<u>İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ</u>

PDMS TABANLI MİKROAKIŞKAN PLATFORMLARI OLUŞTURMAK VE KARAKTERİZE ETMEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ Arzu ÖZBEY

Anabilim Dalı: Makine Mühendisliği

Programı : Malzeme ve İmalat

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Levent TRABZON

EKİM 2011

<u>İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ</u>

PDMS TABANLI MİKROAKIŞKAN PLATFORMLARI OLUŞTURMAK VE KARAKTERİZE ETMEK

YÜKSEK LİSANS TEZİ Arzu ÖZBEY (503081302)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :1 EYLÜL2011Tezin Savunulduğu Tarih :15 EKİM2011

Tez Danışmanı :Doç. Dr. Levent TRABZONDiğer Jüri Üyeleri :Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KIZIL (İTÜ)Doç. Dr. Celaletdin ERGÜN (İTÜ)

EKİM 2011

Sevgili Aileme ve Dostlarıma,

iv

ÖNSÖZ

Bu çalışmada herşeyden once sevgili annem Medine ÖZBEY ve babam Hamdi ÖZBEY'e özveri ve destekleri için teşekkür ederim. Sevgili Tuncay YILDIZ'a en iyi ve kötü günlerimde yanımda olduğu için teşekkür ederim.

Danışman hocam Doç. Dr. Levent TRABZON ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin KIZIL'a bana bu projede çalışma imkanı sundukları için, bizlerle deneyimlerini ve bilgilerini paylaştıkları için, ayrıca öğrencilerine karşı anlayışlı oldukları için teşekkür ederim. Bu çalışmaya verdiği destekten ötürü TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

Projede uzun zamandır beraber çalıştığım arkadaşım Mustafa YILMAZ'a yardımları için teşekkür ederim. Ayrıca bana bu işi sevdiren, beraber çalışmaktan çok mutlu olduğum sevgili Mustafa ORDU ve Nihat KAYGUSUZ'a içten teşekkür ederim. Tüm İTU-MEMS çalışanlarına yardımlaşma ve bilgi paylaşımından kaçınmadıkları için teşekkür ederim.

Sakarya Üniversitesi'nden Yrd. Doç. Dr. Nezaket PARLAK'a bu günlere gelmemde büyük katkısı olduğu için ve bu projeye dahil olmadığı halde her zaman sorularımla ilgilendiği için saygılarımı sunarım. Istanbul Teknik Üniversitesi'nden Yrd. Doç. Dr. Bayram ÇELİK ve Prof. Dr. Fırat Oğuz EDİZ'e simülasyon konusunda bizlere çok yardımcı oldukları için, Prof. Dr. Mete ŞEN ve Prof. Dr. Seyhan Uygur ONBAŞIOĞLU'na akışkanlar mekaniği konusunda sorularımla ilgilendikleri için derin saygılarımı sunarım.

Kasım 2011

Arzu ÖZBEY

vi

İÇİNDEKİLER

<u>Sayfa</u>

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	.ix
ÇİZELGE LİSTESİ	. xi
ŞEKİL LİSTESİ	xiii
ÖZET	XV
1. GİRİŞ	1
1.1 Mikroakışkan Sistemlerde Aktif Partikül-Hücre Ayrıştırma Yöntemleri ve	
Uygulamaları	2
1.1.1 Magnetoforez yöntemi ile ayrıştırma	2
1.1.2 Akustoforez yöntemi ile ayrıştırma	5
1.1.3 Optik ayrıştırma	7
1.1.4 Elektroforez yöntemi ile ayrıştırma	9
1.1.5 Dielektroforez yöntemi ile ayrıştırma	10
1.2 Mikroakışkan Sistemlerde Pasif Partikül-Hücre Ayrıştırma Yöntemleri ve	
Uygulamaları	13
1.2.1 Mikro filtre	13
1.2.2 Hidrodinamik ayrıştırma yöntemi	14
1.2.3 PFF-sıkıştırılmış akış fraksiyonu	16
1.2.4 Biyomimetik	17
2. DEAN AKIŞI VE ATALET ETKİSİNİN KULLANILDIĞI	
MİKROAKIŞKAN UYGULAMALARI	19
2.1 Dean Akışının Kullanıldığı Mikroakışkan Uygulamaları	19
2.2 Atalet Etkisinin Kullanıldığı Mikroakışkan Uygulamaları	20
2.3 Atalet Etkisinin ve Dean Akışının Birlikte Kullanıldığı Mikroakışkan	
Uygulamaları	22
3. ATALET ETKİSİ İLE MİKROAKIŞKAN SİSTEMLERDE PARTİKÜL	
AYRIŞTIRMA	24
3.1 Mikroakışkan Sistemlerde Atalet Kuvvetlerinin Partiküller Üzerindeki Etkisi	i24
3.2 Mikroakışkan Sistemlerde Dean Sürüklenme Kuvvetinin Partiküller	
Üzerindeki Etkisi	26
3.2.1 Dean akışı	26
3.2.2 Atalet kuvvetleri	27
3.3 Dönel Mikrokanallarda Atalet Etkisi ile Partikül Ayrıştırmada Kullanılan	
Tasarım Kriterleri	30
3.3.1 Atalet Kuvvetleri	30
3.3.1.1 Partikül boyutunun kanal hidrolik çapına oranı	30
3.3.1.2 Dönel mikrokanalın uzunluğu	31
3.3.1.3 Net atalet kaldırma kuvvetinin Dean sürüklenme kuvvetine oranı	31
3.3.1.4 Basınç düşüşü	31

4. PDMS TABANLI MİKROAKIŞKAN SİSTEM ÜRETİMİ	
4.1 Asetat Maske Üretimi	
4.2 Substrat Hazırlanması	
4.3 Si-pul Üzerine Fotorezist Kaplanması	
4.4 Litografi	
4.5 SU-8'e Banyo Kimyasalının Uygulanması	
4.6 SU-8 Master'ın Karakterizasyonu	
4.7 SU-8 Master Üzerine PDMS Dökülmesi İşlemi	
4.8 PDMS kanalların O ₂ Plazma ile Cam Lamele Yapıştırılması	41
5. KARAKTERİZASYON	
5.1 SU-8 Master'ın Profilometre Analizi	
5.2 SU-8 master'ın Mikroskop ile Analizi	
6. DENEYSEL SONUCLAR VE ÖNERİLER	
6.1 Genisliği Sabit olan Simetrik Dönel Mikrokanal	
6.1.1 Dönellik çapı büyük olan simetrik dönel kanallar	
6.1.2 Dönellik çapı küçük olan simetrik dönel kanallar	
6.2 Genisliği Sabit olan Asimetrik Dönel Mikrokanal	
6.3 Genisliği Değisen Asimetrik Dönel Mikrokanal	61
7. SONUCLAR	
KAYNAKLAR	

KISALTMALAR

a p	: Partikül ÇapıAkaike Information Criteria
Cl	: Kayma Oranı
D	: Difüzyon Katsayısı
De	: Dean Sayısı
Dh	: Kanal Hidrolik Çapı
Fam	: Ek Kütle Kuvveti
Fbuoy	: Kaldırma Kuvveti
Fcf	: Santrifüj Kuvveti
FD	: Dean Sürüklenme Kuvveti
F drag	: Sürüklenme Kuvveti
FL	: Net Atalet Kuvveti
Fpg	: Basınç Gradyanı Kuvveti
G	: Ortalama Kayma Oranı
h	: Mikrokanal Yüksekliği
Lc	: Karakteristik Kanal Uzunluğu
Ld	: Dean Yerdeğiştirme Uzunluğu
Ги	: Atalet Etkisi ile Yerdeğiştirme Uzunluğu
μ	: Dinamik Vizkosite
Re	: Reynold Sayısı
Rep	: Partikül Reynolds Sayısı

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Sayfa</u>

Çizelge 4.1 :	Elde edilmek istenen SU-8 kalınlığına gore ön ısıtma süresi	36
Çizelge 4.2 :	SU-8 yüksekliğine gore litografide uygulanması gereken enerji	
	miktarları	38
Çizelge 4.3 :	SU-8 yüksekliğine gore litografi sonrası uygulanması gereken ara	
	ısıtma süreleri	38
Çizelge 4.4 :	SU-8 yüksekliğine gore banyo kimyasalında bekletme süresi	39
Çizelge 6.1 :	Genişliği sabit, simetrik dönel kanallarda partikül hareketini analiz	
	etmek için kullanılan parametreler.	50
Çizelge 6.2 :	Dönellik çapı küçük olan, simetrik dönel kanallarda partikül hareketin	ni
	analiz etmek için kullanılan parametreler.	54
Çizelge 6.3 :	Genişliği sabit, asimetrik dönel kanallarda partikül hareketini analiz	
	etmek için kullanılan parametreler	58
Çizelge 6.4 :	Genişliği değişen, asimetrik dönel kanallarda partikül hareketini analiz	Z
- 0	etmek için kullanılan parametreler	53

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sayfa</u>

Şekil	1.1	:	Manyetik ayrıştırma yöntemi	3
Şekil	1.2	:	Akustik kuvvetler yardımı ile ayrıştırma	5
Şekil	1.3	:	Akustoforez ayrıştırma.	6
Şekil	1.4	:	Optik Ayrıştırma	8
Şekil	1.5	:	Elektrik kullanılarak akıştan bağımsız ayrıştırma yönteminin şematik	
			olarak gösterilmesi	9
Şekil	1.6	:	Dielektroforetik ayrıştırma	11
Şekil	1.7	:	Mikro filtre dizaynları	13
Şekil	1.8	:	Hidrodinamik ayrıştırma	15
Şekil	1.9	:	Sıkıştırılmış akış fraksiyonu ile ayrıştırma	16
Şekil	1.10	:	: Fahraeus - Lindqvist etkisi kullanılarak yapılan biyomimetik ayrıştırm	na
	•••••	•••		17
Şekil	3.1	:	Dean Akışı	26
Şekil	3.2	:	Atalet Kuvvetleri	28
Şekil	4.1	:	Hassas Litografi Yöntemi ile PDMS Mikrokanalların Uretilmesi	33
Şekil	4.2	:	Litografi İşleminde Kullanılan Asetat Maske	28
Şekil	4.3	:	Spinner Cihazı	35
Şekil	4.4	:	Spinner Cihazı için Kullanılan Si-pul tutucu	35
Şekil	4.5	:	Isıtma İşlemlerinde Kullanılan Sıcak Tabla	36
Şekil	4.6	:	Litografi Cihazi	28
Şekil	4.7	:	Su-8 Kaplanmış Si-pula Banyo Kımyasalının Uygulanması	28
Şekil	4.8	:	Vakum Firini	41
Şekil	4.9	:	Plazma Cıhazı	41
Şekil	5.1	:	Profilometre Olçüm Cıhazı	43
Şekil	5.2	:	Profilometre Analiz Resmi	44
Şekil	5.3	:	Analizierde Kullanilan Mikroskop	44
Şekil	5.4	:	Mikro Geometri Analiz Resmi	45
Şekil	J.J	:	Donei Kanaliarda 9.9 μm lik partikul fokusianmasi	45
Şekii	5.0 5.7	:	Intensity-Fokus Mesalesi Grangi	40
Şekii	J./	:	Milroolyskan Doney Düzeneči	47
Şekil	J.O 5 0	•	Enjaktär Damaaj	47
Şekil	3.9 6 1	•	Dänallik Con Püyük Olan Simatrik Dänal Kanal	40 50
Şekil	0.1 6 7	•	Simetrik Dönel Kanallarda 0.0 um'lik polistrayn paroacıkların akış	50
ŞUKII	0.2	•	icindeki davranışının Re ve De şayışı ile değişmeşi	52
Sekil	63		Simetrik Dönel Kanallarda Partikül Fokuslanması	53
Şekil	6.4	:	Dönellik Canı Kücük Olan Simetrik Dönel Kanal	54
Şekil	65	:	Simetrik Dönel Kanallarda 9.9 µm'lik polistravn parcacıkların akıs	51
şem	0.0	•	icindeki davranısının Re ve De sayısı ile değismesi	56
Sekil	6.6	:	Genisliği Sabit Olan Asimetrik Dönel Kanal	57
Şekil	6.7	:	Asimetrik Dönel Kanallarda 9 9 um'lik polistravn parcacıkların akıs	
,		•	icindeki davranısının Re ve De savısı ile değismesi	58
Sekil	6.8	:	Asimetrik Dönel Kanallarda Partikül Fokuslanması	60
Sekil	6.9	:	Genisliği Değisen Asimetrik Dönel Kanal	61
Şekil	6.10	:	Genişliği Değişen Asimetrik Dönel Kanallarda Partikül Fokuslanması	62
Şekil	6.11	:	Genişliği Değişen Asimetrik Dönel Kanallarda 9.9 um'lik polistravn	-
, -	-		parçacıkların akış içindeki davranışının Re ve De sayısı ile değişmesi.	63

xiv

PDMS TABANLI MİKROAKIŞKAN PLATFORMLARI OLUŞTURMAK VE KARAKTERİZE ETMEK

ÖZET

Partikül filtrasyonu ve ayrıştırması çeşitli biyolojik ve sağlık uygulamalarında büyük öneme sahiptir. Mikrokanallarda pasif partikül ayrıştırma çalışmasında Reynolds sayısı 1'in üzerinde olduğunda atalet kuvvetleri viskoz kuvvetleri yenerek partiküllerin, bulundukları akış şeridine dik yönde yönde yer değiştirmesini sağlamaktadır. Bu yerdeğiştirmenin derecesi, partikülün kütlesine veya yoğunluğuna bağlı olmayıp, sadece çapına bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca kanalın dönel geometriye sahip olmasıyla birlikte akışkan içerisinde karşılıklı ve birbirine ters olarak dönen iki vorteks oluşmaktadır. Bu ikincil akışa Dean akışı denilmektedir ve partiküller üzerinde sürüklenme kuvveti etkimesine neden olmaktadır. Atalet kuvvetleri ve Dean Sürüklenme kuvvetinin bileşkesinin büyüklüğü partiküllerin davranışını oldukça etkilemektedir. Reynolds Sayısı düşük olduğunda Net Atalet kuvveti Dean Sürüklenme Kuvvetinden büyük olur ve partiküller denge konumuna doğru göç etmeye başlarlar. Bu iki kuvvet birbirine eşit olduğunda partiküller denge konumuna ulaşır ve çizgi şeklinde sıralanırlar. Re sayısı daha fazla arttığında Dean sürüklenme kuvveti Net atalet kuvvetinden büyük olur ve partiküllerin denge konumunun bozulmasını ve birbirlerine karışmasına neden olur.

Bu çalışmada kanalın geometrisine bağlı olarak farklı Reynolds sayılarındaki Dean akışının partiküller üzerindeki etkisi incelenmiştir. Mikrokanallar Soft Litografi yöntemi ile üretilmiş olup partikül olarak 9,9 µm çapındaki yeşil fluorosans partiküller kullanılmıştır.

Asimetrik ve simetrik mikrokanal geometrileriyle yapılan çalışmada, 850 µl/dk debide yapılan deneylerde genişliği sabit olan asimetrik mikrokanallarda partiküllerin en iyi şekilde fokuslandığı gözlemlenmiştir.

xvi

ABSTRACT

FORMING AND CHARACTERIZING MICROFLUID PLATFORMS USING PDMS

Particle filtration and separation has a great importance for various biologic and health applications. In applications for separating passive particles in microchannels, if Reynolds number is higher than 1, inertial forces overcome the viscose forces and enable that the particles are relocated perpendicular to the flow line. The level of relocation does not depend on the particle mass or density, it changes depending on its diameter. Also, because the channel has a rotating geometry, two vortexes which are opposing and turning in opposite directions are formed in the fluid. This secondary flow is called Dean flow and causes that the dragging force effects the particles. The amount of the inertial forces and Dean drag forces substantially effects the behavior of the particle. If the Reynolds number is small net inertial force is higher than the Dean drag force are equal, particles reach the equilibrium position and form a line. If the Re number is increased more Dean drag force is higher than the net inertial force are mixed together.

In this study, the effect of Dean flow on the particles with different Reynolds numbers depending on the channel geometry is evaluated. The microchannels are produced by the soft lithography method and green fluorescence particles with 9.9 μ m are used.

1. GİRİŞ

Mikroakışkan ve nanoakışkan sistemler, bilimsel araştırma ve teknoloji gelişiminde en hızlı büyüyen alanlar arasındadır. Literatürde bulunan yayın sayısına bakılarak, son 20 yılda bu alanlardaki araştırma-geliştirme çalışmalarının eksponansiyel olarak artmakta olduğu söylenebilir [1-3]. Mikroakışkan konusu sadece küçük ölçeklerde getirdiği avantajların haricinde, hücre uygulamaları, sağlık alanında teşhis ve tedavi konusunda elle tutulabilir labaratuarların (Lab-on-a-chip) oluşturulabilmasi açısından da son derece ilgi çekici avantajlar içermektedir [3-7].

Mikroakışkan sistemler, silisyum tabanlı Mikro-Elektro-Mekanik Sistemlerin gelişmeye başlamasının ardından ilk defa, 1979 yılında gaz kramotografi sisteminin küçültülmesi ile doğmuştur [8]. 1990 yılından sonra, mikrofabrikasyon adımlarının da kolaylaşması ile birlikte, DNA analizi [9-11], sitometre [12,13], mikrokarıştırıcı [14] ve mikroreaktörler [15] gibi konularda mikroakışkan uygulamaları artmaya başlamıştır. Ticari alanda ise ilk mikroakışkan gelişmesi inkjet yazıcıların ortaya çıkması ile başlamıştır [7].

Mikroakışkan sistemlerin en önemli özelliklerinden biri de başka sistemlere entegre edilebilmesidir. Özellikle hücre uygulamalarında labaratuarlarda kullanılan birkaç yöntemin tek bir cihaz üzerinde gerçekleştirilebilmesi için Lab-on-a-chip sistemlerin kullanılması hedeflenmiş, bu açıdan mikroakışkanın önemi tartışılmaz olmuştur [5]. Sitometre, biyoreaktör, ayrıştırma gibi mikroakışkan uygulamalarının tek bir sistemde birleştirilmesi ile Mikro-Bütünleşik-Analiz Sistemi'nin (µTAS) dizaynı oluşturulmuştur [16]. Genellikle birkaç santimetrekare alana sığdırılan ve elle tutulabilen bu entegre sistemde kullanılan test numunesi için, çok küçük hacimlerde sıvı yeterli olabilmektedir. Bu sistemlerin daha az numune ile çok daha hızlı analiz yapabilmeleri, elle tutulabilecek kadar küçük olmaları makro sistemlere kıyasla en büyük avantajları arasındadır [3-7].

Sağlık sektöründe hastalık teşhisi için kullanılan, mikroakışkan sistemi ile çalışan ve elle taşınabilen tanı (point-of-care (POC)) testleri, ticari olarak birkaç uygulama haricinde henüz yaygınlaşamamıştır. Özellikle partikül ayrıştırma ve bazı hücre veya biyo-moleküllerin tespit edilmesi bu alanda en çok çalışılan konuların başında gelmektedir. Mikroakışkan ayrıştırma sistemlerinin daha etkin ve verimli bir şekilde uygulanması ile POC test cihazlarının seri üretimi mümkün olabilecek ve tek kullanımlık, düşük maliyetli teşhis cihazları tüm dünyada yaygın olarak elde edilebilecektir.

1.1 Mikroakışkan Sistemlerde Aktif Partikül-Hücre Ayrıştırma Yöntemleri ve Uygulamaları

1.1.1 Magnetoforez Yöntemi ile Ayrıştırma

Daimi akış içindeki manyetik olarak duyarlı malzemeleri, akış yönüne dik şekilde manyetik alan uygulayarak ayrıştırmak mümkün olabilmektedir. Hücre uygulamalarında manyetik partiküller, genellikle hücre veya protein ile özel bir bağ yapabilmesi için gerekli olan madde ile kaplanarak kullanılır. Manyetik mikropartikül veya manyetik etiketlenmiş hücreler gibi manyetik olarak duyarlı objeler, elektromagnet veva kalıcı magnet kullanılarak oluşturulan manyetik alanın içine çekilir. Manyetik kuvvet, uygulanan manyetik alanın gradyanına ve gücüne, partikülün de manyetizasyonuna bağlıdır. Farklı büyüklüklerdeki veya farklı manyetizasyona sahip partiküllerin ayrıştırılması bu yöntem ile mümkün olabilmektedir [17-19].

