамике эмульсии. На опыте были достигнуты такие условия потока, при которых капли проходили канал примерно за 2 минуты.

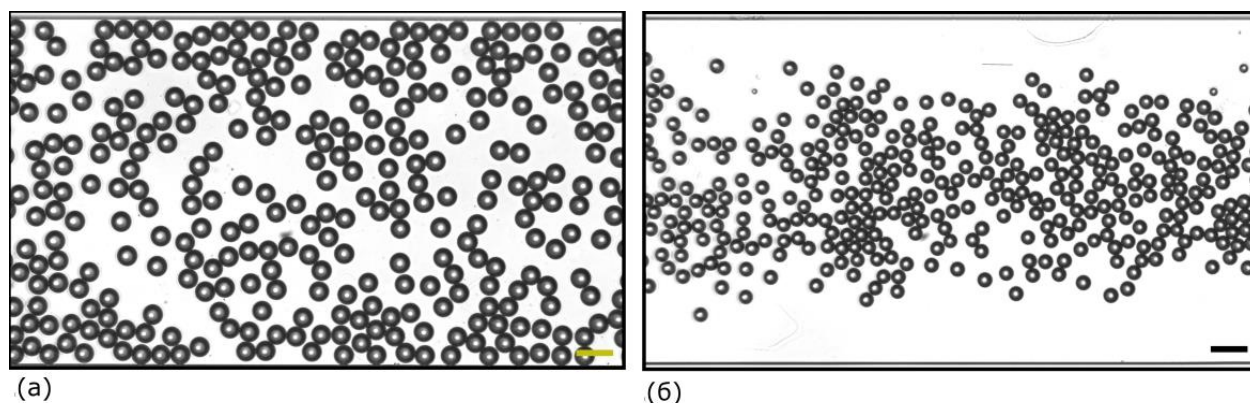


Рис. 2.8. Капли размером 57 мкм (а), 42 мкм (б); размерная метка соответствует 100 мкм.

Чтобы убедиться, что процесс полимеризации идет и предугадать место, в котором процесс завершается, были проведены опыты по замерам времени полимеризации в объемном материале (Таблицы 2.1). На покровном стекле с помощью дозаторов были сформированы маленькие капли дисперсной фазы, на которые капали непрерывную фазу с катализатором. Опыты проводились для растворов с добавлением катализатора и без него, а также для разных температур. За время полимеризации считалось то время, за которое капля загустевала достаточно, чтобы не разделяться в отдельные капли при перемешивании.

Таблица 2.1

#### Время полимеризации полиакриламида

Акриламид	t, с
Контроль (22°C)	-
Контроль (50°C)	Более 2 минут
Эксперимент (22°C)	45
Эксперимент (50°C)	17

Из таблицы видно, что для наблюдения влияния эффекта полимеризации в канале, требуется, чтобы капли находились там более минуты. За это время получившаяся эмульсия проходила примерно половину канала.

## PEGDA

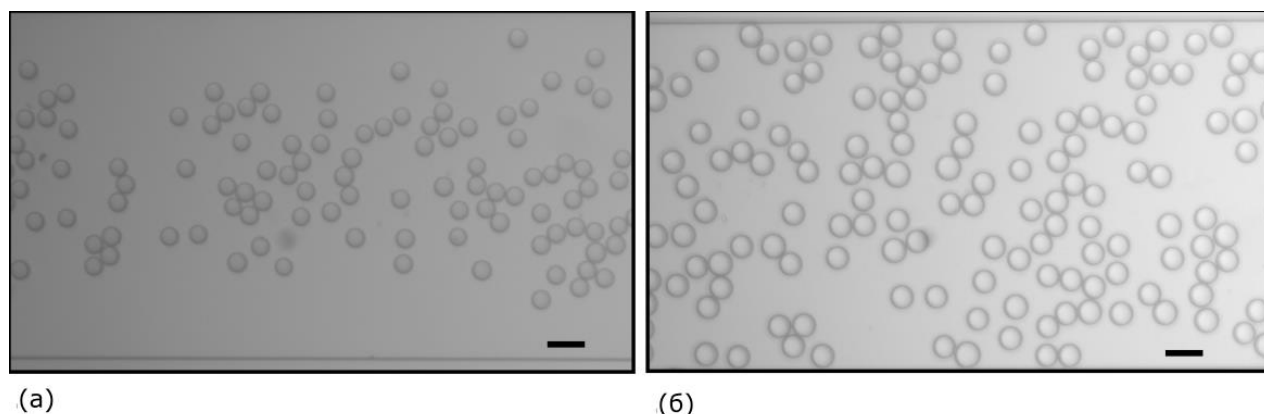


Рис. 2.9. Капли размером 50 мкм (а), 60 мкм (б); размерная метка соответствует 100 мкм.

