

УДК 544.773.3+66.063.6+542.07

© М. А. Полдушов, 2023

РАЗРАБОТКА DIY-УСТАНОВКИ ДЛЯ КАПЕЛЬНОЙ МИКРОФЛЮИДИКИ

Создание микрофлюидных установок для большинства исследовательских лабораторий представляет сложную задачу в первую очередь по причине высокой стоимости входящих в их состав компонентов. В связи с этим проводятся многочисленные исследования по поиску новых и модернизации уже имеющихся способов изготовления подобных устройств, направленные на упрощение и удешевление технологии их производства. В работе обсуждается возможность разработки DIY- (Do-It-Yourself, дословный перевод — сделай сам) установки для капельной микрофлюидики, которая включает систему подачи жидкостей, состоящую из нескольких шприцевых насосов, и микрофлюидные чипы с различной геометрией. Для изготовления как шприцевых насосов, так и микрофлюидных чипов использовались широкодоступные готовые компоненты. Некоторые механические части насосов изготавливались самостоятельно с использованием метода 3D-печати. Управление микрофлюидной установкой осуществлялось при помощи платформы Arduino UNO. На ряде примеров формирования эмульсий с различными типами морфологии было показано, что разработанная установка не уступает системам, которые были ранее представлены другими авторами.

Кл. сл.: микрофлюидная установка, капельная микрофлюидика, микроконтроллерные платформы, Arduino

ВВЕДЕНИЕ

Последние несколько десятилетий стали поистине революционными для развития микрофлюидных технологий. За это время микрофлюидика сформировалась в отдельную междисциплинарную область науки, а ее методы стали практически незаменимыми в целом ряде производственных и исследовательских направлений [1, 2]. Микрофлюидика как отдельная научная дисциплина занимается изучением поведения и управлением потоками жидкостей на микронном и нанометровом масштабах [2, 3]. Реализация потоков жидкостей осуществляется с использованием специальных устройств, называемых микрофлюидными устройствами, или микрофлюидными чипами (МФЧ). Микрофлюидные чипы обычно определяют как устройства, позволяющие манипулировать малыми (вплоть до пиколитров) объемами жидкостей (газов) благодаря использованию систем микроканалов, сформированных в подложках различной природы [2]. Помимо МФЧ, микрофлюидные установки (МФУ) обязательно включают в себя системы подачи и контроля потока жидкостей (или газов), которые в большинстве случаев используют шприцевые, перистальтические либо нагнетательные насосы [4, 5], однако могут быть реализованы многими другими способами [4].

Одним из интенсивно развивающихся направлений микрофлюидных технологий является разработка КМФС — микрофлюидных систем на ос-

нове капле (droplet-based microfluidic devices), которые позволяют формировать и управлять микрокаплями жидкостей, находящихся в непрерывной фазе другой несмешивающейся жидкости [6, 7]. Возможность генерации монодисперсных эмульсий и дальнейшего точного манипулирования отдельными малыми объемами жидкостей в пределах микрофлюидного чипа делает КМФС чрезвычайно востребованными во многих областях. В рамках биологических исследований методы капельной микрофлюидики используются для инкапсуляции внутри капле эмульсии отдельных клеток [6–8], молекул ДНК или РНК [6], а также многоклеточных организмов [9]. Отдельные капли могут применяться в качестве микрореакторов (т.н. "капельные микрореакторы"), в объеме которых может осуществляться синтез микро- и наночастиц различной природы [2, 6, 10, 11].

Несмотря на неоспоримые преимущества применения микрофлюидных технологий для решения многих задач, основным фактором, ограничивающим их внедрение различными лабораториями, остается их высокая стоимость. По этой причине продолжается интенсивный поиск новых и совершенствование уже имеющихся методов производства различных составных частей микрофлюидных платформ. В первую очередь это касается технологий изготовления МФЧ. Изначально применяемое для этих целей кварцевое и силикатное стекло заменяется, где это возможно, более доступными и легкими в обработке полимерными

материалами, такими как поликарбонат (ПК), полиметилметакрилат (ПММА), полидиметилсилоксан (ПДМС), и другими [12]. В зависимости от материала подложки микрофлюидного чипа применяются различные способы прототипирования микрофлюидных чипов. Широкое распространение получил метод мягкой литографии [2, 6, 12], который, однако, представляет собой многостадийный и весьма трудоемкий процесс, требующий наличия масок-фотошаблонов, изготовление которых вносит значительный вклад в стоимость готового изделия [13]. Развиваются альтернативные способы прототипирования чипов, включая технологию безмасочной литографии, методы инъекционного формования, прессования (тиснения) для разработки МФУ из термопластов, лазерной абляции и другие. Во всех перечисленных выше способах изготовления чипов требуется наличие специализированного весьма дорогостоящего оборудования. Не меньших финансовых затрат требует реализация систем управления потоками жидких компонентов, которые, помимо аппаратной части, включают программное обеспечение, регулирующее работу данных систем. Стоимость коммерческих готовых решений в данном случае может составлять многие десятки тысяч долларов [5, 14].