Bu yöntemin en önemli avantajı, yüksek çıktı alabilmek, paralel kanal tasarımına uygun bir yöntem olması ve biyolojik uygulamalarda hücre fonksiyonlarına engel olmamasıdır. Ayrıca manyetik olarak etiketlenmiş hücrelerin yaşama ve fonksiyonlarındaki değişim konusunda çalışılmış ve bu yöntemin hücreleri etkilemediği gözlenmiştir [17-19].

Bu teknik ilk olarak Deng ve diğerleri tarafından minyatürleştirilmiş olarak uygulanmıştır [20]. Deng ve diğerleri 6 µm'lik manyetik olmayan partiküllerle 4,5 µm'lik manyetik partiküllerin neredeyse tamamını ayrıştırabilmişlerdir fakat sistemin dezavantajı düşük çıktılı olmasıdır.

Pamme ve diğerleri, 2,8 µm ve 4,5 µm'lik manyetik duyarlılığı farklı olan partiküllere akışa dik yönde, homojen olmayan manyetik alan uygulayarak, partikülleri ayrıştırmışlardır [21] (Şekil 1.1.a). Partiküllerin boyutuna ve manyetik özelliklerine bağlı olarak, akış içerisindeki yönleri değişmiş ve farklı bölgelerde fokuslanmışlardır. Carr ve diğerleri de aynı prensibi kullanmışlar, farklı olarak mikrokanala 25 farklı çıkış alabilecekleri bir yapı eklemişlerdir [22]. Blankenstein, bu yöntemi cenin hücrelerinde uygulamıştır [23].



Şekil 1.1 : Manyetik ayrıştırma yöntemi. a) Akıştan bağımsız magnetoforez [21]. b) Mikrokanal içerisine ferromanyetik bantlar yerleştirilmesi ile ayrıştırmanın gerçekleştirilmesi [26]. c) Silisyum substrata manyetik bantların yerleştirilmesi ile partiküllerin bantları takip ederek ayrıştırmanın sağlanması [24]. d) Ferromanyetik teller yardımı ile kırmızı kan hücrelerinin ayrıştırılması [25].

Başka bir manyetik ayrıştırma yöntemini Inglis ve diğerleri geliştirmiştir. Bu örnekte mikrokanal içerisinde ferromanyetik bantlar, akış yönünden farklı olarak küçük bir açı verilerek üretilmiştir (Şekil 1.1.c). Hücreler manyetik nanopartiküllerle etiketlenmiş ve akış çizgilerinden çıkarak, bantları takip etmişlerdir [24].

Beyaz kan hücreleri manyetik özellik göstermezken, kırmızı kan hücreleri oksijenli olup olmama durumuna göre manyetik özellikler gösterebilmektedir. Manyetik kuvvet sadece manyetik partikülleri veya manyetik olarak işaretlenmiş partikülleri ayrıştırmada değil, aynı zamanda manyetik özellik göstermeyen partikülleri ayrıştırmak için de kullanılabilmektedir. Manyetik alan altında, manyetik olmayan partiküller zayıf bir itme gücüne maruz kalırlar. Furlani, bu özelliği kullanarak beyaz ve kırmızı kan hücrelerini ayrıştırmak için manyetik kuvveti kullanmıştır (Şekil 1.1.d) [25].

Kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin ayrıştırılması Han ve Frazier tarafından da çalışılmıştır [26]. Han ve Frazier, mikrokanal içerisine akış yönünde ferromantetik bir tel yerleştirmiş ve bu teli aktive etmek için dışarıdan manyetik alan uygulaması yapmışlardır (Şekil 1.1.b). Kırmızı ve beyaz kan hücreleri, kendi manyetik özelliklerine bağlı olarak tellere doğru çekilmiş veya itilmiştir ve bu şekilde farklı çıkışlardan toplanmıştır.

Zborowski ve diğerleri, kırmızı kan hücrelerinin mıknatısla çekilen (paramagnetic) veya itilen (diamagnetic), beyaz kan hücrelerinin ise diyamanyetik olması özelliklerinden yararlanarak, insan lenfositlerini demir zengini protein olan ferritin ile bağlamış ve kırmızı kan hücrelerinden beyaz kan hücrelerini ayrıştırmaya çalışmıştır [27].

Huang ve diğerleri, iki modüllü mikroakışkan sistem tasarımı ile çekirdekli kırmızı kan hücrelerini hamile bir kadının kanından ayrıştırmayı başarmıştır [28]. Bu sistemin ilk modülünde çekirdeksiz olan kırmızı kan hücrelerinin toplanması sağlanmış ve ikinci modülünde manyetik kolon yardımıyla, çekirdekli kırmızı kan hücreleri toplanırken, beyaz kan hücrelerinin % 99,99'unun geçmesi sağlanmıştır.

1.1.2 Akustoforez Yöntemi ile Ayrıştırma

Partikül veya biyolojik hücrelerin ultrasonik dalgalar yardımı ile ayrıştırılması mümkündür. Bunun için sürekli olan bir ses dalgası mikrokanal kesiti boyunca, akış yönüne dik olarak gönderilir. Genellikle mikrokanal içerisinde merkezde bulunan düğüm (nod) ve kenarlarda bulunan dalga karınları ile (anti-nod) ses dalgası kontrol edilebilmektedir (Şekil 1.2.a). Ses dalgasına maruz kalan partiküllere noda veya antinoda doğru bir kuvvet etkir. Akustik kuvvet, akustik alana, partiküllerin özelliklerine ve çevresindeki maddeye göre değişmektedir. Akustik alan frekans ve genliğine göre karakterize edilir: uygulanan voltajın düşük, frekansın büyük olması daha yüksek akustik kuvvet oluşumunu sağlamaktadır. Gerekli olan frekans kanal genişliğine göre belirlenir. Örneğin, 1 mm genişlik için 100 kHz dalga frekansı gerekirken, 10 µm genişlik için 10 MHz dalga frekansı gerekmektedir. Akustik kuvvet aynı zamanda partikül hacmi ile orantılıdır. Ayrıca partikülün yoğunluğuna ve sıkıştırılabilirliğine bağlı olduğu kadar partikülün çevresini saran maddenin yoğunluğuna ve sıkıştırılabilirliğine göre de değişmektedir. Örneğin, bir katı parçacık su veya suya benzer bir sıvı içerisinde noda doğru itilirken, bir gaz kabarcığı anti noda doğru itilmektedir. Belirli bir akustik alan içindeki partiküller farklı boylarda, yoğunluklarda veya sıkıştırılabilirliklerde ise bu yöntem ile partiküllerin ayrıştırılması mümkün olabilmektedir (Şekil 1.2.b) [17-19].



Şekil 1.2 : Akustik kuvvetler yardımı ile ayrıştırma [17]. a) Transduser kullanılarak oluşturulan kuvvet etkisiyle partiküllerin dalga karnı veya düğüm noktasına doğru yönlenmesi. B) akustik kuvvetler ile fokuslanan partiküllerin kanal çıkışlarından toplanması

Petterson ve diğerleri, 100 µl/dak hızdaki 5 µm'lik partiküllerin ve ayrıca kan hücrelerinin akustoforetik kuvvet etkisindeki hareketini incelemişlerdir. Piazoseramik tabakanın silikon çipe entegre edilmesi ile ses dalgası üretilmiştir [29]. Goddard ve diğerleri, partikülleri merkez akış çizgisinde toplamak için ultrasonik akustik enerji kullanmışlardır. Piyezoseramik kristalin cam kapilar tüpün üzerine entegre edilmesi ile ses dalgası üretilmiştir. 7,8 µm'lik partiküllerin ve Hamster hücrelerinin deneyleri yapılmıştır [30,31].

Evander ve diğerleri, akustik kuvvetlerin ve sıcaklığın yükselmesinin hücreler üzerindeki etkisini incelemiştir [32].



Şekil 1.3 : Akustoforez ayrıştırma. a) Transduser kullanılarak yüzeyde akustik dalgaları oluşturulması [33]. b) Ultrasonik transduserlerin mikrokanalın altına yerleştirilmesi ile ayrıştırma işleminin gerçekleştirilmesi [29].

Shi ve diğerleri, piezoelektrik substrat üzerine bir çift transformatör yerleştirmiş, substrat ile PDMS mikrokanalların bağ yapması sağlanmıştır [33]. 1,9 μ m'lik polistren partiküllerin 10 μ l/dak debide mikrokanal merkezinde fokuslandığı gözlemlenmiştir. Aynı grup, daha sonra polimer partikülleri ve hücreleri ayrıştırmak için aynı yöntemi kullanarak farklı çalışmalar da yapmışlardır [34,35].

1.1.3 Optik Ayrıştırma

Işık ile partikül ayrıştırma yöntemi, partiküllerin kutuplanabilirliğine bağlı olarak yakalanması şeklinde gerçekleştirilmiştir. Partikül Fokuslanması için optik ayrıştırma tekniği, interferometrik ışık yolu oluşturularak, farklı boyutlardaki partiküllere veya farklı ışık kırma özelliklerindeki partiküllere uygulanmıştır [36].

Optik kuvvetler, lazer ışını kullanılarak, akış yönüne dik yönde partiküllere etkiyecek şekilde üretilmektedir. Bunu yapmak için optik cımbızlar kullanılmaktadır. Optik cımbızlar Ashkin tarafından, manipülasyon aleti olarak geliştirilmiştir (Şekil 1.4.c) [37]. Çok ince şekilde fokuslanmış lazer ışınının tek bir partikülü yakalaması için kullanılmaktadır.

Optik ayrıştırmada, optik gradyan kuvveti oluşturularak, farklı büyüklüklerdeki veya ışık kırma özelliklerindeki partiküllerin akış çizgisini değiştirmesi sağlanır (Şekil 1.4.a). Yeterli büyüklükteki optik kuvvete maruz kalan partiküller, kinetik olarak optik cımbızlar tarafından yakalanırken, diğer partiküller akış çizgisini takip ederler (Şekil 1.4.b). Petersson ve diğerleri, bu yöntemde partikül fokuslanma veriminin % 95 civarında olduğunu bildirmişlerdir [38].

Chiou ve diğerleri, dielektroforezis elektrodlar ve düşük şiddetli ışık kaynağı kullanarak farklı boyutlardaki partikülleri ayrıştırmak için yeni bir sistem geliştirmişlerdir [39]. Aynı grup daha sonra dinamik optoelektronik cımbızlar kullanarak Hela ve Jurkat hücrelerini ayrıştırmışlardır [40].

Shah ve diğerleri, damlacıklar içine Hela hücrelerini koyan, otomatik bir sistem ile optoelektronik cımbızlar kullanarak ayrıştırma çalışması yapmışlardır [41]. Damlacık oluşturarak optik ayrıştırma yöntemini Wang ve diğerleri memeli hücrelerini fokuslamak için [42], Perroud ve diğerleri de bakteri makrofajlarını fokuslamak için kullanmışlardır [43].



Şekil 1.4 : Optik Ayrıştırma. a) 3-D optik kafes ile farklı ışık kırınım özelliklerindeki partiküllerin ayrıştırılması [44]. b) Optik dönüştürücü ile partikülleri yönlendirme [45]. c) Optik cımbız prensibi [19].

Mac Donald ve diğerleri, aynı boyutlarda ve farklı ışık kırınım özelliklerine sahip iki tip partikülü ayrıştırmayı başarmışlardır [44] (Şekil 1.4.a). 2 µm silika ve 2 µm polimer partikül karışımını mikrokanal içerisinden 1800 µl/dak debide geçirmişler, optik alandan geçen polimer partiküller optik kuvvetlerden etkilenip akış yönünü değiştirirken, silika partiküller akış çizgisini takip etmişlerdir. Deneylerin sonucunda, % 100'e yakın bir ayrıştırma verimi elde edildiğini bildirmişlerdir. Aynı grup daha sonra dört farklı boyuttaki silika partikülleri 1200 µl/dak debide ayrıştırma çalışması yapmıştır [45]. Bu teknik, Ladavac ve diğerleri tarafından da kullanılmıştır [46].

1.1.4 Elektroforez Yöntemi ile Ayrıştırma

Elektroforez özellikle moleküler ayrıştırmada güçlü bir tekniktir ve hücre ayrıştırma uygulamalarında kullanılabilir özelliktedir. Fakat araştırmacılar tarafından hücre ayrıştırma yöntemi olarak fazla dikkat çekememiştir. Bunun en önemli nedeni, konveksiyona bağlı teknik sorunlardan dolayı verimsiz ayrıştırma elde edilmesi ve teorik yapısının karışık olmasıdır [36]. En ideal ayrıştırma yöntemi, akıştan bağımsız paralel elektroforezin uygulandığı yöntemdir.

Akıştan bağımsız elektroforez, akış yönüne dik olarak uygulanan elektrik alan ile, derin olmayan bir hazneye gönderilen solüsyondaki partiküllerin, akış yönünü değiştirmesi şeklinde çalışmaktadır. Akış -x yönüne hidrodinamik etkilerle, -y yönünde de elektrik alan etkisiyle yönlenmektedir (Şekil 1.5.a). Bu iki akış vektörünün bileşimi, akışın gözlenen yönünü belirlemektedir. Moleküllerin anyon veya katyon olmasına göre, akış yönünden sapması elektrik yüklenmesinin boyuta oranlanmasına göre değişmektedir [17].



Şekil 1.5 : Elektrik kullanılarak akıştan bağımsız ayrıştırma yönteminin şematik olarak gösterilmesi. a) Akıştan bağımsız elektroforez. b) Akıştan bağımsız izoelektrik fokuslama.

Akıştan bağımsız izoelektrik fokuslama yönteminde bir pH gradyanı x- yönünde oluşturulurken, akış y- yönünde verilir. Protein gibi amfoterik moleküller içeren bir karışım ayrıştırma kanalının genişliği boyunca verilir (Şekil 1.5.b). Protein kendi izoelektrik noktasından farklı pH'a sahip alana girdiğinde elektroforetik kuvvete maruz kalır ve pH gradyanı kendi izoelektrik noktasına eşit oluncaya kadar x-yönü boyunca hareket eder. Bu noktada fokuslanan protein, akışı takip etmeye devam eder. Farklı izoelektrik özelliklere sahip proteinler bu yöntemle ayrıştırılabilmektedir [47-50].

1.1.5 Dielektroforez Yöntemi ile Ayrıştırma

Dielektroforez (DEP) homejen olmayan elektrik alan ile oluşmakta ve partikül veya hücre ayrıştırma yöntemi olarak kullanılabilmektedir. Bir partikül elektrik alana maruz kaldığında elektrik yükünden dolayı elektrik alan boyunca polarize olur. Homojen elektrik alan içinde elektrostatik kuvvetler karşıt çift kutuplar halinde dengelenir ve partikülün hareketsiz kalmasına neden olur. Homojen olmayan elektrik alan içinde ise, bu kuvvetler farklı olmakta ve partikülün hareket etmesine neden olmaktadır. Hareket elektrik alanına doğru veya tam tersi yöne doğru olabilmektedir. Eğer partikülün elektrik kutuplanabilirliği, çevresini saran maddeninkinden daha büyük olursa, partikül elektrik alanına doğru hareket etmektedir. Buna pozitif elektroforezis (pDEP) denir. Partikülün elektrik kutuplanabilirliği, çevresini saran maddeninkinden daha küçük olursa, partikül elektrik alanından uzaklaşmaktadır ve buna negatif elektroforezis (nDEP) denmektedir (Şekil 1.6.a). Bu nedenle dielektroforez kuvvet, partikül ve çevresini saran maddenin kutuplanabilirlik farkına bağlı olarak değişmektedir. Kuvvet ayrıca partikül hacmi ve elektrik alan gradyanı ile orantılıdır [17,51].

Genellikle dielektroforez ayrıştırmada, üniform olmayan AC elektrik alanı ve mikrokanal içerisinde elektrodlar kullanılarak partikül fokuslanması sağlanmaktadır [17,51]. Bunun haricinde, kanal içine mikro-yalıtkanlar yerleştirerek de partikülleri fokuslamak mümkün olabilmektedir [52-54]. Bu yöntemde DC alanı kanal boyunca uygulandığında mikro-yalıtkan çevresinde oluşan dielektroforatik kuvvet, partiküllerin elektrokinetik akış ile yerdeğiştirmesine neden olmaktadır.

Elektrot kullanılan dielektroforez ayrıştırma yönteminde genellikle negatif DEP kullanılmaktadır [55,56]. En büyük elektrik alan, elektrotların yüzeylerinde oluşmakta ve partiküller elektrottan uzağa doğru itilmektedir.

Yalıtkan kullanarak dielektroforez partikül ayırma yöntemi ilk defa Cummings ve Singh tarafından geliştirilmiştir [57]. Cummings ve Singh, mikrokanallarda yalıtkan, silindirik kolonlar kullanmış ve bu kolonların etrafında elektrik alan gradyanlarının oluşmasını sağlayarak partiküllerin DEP etkisindeki hareketini incelemişlerdir. Eğer dielektroforetik hareket, elektrokinetik ve Brownian hareketlerini yenerse, partiküller kolonlar arasında birikmektedirler [58,59]. Bu yöntem, daha sonra biyomoleküller üzerinde de denenmiştir [60-64]. Ayrıca polimer partiküller ve biyolojik hücrelerin boyutlarına göre ayrıştırılması da çalışılmıştır [65-68].



Şekil 1.6 : Dielektroforetik ayrıştırma. a) Homojen olmayan elektrik alan uygulanması ile negatif ve pozitif dielektroforez oluşturulması ve partikül hareket yönüne etkisi [17]. b) Ani genişleyen ve daralan kanallarda dielektroferetik ayrıştırma [71]. c) Spiral mikrokanallarda dielektroforetik ayrıştırma [76]. d) Tek dönüşlü bir geometride partikülün elektrokinetik ve dielektroforetik etkisi ile hareketinin şematik gösterilmesi.

Dielektroforetik partikül ayrıştırma yöntemi düz ve dönel kanallara da uygulanmıştır. Cummings ve Singh'in ani genişleyen ve daralan kanallarda pozitif dielektroforez yöntemi kullanarak yaptıkları deneylerde, 200 nm'lik lateks partiküllerin fokuslanması gözlenmiştir [69]. Buna benzer bir başka çalışma Xuan ve diğerleri tarafından, negatif dielektroforezis kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada 40 µm'lik partiküllerin kanal merkezinde fokuslandığı gözlenmiştir [70].

Zhu ve Xuan, DC etkili AC elektrik alanını kullanarak mikrokanallarda partiküllerin fokuslanması konusunda çalışmışlardır. 10 μ m polistren partiküllerin kanal merkezinde fokuslandığı gözlemlenmiştir [71] (Şekil 1.6.b). Buna benzer bir başka çalışmada, yağ kullanarak, elektrik alanının kontrolünün geliştirilmesi ve partikül fokuslanma veriminin arttırılması amaçlanmıştır [72]. Yağ kullanılan ani genişleyen ve daralan mikro kanal geometrisi daha sonra partikülleri ayırmak için başka gruplar tarafından da kullanılmıştır [73].

Xuan'ın grubu DC elektrokinetik akış ve dönel mikrokanal yapısı kullanarak partikül fokuslanmasını incelemişlerdir [74-77]. Bu yöntemde atalet ve dean kuvvetleri düşük Reynolds sayılarından dolayı ihmal edilebilir boyuttadır. Patika uzunluğunun değişmesinden dolayı, elektrik alanı iç duvar tarafında maksimum, dış çeper tarafında ise minimum değerini almaktadır. Bu nedenle partiküller dönüş boyunca elektrokinetik olarak enine hareket ederler. Uygulanan dielektroforezin negatif veya pozitif olmasına göre iç çeper veya dış çeper tarafında partiküller fokuslanmaktadır [78,79].

Zhu ve diğerleri, spiral kanallarda dielektroforez ile 5 μm'lik partiküllerin fokuslanmasını incelemişlerdir [76]. Dönel kanallardan farklı olarak, partiküllerin negatif DEP'de, sabit açı ile dış duvara doğru hareket ettiği, dönüşlerin partikül hareketini etkilemediği gözlenmiştir (Şekil 1.6.c). Her bir spiral dönüşte partiküller dış çepere daha çok yaklaşmışlardır. Zhu ve Xuan çift spiral kanal geometrisi kullanarak partikül fokuslanmasını incelemişlerdir [74]. Daha sonra çift spiral kanal geometrisini ve dielektroforez yöntemini kullanarak partikülleri boyutlarına göre ayrıştırma çalışması yapmışlardır [80].