Для капель PEGDA были взяты чипы с апертурой 15 мкм. Из-за невозможности пользоваться осветителем микроскопа в режиме светлого поля, т.к. её загораживал установленный сверху светодиод для инициации полимеризации PEGDA, осветитель был подключен вместо эпи-флуоресцентной лампы. Таким образом освещение чипа осуществлялось через объектив, из-за чего качество картинки заметно ухудшилось. Эксперименты проводились с каплями в диапазоне размеров от 50 до 60 мкм. В площадку, на которой размещался чип, был интегрирован УФ светодиод на длине волны 365 нм. Напряжение в 12 В для диода и кулера было приложено с управляемого источника питания.

Для опытов с PEGDA производились замеры на разном расстоянии диода от покрывного стекла, с нанесенными на поверхность каплями. Для обеспечения равномерного облучения канала микрофлюидного чипа ультрафиолетом требовалось расположить диод как можно дальше, это в свою очередь сказывалось на мощности излучения, приложенного к единице поверхности. Мощность спадает пропорционально квадрату расстояния (Таблица 2.2). Обеспечить достаточно мощности для инициирования процесса с большого расстояния не представлялось возможным, в связи с чем было решено проводить эксперименты с расстояния 5 см.

Таблица 2.2

## Плотность мощности излучения в зависимости от расстояния

$l$ , см	0.75	2.5	5	10
$\rho$ , мВ/см <sup>2</sup>	60	12.5	4.2	1.2

где  $l$  – расстояние между диодом и покрывным чипом;

$\rho$  – плотность мощности излучения диода.

Определение времени полимеризации объемных капель PEGDA (Таблица 2.3) проводились в зависимости от концентрации воды и полимера в дисперсной фазе, а также от разной концентрации Irgacure 2959, радикалы которого и запускают процесс гелеобразования. За время полимеризации считалось время, за которое капли полностью затвердевали.

Установлено, что с увеличением количества раствора PEGDA по отношению к воде, Irgacure 2959 и мощности излучения, процесс протекает заметно быстрее. Эксперименты в чипе без участия воды в дисперсной фазе (100%) показали, что в отраженном свете капли мало различимы на микроскопе от непрерывной фазы. В связи с чем эксперименты с таким соотношением концентраций в растворе не стали проводиться.

Таблица 2.3

## Зависимость времени полимеризации от концентраций раствора и расстояния до диода

Дисперсная фаза	$t_1$ , с	$t_2$ , с	$t_3$ , с	$t_4$ , с
50/50, Ig 1%	13	18	100	более 300
50/50, Ig 2%	8	15	40	170
70/30, Ig 2%	6	13	32	150
100, Ig 1%	5	10	25	100
100, Ig 2%	3	7	17	75

где  $t_i$  – время,  $i = 1, 4$  (1–2,5 см, 2–5 см, 3–5 см, 4–10 см)

Для того, чтобы проводить сравнения между двумя полимерами было принято решения взять раствор с концентрацией дисперсной фазы 70/30 и 2%

Igrasure 2959. Данный раствор на расстоянии 5 см полимеризуется примерно к тому же моменту, где и капли полакриламида, т.е. примерно к середине канала.

### Обработка изображения

Для изучения динамики эмульсии и анализа её поведения была написана программа на языке программирования Python, которая отслеживает перемещение каждой отдельно взятой капли. В качестве основного инструмента для анализа изображения была использована бесплатная библиотека OpenCV. Программа выполняет трекинг полимерных капель, а именно: находит, сопоставляет и строит их траектории. Интервал между кадрами составлял 10 мкс, что позволяло с большой точностью вычислять траектории капель.

Алгоритм состоит из трех частей. Первая отвечает за обнаружение капель на изображении, рисунок 2.10. Для начала изображение масштабируется, происходит конвертирование RGB формата в оттенки серого и размытие. Все это нужно для улучшения работы алгоритма на базе преобразование Хафа [33].