Одним из возможных решений для исследовательских коллективов может стать использование open-source продуктов как в области программного, так и аппаратного обеспечения. Во многом именно многочисленные open-source инициативы дали импульс к появлению ставшего весьма значимым явления современной науки — Do-It-Yourself (DIY, дословный перевод — сделай сам), проектов, на базе которых становится возможным создавать целые исследовательские лаборатории [15, 16]. Среди технологий, позволяющих создавать многие, в том числе весьма сложные исследовательские инструменты в рамках DIY-проектов, можно выделить технологии 3D-печати, а также появление очень доступных микроконтроллерных платформ для прототипирования электронных устройств, использующих открытый исходный код (open-source electronics platforms), таких как Arduino, Raspberry Pi, и их аналогов [14, 17]. Различные open-source инструменты в полной мере применяются и для разработки компонентов микрофлюидных установок. Отметим лишь некоторые решения, предлагаемые в данной области. На базе микроконтроллерных платформ Arduino и Raspberry Pi были реализованы системы подачи жидких компонентов, разработка которых осуществлялась с использованием DIY шприцевых [14, 17–21], перистальтических [22, 23] и нагнетательных [24] насосов. В большинстве подобных изделий механические детали реализуемых установок производились методом 3D-печати [14, 17–19, 21–23],

иногда предлагалось использовать части готовых устройств [20]. Интенсивно развиваются DIY-технологии в области прототипирования микрофлюидных чипов. Во-первых, продолжаются исследования "традиционных" литографических способов прототипирования: разработка фотолитографических установок с использованием УФ-светодиодов [25, 26], использование DLP- (Digital Light Processing) проекторов для безмасочной литографии [27] и др. Во-вторых, весьма перспективными представляются изыскания в области создания чипов на бумажной основе [28, 29], которые позволяют производить очень бюджетные продукты [30]. В-третьих, при производстве чипов интенсивно внедряются технологии 3D-печати [31]. В рамках капельной микрофлюидики для прототипирования МФЧ было предложено [32, 33] использовать готовые широкодоступные компоненты, такие как медицинские иглы, пластиковые фитинги, трубки и др., иногда совместно с деталями, изготовленными методом 3D-печати, что позволяет значительно удешевить и упростить сборку данных устройств. Многочисленные open-source решения не только помогают при создании различных DIY-компонентов микрофлюидных установок, но и позволяют на их основе построить полный цикл научных исследований, начиная от проектирования и управления МФУ и заканчивая анализом полученных данных.

На основании проведенного литературного анализа можно утверждать, что в научном сообществе существует большой интерес к созданию самодельных устройств для применения в качестве частей микрофлюидных систем. Целью настоящей работы в этой связи являлась разработка и оценка технических возможностей доступной по цене и простой в компоновке DIY-микрофлюидной установки, предназначенной для генерации капель одинарных и двойных эмульсий.

УСТРОЙСТВО МИКРОФЛЮИДНОЙ УСТАНОВКИ

Общая характеристика

Разработанная МФУ состоит из двух частей: системы подачи жидких компонентов и микрофлюидных чипов с различной геометрией, в которых происходит непосредственное образование капель эмульсий. Все компоненты микрофлюидных установок были собраны самостоятельно. При сборке использовались либо готовые детали, находящиеся в широком доступе, либо детали, произведенные с использованием метода 3D-печати. Устройство микрофлюидных установок различалось в зависимости от типа (одинарная или двойная) генерируемых эмульсий. Во-первых, приме-

нялись микрофлюидные чипы с различной конструкцией, которая будет подробно описана в соответствующем разделе. Во-вторых, различалась реализация системы подачи жидких компонентов. Для генерации одинарных эмульсий использовалась система, состоящая из двух, а для генерации двойных эмульсий — система из трех шприцевых насосов. Устройство и способ изготовления как шприцевых насосов, так и микрофлюидных чипов будут подробно описаны ниже.

Система подачи жидких компонентов

Как уже было отмечено, подача жидких компонентов осуществлялась с использованием системы шприцевых насосов. Общая схема разработанных насосов представлена на рис. 1.