1.2 Mikroakışkan Sistemlerde Pasif Partikül-Hücre Ayrıştırma Yöntemleri ve Uygulamaları

1.2.1 Mikro Filtre

Farklı boyutlardaki mikropartikülleri veya hücreleri filtreleyerek ayrıştırmak mümkün olmaktadır fakat bu teknik düşük ayrıştırma verimi sağlayabilmektedir. Dört çeşit mikrofiltreleme yöntemi bulunmaktadır ve bunlar eşik, kolon, engel ve süzgeç kullanılan mikrokanal geometrileriyle oluşturulabilmektedir (Şekil 1.7) [81].



Şekil 1.7 : Mikro filtre dizaynları [81]. a) Eşik ile filtreleme. b) Kolon ile filtreleme. c) Engel ile filtreleme. d) Süzgeç ile filtreleme.

Eşik kullanılan mikrokanallarda, baraj şeklinde yapılardan küçük partiküllerin geçmesi sağlanırak ayrıştırma yapılabilmektedir. Crowley ve Pizziconi, kapiler etkiden faydalanarak kan plazmasının dar bir eşikten geçmesini ve, eşiğin çok dar olması nedeniyle kan hücrelerinin geçmemesini sağlacak bir tasarım yapmışlardır fakat çok düşük hacimlerde plazma elde edilebilmiştir [82,83]. Daha sonra bu yöntem geliştirilerek daha yüksek hacimlerde kanın ayrıştırılması sağlanabilmiştir [84,85].

Kolonların kullanıldığı mikrokanallarda, kolonlar birbirinden belirli mesafedeki uzaklığa konularak akışı ve partikülleri yönlendirmesi sağlanmaktadır fakat bu ayrıştırma yönteminde hücrelerin tıkanması ve bozulması sorunu yaşanmaktadır. Bu konuda yapılan bir diğer çalışmada kordondan alınan kandan, cenine ait çekirdekli kırmızı kan hücrelerinin anneye ait hücrelerden ayrıştırılması çalışılmıştır [86].

Engellerin kullanıldığı mikrokanallarda, akışa dik yönde belirli aralıklarla engeller konulmaktadır. Bu engellerin aralıklarından küçük partiküller geçerken, diğer partiküller akış hattını takip etmektedirler. Bu şekilde tıkanma problemi de azaltılmak istenmiştir. Bu yöntem ile plazmanın kandan ayrıştırılması [83,85,87], beyaz kan hücrelerinin kandan ayrıştırılması [88,89] ve DNA elde edilmesi [90] çalışılmıştır.

Süzgeç kullanılan mikrokanallarda, belirli boydaki hücre veya partiküllerin geçmesi için delikler oluşturulmaktadır fakat diğer filtreleme yöntemlerinde olduğu gibi tıkanma sorunu bu yöntemde de en önemli sorunlardan biri olmaktadır. Bu yöntem ile yumurta şeklinde veya daire şeklinde delikler oluşturularak kanser hücrelerinin kandan ayrıştırılması çalışılmıştır [91].

1.2.2 Hidrodinamik Ayrıştırma Yöntemi

Hidrodinamik filtrasyon yöntemi, kanal geometrisine ve akış karakteristiğine göre partikülleri ayrıştırmada kullanılmaktadır. Bu yöntemde mikrokanal geometrisi bir akış hattı ve bu hattın yanlarından açılan yan kollardan oluşmaktadır. Akışın içerisindeki partiküllerden boyutu küçük olan partiküller ana akış hattının mikro kanal çeperlerine boyutu büyük olan partiküllerden daha fazla yaklaşabilmektedir. Küçük partiküllerin yan kollardan alınabilmesi, çepere yakın bölgedeki akışın hızına bağlı olarak değişebilmektedir. Bu hız düşük olduğunda hiçbir partikül yan kollardan alınamamakta, orta büyüklükte olduğunda sadece küçük partiküller yan kollardan toplanabilmekte ve yüksek olduğunda her iki partikül tipi de yan kollardan geçebilmektedir (Şekil 1.8).

Yamada ve Seki, bu yöntemi ilk uygulayan gruptur [92]. 1 μ m ve 3 μ m'lik partikül karışımın 1 μ l/dak hızda ana akış hattına beslemişlerdir. Farklı bir kanal tasarımı uygulamasında 1 μ m ve 2 μ m ve 3 μ m'lik partiküllerin ayrıştırılması çalışılmış ve farklı çıkışlardan toplanan partikül konsantrasyonlarında verim artışı elde edilmiştir [93]. Yamada ve diğerleri daha sonra bu yöntemi 50 μ l/dak debide karaciğer hücrelerini parankimal dokudan ayrıştırmak için kullanmışlardır [94]. Bir başka çalışmada Hela hücrelerini hidrodinamik sistemde, 140 μ l/dak debide onarmak için çalışma yapmışlardır [95]. Grup daha sonra küresel ve küresel olmayan çeşitli boylardaki partiküllerin çeşitli debilerdeki (0,2-30 μ l/dak) hidrodinamik filtrasyon deneylerini yapmışlardır [96].



Şekil 1.8 : Hidrodinamik ayrıştırma. a) düşük akış hızında, b) orta büyüklükte akış hızında, c) yüksek akış hızında partiküllerin yan kanallar civarındaki davranışları. d) Çoklu yan kanallar kullanarak hidrodinamik ayrıştırma işleminin şematik olarak gösterilmesi.

Aoki ve diğerleri, hidrodinamik filtrasyon yöntemini kullanırken yan kollardan partikülleri almak yerine, akış vererek partikülleri kanal merkezinde fokuslamaya çalışmışlardır [97].

1.2.3 PFF-Sıkıştırılmış Akış Fraksiyonu

Bu yöntemde mikrokanalın iki farklı girişinden birinden partiküllerin bulunduğu karışım, diğerinden ise sadece sıvı beslenmektedir. Bu yöntemde kanal geometrisi, iki girişi tek bir dar kanal ile birleştirip, aniden kanalı genişletme şeklinde oluşturulmuştur. Partiküllerin bulunduğu sıvının debisi, partikülsüz sıvının debisinden fazladır. Bu sayede, dar bölgede küçük partiküllerin, kanalın tek çeperine yakın şekilde toplanması sağlanabilmektedir. Kanal ani genişlediğinde ise, partiküller akış çizgilerini takip edecekleri için, farklı çıkışlardan toplanabilmekte ve ayrıştırma rahatlıkla sağlanabilmektedir (Şekil 1.9).



Şekil 1.9 : Sıkıştırılmış akış fraksiyonu ile ayrıştırma [98].

Bu yöntemi Yamada ve diğerleri geliştirmiştir [98]. Bu çalışmada 15 ve 30 µm'lik polistren partiküllerin ayrıştırılması deneysel olarak çalışılmıştır. Grup bu sistemi farklı geometrilerle geliştirmiştir [99]. Ayrıca akış kontrol valfleri de eklenerek sistem verimi arttırılmıştır [100]. Ayrıştırma veriminin %90'dan fazla olduğu çalışmalar da gösterilmiştir [101].
1.2.4 Biyomimetik

Biyomimetik mikroakışkan ayrıştırma yöntemi, kan hücrelerini ayrıştırmak için, mikrodolaşımı ve kan özelliklerini içeren hemodinamik fenomene benzeterek gerçekleştirilebilmektedir [81]. Lökositlerden daha küçük olan ve daha çabuk deforme olabilen kırmızı kan hücreleri, lüminal çapı 300 µm'den daha küçük olan damarlarda parabolik akış profilinin etkisiyle damarın eksenel merkezine doğru hareket etme eğilimi göstermektedir [36]. Buna Fahraeus-Lindqvist Etkisi denir [102].



Şekil 1.10 : Fahraeus-Lindqvist etkisi kullanılarak yapılan biyomimetik ayrıştırma. a) Lökositlerin daha çok mikrokanal çeperlerinde bulunması ile kandan izole edilmesi [103]. b) Paralelel yan kanallar kullanılarak plazmanın kandan ayrıştırılması [106].

Kırmızı kan hücreleri radyal olarak eksenel merkeze doğru hareket ettikçe, kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin çarpışması sonucu, beyaz kan hücreleri damar çeperine doğru yer değiştirmektedir. Bu konuda simetrik ve asimetrik kolların mikrokanala eklenmesi ile beyaz kan hücrelerini ayrıştırma çalışması yapılmıştır [103,104]. Ayrıca kan plazmasını ayrıştırmak için bu yöntemin kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur [105,106].

2. DEAN AKIŞI VE ATALET ETKİSİNİN KULLANILDIĞI MİKROAKIŞKAN UYGULAMALARI

2.1 Dean Akışının Kullanıldığı Mikroakışkan Uygulamaları

Dönel kanal geometrisi kullanıldığında oluşan, karşılıklı ve birbirine zıt yönde dönen Dean vorteksleri genellikle akışkanları karıştırmak için kullanılmıştır. Mikrokanallarda küçük ölçülerden dolayı türbülanslı akışı oluşturmak güç olmaktadır. Diğer yandan sadece difüzyon etkisiyle karıştırma işleminde ise uzun sürelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle Dean Akışı karıştırma işlemi için hızlı sonuç veren ve verimi yüksek bir yöntem olmuş, bu nedenle bir çok uygulamada kullanılmıştır.

Dönel mikrokanallarda Dean Akışı, arayüzey alanını ve difüzyon etkisiyle karıştırma verimini arttırmak için kullanılmıştır. Bu alandaki ilk çalışma Kaotik adveksiyondan yararlanmak için üç boyutlu kıvrımlı geometriye sahip kanalların kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir [137]. Bu çalışmada, Liu ve diğerleri Re sayısı arttıkça karıştırma veriminin arttığını gözlemlemiş ve Re>25 değerinde maksimum karışma verimi elde etmişlerdir. Re<6'da Dean akışının etkisiz olduğunu ve sadece difüzyonun karıştırma işleminde etkin olduğunu belirtmişlerdir.

Ligler ve diğerleri tek dönelliğe sahip çember biçiminde ve değişik yüksekliklerde mikrokanallarda Dean Akışının etkisini incelemişlerdir [138]. Yüksekliği daha fazla olan kanallarda karışma veriminin daha yüksek olduğunu ve Re sayısı 20 civarında tüm kanallarda sıvının iç duvar tarafına yöneldiğini, daha yüksek Re sayılarında ise iç duvar tarafından dış duvar tarafına yöneldiğini gözlemlemişlerdir.

Sudarsan ve Ugaz dönel kanallarda elde edilen karıştırma verimini arttırmak için spiral mikrokanallar tasarlamışlardır [139]. Re<1'de dean akışının önemsiz olduğunu ve karıştırmanın sadece difüzyon ile gerçekleştiğini, Re>10'da ise karıştırmanın dean vorteksleri etkisiyle oluştuğunu ve daha yüksek verimde gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Sudarsan ve Ugaz bir başka çalışmada dönel kanallar kullanmış ve dönellikle birlikte ani genişleme ve daralma bölgeleri oluşturmuşlardır [110].

De sayısı 1'in altında olduğunda santrifüj kuvvetlerinin ikincil akış oluşturamayacak kadar küçük olduğunu, De sayısı 10'un üzerinde iç duvar tarafına yönlenmiş akışın dış duvara doğru yön değiştirdiğini gözlemlemişlerdir.

Yoon ve Diğerleri, 20 µm ve 40 µm'lik cam ve nikel partikülleri ayrıştırmak için tek dönüşe sahip U şeklinde dönel mikrokanal ve bu dönüşün sonuna ikiye ayrılmış düz mikrokanallar tasarlamışlardır [140]. De = 28.87'de, boyutu daha küçük, ağırlığı cam partikülün üç katı olan nikel partiküller U dönel kanalının sonunda iç duvar tarafındaki çıkıştan alınırken, cam partiküller dış duvar tarafındaki çıkıştan toplanmışlardır.

2.2 Atalet Etkisinin Kullanıldığı Mikroakışkan Uygulamaları

Atalet etkisi ile partiküllerin akış şeridinden çıkması ve belli denge bölgelerinde toplanmaları Segre ve Silberberg'in gözlemlerinden bu güne kadar çalışılan bir konu olmuştur fakat ticari olarak atalet etkisi uygulamaları çok azdır. Partikül ve hücre ayrıştırma uygulamalarında yüksek hızlı sonuç vermesi açısından büyük avantajları olmasına rağmen, özellikle çok küçük hacimli numune gerektiren bazı uygulamalar için tercih edilmez. [141]

Segre ve Sildenberg'in partiküllerin atalet kuvvetleri etkisiyle denge noktasına geldiklerini gözlemlemesinin ardından Matas ve diğerleri de bu konuda düz kanallarla çalışmış ve denge pozisyonu oluşumunu deneysel olarak doğrulamışlardır [118,142,143]. Ayrıca Re sayısı arttıkça, denge konumu çemberinin, kanal çeperlerine yaklaştığını gözlemlemişlerdir.

Partiküllerin denge pozisyonu Re sayısına bağlı olduğu gibi, kanal kesitine göre de değişmektedir. Kim ve Yoo, kare profilli düz kanallarda yaptıkları deneylerde, düşük reynolds sayılarında (20<Re<30) partiküllerin kanal çevresi boyunca ince bir denge pozisyonunda toplandığını gözlemlemişlerdir [144]. Benzer bir çalışma Chun ve Ladd tarafından da yapılmıştır [145]. Re sayısı 100-1000 arasında yaptıkları deneylerde, Re sayısı arttıkça (Re>100) partiküllerin denge pozisyonu sayısının 8 olduğunu, Re sayısının çok arttırılması ile (Re>500) bu 8 denge pozisyonunun azalarak 4'e indiğini ve kanal köşelerinde oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Bu etki, kanalın dört tarafından da üniform kayma gradyantının etkimesiyle açıklanmaktadır.

Dikdörtgen profilli düz kanallarda ise, partiküllerin kanalın uzun kenarı boyunca denge konumunda toplandığını Bhagat ve diğerleri deneysel olarak gözlemlemişlerdir [131,146]. Re sayısı arttırıldığında, Kanal köşelerinde toplam 4 bölgede ve kanalın uzun kenarının merkezinde karşılıklı olarak 2 bölgede olmak üzere toplamda 6 bölgede partiküllerin denge pozisyonunu oluşturdukları gözlemlenmiştir. (Kanala üstten bakıldığında, bu denge pozisyonları, iki çizgi halinde gözlemlenebilmektedir.) Bhagat ve diğerleri düzlemsel kare ve dikdörtgen profilli kanallarda yaptıkları deneylerde, dikdörtgen kanallarda partiküllerin denge pozisyonunun hidrolik çaptan çok, en kısa kenar uzunluğu olan L_C'ye bağlı olarak değişmekte olduğunu gözlemlemişlerdir. Bunun nedeni, kayma oranının etkisiyle, kısa kenar boyunca etkiyen kaldırma kuvvetinin uzun kenar boyunca etkiyen kaldırma kuvvetinden daha büyük olması ve kısa kenar yönünde daha fazla partikül yerdeğiştirmesine neden olmasıdır. Bu nedenle dikdörtgen kanallarda daha küçük Re sayılarında veya daha kısa kanal uzunluğu kullanarak ayrıştırma yapılabilmektedir.

Park ve diğerleri, düz kanallarda 80 tane genişleme ve daralma bölgesi ekleyerek mikrokanal serisi tasarlamışlardır [147]. Kanalların genişlediği bölgelerin köselerinde oluşan vortekslerin partikül fokus pozisyonunu etkilediği gözlemlenmiştir. Daha sonra bu yapı tekrar düzenlenmiş ve çıkış bölgesi genişletilmiştir. 2, 7 ve 15 µm'lik partikllerin Re=70'de ayrıştırma deneyleri yapılmış, 15 µm'lik partikllerin kanal merkezi civarında fokuslandıkları, 7 µm'lik partikllerin ise kanalın çeperlerine yakın şekilde fokuslandıkları gözlemlenmiştir [148]. Bu çalışmaya benzer bir çalışma daha önce Faivre ve diğerleri tarafından kan plazmasını ayrıştırmak için yapılmıştır [149].

Wu ve diğerleri, kinetik atalet etkisini kullanarak E. Coli bakterisini kandan ayrıştırma deneyleri yapmışlardır [150]. Bu çalışmada, kan hücreleri daha büyük boyutlarından dolayı, daha çok atalet kuvvetlerinden etkilenmekte ve E. Coli bakterilerinin denge pozisyonundan daha farklı bir bölgede fokuslanmaktadır. Wu ve diğerleri % 99 saflıkla bakterileri ayrıştırabilmişlerdir.

Hur ve diğerleri, 256 tane yüksek h/w oranında paralel düz kanallar kullanarak partikül sayım cihazı tasarlamışlardır [151].

2.3 Atalet Etkisinin ve Dean Akışının Birlikte Kullanıldığı Mikroakışkan Uygulamaları

Dean sürüklenme kuvveti ve net atalet kaldırma kuvvetinin partikül fokuslanmasındaki etkisi başka gruplar tarafından da çalışılmıştır, fakat sistem etkinliği ve tasarım detayları henüz netlik kazanmamıştır.

Blattert ve diğerleri, kan plazmasını ayrıştırabilmek için 90° dönelliğe sahip bir dönel kanal kullanmış ve dönel kanalın sonundan ikiye ayrılmış kanallar kullanarak (bir tanesi plazmanın, bir tanesi de kan hücrelerinin geçtiği kanallar olacak şekilde) ayrıştırma yapmışlardır [152]. Daha küçük dönellik çapına sahip dönel kanalda ayrıştırma veriminin arttığını gözlemlemişler ve yaklaşık % 80 ayrıştırma verimi elde etmişlerdir.

Gregoratto ve diğerleri yükseklik/genişlik oranı yüksek (h/w = 10) olan spiral mikrokanallar kullanmıştır [153]. Ayrıştırma verimi, 1, 8 ve 10 μ m çapında polistren partiküllerin DI su ile karıştırılmasıyla yapılan deneyler sonucu hesaplanmıştır. 2ml/dak hızda 10 m'lik partiküllerin kanal dış çeperi tarafında yüksek konsantrasyonlu, 1 μ m çapındaki partikül konsantrasyonunun ise ihmal edilebileceğini gözlemlemişlerdir.

Seo ve diğerleri, Gregoratto ve diğerlerinin çalışmasına benzer şekilde, spiral olarak dönen kanallar kullanmış ve kanalın merkezinde "S" şeklinde bir yapı kullanmışlardır [154,155]. Ayrıştırma verimi, 3 μ m, 6 μ m ve 10 μ m çapında polistren partiküllerin DI su ile karıştırılmasıyla yapılan deneyler sonucu hesaplanmıştır. Yüksek akış hızında 10 μ m'lik partiküllerin iç çeper tarafındaki çıkış konsantrasyonunun, dış çeper tarafındaki çıkış konsantrasyonundan 660 kat fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Di Carlo ve Diğerleri, düz, simetrik ve asimetrik kıvrımlı dönel kanallar kullanarak kapsamlı partikül fokuslanması deneyleri gerçekleştirmişlerdir [129]. Partikül çapları 2-17 µm arasında, kanal hidrolik çapları 10-87 µm arasında değişen asimetrik dönel kanalların deneyleri Re sayısı 0.1-225 arasında olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Simetrik kanallarda çift fokus, asimetrik kanallarda tek fokus elde edilebilmiştir.

Ayrıca partiküllerin $a_P/D_h > 0.07$ oranı sağlandığında atalet kuvvetleri etkisiyle fokuslanabildiği gözlemlenmiştir. Bu çalışma daha sonra, asimetrik ve genişliği 350 µm'den 650 µm'ye değişen, 5 çıkışlı mikrokanalların tasarımı ile geliştirilmiştir.

3.1 μm ve 9 μm'lik partiküllerin ayrıştırılması 0,9 ml/dak hızda gerçekleştirilmiş ve
9 μm'lik partiküllerin kanalın dış çeperi tarafındaki çıkışta % 90'ı toplanabilmiştir
[132].

Gossett ve Di Carlo tek U dönüşünde partikül fokuslanması mekanizmasını Re>270 için deneysel olarak çalışmışlar, ayrıca kapsamlı olarak simetri ve asimetrinin partifül fokus mekanizmasını inceleyerek ayrıştırma için dizayn kriterleri geliştirmişlerdir [136].

Kuntaegowdanahalli ve diğerleri spiral mikrokanal tasarımı kullanarak 10 μ m, 15 μ m ve 20 μ m'lik partiküllerin ayrıştırılmasında % 90 verim elde etmişlerdir [134].