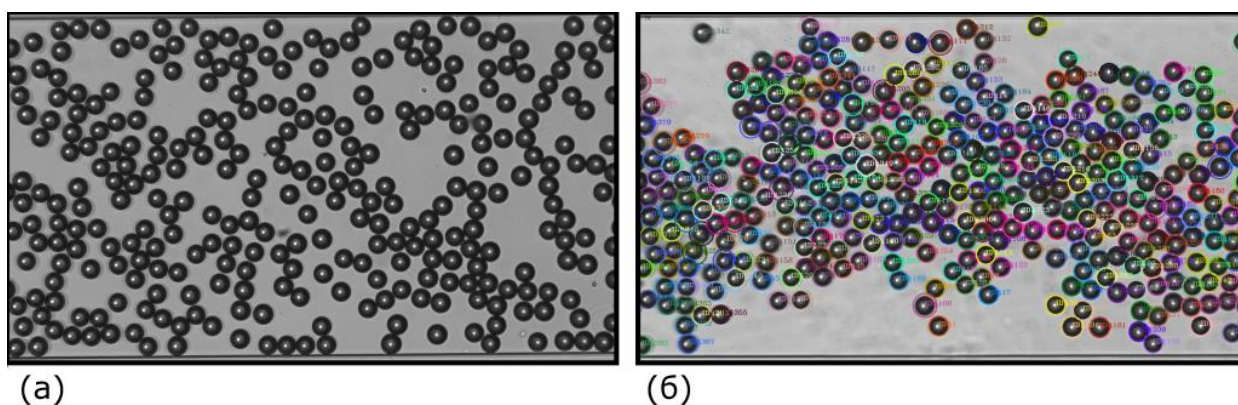


Рис 2.10. Изображение, полученное с микроскопа (а), после детектирования (б).

Дальше, когда все окружности, а в нашем случае капли, найдены, он сравнивает их с существующими каплями с предыдущих кадров. Соответствие ставится между теми двумя каплями, чье евклидовое расстояние между центрами минимально. След каждой капли записывается как свойство объекта в отдельный листы. Капли, чей след пропадает больше чем на 10 кадров удаляются из рабочего пространства и записываются в словарь с каплями, уже прошедшими место

съемки. Далее полученные данные обрабатываются, происходит усреднение по скоростям капли и отрезкам по ширине.

## 2.7. Исследование динамики полученных частиц

Съемки проводились в трех местах в канале: в начале, середине и конце. Эксперимент был поставлен таким образом, что капли затвердевали к середине канала (Рис.2.11 б). Предполагалось, что после полимеризации капли начнут менять поведение эмульсии и этот эффект можно будет наблюдать на каком-то промежутке.

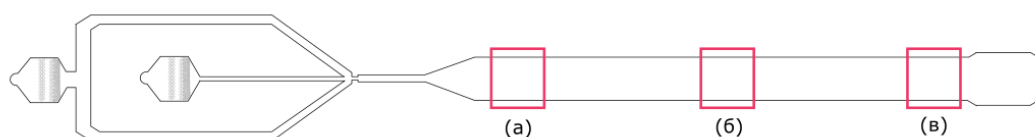


Рис. 2.11. Места съемки в рамках: начало канала(а), середина(б), конец(в).

В дальнейшем съемки также проходили по всему прямоугольному каналу с интервалом в 2 мм. от начала генерации до выхода.

## Исследования профиля скорости

В самом начале, сразу после генерации, профиль скорости капель в канале имеет обратный параболический вид (Рис. 2.12). Из-за низкой концентрации по краям эмульсия имеет возможность двигаться быстро, практически не соударяясь, а в центре противоположная ситуация – концентрация капель большая, что приводило к снижению скорости их движения. Следует отметить, что скорость движения жидкости в таком канале имеет параболический профиль сна наибольшей скоростью движения в центре канала.

Численно профил скоростей капель в канале строились следующим образом: считалась средняя скорость для каждой капли, брался цуг таких капель в определенном интервале по ширине и их среднее значение. Те капли, у которых значение скорости не попадало в статистическую погрешность, отбрасывались.

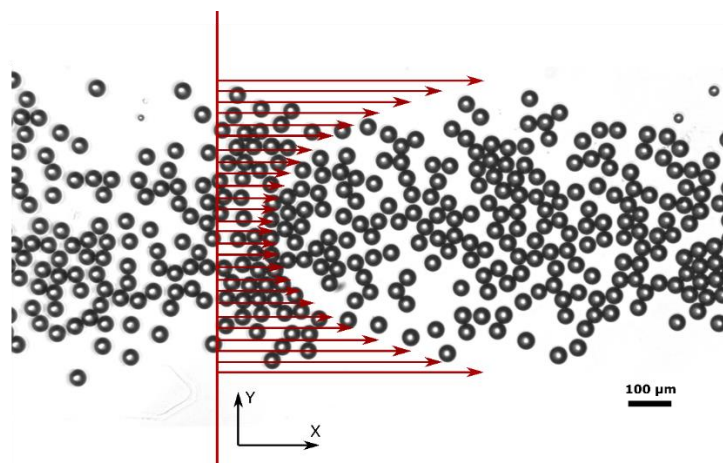


Рис. 2.12. Параболический профиль скоростей каплей в канале, представлен векторным полем, красными стрелками

По мере продвижения по каналу капли рассеиваются вширь и профиль все больше уравнивается, из обратного параболического в сплошной, образуется волновой фронт, который в дальнейшем никак не видоизменяется. Эта особенность характерна для любой эмульсии, вне зависимости от того, идет ли процесс полимеризации или нет (Рис. 2.13). Однако было замечено, то для каплей больших размеров (60 мкм) или при большой заполненности в канале данный эффект усиливается, они быстрее рассеиваются по ширине канала, капли рассредоточиваются таким образом, что никак не взаимодействуют.