Механическая часть насоса состоит из трех основных элементов: левая 1 и правая 2 неподвижные опоры и подвижная часть — каретка 3. Данные детали, а также основа 19 и пластины для

крепления шприца 12, 14 изготавливались методом 3D-печати на принтере Ender-3 Pro из полилактида. Трехмерные модели для печати были спроектированы при помощи открытого программного продукта FreeCAD [34] версии 0.19.

К левой опоре 1 крепится шаговый двигатель 17 на четыре болта М3×16 4. Шаговый двигатель через муфту 5 соединяется со шпилькой М5×200 6, которая с противоположной стороны удерживается в правой опоре при помощи шарикового подшипника и шайбы 7. Вращение шагового двигателя передается шпильке и преобразуется посредством гайки 8 в поступательное движение каретки. Гайка 8 плотно фиксируется в углублении каретки, как показано в увеличенном масштабе на вставке II рис. 1. Каретка плавно перемещается по цилиндрическим направляющим 9 на линейных подшипниках 10, располагающихся в специальных выемках.

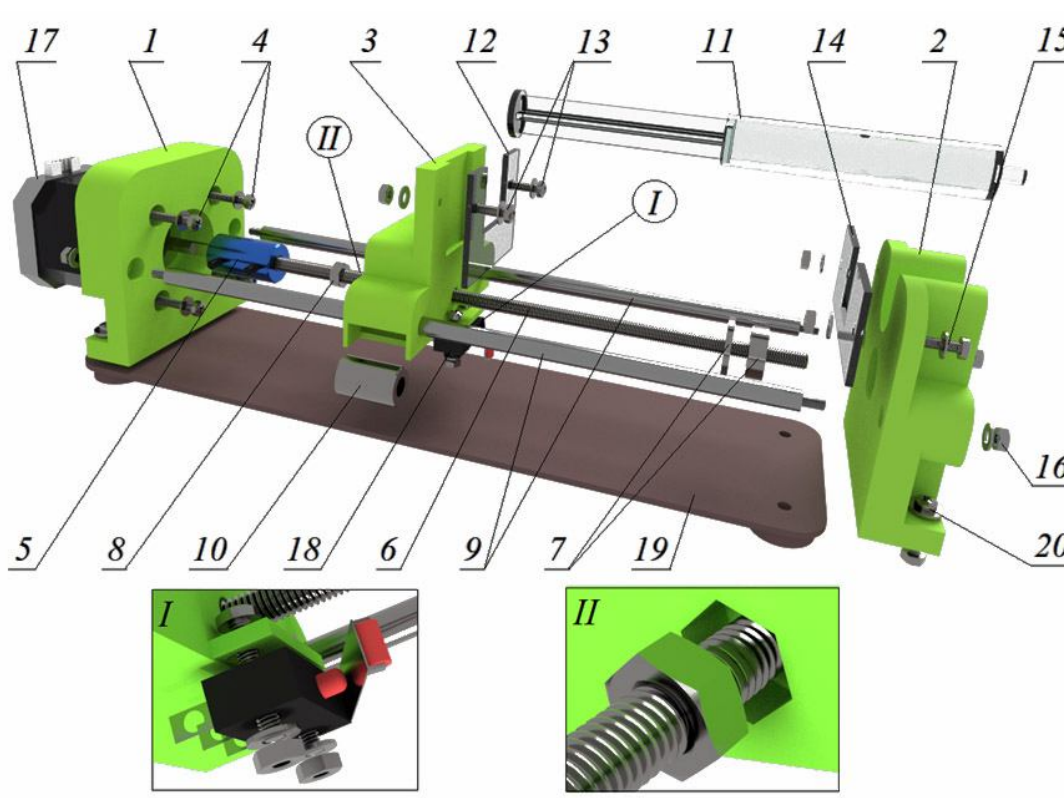


Рис. 1. Общая схема шприцевого насоса.

1 — левая опора; 2 — правая опора; 3 — каретка; 4 — болты М3×16 и шайбы; 5 — муфта; 6 — шпилька М5×200; 7 — подшипник шариковый и шайба; 8 — гайка М5; 9 — цилиндрические направляющие; 10 — подшипник линейный; 11 — шприц; 12, 14 — пластины для крепления шприца; 13, 15, 20 — болты М3×16, гайки и шайбы; 16 — гайки М3 и шайбы; 17 — шаговый двигатель; 18 — концевой выключатель; 19 — основа.