Bhagat ve diğerleri, beş dönüşlü, iki giriş ve iki çıkışlı mikrokanallarda 1.9 μ m ve 7.32 μ m'lik partikülleri ayrıştırmak için düşük De sayılarında deneysel çalışmalar yapmışlardır [133]. De = 0.47'de büyük partikülleri dıç çeper tarafındaki çıkıştan, küçük partikülleri de iç çeper tarafındaki çıkıştan toplayarak ayrıştırma gerçekleştirmişlerdir. Bhagat ve diğerleri benzer bir çalışmayı daha sonra 560 nm, 1,9 μ m ve 7.32 μ m'lik partiküllerin ayrıştırılmasında gerçekleştirmişlerdir [156].

Oozeki ve diğerleri, 30,60,90 ve 180°'lik yay şeklinde kanallar kullanarak 1.8-30 µm'lik çapa sahip partiküllerle Re 300-1200 arasında deneyler yapmışlardır [157]. 20 mm yarıçapa sahip 180°'lik yayda partiküllerin tek fokus çizgisi oluşturduğunu ve bu çizginin Re arttıkca dış duvara doğru yönlendiğini gözlemlemişlerdir. Bu sonuç, w/h oranı yüksek olan, spiral kanallardaki bulunan sonuçlarla uyuşmamaktadır. Bu veriler harmanlandığında, partikül fokus çizgisinin iç duvardan olan uzaklığının w/h'a önemli ölçüde bağlı olduğunu göstermekte, bu oran arttıkça fokus pozisyonunun iç duvara yaklaştığı öngörülmektedir [141].

Russom ve diğerleri, genişliği artan spiral mikrokanal tasarımı yapmışlardır ve tasarıma 50 μ m'lik ve 950 μ m'lik genişlikte iki çıkış bölgesi eklemişlerdir [135]. 3 μ m ve 10 μ m'lik partiküllerin ayrıştırılması 3.5 ml/dak debide gerçekleştirilmiştir. 10 μ m'lik partiküllerin % 98,5 kadarını mikrokanalın iç çeper tarafındaki dar olan çıkışdan alırken, 3 μ m'lik partiküllerin % 92,5 kadarını diğer çıkış bölgesinden almışlardır.

3. ATALET ETKİSİ İLE MİKROAKIŞKAN SİSTEMLERDE PARTİKÜL AYRIŞTIRMA

3.1 Mikroakışkan Sistemlerde Atalet Kuvvetlerinin Partiküller Üzerindeki Etkisi

Mikrokanallarda yapılan pasif partikül ayrıştırma çalışmalarda bu güne kadar genellikle, akışın Re sayısı 1'in altında olacak şekilde çalışmalar yapılmıştır. Bunun nedeni mikrokanal ölçülerinin küçük olması ve akışkan olarak suyun kullanılmasıdır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda akışın Re sayısı 1'in üstünde olduğunda sisteme etkimeye başlayan atalet kuvvetlerinin, ayrıştırma veriminde ve hızında önemli avantajları olduğu tespit edilmiştir. Atalet kuvvetleri viskoz kuvvetleri yenerek partiküllerin, bulundukları akış şeridine dik yönde yer değiştirmesini sağlamaktadır. Bu yer değiştirmenin derecesi, partikülün kütlesine veya yoğunluğuna bağlı olmayıp, sadece çapına bağlı olarak değişmektedir.

Re sayısı 1'in altında olduğunda akışkan fiziği Stokes Akışı (Re=0) yaklaşımı ile değerlendirilmekteyken, 1'in üstünde olduğunda sisteme lineer olmayan atalet etkilerinin de dahil olması nedeniyle Navier Stokes yaklaşımı kullanılmaktadır.

Navier Stokes Denklemi =
$$\rho \frac{DV}{Dt} = \rho f - \Delta p + \mu \Delta^2 V$$
 (3.1)

Denklemde V hız vektörü, ρ akışkanın yoğunluğu, μ dinamik viskosite ve *f* cisim kuvvetleridir. Partiküllerin ayrıştırılmasında akışkanın fiziği haricinde, akışın partikül üzerindeki etkilerinin incelenmesi gerekmektedir.

Akış içerisindeki partikül üzerine etkiyen net kuvvet [107];

$$F_{P,net} = m_p \frac{\partial U_p}{\partial t}$$
(3.2)

$$F_{p,net} = (F_{kk} + F_{sk}) - (F_{ek} + F_{sur} + F_{bg})$$
(3.3)

 F_{kk} kaldırma kuvveti, F_{sk} santrifüj kuvveti, F_{ek} ek kütle kuvveti, $F_{sür}$ sürüklenme kuvveti, F_{bq} basınç Gradyanı kuvvetini göstermektedir.

Kaldırma Kuvveti:

$$F_{kk} = (m_p - m_a)g \tag{3.4}$$

Eğer partikül ve akışkanın yoğunluk farkı azsa, kaldırma kuvveti ihmal edilebilir.

Santrifüj Kuvveti:

$$F_{sk} = \frac{m_p U_p^2}{R}$$
(3.5)

Santrifüj kuvveti, dönel kanallarda bulunan partiküllere, kanalın dışına doğru etkiyen kuvvettir. Formülden de görülebileceği gibi kütle ile doğru orantılıdır. Bu nedenle kütlesi fazla olan partiküle etkiyen santrifüj kuvveti daha büyüktür.

Ek Kütle Kuvveti:

$$F_{ek} = \frac{1}{2} m_a \frac{\partial U_r}{\partial t}$$
(3.6)

Ek kütle kuvveti, sisteme eklenen atalet ile partikül üzerine etkimeye başlar. Bunun nedeni akış içerisinde hareket etmekte olan partikülün, çevresindeki sıvının yer değiştirmesine neden olmasıdır. Ek kütle kuvvetinin ihmal edilebilmesi için, partikülün yoğunluğunun sıvının yoğunluğundan fazla olması gerekmektedir. Bu çalışmada kullanılan partiküllerin polistrol partikül olması ve yoğunluğunun suyun yoğunluğuna yakın olması nedeniyle ek kütle kuvveti ihmal edilemez.

Sürüklenme Kuvveti:

$$F_{\rm sür} = 3\pi\mu a_p U_r \tag{3.7}$$

Sürüklenme kuvveti, sıvının viskoz yapısından kaynaklanmaktadır ve partikülün sıvı içerisindeki hareketine zıt yönde etkir.

Basınç Gradyanı Kuvveti:

$$F_{bg} = m_a \frac{DU_r}{Dt}$$
(3.8)

Bu kuvvet, mikrokanal uzunluğu boyunca basınç gradyanının partikül üzerine etkidiği kuvvettir.

3.2 Mikroakışkan Sistemlerde Dean Sürüklenme Kuvvetinin Partiküller Üzerindeki Etkisi

Dönel kanallarda mikropartikül ayrıştırma işlemi, farklı boyutlarda partiküllerin ayrıştırılmasında kullanılmıştır [36,81]. Herhangi bir dış kuvvet kullanmadan, sadece hidrolik kuvvetler ile yapılan bu ayrıştırma yöntemi, yüksek çıktı alma avantajı ile birlikte, Lab-on-a-Chip uygulamaları için ideal olmaktadır.

3.2.1 Dean Akışı

Dönel geometriye sahip kanallarda ataletin etkin hale gelmesi ile birlikte, kanalın merkezinde daha hızlı hareket eden akışkan dışa doğru yönelirken, duvar kenarlarında hareketsiz olan akışkan kütle korunumunu sağlayabilmek için içe doğru yönelmektedir. Merkezdeki akışkanın hızı ile duvar kenarındaki akışkanın hızı arasında oluşan uyumsuzluk sonucu merkezdeki akış elementinin ataleti duvar kenarındaki akışınkinden daha büyük olur ve akışın radyal yönde dönmesini sağlayarak ikincil bir akış oluşturur. Sonuçta kanal içerisinde birbirine zıt yönde dönen karşılıklı iki vorteks oluşmaktadır (Şekil 3.1). Buna Dean Akışı denmektedir. Mikro kanal kapalı olduğu için, duvar kenarında hareketsiz olan akışkan, santrifüjlü basınç gradyanının etkisiyle içe doğru dönmektedir.



Şekil 3.1 : Dean Akışı

W. R. Dean, ikincil akışın boyutunu ölçmek için boyutsuz bir büyüklük olan Dean Sayısını tanımlamıştır;

$$De = \frac{\rho U_f D_h}{\mu} \sqrt{\frac{D_h}{2R}} = Re \sqrt{\frac{D_h}{2R}}$$
(3.9)

Burada ρ sıvının yoğunluğu, μ viskozitesi, U_f ortalama hızı, D_h kanalın hidrolik çapı, R dönellik çapı ve Re akışın Reynold sayısıdır. Düz kanallar için De = 0olmaktadır. Dean akışı De sayısının artması ile büyür [108-110].

Ookawara ve diğerleri, bilinen De sayısındaki ortalama Dean hızını bulmak için bir formül geliştirmiştirlerdir [111,112] ;

$$\vec{U}_{Dean} = 1.8 \times 10^{-4} D e^{1.63} \tag{3.10}$$

Karşılıklı iki vorteksten meydana gelen dean akışının oluşması ile partikül üzerine dean sürüklenme kuvveti etkimeye başlar [113];

$$F_D = 3\pi\mu\overline{U}_{Dean}a_p \tag{3.11}$$

3.2.2 Atalet Kuvvetleri

Reynolds Sayısı 1'in üzerinde olduğunda sıvı içerisindeki partiküller Dean Sürüklenme Kuvvetinin haricinde basınç kuvvetleri ve atalet kaldırma kuvvetlerine de maruz kalırlar [107,114-119]. Viskoz sürüklenme kuvvetinin partikülün akış çizgisine dik yerdeğiştirmesi üzerinde hiçbir etkisi yoktur fakat net atalet kaldırma kuvvetinin partikülün kanal kesiti buyunca hareket etmesinde önemli etkisi vardır.

Net Atalet Kaldırma Kuvveti iki kuvvetin bileşkesinden oluşmaktadır. Birincisi Kayma Gradyanı Etkisiyle Oluşan Atalet Kaldırma Kuvvetidir (Şekil 3.2) ve bu kuvvetin temel nedeni Poiseuille Akışıdır. Bu akışta sıvı hızı kanal merkezinde en büyük değerini alırken, kanal çeperlerine doğru 0'a yaklaşmaktadır. Böylece partikülün kanal çeperine bakan kısımlarında sıvının hızı daha düşük olurken, kanal merkezine bakan taraflarında sıvı hızı daha yüksek olacaktır. Bu hız farkı, partikülün dönerek kanal çeperine doğru hareket etmesine neden olmaktadır. Bu kuvvetin rijit, küresel partiküller için denklemi Rubinow ve Keller [120] tarafından geliştirilmiştir;

$$F_{lift} = \pi R^3 \rho_f \vec{\omega} \times \vec{u} \tag{3.12}$$

burada ρ_a taşıyıcı sıvının yoğunluğu, $\vec{\omega}$ partikülün bulunduğu noktadaki taşıyıcı akışkanın girdap kuvveti ve \vec{u} hızıdır. Uniform laminar akış alanı için girdap kuvveti,

$$\vec{\omega} = \partial u / \partial y \approx U / d \tag{3.13}$$

denklemindeki gibidir, burada U ortalama hızı ve d kanal derinliğini göstermektedir.

Partikül kanal çeperine yaklaştığında ise çeper tarafındaki akış hızı hala merkez tarafındaki akış hızından düşük olacağından, hız farkı bu bölgede partikülün çeperden kanal merkezine doğru itilmesine neden olan bir basınç artışı yaratmaktadır. Bu itici güç, ikinci kuvvet olan Çeper Etkisi ile Oluşan Atalet Kaldırma Kuvvetidir (Şekil 3.2) [121,122]. Bu iki kuvvet zıt yönlüdür ve partikül üzerine etkidiklerinde partiküllerin belirli bir bölgede denge konumuna gelmesine neden olurlar. Bu kuvvetin denklemi aşağıdaki gibi ifade edilebilir [123,124] ;

$$F_{lift} = 9.22\dot{\gamma}^2 \rho_f R_H^{\ 4} \tag{3.14}$$

Denklem, Poiseuille-Hagen akışı için düzenlenecek olursa;

$$F_{lift} = 9.22 \left(36 \frac{U^2}{d^2} \right) \dot{\gamma}^2 \rho_f R_H^4$$
(3.15)

Şeklinde yazılabilir. Burada $\dot{\gamma}$ partikülün bulunduğu konumdaki kayma oranıdır.

$$F_{lift} = 9.22 (36R_P^2) \rho_f v_f \frac{R_H^2}{d^2}$$
(3.16)



Şekil 3.2 : Atalet Kuvvetleri

Atalet kaldırma kuvvetlerinin büyüklüğü kanal kesiti boyunca değişmektedir ve bu değişiklik için fonksiyonel bir model bulunmamaktadır. Çeper Etkisi ile Oluşan Kaldırma Kuvveti mikrokanalların çeperine yakın bölgede etkin olurken, Kayma Etkisi ile Oluşan Kaldırma Kuvveti mikrokanal merkezine yakın bölgede etkin olmaktadır. Bu nedenle partiküller zıt yönlü etkiyen bu iki kaldırma kuvvetinin dengeye geldiği bölgede dar bir şerit oluşturma eğilimi gösterirler. Bu bölgeye partiküllerin denge pozisyonu denmektedir. Partiküllerin bu şekilde denge noktasına gelmesine "Tubular Pinch Effect" denilmektedir ve ilk defa Segre ve Silberberg tarafından gözlemlenmiştir [125-127]. Makro boyutlardaki doğrusal silindirik kanallar içerisindeki partiküllerin, belirli bir uzunluktan sonra kanal çapının yaklaşık 0,6'sı civarında denge konumuna gelerek, çember şeklinde toplandıklarını gözlemlemişlerdir. Daha sonra, Net Atalet Kaldırma Kuvveti F_L için Asmolov aşağıdaki gibi analitik bir çözüm geliştirmiştir [115];

$$F_L = \rho G^2 C_L a_p^4 \tag{3.17}$$

Burada C_L kaldırma sabiti, G akışkanın kayma oranı ($G = U_{maks}/D_h$, $U_{maks} = 2U_a$), a_p partikül çapıdır. C_L , partikülün bulunduğu pozisyona ve kanal Reynolds sayısına bağlı bir fonksiyondur ve Re<100 için bir çok uygulamada nispeten sabit olduğu bilinmektedir ($C_L \sim 0.5$) [115,128,129].

Net kaldırma kuvveti yeniden yazılacak olursa;

$$F_L = \frac{2\rho U_a^2 a_p^4}{D_h^2}$$
(3.18)

Partiküllerin denge konumuna gelmesini sağlayan net atalet kaldırma kuvveti, formülden de anlaşılacağı gibi partikül çapının, hidrolik çapa oranı a_p/D_h ile değişmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda $a_p/D_h > 0,07$ olduğunda atalet kaldırma kuvvetlerinin önemli ölçüde arttığı ve partiküllerin kısa mesafede denge bölgesine geldikleri gözlemlenmiştir [128].

Partiküllerin denge konumuna gelebilmesi için gerekli olan kanal uzunluğu [L] Stokes Kuralını kullanarak aşağıdaki formülden hesaplanabilir;

$$L = \frac{3\pi\mu}{2\rho U_a} \left(\frac{D_h}{a_p}\right)^3$$
(3.19)

Denklemden görünebileceği gibi, partiküllerin denge pozisyonuna ulaşabilmesi için gerekli olan uzunluk $1/(a_p/D_h)^3$ ile değişmektedir. Bu nedenle, partikül çapındaki veya kanal hidrolik çapındaki küçük bir değişim, L uzunluğunu önemli ölçüde etkilemektedir. Bu konuda yapılan çalışmalarda mikrokanallarda $a_p/D_h > 0,07$ kriteri sağlanmadığı taktirde atalet etkilerinin yetersiz olduğu ve partiküllerin denge konumuna gelmedikleri gözlemlenmiştir [129-131].

Aynı şekilde bir başka birimsiz sayı olan Partikül Reynolds sayısı da $Re_P = Re(a_p^2/D_h^2)$ sistemde etkin bir birimsiz sayı olmaktadır. Re_P 'nin artması ile partiküllerin yer değiştirme hızları artacağı için partiküller, daha kısa kanal uzunluğunda dengeye gelirler.

3.3 Dönel Mikrokanallarda Atalet Etkisi ile Partikül Ayrıştırmada Kullanılan Tasarım Kriterleri

3.3.1 Atalet Kuvvetleri

Mikrokanallarda partikülleri ayrıştırabilmek için öncelikle partiküllerin belirli bölgede fokuslanması gerekmektedir. Daha sonra fokuslanmış partiküller, uygun bir çıkış bölgesi oluşturularak, buradan toplanabilirler. Partiküllerin dönel kanallarda Atalet ve Dean Kuvvetleri etkisiyle ayrıştırılabilmesi için dört önemli parametre vardır ve detaylarıyla açıklanmıştır;

3.3.1.1 Partikül boyutunun kanal hidrolik çapına oranı

Dikdörtgen profilli dönel mikrokanallardaki partikül hareketinin Net Kaldırma Kuvveti ve Dean Sürüklenme Kuvveti'nin bileşiminden etkilendiği daha önce anlatılmıştı. Bu iki kuvvetin yönü ve büyüklüğü partikülün kanal içerisinde bulunduğu konuma göre değişmektedir. $a_p/D_h \ge 0.07$ olması durumunda atalet kuvvetleri etkin hale gelmekte ve partiküllerin mikrokanal çeperlerine yakın bir bölgede denge pozisyonuna gelmesine neden olmaktadır. Fakat bu denge pozisyonunun kanal içerisindeki konumu a_p/D_h oranına göre değişmektedir.

3.3.1.2 Dönel Mikrokanalın Uzunluğu

Dönel Mikrokanallarda partiküllerin denge konumuna gelmesi için yerdeğiştirmesi Atalet Kuvvetleri etkisiyle olmaktadır. Aynı zamanda Dean Sürüklenme Kuvveti de partiküllere etkimekte ve denge pozisyonlarının tek bölgeye düşmesini sağlamaktadır. Partiküllerin bu iki kuvvetin etkisiyle çıkış bölgesine ulaşmadan önce, tek bir denge pozisyonunda sıralanabilmesi için gerekli olan kanal uzunluğu aşağıdaki gibi hesaplanabilir;

$$L_T = \left(\frac{U_a}{U_{Dean}}\right) \times L_M \qquad (3.20)$$

Denklemde L_T partiküllerin denge pozisyonuna gelmesi için gerekli uzaklığı, L_M Dean Akışının neden olduğu, partikülün kanal kesiti boyunca yerdeğiştime uzunluğunu göstermektedir ve yaklaşık olarak kanal genişliğinin iki katıdır.

3.3.1.3 Net atalet kaldırma kuvvetinin Dean sürüklenme kuvvetine oranı

Partiküllerin mikrokanal içerisinde bulundukları konuma göre Net Atalet Kaldırma Kuvveti ve Dean Sürüklenme Kuvvetinin yönü değişmektedir. Partiküllerin denge pozisyonuna geldikleri konum bu iki kuvvetin oranı F_L/F_D 'ye bağlı olarak değişmektedir. F_L/F_D oranı, 1'e eşit olduğunda partiküller denge pozisyonunda sıralanmaktadırlar [129-136]. $F_L/F_D > 1$ durumunda atalet kaldırma kuvvetleri baskın olacağından, partiküller denge pozisyonuna doğru yer değiştirme eğilimi gösterirler. $F_L/F_D < 1$ durumunda ise partiküller Dean Sürüklenme Kuvveti baskın olmakta ve partiküllerin karışmasına neden olmaktadır.

3.3.1.4 Basınç Düşüşü

Bu çalışmanın temel amacı biyolojik hücreleri ayrıştırmak için kanal tasarımı yapmaktır. Bu nedenle Polistren partiküleri ayrıştırırken basınç düşüşünün çok yüksek olmaması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda kayma gerilmesinin 150 Pa'dan büyük olduğu durumlarda hücrelerin zarar gördüğü gözlemlenmiştir [134]. Basınç düşüşünü hesaplamak için Hegen-Poisioille Denklemi kullanılmıştır;

$$V_{ort}A_c = \frac{\Delta P \pi D_h^4}{128\mu L} \tag{3.21}$$

Burada ΔP basınç düşüşünü göstermektedir.