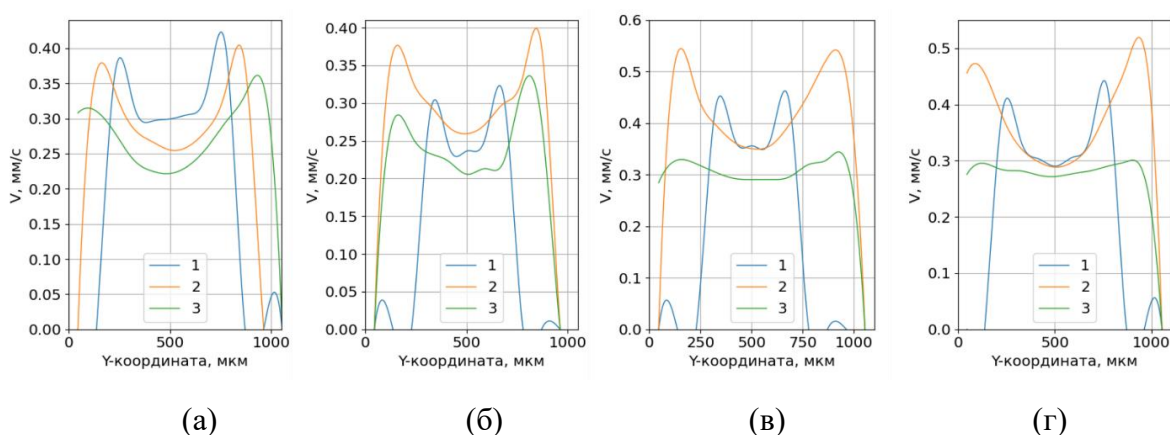


Рис. 2.13. Динамика изменений профилей скоростей каплей акриламида от начала канала до конца (1-3): контроль(а), полимеризация(б), контроль 50°C (в), полимеризация 50°C (г)



Для полиакриламида, размер капель которых составлял 42 мкм, профиль скоростей в середине канала (Рис. 2.14. (а)) практически не меняется, что можно сказать и про конец канала (Рис 2.14 (б)), разница видна, но не сказать, что изменения различимы. Тоже самое можно сказать и про профиль капель в конце канала для эксперимента с подогревом, где температура в канале составляла 50°C.

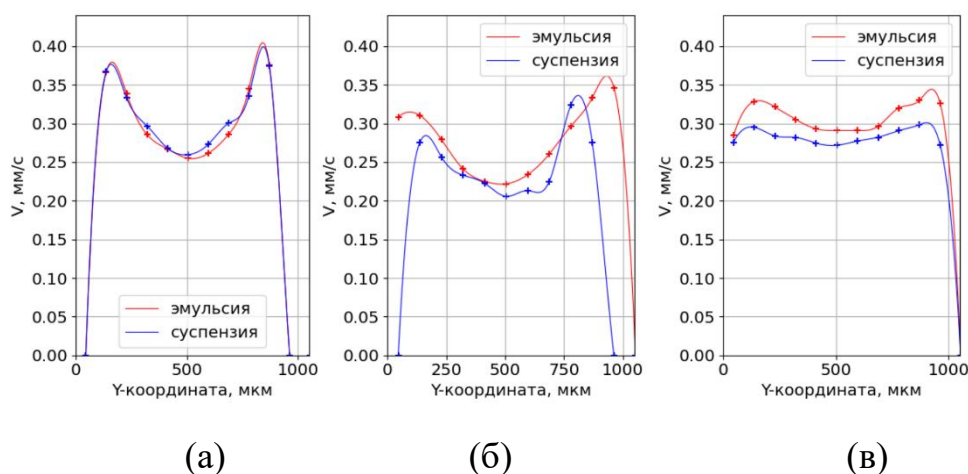


Рис. 2.14. Профиля скоростей капель в канале: середина (22°C) (а), конец (22°C) (б), конец (50°C) (в).

Характерные изменения с экспериментом при комнатной температуре в том, что при нагреве вязкость масла уменьшается, капли меньше чувствуют сопротивление среды, быстрее рассредоточиваются по каналу, что и приводит к распрямлению профиля.

Тоже самое было проделано для капель PEGDA. Также как и в опыте с полиакриламидом, не наблюдается коренных изменений поведения капель в конце канала как для капель 50 мкм (Рис 2.15 (а)), так для капель размером 60 мкм (2.14 (б)).