4. PDMS TABANLI MİKROAKIŞKAN SİSTEM ÜRETİMİ

PDMS mikrokanallar standart Hassas (Soft) Litografi yöntemi ile üretilmiştir [158-162]. Bu üretim tekniği üç aşamadan meydana gelmektedir; litografi, PDMS döküm ve plazma yapıştırma. Şekil 4.1'de PDMS mikrokanalların üretimi şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 4.1 : Hassas Litografi yöntemi ile PDMS mikrokanalların üretilmesi

4.1 Asetat Maske Üretimi

Bu çalışmada, litografi adımında kullanılmak üzere seçilen maske, maliyeti diğer maske çeşitlerine göre daha düşük olan asetat maskedir. Mikrokanallar, ölçüleri tasarım esaslarına göre belirlendikten sonra, TANNER TOOLS L-EDIT 13.0 programında çizilmiş ve 10000 DPI'da A4 asetat kağıt üzerine basılması sağlanmıştır. Aşağıdaki şekilde örnek bir asetat maske gösterilmiştir (Şekil 4.2).

Asetat kağıdın şeffaf olan kısımlarından UV ışığı geçerek negatif fotorezistin katılaşmasını sağlamaktadır. Bu nedenle asetat kâğıtta kanalların çevresinin siyah renge boyanmış olması gerekmektedir. Böylece siyah boyalı bölgeden UV ışığı geçemeyecek ve Si-pul üzerindeki ışık almamış negatif fotoresist bölgesi, kendi banyo kimyasalı ile işleme tabi tutulduğunda Si-pul'u terk edecektir.



Şekil 4.2 : Litografi işleminde kullanılan asetat maske

4.2 Substrat Hazırlanması

Tek tarafı parlatılmış olan silikon Si-pullar piranha ıslak dağlaması ($H_2SO_4 \& H_2O_2$) kullanılarak temizlenmiş ve de-iyonize su ile durulanmıştır. Temizleme işleminin ardından ıslak Si-pul, bekletilmeden N_2 gazı ile kurutulmuştur.

4.3 Si-pul Üzerine Fotorezist Kaplanması

Rezist malzemesi viskozitesi yüksek bir sıvı olduğu için, tüm Si-pul üzerine eşit yüksekliklerde kaplanması uzun sürmektedir, kısa sürede bu işlemi gerçekleştirebilmek için Spinner makinesi kullanılmaktadır. Bu makine ile Si-pul döndürülmekte ve viskoz rezistin kısa sürede Si-pul üzerine eşit yükseklikte kaplanması sağlanabilmektedir. Şekil 4.3'de gösterilen Spinner makinası (Laurell WS 400 B) programlanabilmektedir ve gerekli olan döndürme hızları, MICROCHEM firmasının hazırladığı SU-8 3000 serisi üretim prosedüründen yararlanılarak elde edilmiştir. [163]



Şekil 4.3 : Spinner cihazı

Üretimde dikkat edilecek noktalardan biri Si-pulun Spinner üzerine doğru şekilde yerleştirilebilmesidir. Aksi halde Si-pul üzerindeki SU-8 yükseklikleri değişken olabilmektedir. Bunu sağlamak için Spinner cihazı ile birlikte elde edilmiş olan, Şekil 4.4'de gösterilen Si-pul tutucu kullanılmaktadır.





Si-pul, Spinnera yerleştirildikten sonra vakum ile sabitlenir ve yaklaşık 4 ml SU-8 Si-pulun tam ortasına dökülür. Hava kabarcığı olmaması için bu işlemin Si-pula çok yakın ve yavaş şekilde gerçekleştirilmesi sağlanmalıdır. Spinner MICROCHEM firmasının önermiş olduğu gibi iki programa ayarlanır;

- 100 rpm hızlanma ile 500 rpm 'de 10 saniye (SU-8'in Si-pula yayılması için kullanılan program)

- 300 rpm hızlanma ile 3000 rpm 'de 30 saniye (istenilen SU-8 yüksekliğini elde etmek için kullanılan program)

Bu program ile Si-pulun üzerinde yaklaşık 25 µm'lik uniform SU-8 yüksekliği elde edilir. Spinner işleminin ardından SU-8 kaplanmış olan Si-pul, daha önce 95 °C'ye ısıtılmış olan Şekil 4.5'deki (PRAZITHERM marka) sıcak tabla üzerinde 15 dakika ön ısıtmaya alınır. Bu sayede SU-8'in Si-pula daha güçlü bağ yaparak yapışması sağlanmaktadır. MICROCHEM firmasının önerdiği ön ısıtma-kalınlık değerleri Çizelge 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.5 : Isıtma işlemlerinde kullanılan sıcak tabla

Kalınlık Micron	Soft Bake Time Dakika @ 95°C
4 - 10	2-3
8 - 15	5 - 10
20 - 50	10 - 15
30 - 80	10 - 30
40 - 100	15 - 45

Çizelge 4.1 : Elde edilmek istenen SU-8 kalınlığına gore ön ısıtma süresi

Bu çalışmada istenilen yükseklik değeri 50 µm'dir. Bu nedenle ön ısıtmanın ardından Spinner yardımı ile 25 µm SU-8 kaplanması ve ön ısıtma işlemleri tekrarlanır.

4.4 Litografi

Ön ısıtma sonrası Si-pul, Şekil 4.6'da gösterilen Litografi cihazına (OAI Model 200) yerleştirilir. Daha önce üretilmiş olan maske, Si-pul üzerine yerleştirilir. İşleme başlamadan önce Litografi cihazının verdiği UV enerjisi ölçülerek cihaz kontrol edilir. Litografi Cihazı 365 nm dalga boyu için 25.50Mw/cm² vermektedir. MICROCHEM firmasının hazırlamış olduğu yükseklik-UV enerjisi değerleri Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.



20 - 50

30 - 80

40 - 100

Şekil 4.6 : Litografi cihazı

miktariari			
Yükseklik Micron	UV Enerjisi Mj/cm ²		
4 - 10	100 - 200		
8 - 15	125 - 200		

150 - 250

150 - 250

150 - 250

Çizelge 4.2 : SU-8 yüksekliğine gore litografide uygulanması gereken enerji miktarları

Bu çizelgeye göre 50 µm yükseklik için uygulanması gereken değer 150-250MJ/cm²'dir. Bu nedenle litografi işlemi 6-10 saniye arasında gerçekleştirilmelidir. Bu çalışmada uygulanan Litografi süresi 8 saniyedir. Litografi işlemi sonrası maske, Si-pulun üzerinden alınır ve Si-pul ara ısıtma işlemine tabi tutulur. Bu işlem için MICROCHEM firmasının hazırlamış olduğu yükseklik-ara ısıtma zamanı değerleri Çizelge 4.3'de gösterilmektedir.

Yükseklik (Micron)	Ara Isıtma Zamanı Zamanı (65°C) (Dakika)	Ara Isıtma Zamanı (95°C) (Dakika)
4 - 10	1	1 - 2
8 - 15	1	2 - 4
20 - 50	1	3 - 5
30 - 80	1	3 - 5
40 - 100	1	3 - 5

Çizelge 4.3 : SU-8 yüksekliğine gore litografi sonrası uygulanması gereken ara ısıtma süreleri

Bu çizelgeye göre 50 μ m SU-8 yüksekliğinin elde edilebilmesi için Si-pul, önceden 65 °C 'ye kadar ısıtılmış sıcak tablada 1 dakika; hemen arkasından bir başka sıcak tablada 95 °C 'de 5 dakika kadar bekletilir.

4.5 SU-8'e Banyo Kimyasalının Uygulanması

Litografi ve Ara Isıtma Kademelerinden sonra Si-pul üzerinde UV ışığı alan SU-8 rezisti katılaşmıştır. UV ışığı almayan bölgedeki SU-8'in banyo kimyasalı (SU-8 developer) yardımı ile Si-pul üzerinden arındırılması gerekmektedir. Bu işlem için MICROCHEM firmasının hazırladığı yükseklik- kimyasalda bekletme süresi Çizelge 4.4'de gösterilmektedir.

Yükseklik Mikron	Kimyasalda Bekletme Süresi Dakika
4 - 10	1 - 3
8 - 15	4 - 6
20 - 50	5 - 8
30 - 80	6 - 12
40 - 100	7 - 15

Çizelge 4.4 : SU-8 yüksekliğine gore banyo kimyasalında bekletme süresi

Bu tabloya göre Si-pul, ara ısıtma kademesinden sonra, içerisinde SU 8 banyo kimyasalının bulunduğu kaba konulurak şekil.x'de gösterildiği gibi yaklaşık 7 dakika çalkalanır. SU – 8 geliştiricisinin içerisinden alınan Si-pul üzerine, SU – 8 geliştiricisi yaklaşık 1 dakika püskürtülerek temizlenir. Daha sonra saf su ile Si-pul üzerinde kalan SU 8 geliştiricisi temizlenir ve bekletmeden azot gazı ile kurutulur.



Şekil 4.7 : SU-8 kaplanmış Si-pula banyo kimyasalının uygulanması işlemi

Bu işlemin ardından son ısıtma işlemi için Si-pul 150 °C'ye ayarlanmış sıcak tabla üzerinde 1-2 saat bekletilir. Son ısıtma işlemi malzemenin termal, kimyasal ve fiziksel kararlılık özelliklerini iyileştirmek için yapılmaktadır.

4.6 SU-8 Master'ın Karakterizasyonu

Üretilen SU-8 mikrokanal yapılarının son hali oyuk şeklinde değil, çıkıntı şeklindedir. Kanal yüksekliklerinin ölçülmesi işleminden önce (Olympus DP 72) mikroskopta mikroyapı analizi yapılmakta, kanalda kusurlu üretim bölgesi olup olmadığı kontrol edilmektedir. Bu işlemin ardından SU-8 negatif mikrokanal yapısının yüksekliği (Ambious XP 300 Plus Series) profilometre ile ölçülmektedir. Profilometre analizi için Si-pulun çeşitli bölgelerinden ölçü alınarak yükseklik değişiminin aralığı incelenmektedir. Bu çalışmada yükseklik değerleri 49-51 µm arasında değişmekte olup, proses optimizasyonu sırasında aynı Si-pul üzerindeki yükseklik değişimi minimize edilebilmiştir.

4.7 SU-8 Master Üzerine PDMS Dökülmesi İşlemi

Sıvı PDMS ve katılaştırıcısı 10/1 ağırlık oranında olacak şekilde karıştığında en iyi katışalmayı sağlamaktadır. Ayrıca bu iki maddenin homojen olarak karıştırılması da katılaşmasının verimini iyi yönde etkilemektedir. Bu nedenle PDMS katılaştırıcısı ve sıvı PDMS homojen bir karışım elde edilinceye kadar yaklaşık 10 dakika karıştırılır. Bu karışım bekletmeden master üzerine dökülerek Şekil 4.8'de gösterilen vakum fırınına alınır ve yaklaşık 45 dakika vakumda bekletilir. Vakumda bekletme nedeni karıştırma sırasında PDMS'de oluşan hava boşluklarının alınmasıdır. Daha sonra 65°Cde 2 saat ısıtılarak sıvı PDMS'in katılaşması sağlanır.

PDMS, master üzerinde katılaştıktan sonra fırından çıkarılarak soğumaya bırakılır. Soğuyan PDMS kanalların masterdan ayrılması sağlanır. Böylece master temizlenip tekrar kullanılır hale getirilebilir. Litografi sırasında kullanılmış olan maskenin siyah bölgesinin yüksekliği, maske bulunmayan bölgenin yüksekliğinden yüksek olacaktır. Bu nedenle PDMS kanalları cam lamele yapıştırmadan önce bu yükseklik farkının olduğu kısım neşter yardımı ile kesilir. Ardından 2 mm çapındaki biyopsi iğnesi ile giriş ve çıkış delikleri açılır. Son olarak önce izopropil alkol sonra da deiyonize su ile temizlenerek azot gazı ile kurutulur.



Şekil 4.8 : Vakum firini

4.8 PDMS kanalların O₂ Plazma ile Cam Lamele Yapıştırılması

Plazma işleminden önce kanallara mikroskopta bakılarak yüzeyinin yeterince temiz olduğu kontrol edilir, gerekirse temizlik işlemi tekrarlanır. Daha sonra yapışacak yüzeyler yukarı gelecek şekilde yaklaşık 10-15 dakika 40 °C'ye ayarlanmış sıcak tablada bekletilir. Bu işlem PDMS yapışacak yüzeylerde alkol ve suyun tam olarak kurumasını sağlamaktadır ve yapıştırma verimini olumlu yönde etkimektedir. PDMS kalıntıları, plazma sırasındaki yapışmayı olumsuz etkilediği için 3M marka bant yardımıyla PDMS kanalların bulunduğu yüzey temizlenir. Banttaki yapışkan madde PDMS kalıntılarının uzaklaştırılmasını sağlar. Daha sonra PDMS kanallar, yapışacak yüzeyleri yukarı bakacak şekilde plazma tepsisine konur, ayrıca kanalları yapıştırmak için gerekli olan cam lamele de PDMS'e uygulanan temizlik işlemleri bire bir uygulanır ve aynı tepsiye yerleştirilir. Bu çalışmada Şekil x'de gösterilmiş (HARRICK olan PLASMA) Plazma Cihazı kullanılmıştır.



Şekil 4.9 : Plazma cihazı

Plazma işlemi saf oksijen kullanılarak, high konumunda yaklaşık 30-40sn kadar uygulanır. Daha sonra tepsi dışarı çıkarılır ve bekletmeden, yüzeye dokunmadan PDMS kanallar ters çevrilerek cam lamel üzerine yapıştırılır. Plazma sonrası bağ kuvvetlerini arttırmak için mikrokanal yapısı, cam lamel tarafı alta gelecek şekilde 75 °C 'ye ayarlanmış sıcak tablada bekletilir.

5. KARAKTERİZASYON

Mikrokanalların Karakterizasyonu 3 Farklı Adımdan Oluşmaktadır;

- SU-8 master'ın Profilometre ile Analizi
- SU-8 master'ın Mikroskop ile Analizi
- Florasanlı Partiküllerin Mikroskop Analizi

5.1 SU-8 Master'ın Profilometre Analizi

Profilometre cihazı yüzey pürüzlülüğünü ve yüzey profilini çıkarmak için kullanılan bir cihazdır. Bu çalışmada kullanılan Profilometre Cihazı (Ambious XP 300 Plus Series) içerisinde dikey şekilde yerleşmiş bulunan elmas bir iğne, numuneye temas ederek, yatay gönde tepe ve çukur noktalar arasındaki mesafeyi ölçer. Bu şekilde SU-8 master üzerindeki mikrokanal geometrisinin yüksekliği ölçülür.

Profilometre analizine başlamadan önce SU-8 master Isopropil alkol ile temizlenerek N_2 gazı ile kurutulur ve Şekil 5.1'de gösterilmiş olan profilometre cihazının ölçüm tablasının ortasına yerleştirilir. Ardından vakum pompası çalıştırılır ve Profilometre cihazının bilgisayar programı yardımıyla master sabitlenir. Bu programda uygulanacak kontakt gücünü 2.0 mgf ve kanal genişliğine göre analizin yapılacağı ölçüm mesafesini seçerek işlem başlatılır.



Şekil 5.1 : Profilometre ölçüm cihazı

Bu işlem sonucunda mikrokanal boyunca yükseklik farklarının derecesi bir grafik yardımıyla belirlenir. Şekil 5.2'de örnek bir grafik gösterilmiştir.



Şekil 5.2 : Profilometre analiz resmi

5.2 SU-8 master'ın Mikroskop ile Analizi

Son ısıtma sonrası elde edilen mikrokanal yapılanırının bulunduğu Si-pula literatürde master ismi verilmektedir. SU-8 master izopropil alkol ile temizlenip kurutulduktan sonra üzerinde bulunan mikro-geometriler Şekil 5.3'de gösterilmiş olan mikroskopta incelenir. Mikroskop analizi kritik öneme sahiptir. Üretim sırasında oluşmuş deformasyonlar bu sayede denetlenmektedir.



Şekil 5.3 : Analizlerde kullanılan mikroskop

Mikro geometriler incelenirken genellikle 50 kat büyütme oranları kullanılmıştır. Şekil 5.4'de SU-8 master üzerindeki bir mikro geometrinin analiz resmi gösterilmiştir.



Şekil 5.4 : SU-8 master üzerinde bulunan bir mikro geometrinin analiz resmi

5.3 Sıvı-Partikül Karışımı Deneyleri ve Florasanlı Partiküllerin Mikroskop Analizi

Florasanlı partikül görüntülemede kullanılan mikroskop, DP-72 kameraya sahiptir ve kırmızı, yeşil ve mavi filtreler içermektedir. Partikül hareketinin incelenmesinde yüksek kalite görüntü ve dakikada 64 resim karesi biriktirme özelliği kullanılmıştır. Işın kaynağı maksimum güçte çalıştırılmış olup, ışık verme zamanı 400 ms olarak ayarlanmıştır. Şekil 5.5'de örnek bir partikül analiz resmi gösterilmiştir.



Şekil 5.5 : Dönel mikrokanalda 9,9 µm'lik partikül focuslanması

Partiküllerin focuslandığı bölgenin incelenmesi için mikroskop programından elde edilen Intensity-x grafiği kullanılmaktadır. Şekil 5.6'da dönel bir kanala ait örnek I-x grafiği gösterilmektedir.



Şekil 5.6 : Intensity-fokus mesafesi grafiği

Deneylerde kullanılan partiküller rijit, florasanlı partiküllerdir. Ayrıştırma analizi için iki boyutta partikül kullanılmıştır; 9,9 µm'lik yeşil florasanlı partiküller ve 3 µm'lik kırmızı partiküller.

Focuslanmanın incelenmesinde en iyi görüntüyü alabilmek için DiCarlo ve diğerleri çeşitli oranlarda sıvı-partikül karışımı hazırlamışlardır, yapılan deneylerde en iyi görüntünün hacimce %0.1 10 µm çapındaki partikül-su karışımından elde edildiği bildirilmiştir [132]. Bu bilgiler doğrultusunda, deneyde kullanılmak üzere 100 ml DI su içerisine 0.1 ml 9.9 µm çapındaki partikül konsantresi karıştırılmıştır.

Deneylere başlamadan önce cam lamele yapıştırılmış olan PDMS kanallar üzerinde bulunabilecek olan eldiven izlerinin ve tozların mikroskop görüntüsünü etkilememesi için DI su ile yıkanması ve azot gazı ile kurutulması sağlanır. Daha sonra giriş ve çıkışlar için kullanılan bağlantı parçalarının saf su ile yıkanması ve kurulanması sağlanır. Son olarak deney öncesi kanal içerisinin temizlenmesi amacı ile giriş bölgesinden DI su kanala enjekte edilir ve çıkış bölgesinden enjektör ile çekilir. Aynı işlem kanalın giriş bölgesine pompadan suyun taşınmasını sağlayan elastik boru için de yapılır.

Partikül-sıvı karışımı Şekil 5.7'de gösterilen manyetik karıştırıcıda en az 5 dakika bekletilerek partiküllerin sıvı içerisinde homojen olarak dağılması sağlanır. Bu karışım, istenilen miktarda enjektöre alınır ve kanalın giriş bölgesine giden borudan, içerisinde hava kabarcığı kalmayana kadar geçirilir.



Şekil 5.7 : Manyetik karıştırıcı

Daha sonra içerisinde karışım bulunan enjektör pompaya yerleştirilir ve kanalın tüm giriş-çıkış bağlantıları yapılır. Bağlantıları yapılmış örnek bir deney düzeneği Şekil 5.8'de gösterilmektedir;



Şekil 5.8 : Mikroakışkan sistem deney düzeneği

Deneylerde Şekil 5.9'da gösterilmiş olan pompa (Model 11 Plus Syringe Pump) kullanılmıştır. Debi, birim ve enjektör çapı değerleri manuel olarak ayarlanmaktadır. Başlangıç değeri olarak 100 mikrolitre/dakika seçilmiş, bu değer her 15 dakika sonunda, pompa durdurulmadan 50 µl/dakika arttırılmıştır.



Şekil 5.9 : Enjektör pompası

6. DENEYSEL SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Partikülleri ince bir çizgi halinde fokuslamak, partikül veya hücre ayrıştırma ve sayma işlemlerinin ön adımı olarak gerekli olabilmektedir. Daha önce bahsedildiği gibi, atalet etkisi ile partiküllerin fokuslanması ve ayrıştırılması konusunda düz, ani genişleyen ve daralan, dönel ve spiral geometriye sahip kanallarda çalışılmıştır. Bu çalışmada daha önceki uygulamalardan daha yüksek bir ayrıştırma verimi elde edebilmek için simetri, asimetri ve genişlik değişiminin, kıvrımlı dönel mikrokanallardaki partiküllerin fokuslanmasında ne gibi etkilerinin olduğu araştırılmıştır.

Üretim, karakterizasyon ve deneysel çalışmaların doğru değerlendirilebilmesi için bu konuda daha önce yapılmış olan bir çalışma örnek olarak alınmış [132] ve tüm koşullar birebir sağlanarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Daha sonra bu çalışmadaki kanalların türevleri oluşturularak, iki farklı simetrik dönel kanal ve bir tane asimetrik dönel kanal geometrisi eklenmiş, toplamda dört farklı dönel kanal geometrisinin üretimleri ve farklı debilerdeki partikül-sıvı karışımı deneyleri yapılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Partikül fokuslanmasını inceleyebilmek için tek tip partikül boyu (9,9 μ m) kullanılmıştır. Sıvı-partikül karışımı %0,1 hacim oranı kullanılarak hazırlanmıştır [132]. Deneylerde tüm kanal tipleri için aynı debi değerleri kullanılmış olup, debi aralığı 100 μ l/dk-1200 μ l/dk olarak belirlenmiştir. Akışın tam gelişmiş laminar akışa geçmesi için gerekli uzunluk bulunmuş ve bu uzunluğa bağlı olarak gerekli bekleme süreleri hesaplanarak tüm mikroakışkan sistemlere 15 dakikada 50 μ l/dk debi artırımı manuel olarak yapılmıştır.

6.1 Genişliği Sabit olan Simetrik Dönel Mikrokanal

6.1.1 Dönellik çapı büyük olan Simetrik dönel kanallar

Kıvrımlı Dönel mikrokanallarda simetrinin partikül fokuslanması üzerindeki etkisini incelemek için, dış dönellik yarıçapı (R_{1a}) 1000 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{1b}) 650 µm ve yüksekliği (h) 50 µm olan yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinden toplamda 60 tane olacak şekilde mikroakışkan cihazı tasarlanmıştır. Mikrokanalların genişliği sabit olup, 350 µm'dir. Cihazın iki girişi ve beş çıkışı bulunmaktadır ve Şekil 6.1.'de gösterilmektedir.



Şekil 6.1 : Dönellik çapı büyük olan simetrik dönel kanal

Bu kanala ait sıvı-partikül karışımı deneylerinin analizinde kullanılan parametreler; Reynolds Sayısı (Re), Partikül Reynolds Sayısı (Re_p), Dean Sayısı (De) ve fokuslanma için gerekli olan kanal uzunluğu (L) Çizelge 6.1'de de gösterilmiştir.

Çizelge 6.1 : Genişliği sabit, simetrik dönel kanallarda partikül hareketini analiz etmek için kullanılan parametreler.

Q	Re	Re _p	De	L
$(\mu l/dk)$		-		(mm)
100	8.33	0.16	2.16	34.14
450	37.50	0.72	9.72	7.58
650	54.16	1.04	14.05	5.25
850	70.83	1.36	18.37	4.01
1000	83.33	1.60	21.61	3.41

Partikül çapının kanal hidrolik çapına oranı bu kanal için $a/D_h = 0,11$ olarak hesaplanmıştır. Reynold Sayısı 8-80 arasında partikül davranışı incelenmiştir. Partikül-sıvı karışımı tek girişten (giriş 1) gönderilmiştir. Mikroskop incelemeleri mikroakışkan cihazın son iki dönel kanalından alınan görüntülerle yapılmıştır. Mikroakışkan sistemin toplam uzunluğu, deneylerde kullanılan tüm debi değerleri için, partiküllerin atalet kuvvetleri etkisi ile fokuslanabilmesi için gerekli olan uzunlukdan (L) daha büyük değerdedir.

Şekil 6.3 A'da partiküllerin fokus çizgisinin, kanal içerisindeki konumunun Re sayısı ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiş, Şekil 6.3 B'de ise fokus kalitesinin incelenebileceği bir değer olan ışık yoğunluğu/(kanal genişliği*debi) verisinin Re_p ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiştir.

100 μl/dk debide (Re=8.33, De=2.16) partiküllerin kanal çıkışında mikrokanal kesiti boyunca dağınık olduğu, fakat tek fokus çizgisi oluşturabildikleri gözlenmiştir. (Şekil 6.2, Şekil 6.3)

200 µl/dk debide (Re=16.7, De=4.93) atalet kuvvetleri de artmakta ve partiküllerin takip ettikleri akış çizgisinden ayrılarak denge pozisyonuna yöneldikleri ve her iki mikrokanal çeperine yakın şekilde iki fokus çizgisi oluşturdukları gözlenmiştir. Debi daha da arttırıldığında partikül fokus çizgilerinin kanal çeperlerinden uzaklaştığı gözlenmiştir. (Şekil 6.2, Şekil 6.3)

650 μl/dk debide (Re=54.2, De=16) partikül fokus çizgileri birbirine daha çok yaklaşmış ve tek fokus çizgisi oluşturma eğilimi göstermişlerdir.

850 μl/dk debide (Re=70.8, De=21) iki partikül fokus çizgisi birbirine çok yaklaştığı için üst üste gelmiş ve tek fokus çizgisi oluşturmuşlardır. Fakat bu fokus çizgisinin uçları dönel kanalın yön değiştirdiği bölgelerde çatallanmakta ve birbirine çok yakın iki fokus çizgisi oluşturmaktadırlar. Debi biraz daha arttırıldığında bu üst üste gelen çift fokus çizgilerinin birbirinden ayrıldığı gözlenmiştir.

1000 µl/dk debide (Re=83, De=24.7) Dean sürüklenme kuvveti atalet kuvvetlerini yenmekte ve partiküllerin dean vorteksleri içerisine karışmasıni sağlamaktadır. Bu nedenle partiküllerin oluşturduğu çift fokus çizgileri bozulmakta ve partiküller birbirine karışmaktadır.(Şekil 6.2)



Şekil 6.2 : Simetrik Dönel Kanallarda 9.9 μm çapındaki poliştrayn parçacıkların akış içindeki davranışının De Sayısı ve Debi ile Değişimi (w=350 μm, h=50 μm)


Şekil 6.3 : Simetrik Dönel Kanallarda partikül fokuslanması A. Fokus merkezinin kanal çeperine olan uzaklığının Re sayısı ile değişimi, B. Işık yoğunluğunun fokus genişliğive debinin çarpımına oranı

6.1.2 Dönellik çapı küçük olan simetrik dönel kanallar

Bu kanal geometrisi, dönellik çapının simetrik dönel kanallarda partikül Fokuslanması üzerindeki etkisinin araştırılması için tasarlanmıştır. Dış dönellik yarıçapı (R_{2a}) 500 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{2b}) 150 µm ve yüksekliği (h) 50 µm olan yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinden toplamda 60 tane olacak şekilde mikroakışkan cihazı tasarlanmıştır (Şekil 6.4).

Mikrokanalların genişliği sabit olup, 350 µm'dir. Cihazın iki girişi ve beş çıkışı bulunmaktadır ve Şekil 6.4'de gösterilmektedir.





Bu kanala ait sıvı-partikül karışımı deneylerinin analizinde kullanılan parametreler; Reynolds Sayısı (Re), Partikül Reynolds Sayısı (Re_p), Dean Sayısı (De) ve fokuslanma için gerekli olan kanal uzunluğu (L) Çizelge 6.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 6.2 : Dönellik çapı küçük olan, simetrik dönel kanallarda partikül hareketini analiz etmek için kullanılan parametreler.

Q	Re	Re _p	De	L
$(\mu l/dk)$		-		(mm)
100	8.33	0.16	2.16	34.14
450	37.50	0.72	9.72	7.58
650	54.16	1.04	14.05	5.25
850	70.83	1.36	18.37	4.01
1000	83.33	1.60	21.61	3.41

Partikül çapının kanal hidrolik çapına oranı bu kanal için $a/D_h = 0,11$ olarak hesaplanmıştır. Reynold Sayısı 8-80 arasında partikül davranışı incelenmiştir. Partikül-sıvı karışımı tek girişten (giriş 1) gönderilmiştir. Mikroskop incelemeleri mikroakışkan cihazın son iki dönel kanalından alınan görüntülerle yapılmıştır. Mikroakışkan sistemin toplam uzunluğunun, deneylerde kullanılan tüm debi değerleri için, partiküllerin atalet kuvvetleri etkisi ile fokuslanabilmesi için gerekli olan uzunlukdan (L) daha büyük değerdedir.

Şekil 6.6 A'da partiküllerin fokus çizgisinin, kanal içerisindeki konumunun Re sayısı ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiş, Şekil 6.6 B'de ise fokus kalitesinin incelenebileceği bir değer olan ışık yoğunluğu/(kanal genişliği*debi) verisinin Re_p ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiştir.

100 μl/dk debide (Re=8.33, De=0.16) partiküllerin kanal çıkışında mikrokanal kesiti boyunca dağınık olduğunu fakat tek fokus çizgisi oluşturabildikleri gözlenmiştir.

450 μl/dk debide (Re=37.5, De=9.72) atalet kuvvetleri de artmakta ve partiküllerin takip ettikleri akış çizgisinden ayrılarak denge pozisyonuna yöneldikleri ve her iki mikrokanal çeperine yakın şekilde iki fokus çizgisi oluşturdukları gözlenmiştir. Debi daha da arttırıldığında partikül fokus çizgilerinin kanal çeperlerinden uzaklaştığı gözlenmiştir.

650 μl/dk debide (Re=70.83, De=18.37) partikül fokus çizgileri ilginç bir şekilde çatallanmaya başlamış ve birbirine daha çok yaklaşmıştır birbirine daha çok yaklaşmıştır (Şekil 6.5).

900 µl/dk debide (Re=81.23, De=20.51) iki partikül fokus çizgisi birbirine çok yaklaştığı için üst üste gelmiş ve tek fokus çizgisi oluşturmuşlardır. Fakat bu fokus çizgisinin uçları dönel kanalın yön değiştirdiği bölgelerde çatallanmakta ve birbirine çok yakın iki fokus çizgisi oluşturmaktadırlar. Debi biraz daha arttırıldığında bu üst üste gelen çift fokus çizgilerinin birbirinden ayrıldığı gözlenmiştir. (Şekil 6.6)

1000 µl/dk debide (Re=83.33, De=21.61) tekrar tek fokus oluşumu gözlenmiştir fakat fokus genişliği artmıştır çünkü dean sürüklenme kuvveti atalet kuvvetlerini yenmeye başlamaktadır. (Şekil 6.5, Şekil 6.6)



Şekil 6.5 : Simetrik Dönel Kanallarda 9.9 μm çapındaki poliştrayn parçacıkların akış içindeki davranışının De Sayısı ve Debi ile Değişimi (w=350 μm, h=50 μm)



Şekil 6.6 : Simetrik Dönel Kanallarda partikül fokuslanması A. Fokus merkezinin kanal çeperine olan uzaklığının Re sayısı ile değişimi, B. Işık yoğunluğunun fokus genişliği ve debinin çarpımına oranı

6.2 Genişliği Sabit olan Asimetrik Dönel Mikrokanal

Kıvrımlı Dönel mikrokanallarda asimetrinin partikül fokuslanması üzerindeki etkisini incelemek için, iki farklı dönellik çapına sahip dönel geometrinin birleştirilmesi ile bu mikroakışkan sistem oluşturulmuştur.

Küçük dönelliğe sahip yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinin dış dönellik yarıçapı (R_{3a}) 1000 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{3b}) 650 µm, büyük dönelliğe sahip yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinin dış dönellik yarıçapı (R_{4a}) 500 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{4b}) 150 µm'dir. Mikroakışkan sistemin yüksekliği (h) yaklaşık olarak 50 µm ve genişliği 350 µm olup, toplamda 60 tane dönel mikrokanal geometrisi kullanılmıştır. Cihazın iki girişi ve beş çıkışı bulunmaktadır ve Şekil 6.7'de gösterilmektedir.



Şekil 6.7 : Genişliği sabit olan asimetrik dönel kanal

Bu kanala ait sıvı-partikül karışımı deneylerinin analizinde kullanılan parametreler;

Reynolds Sayısı (Re), Partikül Reynolds Sayısı (Re_p), Dean Sayısı (De) ve

fokuslanma için gerekli olan kanal uzunluğu (L) Çizelge 6.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 6.3 : Genişliği Sabit, Asimetrik Dönel Kanallarda Partikül Hareketini Analiz Etmek için Kullanılan Parametreler

Q	Re	Re _p	De	L
$(\mu l/dk)$		-		(mm)
100	8.33	0.16	2.16	34.14
450	37.50	0.72	9.72	7.58
650	54.16	1.04	14.05	5.25
850	70.83	1.36	18.37	4.01
1000	83.33	1.60	21.61	3.41

Partikül çapının kanal hidrolik çapına oranı bu kanal için a/Dh = 0,11 olarak hesaplanmıştır. Reynold Sayısı 8-80 arasında partikül davranışı incelenmiştir. Partikül-sıvı karışımı tek girişten (giriş 1) gönderilmiştir. Mikroskop incelemeleri mikroakışkan cihazın son iki dönel kanalından alınan görüntülerle yapılmıştır. Mikroakışkan sistemin toplam uzunluğunun, deneylerde kullanılan tüm debi değerleri için, partiküllerin atalet kuvvetleri etkisi ile fokuslanabilmesi için gerekli olan uzunlukdan (L) daha büyük değerdedir.

Şekil 6.9 A'da partiküllerin fokus çizgisinin, kanal içerisindeki konumunun Re sayısı ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiş, Şekil 6.9 B'de ise fokus kalitesinin incelenebileceği bir değer olan ışık yoğunluğu/(kanal genişliği*debi) verisinin Re_p ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiştir.

100 μl/dk debide (Re=8.33, De=2.16) partiküllerin kanal çıkışında tek fokus çizgisi oluşturabildikleri gözlenmiştir (Şekil 6.8, Şekil 6.9).

200 µl/dk debide (Re=16.7, De=4.93) partiküllerin her iki mikrokanal çeperine yakın şekilde iki fokus çizgisi oluşturdukları gözlenmiştir. Debi daha da arttırıldığında partikül fokus çizgilerinin kanal çeperlerinden uzaklaştığı gözlenmiştir (Şekil 6.9).

Debi arttırıldıkça, akış profili değişmekte ve kayma oranı C_L düşmektedir. Ayrıca dean vorteksleri de büyümekte ve dean sürüklenme kuvveti artmaktadır. Bunun sonucunda partiküllere etkiyen atalet kuvvetleri ile dean sürüklenme kuvveti, büyük dönellik yarıçapına sahip bölgede dış çepere yakın şekilde dengelenmekte ve F_L/F_D oranı bu bölgede 1'e eşitlenmektedir. Bu nedenle karşılıklı etkiyen bu iki kuvvetin eşitlendiği noktada partiküllerin 850 µl/dak debide (Re=70.83, De=18.37) tek fokus çizgisinde toplandığı gözlenmiştir. Teorik olarak bu iki kuvvetin eşitlendiği debi değeri daha yüksek hesaplanmıştır, çünkü teorik hesaplarda C_L değişimi dahil edilmemiştir.

1000 µl/dak debide (Re=83.33, De=21.61), debi değeri Dean sürüklenme kuvvetinin atalet kuvvetlerini yenmesi için gereken değerin altında olduğundan partikül tek fokus çizgisi bozulmamıştır.



Şekil 6.8 : Asimetrik Dönel Kanallarda 9.9 µm çapındaki poliştrayn parçacıkların akış içindeki davranışının De Sayısı ve Debi ile değişimi (w=350 µm, h=50 µm)



Şekil 6.9 : Asimetrik Dönel Kanallarda partikül fokuslanması A. Fokus merkezinin kanal çeperine olan uzaklığının Re sayısı ile değişimi, B. Işık yoğunluğunun fokus genişliği ve debinin çarpımına oranı

6.3 Genişliği Değişen Asimetrik Dönel Mikrokanal

Kıvrımlı Dönel mikrokanallarda asimetriye ek olarak genişliğin de değiştirilmesi ve bu yapının partikül fokuslanması üzerindeki etkisini incelemek için, Di Carlo ve diğerleri bu kanalı tasarlamışlardır [132]. Bu çalışmada sistem fabrikasyon, kararkterizasyon ve sıvı-partikül deneylerinin optimum şeklide yapılabilmesi için bu kanalın maskesi çizilmiş ve Di Carlo ve grubunun uyguladığı tüm fabrikasyon, karakterizasyon ve sıvı-partikül deneyleri benzetilerek çalışılmıştır [132]. Bu mikroakışkan sistemde iki farklı dönellik yarıçapının kullanılmasının yanı sıra, bu dönel kanalların genişlikleri de değiştirilmiştir. Büyük dönelliğe sahip yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinin dış dönellik yarıçapı (R_{5a}) 1000 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{5b}) 650 µm ve genişliği 650 µm, küçük dönelliğe sahip yarım daire dilimi şeklindeki mikrokanal geometrisinin ise dış dönellik yarıçapı (R_{6a}) 500 µm, iç dönellik yarıçapı (R_{6b}) 150 µm ve genişliği 350 µm'dir. Mikroakışkan sistemin yüksekliği (h) yaklaşık olarak 50 µm olup, toplamda 60 tane dönel mikrokanal geometrisi kullanılmıştır. Cihazın iki girişi ve beş çıkışı bulunmaktadır ve Şekil 6.10'da gösterilmektedir.



Şekil 6.10 : Genişliği değişen asimetrik dönel kanal

Bu kanala ait sıvı-partikül karışımı deneylerinin analizinde kullanılan parametreler; Reynolds Sayısı (Re), Partikül Reynolds Sayısı (Re_p), Dean Sayısı (De) ve fokuslanma için gerekli olan kanal uzunluğu (L) Çizelge 6.4' de gösterilmiştir.

Q (µl/dk)	Re	Rep	De	L (mm)
100	4.76	0.08	1.16	75.78
300	14.28	0.24	3,48	25.26
550	26.19	0.44	6.38	13.77
850	40.47	0.69	9.87	8.91
1000	47.61	0.81	11.61	7.57

Çizelge 6.4 : Genişliği Değişen, Asimetrik Dönel Kanallarda Partikül Hareketini Analiz Etmek için Kullanılan Parametreler

Partikül çapının kanal hidrolik çapına oranı bu kanal için $a/D_h = 0,11$ olarak hesaplanmıştır. Reynold Sayısı 8-80 arasında partikül davranışı incelenmiştir. Partikül-sıvı karışımı tek girişten (giriş 1) gönderilmiştir. Mikroskop incelemeleri mikroakışkan cihazın son iki dönel kanalından alınan görüntülerle yapılmıştır. Mikroakışkan sistemin toplam uzunluğunun, deneylerde kullanılan tüm debi değerleri için, partiküllerin atalet kuvvetleri etkisi ile fokuslanabilmesi için gerekli olan uzunlukdan (L) daha büyük değerdedir.

Şekil 6.12 A'da partiküllerin fokus çizgisinin, kanal içerisindeki konumunun Re sayısı ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiş, Şekil 6.12 B'de ise fokus kalitesinin incelenebileceği bir değer olan ışık yoğunluğu/(kanal genişliği*debi) verisinin Re_p ve De sayısına göre değişimi grafiği verilmiştir.

100 μ l/dk debide (Re=4.76, De=1.16) partiküllerin kanal çıkışında birbirine çok yakın olan ve büyük dönellik yarıçapına sahip mikrokanalın çeperlerine yakın şekilde çift fokus çizgisi oluşturdukları gözlenmiştir. Debi biraz daha arttırıldığında (150 μ l/dk) çift fokus çizgisi yerini tek fokus çizgisine bırakmıştır.

300 μ l/dk debide (Re=14.28, De=3.48) partiküllerin tek fokus çizgisini koruduğu, fakat çok az sayıda partikülün büyük dönellik yarıçapına sahip mikrokanalın iç çeperine yakın şekilde ikinci bir fokus çizgisi oluşturduğu gözlenmiştir. Mikroskop görüntülerinde bu ikinci fokus bölgesindeki pik çok küçük olduğundan grafiklerde gösterilmemiştir. Debi biraz daha arttırıldığında (350 μ l/dk) ikinci fokus bölgesi tamamen kaybolmaktadır ve partiküller dış çepere yakın bir şekilde tek fokus çizgisi oluşturmaktadır. Debi daha da arttırıldığında, tek fokus çizgisinin mikrokanal çeperinden uzaklaştığı ve fokus genişliğinin arttığı gözlenmiştir.