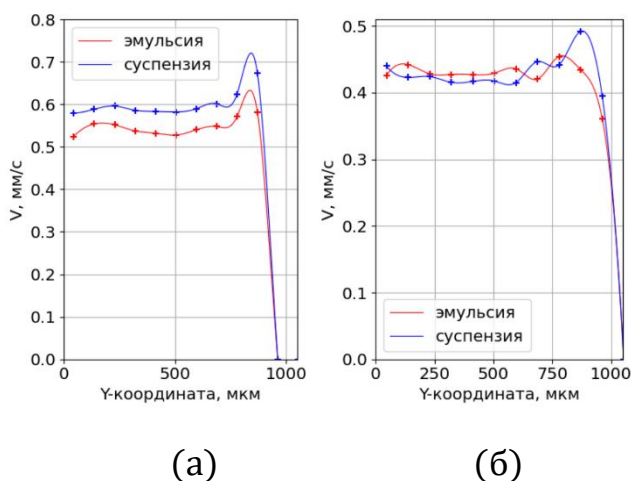


Рис 2.15. профиля скоростей для каплей PEGDA в середине канала для разных размеров (а) – 50 мкм, (б) – 60 мкм.

Также были проведены опыты с каплями акриламида размера 40 мкм. В данном случае профили рассчитывались каждые 1.8 мм в канале, начиная с самого начала практически до конца. Для контроля при комнатной температуре была получена следующая картина (Рис 2.15). Из которой видно, что изменение профиля для происходит равномерно по мере удаления от места генерации.

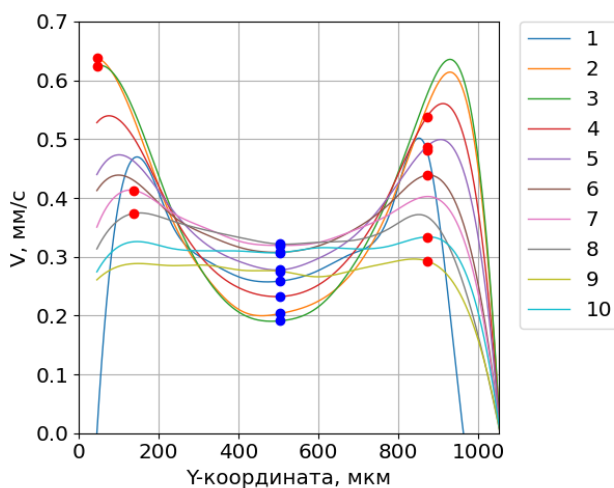


Рис. 2.15. Наложения всех профилей скорости для контроля от начала до конца (1-10); Красными точками отмечен пик, при котором наблюдается максимум скорости, синими точками отмечено значение скорости в центре канала (по  $y$ ).

По этим данным можно получить отношения скоростей каплей в центре к скорости на краях для каждого из представленных профилей. Он уширяется и сглаживается по мере прохождения по каналу, отношение к концу стремиться к

единице. Такие же опыты были проведены для случая с добавленным катализатором в непрерывную фазу при комнатной температуре и при температуре в  $50^{\circ}\text{C}$ .

Как видно из первого графика (Рис. 2.12 (а)) для контроля процесс выравнивания профиля протекает по всей длине канала, а отношение скоростей пересекает единицу только к концу. Для опыта с катализатором (Рис. 2.12 (б)) наклон прямой увеличивается, профиль изменяется за меньшее время, что можно и сказать про такой же опыт с повышенной температурой (Рис. 2.12 в). На третьем графике наклон еще больше и профиль выравнивается уже при достижении двадцатого миллиметра. Однако нельзя говорить наверняка, что это эффект скорейшей полимеризации, возможно на это повлияло падение вязкости масла, опыт для контроля с повышенной температурой проведен не был.

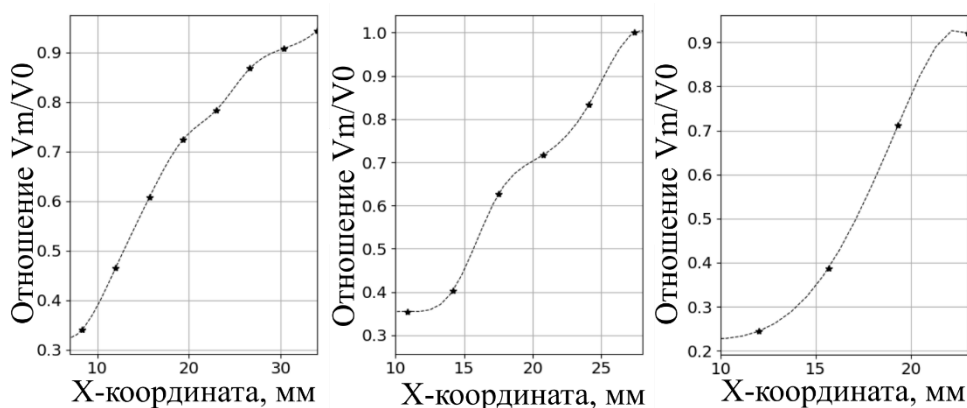


Рис. 2.16. по вертикале отложены отношения скоростей капель в центре канала  $V_m$  к скоростям на краях  $V_0$ , по горизонтали координата длины канала; (а) – контроль (комн. темп.), (б) – эксперимент (комн. темп.), (в) – эксперимент ( $50^{\circ}\text{C}$ ).

Также были проведены опыты с высокой концентрацией капель и быстрым потоком. Капли полиакриламида и PEGDA небольшого размера,  $42\ \mu\text{m}$ , полностью занимали канал сразу после генерации. Ближе к середине канала профили выравнивались без какого-либо заметного эффекта и не отличались от случая, в котором процесс полимеризации не происходил.

## Диффузия капель эмульсии

Еще одним способом анализа изменений в движении капель было нахождения коэффициентов диффузии вдоль направления, перпендикулярного оси выходного канала, в разных его местах. Строились они следующим образом: для каждой капли в каждый последующий момент времени считался квадрат её отклонения от первоначальной координаты  $y_0$ . Считалось среднее арифметическое отклонение для всех капель на протяжении времени, за которое они проходили участок канала, длиной в 1 мм (Формула 2.4). Как и для первых опытов, было решено заснять три места в канале: начало, середину и конец соответственно.

$$y = \sum_k^n \ln(y_0 - y(t))^2, \quad (2.4)$$

где  $k$  – порядковый номер капли,  
 $y_0$  – начальное положение капли в канале,  
 $n$  – количество всех капель,  
 $t$  – момент времени.

Графики  $y(t)$ , полученные таким образом являлись наклонными прямыми, изображены на рисунке 2.17.

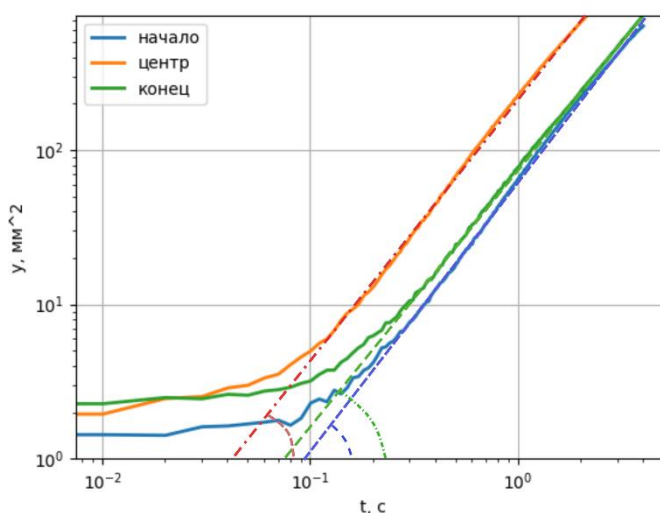


Рис. 2.17. Наклонные прямые, полученные по формуле 2.4. Представлены в логарифмическом масштабе по времени. Угол наклона прямой соответствует коэффициенту диффузии для данного места: синяя – начало, желтая – центр, зеленая – конец.

Значение коэффициента наклона численно характеризует перемещение капля поперек канала и является коэффициентом диффузии в данном направлении (формула 2.5). Для удобства вычисления коэффициента графики были перерисованы в двойном логарифмическом масштабе (Рис. 2.18.), коэффициент в таком случае находится как угол наклона прямой или её приращение.

$$y = \sqrt{Dt}, \quad (2.5)$$

$t$  – время,

$y(t)$  – координата центра капли в момент времени  $t$ ,

$D$  – коэффициент диффузии.

Далее найдены и приведены в таблицы коэффициенты диффузий для различных полимеров.

Таблица 2.4

#### Коэффициенты диффузии капель полиакриламида

	D1	D2	D3	D4
Начало	1.67	1.45	1.67	1.55
Середина	1.77	1.7	1.7	1.76
Конец	1.65	1.5	1.6	1.55

Таблица 2.4 иллюстрирует коэффициенты диффузии для капель полиакриламида, диаметр которых составлял 42мкм, за порядковый номер у коэффициента  $D$  принято: 1 – контроль (комн. темп.), 2 – контроль (50°C), 3 – эксперимент (комн. темп.), 4- эксперимент (50°C).