650 μl/dk debide (Re=31, De=8.26) tek fokus bölgesi, yerini dış çepere yakın şekilde oluşmuş, birbirine çok yakın iki fokus çizgisine bırakmaktadır.

850 μ l/dk debide (Re=40.47, De=11.61) daha önce gözlenmiş olan birbirine çok yakın iki fokus çizgisi, tek fokus çizgisine dönüşmüştür, fakat aynı zamanda daha düşük debilerde gözlenen tek fokus çizgisine kıyasla, mikrokanal çeperinden uzaklaşmış ve fokus genişliği artmıştır. Uzaklaşmanın nedeni F_L/F_D'nin 1'e eşit olduğu noktanın, hıza bağlı olarak yerdeğiştirmesidir.

Debi arttırıldıkça, akış profili değişmekte ve kayma oranı C_L düşmektedir [115,116]. Ayrıca dean vorteksleri de büyümekte ve dean sürüklenme kuvveti artmaktadır. Bunun sonucunda partiküllere etkiyen atalet kuvvetleri ile dean sürüklenme kuvveti, büyük dönellik yarıçapına sahip bölgede dış çepere yakın şekilde dengelenmekte ve F_L/F_D oranı bu bölgede 1'e eşitlenmektedir. Bu nedenle karşılıklı etkiyen bu iki kuvvetin eşitlendiği noktada partiküllerin 850 µl/dk debide tek fokus çizgisinde toplandığı gözlenmiştir. Teorik olarak bu iki kuvvetin eşitlendiği debi değeri daha yüksek hesaplanmıştır, çünkü teorik hesaplarda C_L değişimi dahil edilmemiştir.

1000 μ l/dk debide (Re=47.61, De=11.61) Dean sürüklenme kuvvetinin değeri, atalet kuvvetlerinin değerinden daha büyük olmakta, F_L/ F_D oranı 1'den daha küçük bir değer almaktadır. Bu nedenle partiküllerin oluşturduğu tek fokus çizgisi bozulmakta ve partiküller birbirine karışmaktadır.

Deneyler sonucunda, Di Carlo ve diğerlerinin yapmış olduğu çalışma sonuçları incelenmiş ve bu çalışmada çok yakın sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir.



Şekil 6.11 : Genişliği değişen asimetrik dönel kanallarda 9.9 μ m çapındaki poliştrayn parçacıkların akış içindeki davranışının De sayısı ve debi ile değişimi (w=650 μ m, h=50 μ m)



Şekil 6.12 : Genişliği değişen asimetrik dönel kanallarda partikül fokuslanması A. Fokus merkezinin kanal çeperine olan uzaklığının Re sayısı ile değişimi, B. Işık yoğunluğunun fokus genişliğive debinin çarpımına oranı

7. SONUÇLAR

Deneylerde ilk olarak saptanan bulgu, tüm dönel kanal çeşitlerinde artan Re Sayısı ile birlikte fokus çizgisinin kanal çeperinden uzaklaşmasıdır. Bu uzaklaşmanın oranı temelde simetri ve asimetrinin artmasına göre ve kanal dönellik çapına göre değişmekte olup, bu değişim grafiklerde görülebilmektedir. Partiküllerin fokus çizgisinin, hız arttıkça duvardan uzaklaşması teorik verilerle de uyuşmaktadır. Partiküllerin akış çizgisinden ayrılıp, kanal kesiti boyunca hareket etmelerinin $F_L/F_D \ge 1$ durumunda gerçekleştiği bilinmektedir. Dönel kanalın iç dönüş tarafında F_L kuvvetinin yönü kanal çeperine doğruyken, F_D kuvvetinin yönü kanal merkezine doğrudur. Hız arttıkça, F_L kuvveti içerisinde bulunan kayma oranı C_L düştüğü için, partikül fokuslanması gittikçe kanal merkezine yaklaşmaktadır. Akışkan hızı daha da arttırıldığında Dean vorteksleri büyümekte ve C_L katsayısı çok düştüğünden F_D kuvveti, F_L kuvvetinden daha büyük olmakta ve fokus bozulmaktadır. Deneysel gözlemlerde, partiküllerin denge durumuna geldikleri $F_L=F_D$ bölgesi, teorik hesaplardaki akış hızından daha düşük hızlarda oluşmaktadır. Bunun nedeni daha önce anlatılmış olan, C_L katsayısının düşüşünün hesaplara dahil edilememesidir.

Simetrik kanallarda genellikle partiküller çift fokus halinde sıralanmaktadırlar fakat Re \approx 70 civarında küçük bir Re Sayısı aralığında tek fokus oluşumu gözlemlenmiştir. Re sayısı biraz daha arttırıldığında ilginç bir şekilde tek fokus bölgesinin iki ucu (dönellik bölgesinin yön değiştirdiği yerlerde) çatallaşmaya başlamıştır ve tek fokus bölgesinin küçük bir Re aralığında bozulduğu görülmüştür. Bu bölgede partiküller denge durumunu koruyamamaktadır. Debi biraz daha arttırıldığında, ikincil akış olan De akışının partiküle uyguladığı kuvvet F_D, atalet kaldırma kuvvetleri F_L'den daha büyük duruma gelmeye başladığı için partiküller dağılmaya başlamaktadır.

Asimetrik ve 350 µm genişliğe sahip kanallarda Re \approx 15-70 arası partiküllerde çift bölgede fokuslanma gözlenirken, daha yüksek Re sayılarında arzu edilen tek fokuslanma bölgesi gözlemlenmiştir. Bu kanal, yüksek debilerde çalışılabilmesi ve daha kısa sürelerde istenilen ayrıştırmanın yapılabilmesi açısından diğer kanallardan daha iyi sonuçlar vermiştir. Genişliği 350 µm'dan 650 µm'a değişen asimetrik kanallarda genişliğin artmasına bağlı olarak çok yüksek ışık yoğunluğu elde edildiğinden net olarak fokus kalitesi ölçülememiştir. Re \approx 7-30 arası tek fokus elde edilmiş, Re daha da arttırıldığında çift fokus gözlemlenmiştir.

Sonuçlardan elde edilen temel bulgular;

- Tüm kanallarda tek fokus bölgesi gözlenmiştir.
- Simetrik kanallara kıyasla asimetrik kanalların daha verimli bir ayrıştırma sağlayacağı tespit edilmiştir.
- Asimetrik ve genişliği değişmeyen mikrokanalların en iyi partikül fokuslanmasını (tek fokus şeklinde) sağladığı ve bunu diğerlerinden daha uzun bir Re Sayısı aralığında koruduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmadan alınan sonuçlar doğrultusunda yeni mikrokanal geometri tasarımları oluşturularak partikül fokuslanması veriminin ölçülmesi, daha sonra canlı hücrelerin aynı sistemde ayrıştırılma veriminin incelenmesi amaçlanmaktadır. Ayrıca proje kapsamında PDMS mikrokanallara mikro pompa eklenerek mikro-akışkan sistemin tamamlanması amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

[1] Stephan M., "Survival in the microfluidics market," *The Scientist*, vol.18, pp. 38-40, 2004

[2] Latta S., "Miniaturization, parallel processing come to lab devices," *The Scientist*, vol. 11, pp. 1-7, 1997.

[3] N-T. Nguyen, and S. T. Wereley, *Fundamentals and Applications of Microfluidics*, Norwood, MA, USA: Artech House, 2002.

[4] Berthier, J., and Silberzan, P., *Microfluidics for Biotechnology*, Norwood, MA, USA : Artech House, 2010.

[5] Dongqing L., *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*, Newyork, NY, USA : Springer Science, 2008.

[6] Tian W., and Finehout E., *Microfluidics for Biological Applications*, Newyork, NY, USA : Springer Science, 2008.

[7] Tabeling P., Introduction to Microfluidics, UK : Ashford Colour, 2005.

[8] Terry S. C., J. H. Jerman, and J. B. Angell, "A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer," *IEEE Trans. on Elec. Dev.*, vol. 26, pp. 1880-1886, 1979.

[9] Burns, M. A., Johnson, B. N., Brahmasandra, S. N., Handique, K., Webster, J. R., Krishnan, M., Sammarco, T. S., Man, P. M., Jones, D., Heldsinger, D., Mastrangelo, C. H., Burke, D. T., An Integrated Nanoliter DNA Analysis Device *Science*, *282*, 484-487, 1998.

[10] Wilding, P., Shoffner, M.A., Kricka L.J., PCR in a Silicon Microstructure, *Clin. Chem.* 40, 1815, 1994.

[11] Northrup M., Benett B., Hadley D., Lander P., Lehew S., Richards J., Stratton P., Infrared-Mediated Thermocycling for Ultrafast Polymerase Chain Reaction Amplification of DNA, *Anal. Chem*, 70, 918, 1998.

[12] Altendorf E., Zebert D., Holl M., Vannelli A., Wu C., Schulte C., Results obtained using a prototype microfluidics-based hematology analyzer, *Proc.* μTAS , 73 1998.

[13] Fu A.Y., Spence C., Arnold G.H., Quake S.R., A microfabricated fluorescence-activated cell sorter, *Nature Biotechnol.*, 17, 1109, 1999.

[14] Knight J., Vishwanath A., Brody J., Austin R., Hydrodynamic Focusing on a Silicon Chip: Mixing Nanoliters in Microseconds *Phys. Rev. Lett.*, 80, 3866, 1998.

[15] Eijkel J., Prak A., Cowen S., Craston D., Manz A., Micromachined heated chemical reactor for pre-column derivatisation, *J. Chromat. A*, 815, 265, 1998.

[16] Jacobson S., Hergenroder R., Moore A., Ramsey J., Precolumn Reactions with Electrophoretic Analysis Integrated on a Microchip, *Anal. Chem*, 66, 4127 (1994).

[17] Pamme N., Continuous flow separations in Microfluidic devices, *Lab Chip* 7(12):1644–1659, 2007.

[18] Tsutsui H., and Ho C.M., Cell separation by non-inertial force fields in microfluidic systems, *Mechanics Research Communications* 36, 92–103, 2009.

[19] Lenshof A., and Laurell T., Continuous separation of cells and particles in microfluidic systems, *Chem. Soc. Rev.*, 39, 1203–1217, 2010.

[20] Deng T., Prentiss M., Whitesides G.M., Fabrication of magnetic microfiltration systems using soft lithography, *Appl. Phys. Lett.*, 80, (3), pp. 461–463, 2002.

[21] Pamme N., and Manz A., On-Chip Free-Flow Magnetophoresis: Continuous Flow Separation of Magnetic Particles and Agglomerates, *Anal. Chem.*, 76, 7250-7256, 2004.

[22] Carr C., Espy M., Nath P., Martin S. L., Ward M. D., Martin J., Design, fabrication and demonstration of a magnetophoresis chamber with 25 output fractions, *J. Magn. Magn. Mater.*, 321, 1440–1445, 2009.

[23] Blankenstein G., Micro-flow system for particle separation and analysis, United States Patent 6432630 B1, 2002

[24] Inglis D.W., Riehn R., Austin R.H., Stur J. C., Continuous microfluidic immunomagnetic cell separation, *Appl. Phys. Lett*, 85, (21), pp. 5093–5095, 2004.

[25] Furlani E. P., Magnetophoretic separation of blood cells at the microscale, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 40, 1313–1319, 2007.

[26] Han K. H., and Frazier A. B., Continuous magnetophoretic separation of blood cells in microdevice format, *J. Appl. Phys.*, 96, 5797–5802, 2004.

[27] Zborowski M., Ostera G.R., Moore L.R., Milliron S., Chalmers J.J., Schechter A.N., Red blood cell magnetophoresis. *Biophys J* 84:2638–2645, 2003.

[28] Huang R., Barber T.A., Schmidt M.A., Tompkins R.G., Toner M., Bianchi D.W., Kapur R., Flejter W.L., A microfluidics approach for the isolation of nucleated red blood cells (NRBCs) from the peripheral blood of pregnant women, *Prenat. Diagn.*, 28:892–899, 2008.

[29] Petersson F., Nilsson A., Jonsson H., Laurell T., Carrier medium exchange through ultrasonic particle switching in Microfluidic channels, *Anal Chem* 77:1216–1221, 2005.

[30] Goddard G.R., Martin J.C., Graves S.W., Kaduchak G., Ultrasonic particle concentration for sheath-less focusing of particles for analysis in a flow cytometer, *Cytometry*, 69A:66–74, 2006.

[31] Goddard G.R., Sanders C.K., Martin J.C., Kaduchak G., Graves S.W., Analytical performance of an ultrasonicparticle focusing flow cytometer, *Anal Chem*, 79:8740–8746, 2007.

[32] Evander M., Johansson L., Lilliehorn T., Piskur J., Lindvall M., Johansson S., Almqvist M., Laurell T., and Nilsson J., Noninvasive acoustic cell trapping in a microfluidic perfusion system for online bioassays, *Anal Chem*, 79(7):2984–2991, 2007.

[33] Shi J., Mao X., Ahmed D., Colletti A., Huang T.J., Focusing microparticles in a microfluidic channel with standing surface acoustic waves (SSAW), *Lab Chip* 8:221–223, 2008.

[34] Shi J., Ahmed D., Mao D., Lin S.S., Huang T.J. Acoustic tweezers: patterning cells and microparticles using standing surface acoustic waves (SSAW). *Lab Chip* 9:2890–2895, 2009a

[35] Shi J., Huang H., Stratton Z., Lawit A., Huang Y., Huang T.J. Continuous particle separation in a microfluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW). *Lab Chip* 9:3354–3359, 2009b

[36] Bhagat A. A. S., Bow H., Hou H. W., Tan S. T., Han J., Lim C. T., Microfluidics for cell separation, *Med Biol Eng Comput*, 48:999–1014, 2010.

[37] A. Ashkin, Acceleration and Trapping of Particles by Radiation Pressure, *Phys. Rev. Lett.*, 24, 156,1970.

[38] Macdonald M. P., Neales S., Paterson L., Richies A., Dholakia K., Spalding G., Cell cytometry with a light touch: sorting microscopic matter with an optical lattice, J. Biol. Regul. Homeost. Agents, 18, (2), pp. 200–205, 2004.

[39] Chiou P.Y., Ohta A.T., Wu M.C., Massively parallel manipulation of single cells and microparticles using optical images. *Nature* 436, 370–372, 2005.

[40] Ohta A., Chiou P., Phan H., Sherwood S., Yang J., Lau A., Hsu H., Jamshidi A., Wu M., Optically controlled cell discrimination and trapping using optoelectronic tweezers. *IEEE J Sel Top Quantum Electron* 13:235–243, 2007.

[41] Shah G.J., Ohta A.T., Chiou E.P., Wu M.C., Kim C., EWOD driven droplet microfluidic device integrated with optoelectronic tweezers as an automated platform for cellular isolation and analysis. Lab Chip 9: 1732–1739, 2009.

[42] Wang M. M., Tu E., Raymond D. E., Yang J. M., Zhang H. C., Hagen N., Dees B., Mercer E. M., Forster A. H., Kariv I., Marchand P. J. and W. F. Butler, Microfluidic sorting of mammalian cells by optical force switching, *Nat. Biotechnol.*, 23, 83–87, 2005.

[43] Perroud T. D., Kaiser J. N., Sy J. C., Lane T. W., Branda C. S., Singh A. K. and Patel K. D., Microfluidic-Based Cell Sorting of Infected Macrophages Using Optical Forces, *Anal. Chem.*, 80, 6365–6372, 2008.

[44] MacDonald M.P., Spalding G.C., Dholakia K., Microfluidic sorting in an optical lattice, *Nature* 426:421–424, 2003.

[45] Milne G., Rhodes D., MacDonald M., Dholakia K., Fractionation of polydisperse colloid with acousto-optically generated potential energy landscapes. *Opt Lett* 32:1144 – 1146, 2007.

[46] K. Ladavac, K. Kasza and D. G. Grier, Sorting mesoscopic objects with periodic potential landscapes: Optical fractionation, *Phys. Rev. E: Stat., Nonlinear, Soft Matter Phys.*, 70, 010901, 2004.

[47] Raymond D. E., Manz A., and H. Michael Widmer H. M., Continuous Separation of High Molecular Weight Compounds Using a Microliter Volume Free-Flow Electrophoresis Microstructure, *Anal. Chem.*, 68, 2515-2522, 1996.

[48] Free Flow Electrophoresis Device for Continuous On-Line Separation in Analytical Systems. An Application in Biochemical Detection, Mazereeuw M., Best C. M., Tjaden U. R., Irth H., and Greef J., *Anal. Chem.*, 72, 3881-3886, 2000.

[49] Macounova K., Cabrera C. R., and Yager P., Concentration and Separation of Proteins in Microfluidic Channels on the Basis of Transverse IEF, *Anal. Chem.*, 73, 1627-1633, 2001.

[50] Zalewski D. R., Kohlheyer D., Schlautmann S., and Gardeniers J. G. E., Synchronized, Continuous-Flow Zone Electrophoresis, *Anal. Chem.*, 80, 6228–6234, 2008.

[51] Kersaudy-Kerhoas M., Dhariwal R., Desmulliez M.P.Y., Recent advances in microparticle continuous Separation, *IET Nanobiotechnol.*, Vol. 2, No. 1, pp. 1–13, 2008.

[52] Chou C.F., Zenhausern F., Electrodeless dielectrophoresis for micro total analysis systems, *IEEE Eng Med Biol Mag*, 22:62–67, 2003.

[53] Cummings E.B., Singh A.K., Dielectrophoresis in microchips containing arrays of insulating posts: theoretical and experimental results, *Anal Chem*, 75:4724–4731, 2003.

[54] Ozuna-Chacon S., Lapizco-Encinas B.H., Rito-Palomares M., Martinez- Chapa S.O., Reyes-Betanzo C., Performance characterization of an insulator-based dielectrophoretic microdevice, *Electrophoresis* 29:3115–3122, 2008.

[55] Ateya D.A., Erickson J.S., Howell P.B. Jr., Hilliard L.R., Golden J.P., Ligler F.S., The good, the bad, and the tiny: a review of microflow cytometry, *Anal Bioanal Chem*, 391:1485–1498, 2008.

[56] Godin J., Chen C., Cho S.H., Qiao W., Tsai F., Lo Y., Microfluidics and photonics for bio-system-on-a-chip: a review of advancements in technology towards a microfluidic flow cytometry chip, *J Biophoton*, 1:355–376, 2008.

[57] Cummings E.B., Singh A.K., Dielectrophoretic trapping without embedded electrodes, *Proceedings of SPIE conference micromachining microfabrication*, vol 4177, pp 164–173, 2000

[58] Ai Y., Joo S.W., Jiang Y., Xuan X., Qian S., Transient electrophoretic motion of a charged particle through a converging-diverging microchannel: effect of direct current dielectrophoretic force, *Electrophoresis*, 30:2499–2506, 2009.

[59] Ai Y., Qian S., Liu S., Joo S.W., Dielectrophoretic choking phenomenon in a converging-diverging microchannel, *Biomicrofluidics*, 4:013201, 2010b.

[60] Chou C.F., Tegenfeldt J.O., Bakajin O., Chan S.S., Cox E.C., Darnton N., Duke T., Austin R.H., Electrodeless dielectrophoresis of single- and double-stranded DNA, *Biophys J*, 83:2170–2179, 2002.

[61] Prinz C., Tegenfeldt J.O., Austin R.H., Cox E.C., Sturm J.C., Bacterial chromosome extraction and isolation, *Lab Chip*, 2:207–212, 2002.

[62] Ying L.M., White S.S., Bruckbauer A., Meadows L., Korchev Y.E., Klenerman D., Frequency and voltage dependence of the dielectrophoretic trapping of short lengths of DNA and dCTP in a nanopipette, *Biophys J*, 86:1018–1027, 2004.

[63] Clarke R.W., White S.S., Zhou D., Ying L., Klenerman D., Trapping of proteins under physiological conditions in a nanopipette, *Anal Chem*, 44:3747–3750, 2005.

[64] Gallo-Villanueva R.C., Rodriguez-Lopez C.E., Diaz-de-la-Garza R.I., Reyes-Betanzo C., Lapizco-Encinas B.H., DNA manipulation by means of insulator-based dielectrophoresis employing direct current electric fields, Electrophoresis, 30:4195– 4205, 2009.

[65] Kang K., Kang Y., Xuan X., Li D., Continuous separation of microparticles by size with DC-dielectrophoresis, *Electrophoresis*, 27:694–702, 2006.