Таблица 2.5

#### Коэффициенты диффузии капель PEGDA

	D1	D2	D3	D4
Начало	1.72	1.79	1.78	1.67
Середина	1.58	1.75	1.76	1.67
Конец	1.86	1.82	1.68	1.69

Таблица 2.5 иллюстрирует коэффициенты диффузии для капель PEGDA. Рассчитаны для двух размеров: 50 и 60 мкм. За порядковый номер у D принято: 1 – контроль 50 мкм, 2 – эксперимент 50 мкм, 3 – контроль 60 мкм, 4 – эксперимент 60 мкм.

Для капель полиакриламида (Таблица 2.4) видно, что по сравнению с результатами в центре, в конце наблюдается уменьшение коэффициентов. Это говорит нам об уменьшении перемещений капель поперек канала. Капли рассеиваются так, чтобы не мешать и не соударяться друг с другом, тем самым достигается равномерное распределение по концентрации, что в свою очередь отражается и на профиле скорости. Для PEGDA все не так очевидно, качественно с микроскопа можно было пронаблюдать этот же эффект, однако качество полученной картинки не позволило хорошо численно обработать полученные данные.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные результаты проделанной работы и выводы

- Для наблюдения за движением капель и микрочастиц в микроканалах разработаны топологии микрофлюидных чипов для формирования микрочастиц методами «капельной» микрофлюидики в генераторе эмульсии с фокусировкой потока: диаметром 40-70 мкм для капель полиакриламида и 50 – 80 мкм для капель PEGDA.
- Методом «мягкой» литографии из полиметилсилоксана изготовлены экспериментальные образцы микрофлюидных чипов для формирования полимерных частиц и наблюдения их динамики в длинном канале.
- Разработан алгоритм анализа движения эмульсии в микроканале по изображениям, полученным с оптического микроскопа, на языке программирования Python.
- Проведены исследования динамики движения монодисперсной эмульсии «вода-масло» в прямоугольном канале микрофлюидного устройства. Аналогично проведены исследования динамики движения эмульсии при полимеризации полиакриламидного геля и полиэтиленгликоль диакрилата (PEGDA) внутри капель эмульсии. Экспериментально показано, что динамика движения капель эмульсии в микрофлюидном канале не зависит от степени полимеризации гидрогеля.
- Разработаны методики исследования процесса полимеризации капель. Обнаружена тенденция уширения первоначально обратного параболического потока эмульсии в сплошной фронт. Концентрация капель в проекции поперек оси канала уравниваются по мере удаления от места генерации. При полимеризации, увеличении температуры процесс перехода профиля скоростей протекает быстрее.
- Экспериментально показано, что коэффициенты диффузии капель эмульсии и микрочастиц близки друг к другу и не зависят от степени полимеризации гидрогеля. Капли в конце канала практически перестают взаимодействовать друг с другом оболочками.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Bahram M., Nurallahzadeh N., Mohseni N. PH-sensitive hydrogel for coacervative cloud point extraction and spectrophotometric determination of Cu (II): Optimization by central composite design // *Journal of the Iranian Chemical Society*. – 2015. – № 10 (12) – P. 1781–1787.
2. Beatus T., Tlustý T., Bar-Ziv R. Phonons in a one-dimensional microfluidic crystal // *Nature Physics*. – 2006. – № 11 (2). P. 743–748.
3. Bjorge I. M. [et al.]. Tuneable spheroidal hydrogel particles for cell and drug encapsulation // *Soft Matter*. – 2018. – № 27 (14). P. 5622–5627.
4. Bukatin A. S. [et al.]. Fabrication of high-aspect-ratio microstructures in polymer microfluid chips for in vitro single-cell analysis // *Technical Physics*. – 2016. – № 10 (61). – P. 1566–1571.
5. Chen Q. [et al.]. Fundamentals of double network hydrogels // *Journal of Materials Chemistry B*. – 2015. – № 18 (3). – P. 3654–3676.
6. Cubaud T., Mason T. G. Capillary threads and viscous droplets in square microchannels // *Physics of Fluids*. – 2008. – № 5 (20).
7. Du X. 3D Bio-Printing Review // *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. – 2018. – № 1 (301).
8. Elvira K. S. [et al.]. Droplet dispensing in digital microfluidic devices: Assessment of long-term reproducibility // *Biomicrofluidics*. – 2012. – № 2 (6).
9. Garg S., Garg A., Vishwavidyalaya R. D. Hydrogel : classification , properties , preparation and technical features // *Asian Journal of Biomaterial Research*. – 2016. – № 6 (2). – P. 163–170.
10. Geng Y. [et al.]. High-fidelity spherical cholesteric liquid crystal Bragg reflectors generating unclonable patterns for secure authentication // *Scientific Reports*. – 2016. – № February (6). – P. 2–10.
11. Ghasemiyeh P., Mohammadi-Samani S. Hydrogels as Drug Delivery Systems; Pros and Cons // *Trends in Pharmaceutical Sciences*. – 2019. – № 1 (5). – P. 7–24.
12. Giz A. [et al.]. Kinetics and mechanisms of acrylamide polymerization from absolute, online monitoring of polymerization reaction // *Macromolecules*. – 2001. –



№ 5 (34). – P. 1180–1191.

13. Guvendiren M. *Bioprinting in Medicine* // Springer – 2019. – P. 1–216, ..

14. Hockaday L. A. [et al.]. Rapid 3D printing of anatomically accurate and mechanically heterogeneous aortic valve hydrogel scaffolds // *Biofabrication*. – 2012. – № 3 (4).

15. Kim J. H. Droplet microfluidics for producing functional microparticles // *Langmuir*. – 2014. – № 6 (30). – P. 1473–1488.

16. Kim S., Abbaspourrad A., Weitz D. A. Amphiphilic Crescent-Moon-Shaped Microparticles Formed by Selective Adsorption of Colloids – 2011. – P. 5516–5524.

17. Koetting M. C. [et al.]. Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications // *Materials Science and Engineering R: Reports*. – 2015. – P. 1–49.

18. Lone S., Cheong I. W. Fabrication of polymeric Janus particles by droplet microfluidics // *RSC Advances*. – 2014. – № 26 (4). P. 13322–13333.

19. Ma S. [et al.]. Structural hydrogels // *Polymer*. – 2016. (98). – P. 516–535.

20. Merceron T. K. [et al.]. A 3D bioprinted complex structure for engineering the muscle-tendon unit // *Biofabrication*. – 2015. – № 3 (7). – P. 35003.

21. Murphy S. V., Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs // *Nature Biotechnology*. – 2014. – № 8 (32). – P. 773–785.

22. Nicholas A. Peppas C. [et al.]. *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook* // Ottenbrite – 2010. – 423 p.

23. Nie Z. [et al.]. An «inside-out» microfluidic approach to monodisperse emulsions stabilized by solid particles // *Journal of the American Chemical Society*. – 2008. – № 49 (130). – P. 16508–16509.

24. Nisisako T., Suzuki H., Hatsuzawa T. Biconvex polymer microlenses with tunable imaging properties designed by Janus droplet microfluidics // *Micromachines*. – 2015. – № 10 (6). – P. 1435–1444.

25. Nunes J. K. [et al.]. Dripping and jetting in microfluidic multiphase flows applied to particle and fibre synthesis // *Journal of Physics D: Applied Physics*. – 2013. – № 11 (46).

26. Pandit K. R. [et al.]. Assessment of surfactants for efficient droplet PCR in

- mineral oil using the pendant drop technique // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2015. (126). – P. 489–495.
27. Pfister B. J. [et al.]. Biomedical engineering strategies for peripheral nerve repair: Surgical applications, state of the art, and future challenges // *Critical Reviews in Biomedical Engineering*. – 2011. – № 2 (39). – P. 81–124.
28. Seemann R. [et al.]. Droplet based microfluidics // *Reports on Progress in Physics*. – 2012. – № 1 (75).
29. Shembekar N. [et al.]. Droplet-based microfluidics in drug discovery, transcriptomics and high-throughput molecular genetics // *Lab on a Chip*. – 2016. – № 8 (16). – P. 1314–1331.
30. Theberge A. B. [et al.]. Microdroplets in microfluidics: An evolving platform for discoveries in chemistry and biology // *Angewandte Chemie - International Edition*. – 2010. – № 34 (49). – P. 5846–5868.
31. Xu Y. [et al.]. A novel strategy for creating tissue-engineered biomimetic blood vessels using 3D bioprinting technology // *Materials*. – 2018. – № 9 (11).
32. Yu X. [et al.]. Microfluidic synthesis of multiferroic Janus particles with disk-like compartments // *Applied Physics Letters*. – 2016. – № 7 (108).
33. Yuen H. K. [et al.]. A Comparative Study of Hough Transform Methods for Circle Finding – 2013. – P. 29.1-29.6.
34. Абрамзон А. А., Гараевой Г. Г. Поверхностно-активные вещества // *Химия* – 1979. – 376 с.
35. Воюцкий С. С. Курс коллоидной химии: 2-е изд / М.: Химия – 1976. – 512 с.
36. И. В. Кухтевич, Я. С. Посмитная, К. И. Белоусов, А. С. Букатин А. А. Е. Принципы, Технологии И Устройства «Капельной» Микрофлюидики. Ч. 1 (Обзор) // *Научное Приборостроение*. – 2012. – (3). – С. 65–85.
37. Ломоносова М. В. [и др.]. Введение в химию высокомолекулярных соединений – 2010. – С. 1–47.