[66] KangY., Li D., Kalams S.A., Eid J.E., DC-dielectrophoretic separation of biological cells by size, *Biomed Microdev*, 10:243–249, 2008.

[67] Kang Y., Cetin B., Wu Z., Li D., Continuous particle separation with localized AC-dielectrophoresis using embedded electrodes and an insulating hurdle, *Electrochim Acta*, 54:1715–1720, 2009.

[68] Hawkins B.G., Smith A.E., Syed Y.A., Kirby B.J., Continuous-flow particle separation by 3D insulative dielectrophoresis using coherently shaped, DC-biased, AC electric fields, *Anal Chem*, 79:7291–7300, 2007.

[69] Cummings E.B., Singh A.K., Dielectrophoresis in microchips containing arrays of insulating posts: theoretical and experimental results, *Anal Chem*, 75:4724–4731, 2003.

[70] Xuan X., Raghibizadeh S., Li D., Wall effects on electrophoretic motion of spherical polystyrene particles in a rectangular poly(dimethylsiloxane) microchannel, *J Colloid Interface Sci*, 296:743–748, 2006.

[71] Zhu J., Xuan X., Dielectrophoretic focusing of particles in a microchannel constriction using DC-biased AC electric fields, *Electrophoresis*, 30:2668–2675, 2009.

[72] Thwar P.K., Linderman J.J., Burns M.A., Electrodeless direct current dielectrophoresis using reconfigurable field-shaping oil barriers, *Electrophoresis*, 28:4572–4581, 2007.

[73] Barbulovic-Nad I., Xuan X., Lee J.S.H., Li D., DC-dielectrophoretic separation of microparticles using an oil droplet obstacle, *Lab Chip*, 6:274–279, 2006.

[74] Zhu J., Xuan X., Particle electrophoresis and dielectrophoresis in curved microchannels, *J Colloid Interface Sci*, 340:285–290, 2009.

[75] Zhu J., Tzeng T.R., Hu G., Xuan X., DC dielectrophoretic focusing of particles in a serpentine microchannel, *Microfluid Nanofluid*, 7:751–756, 2009.

[76] Zhu J., Tzeng J.T., Xuan X., Dielectrophoretic focusing of microparticles in curved microchannels, *Proceedings of the ASME 2009 international mechanical engineering congress and exposition*, IMECE2009-11876, Lake Buena Vista, FL, 2009.

[77] Church C., Zhu J., Wang G., Tzeng T.J., Xuan X., Electrokinetic focusing and filtration of cells in a serpentine microchannel, *Biomicrofluidics*, 3:044109, 2009.

[78] Ai Y., Park S., Zhu J., Xuan X., Beskok A., Qian S., DC electrokinetic particle transport in an L-shaped microchannel, *Langmuir*, 26:2937–2944, 2010.

[79] Davison S.M., Sharp K.V., Transient simulations of the electrophoretic motion of a cylindrical particle through a 90 corner, *Microfluid Nanofluid*, 4:409–418, 2008.

[80] Zhu J., Tzeng T.R., Xuan X., Continuous dielectrophoretic separation of particles in a spiral microchannel, *Electrophoresis*, 31, 1382–1388 2010.

[81] Gossett D. R., Weaver W.M., Mach A. J., Hur S. C., Tse H. T. K., Lee W., Amini H., Di Carlo D., Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems, *Anal Bioanal Chem*, 397:3249–3267, 2010.

[82] Brody J.P., Osborn T.D., Forster F.K., Yager P., A planar microfabricated fluid fitler, Sens Actuators A Phys, 54:704–708, 1996.

[83] Crowley T.A., Pizziconi V., Isolation of plasma from whole blood using planar microfilters for lab-on-a-chip applications. Lab Chip 5:922–929, 2005.

[84] VanDelinder V, Groisman A Separation of plasma from whole human blood in a continuous cross-flow in a molded microfluidic device, *Anal Chem*, 78:3765–3771, 2006.

[85] Chen X., Cui D.F., Liu C.C., Li H., Microfluidic chip for blood cell separation and collection based on crossflow filtration, *Sens Actuators B Chem*, 130:216–221, 2008.

[86] Mohamed H, Turner JN, Caggana M Biochip for separating fetal cells from maternal circulation, *J Chromatogr A*, 1162:187–192, 2007.

[87] Chen X., Cui D., Zhang L., Isolation of plasma from whole blood using a microfludic chip in a continuous cross-flow, *Chin Sci Bull* 54:324–327, 2009.

[88] Sethu P., Sin A., Toner M., Microfluidic diffusive filter for apheresis (leukapheresis), *Lab Chip*, 6:83–89, 2006.

[89] VanDelinder V., Groisman A., Perfusion in Microfluidic cross-flow: separation of white blood cells from whole blood and exchange of medium in a continuous flow, *Anal Chem*, 79:2023–2030, 2007.

[90] Murthy S., Sethu P., Vunjak-Novakovic G., Toner M., Radisic M., Size-based microfluidic enrichment of neonatal rat cardiac cell populations, *Biomed Microdevices*, 8:231–237, 2006.

[91] Zheng S., Lin H., Liu J., Balic M., Datar R., Cote R.J., Tai Y., Membrane microfilter device for selective capture, electrolysis and genomic analysis of human circulating tumor cells, *J Chromatogr A*, 1162:154–161, 2007.

[92] Yamada M. and Seki M., Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics, *Lab Chip*, 5, 1233, 2005.

[93] Yamada M. and Seki M., Microfluidic Particle Sorter Employing Flow Splitting and Recombining, *Anal. Chem.*, 78, 1357, 2006.

[94] Yamada M., Kano K., Tsuda Y., Kobayashi J., Yamato M., Seki M., Okano T., Microfluidic devices for size-dependent separation of liver cells, *Biomed Microdevices*, 9:637–645, 2007.

[95] Yamada M., Kobayashi J., Yamato M., Sekib M. and Okano T., Millisecond treatment of cells using microfluidic devices via two-step carrier-medium Exchange, *Lab Chip*, 8, 772–778, 2008.

[96] Sugaya S., Yamada M., and Seki M., Observation of nonspherical particle behaviors for continuous shape-based separation using hydrodynamic filtration, *Biomicrofluidics*, 024103, 2011.

[97] Aoki R., Yamada M., Yasuda M., Seki M., In-channel focusing of flowing microparticles utilizing hydrodynamic filtration, *Microfluid Nanofluid*, 6:571–576, 2009.

[98] Yamada M., Nakashima M. and Seki M., Pinched Flow Fractionation: Continuous Size Separation of Particles Utilizing a Laminar Flow Profile in a Pinched Microchannel, *Anal. Chem.*, 76, 5465, 2004.

[99] Takagi J., Yamada M., Yasuda M. and Seki M., Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches, *Lab Chip*, 5, 778, 2005.

[100] Sai Y., Yamada M., Yasuda M. and Seki M., Continuous separation of particles using a microfluidic device equipped with flow rate control valves, *J. Chromatogr.*, A, 1127, 214, 2006.

[101] Takagi J., Yamada M., Yasuda, M., Seki M., Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches, *Lab Chip*, 5(7):778–784, 2005.

[102] Goldsmith H.L., Cokelet G.R., Gaehtgens P., Robin Fahraeus: evolution of his concepts in cardiovascular physiology, *Am J Physiol*, 257(3):H1005–H1015, 1989.

[103] Shevkoplyas S.S., Yoshida T., Munn L. L., Bitensky M. W., Biomimetic autoseparation of leukocytes from whole blood in a microfluidic device, *Anal Chem*, 77(3):933–937, 2005.

[104] Munn L.L., Dupin M.M., Blood cell interactions and segregation in flow, *Ann Biomed Eng*, 36(4):534–544, 2008.

[105] Faivre M., Abkarian M., Bickraj K., Stone H. A., Geometrical focusing of cells in a microfluidic device: an approach to separate blood Plasma, *Biorheology*, 43(2):147–159, 2006

[106] Yang S., Undar A., Zahn J.D., A microfluidic device for continuous, real time blood plasma separation, *Lab Chip*, 6(7):871–880, 2006.

[107] Maxey M. R., and Riley J. J., Equation of motion for a small rigid sphere in a nonuniform flow, *Phys. of Fluids*, vol. 26, pp. 883-889, 1983.

[108] Dean W. R., Note on the motion of fluid in a curved pipe, *Phil. Mag.*, vol. 4, 208–223, 1927.

[109] Dean W. R., The stream-line motion of fluid in a curved pipe, *Phil. Mag.*, vol. 5, 673–695, 1928.

[110] Sudarsan A. P., and Ugaz V. M., Multivortex micromixing, *PNAS*, vol. 103, pp. 7228-7233, 2006.

[111] Ookawara S., Higashi R., Street D., and Ogawa K., Feasibility study on concentration of slurry and classification of contained particles by microchannel, *Chem. Eng. J.*, vol. 101, pp. 171-178, 2004.

[112] Ookawara S., Street D., and Ogawa K., Numerical study on development of particle concentration profiles in a curved microchannel, *Chem. Eng. Sci.*, vol. 61, pp. 3714-3724, 2006.

[113] Stokes G. G., On some cases of fluid motion, *Trans. Camb. Philos. Soc.*, vol. 8, pp. 105–137, 1843.

[114] Eichhorn R., and Small S., Experiments on the lift and drag of spheres suspended in a Poiseuille flow, *J. Fluid Mech.*, vol. 20, pp. 513-527, 1964.

[115] Asmolov E. S., The inertial lift on a spherical particle in a plane Poiseuille flow at large channel Reynolds number, *J. Fluid Mech.*, vol. 381, pp. 63-87, 1999.

[116] Asmolov E. S., The inertial lift on a small particle in a weak-shear parabolic flow, *Phys. Fluids*, vol. 14, pp. 15-28, 2002.

[117] McLaughlin J. B., Inertial migration of a small sphere in linear shear flows, *J. Fluid Mech.*, vol. 224, pp. 261-274, 1991.

[118] Matas J. P., Morris J. F., and Guazzelli E., Lateral forces on a sphere, *Oil & Gas Science and Technology-Revue De L Institut Francais Du Petrole*, vol. 59, pp. 59-70, 2004.

[119] Cherukat P., McLaughlin J. B., and Graham A. L., The inertial lift on a rigid sphere translating in a linear shear-flow field, *Int. J. Multiphase Flow*, vol. 20, pp. 339-353, 1994.

[120] Rubinow, S. I., and Keller J. B., The Transverse Force on a Spinning Sphere Moving in a Viscous Fluid, *J. Fluid Mech.*, Vol. 11, pp. 447–459, 1961.

[121] Zeng L., Balachandar S., and Fischer P., Wall-induced forces on a rigid sphere at finite Reynolds number, *J. Fluid Mech.*, vol. 536, pp. 1-25, 2005.

[122] McLaughlin J. B., The lift on a small sphere in wall-bounded linear shear flows, *J. Fluid Mech.*, vol. 246, pp. 249-265, 1993.

[123] Leighton, D., and Acrivos A., The Lift on a Small Sphere Touching a Plane in the Presence of a Simple Shear Flow, *J. Applied Mathematics and Physics*, Vol. 36, pp. 174–178, 1985.

[124] Cherukat P., and McLaughlin J. B., The Inertial Lift on a Rigid Sphere in a Linear Shear Flow Field Near a Flat Wall, *J. Fluid Mech.*, Vol. 263, pp. 1–8, 1994.

[125] Segré G., and Silberberg A., Radial particle displacements in Poiseuille flow of suspensions, *Nature*, vol. 189, pp. 209-210, 1961.

[126] Segré G., and Silberberg A., Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow Part 1. Determination of local concentration by statistical analysis of particle passages through crossed light beams, *J. Fluid Mech.*, vol. 14, pp. 115-135, 1962.

[127] Segré G., and Silberberg A., Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow Part 2. Experimental results and interpretation, *J. Fluid Mech.*, vol. 14, pp. 136-157, 1962.

[128] Schonberg J. A., and Hinch E. J., Inertial migration of a sphere in Poiseuille flow, *J. Fluid Mech.*, vol. 203, pp. 517-524, 1989.

[129] Di Carlo D., Irimia D., Tompkins R. G., and Toner M., Continuous inertial focusing, ordering, and separation of particles in microchannels, *PNAS*, vol. 104, pp. 18892-18897, 2007.

[130] Hampton R. E., Mammoli A. A., Graham A. L., Tetlow N., and Altobelli S. A. Migration of particles undergoing pressure-driven flow in a circular conduit, *J. Rheol.*, vol. 41, pp.621-640, 1997.

[131] Bhagat A. A. S., Kuntaegowdanahalli S. S., and Papautsky I., Enhanced particle filtration in straight microchannels using shear-modulated inertial migration, *Phys. Fluids*, vol. 20, p. 101702, 2008.

[132] Di Carlo D., Edd J. F., Irimia D., Tompkins R. G., and Toner M., Equilibrium separation and filtration of particles using differential inertial focusing, *Anal. Chem.*, vol. 80, pp. 2204-2211, 2008.

[133] Bhagat A. A. S., Kuntaegowdanahalli S. S., and Papautsky I., "Continuous particle separation in spiral microchannels using Dean flow based differential migration," *Lab Chip*, vol. 8, pp. 1906-1914, 2008.

[134] Kuntaegowdanahalli S., Bhagat A.A.S., Kumar G., Papautsky I., Inertial microfluidics for continuous particle separation in spiral microchannels, *Lab Chip*, 9:2973–2980, 2009.

[135] Russom A., Gupta A.K., Nagrath S., Di Carlo D., Edd J.F., Toner M., Differential inertial focusing of particles in curved lowaspect-ratio microchannels. New J Phys 11:075025, 2009.

[136] Gossett D.R., and Di Carlo D., Particle focusing mechanisms in curving confined flows. *Anal Chem*, 81:2459–2465, 2009.

[137] Liu R., Stremler M., Sharp K., Olsen M., Santiago J., Adrian R., Aref H. and Beebe D., Passive mixing in a three-dimensional serpentine microchannel, *J. Microelectromech. Syst.*, 9, 190–197, 2000.

[138] Howell P. B., Mott D. R., Golden J. P. and Ligler F. S., Design and evaluation of a Dean vortex-based micromixer, *Lab Chip*, 4, 663–9, 2004.

[139] Sudarsan A. P. and Ugaz V. M., Fluid mixing in planar spiral microchannels, *Lab Chip*, 6, 74–82, 2006.

[140] Yoon D. H., Ha J. B., Bahk Y. K., Arakawa T., Shoji S. and Go J. S., Size - selective separation of micro beads by utilizing secondary flow in a curved rectangular microchannel, *Lab Chip*, 9, 87–90, 2009.

[141] Di Carlo D., Inertial microfluidics, Lab Chip, 9:3038–3046, 2009.

[142] Matas J.P., Morris J.F., Guazzelli E., Inertial migration of rigid spherical particles in Poiseuille flow, *J Fluid Mech*, 515:171–195, 2004.

[143] Matas J.P., Glezer V., Guazzelli E., Morris J.F., Trains of particles in finite-Reynolds-number pipe flow. *Phys Fluids*, 16:4192–4195, 2004.

[144] Kim Y.W., Yoo J.Y., The lateral migration of neutrally-buoyant spheres transported through square microchannels, *J Micromech Microeng*, 18:065015, 2008

[145] Chun B. and Ladd A. J. C., Inertial migration of neutrally buoyant particles in a square duct: An investigation of multiple equilibrium positions, *Phys. Fluids*, 18, 031704–4, 2006.

[146] Bhagat A. A. S., Kuntaegowdanahalli S. S., and Papautsky I., Inertial microfluidics for continuous particle filtration and extraction, *Microfluid. Nanofluid*, 7:217–226, 2009.

[147] Park J., Song S., Jung H., Continuous focusing of microparticles using inertial lift force and vorticity via multi-orifice Microfluidic channels. *Lab Chip*, 9:939–948, 2009.

[148] Park J., and Jung H., Multiorifice Flow Fractionation: Continuous Size-Based Separation of Microspheres Using a Series of Contraction/Expansion Microchannels *Anal. Chem.*, 81, 8280 – 8288, 2009.

[149] Faivre M., Abkarian M., Bickraj K., Stone H.A., Geometrical focusing of cells in a microfluidic device: an approach to separate blood Plasma, Biorheology 43:147–159, 2006.

[150] Wu Z., Willing B., Bjerketorp J., Jansson J. K. and Hjort K., Soft inertial microfluidics for high throughput separation of bacteria from human blood cells, *Lab Chip*, 9, 1193–1199, 2009.

[151] Hur S.C, Tse H.T.K., Di Carlo D., Sheathless inertial cell ordering for extreme throughput flow cytometry, *Lab Chip*, 10:274–280, 2010.

[152] Blattert C., Jurischka R., Schoth A., Kerth P., and Menz W., Separation of blood in microchannel bends, *Proc. SPIE*, vol. 5345, pp. 17-25, 2004.

[153] Gregoratto I., McNeil C. J., and Reeks M. W., Micro-devices for rapid and continuous separation of suspensions for use in micro-total-analysis-systems (μ TAS), *Proc. SPIE*, vol. 6465, p 646503, 2007.

[154] Seo J., Lean M. H., and Kole A., Membraneless microseparation by asymmetry in curvilinear laminar flows, *J. Chromatogr. A*, vol. 1162, pp. 126-131, 2007.

[155] Seo J., Lean M. H., and Kole A., Membrane-free microfiltration by asymmetric inertial migration, *Appl. Phys. Lett.*, vol. 91, p. 033901, 2007.

[156] Bhagat A. A. S., Kuntaegowdanahalli S. S., Dionysiou D. D., and Papautsky I., Spiral microfluidic nanoparticle separators, *Proc. of SPIE Vol. 6886, 68860M*, 2008.

[157] Oozeki N., Ookawara S., Ogawa K., Lob P. and Hessel V., Characterization of Microseparator/Classifier with a Simple Arc Microchannel, *AIChE J.*, 55, 24–34, 2009.

[158] Y. Xia, and G. M. Whitesides, "Soft Lithography," *Annu. Rev. Mater. Sci.*, vol. 28, pp. 153-194, 1998.

[159] J. C. McDonald, D. C. Duffy, J. R. Anderson, D. T. Chiu, H. Wu, O. J. Schueller, and G. M. Whitesides, "Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)," *Electrophoresis*, vol. 21, pp. 27-40, 2000.

[160] Lee S. J., and Sundararajan N., *Microfabrication for Microfluidics*, Artech House Norwood, MA, USA: Artech House, 2010.

[161] Chakraborty S., Microfluidics and Microfabrication, Newyork, NY, USA : Springer Science, 2010.

[162] Zahn J. D., Methods in Bioengineering : Biomicrofabrication and Biomicrofluidics, Artech House Norwood, MA, USA: Artech House, 2010.

[163] MicroChem Corporation, MA, USA <u>http://www.microchem.com/</u>, 2011.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad	: Arzu Özbey
Doğum Yeri ve Tarihi	: Şişli-03/10/1983
Lise	: Nişantaşı Nuri Akın Lisesi
Lisans	: Sakarya Üniversitesi

Projeler:

• "Biyolojik Hücre Ayrıştırma Uygulamalarında Düşük Maliyetli Mikroakışkan Sistemlerinin Tasarımı, Karakterizasyonu ve Üretimi" – Tubitak (2009-2011)

• Mikrokanallarda Sıvı Akışı ve Isı Transferi" DPT, (2005-2008).

Yayın Listesi:

- Huseyin kizil, Levent Trabzon, Levent Yobas, Mustafa Yilmaz, Arzu Özbey "Computational Analysis of Microparticle Separation in Straight Channels", 21. Micromechanics and Micro System Europe Workshop, September 26-29, 2010 Enschede, The Netherlands.
- L. Trabzon, H. Kizil, L. Yobas, A. Ozbey, M. Yilmaz, M. Cengiz, M. Trabzon, M. Ordu and N. Kaygusuz, "The Effect of Aysmmetry on Particle Focussing in Microchannels", Advanced Materials Research, pgs 482 – 485, Vol. 403-408 (2012)
- M Yilmaz, M. Cengiz, H. Kizil, A. Ozbey, L. Trabzon, "Geometry Induced Microparticle Seperation in Passive Contraction Expansion Straight Channels", Proceeding of 5th International Conference on Quantum, Nano and Micro Technologies, August, 21-27 2011, Nice-France, *The best paper award is* given to article
- Nezaket Parlak, Tahsin Engin, Arzu Özbey, "Fluid Flow in Microchannels", 10. Denizli Materials Proceeding and Exhibition, 65-70, Denizli, 14-16 Nisan (2004) TURKEY.