Вставки: I — крепление концевой выключателя к каретке, II — фиксация гайки 8 в каретке

Резьба, нарезанная на обоих концах направляющих, позволяет закрепить их в левой и правой опорах при помощи гаек 16. Для придания большей жесткости конструкции левая и правая опоры крепятся к основе 19 болтами 20. Ход каретки ограничивает концевой выключатель 18, установленный на ее нижней части, как изображено на вставке I. Жидкие компоненты подаются в микрофлюидный чип из стандартных одноразовых шприцев 11. Плунжер одноразового шприца крепится к каретке пластиной 12, которая прижимается болтами 13, а цилиндр шприца пластиной 14 и болтами 15 к правой опоре. Используемое крепление позволяет надежно зафиксировать шприцы различных объемов (в работе использовались шприцы объемом 1 и 5 мл). Похожий тип конструкции реализуется в ряде ранее представленных open-source проектах шприцевых насосов [14, 17, 21]. Полный список деталей, использованных для сборки механических частей насосов, приведен в Приложении, табл. П. Список составлен для системы, состоящей из трех шприцевых насосов.

Система управления шаговыми двигателями

Объемный расход жидких компонентов регулируется за счет изменения скорости перемещения каретки 3, которая в свою очередь задается вращением шагового двигателя 17. В работе использовались шаговые двигатели типа Nema, управление которыми осуществлялось посредством микроконтроллерной платформы Arduino Uno R3, скомпонованной с платой расширения CNC Shield версии 3.0. Используемые в работе шаговые двигатели совершают один полный оборот за 200 шагов, что соответствует угловому разрешению в 1.8° . Управляющие импульсы подавались на шаговые двигатели при помощи драйверов модели DRV8825, которые позволяют работать в режиме микрошага. Было выбрано дробление шага, равное $1/32$, для установления которого на плате CNC Shield фиксировались необходимые перемычки. Программирование платы Arduino осуществлялось через свободно распространяемый программный продукт Arduino IDE, доступ к которому открыт на официальном сайте производителя [35]. Одновременное управление тремя шаговыми двигателями было реализовано при помощи библиотеки AccelStepper [36]. Загрузка кода (скетча) на плату осуществляется через USB-кабель, соединяемый с персональным компьютером. Для питания всей системы использовался блок питания мощностью 90 Вт (19 В, 4.74 А), подключаемый к плате через стандартный разъем 5.5×2.5 мм. Полный перечень электронных компонентов, использованных в данной работе, также приведен в Приложении, табл. П.

Конструкция микрофлюидных чипов

Микрофлюидные чипы для формирования капель одинарных (МФЧ 1 и 2) и двойных (МФЧ 3) эмульсий были сконструированы в двух геометриях, изображенных на рис. 2, а, б, которые могут быть легко преобразованы одна в другую.

На рис. 2, в, приведена схема участков формирования капель (узлов) с указанием основных размеров, численные значения которых представлены в табл. 1. Расположение данных участков отмечено пунктирными окружностями на рис. 2, а и б. МФЧ 3 имеет две зоны формирования капель: в первой (узел 1) происходит образование ядра композитной капли, во второй (узел 2) генерируется капля целиком.

В настоящей работе развивалась идея использования общедоступных компонентов для сборки МФЧ, предлагаемая ранее в ряде публикаций [32, 33]. При изготовлении чипов были использованы т-образные переходники, которые применялись в качестве корпуса МФЧ, и иглы с тупыми наконечниками, из которых строилась система наконечников. В чипах использовались только металлические наконечники игл, которые предварительно извлекались из их пластиковой головки. Важным преимуществом конструкции данных систем является легкость компоновки составных частей, что позволяет при необходимости проводить их замену, а также разборку с целью очистки. Дополнительной обработкой внутренних поверхностей наконечников игл с целью изменения их смачиваемости используемыми в работе жидкостями не производилось. Т-образные переходники были выполнены из полиэтилена и имели внутренний диаметр (D_1 на рис. 2, в), равный 2.5 мм. Подача непрерывной фазы 1 осуществляется через вертикальный канал т-образного переходника 2 с объемным расходом Q_m . С одной стороны горизонтального канала при помощи резинового фиксатора 3, который гарантирует герметичность узла, соосно каналу устанавливается игла 4, через которую осуществляется подача дисперсной фазы 5 с объемным расходом Q_d . С противоположной стороны горизонтального канала также при помощи фиксатора 7 соосно первой игле устанавливается вторая игла 6. Игла 4 внедряется внутрь иглы 6 на расстояние $h = 0.7$ мм, которое устанавливалось под микроскопом.

Подача дисперсной и непрерывной фаз осуществляется при помощи шприцевых насосов, подключенных к МФЧ через силиконовые шланги с внутренним диаметром 2.0 мм. С целью варьирования размеров получаемых капель были использованы иглы с различными внутренними диаметрами. Для подачи дисперсной фазы была

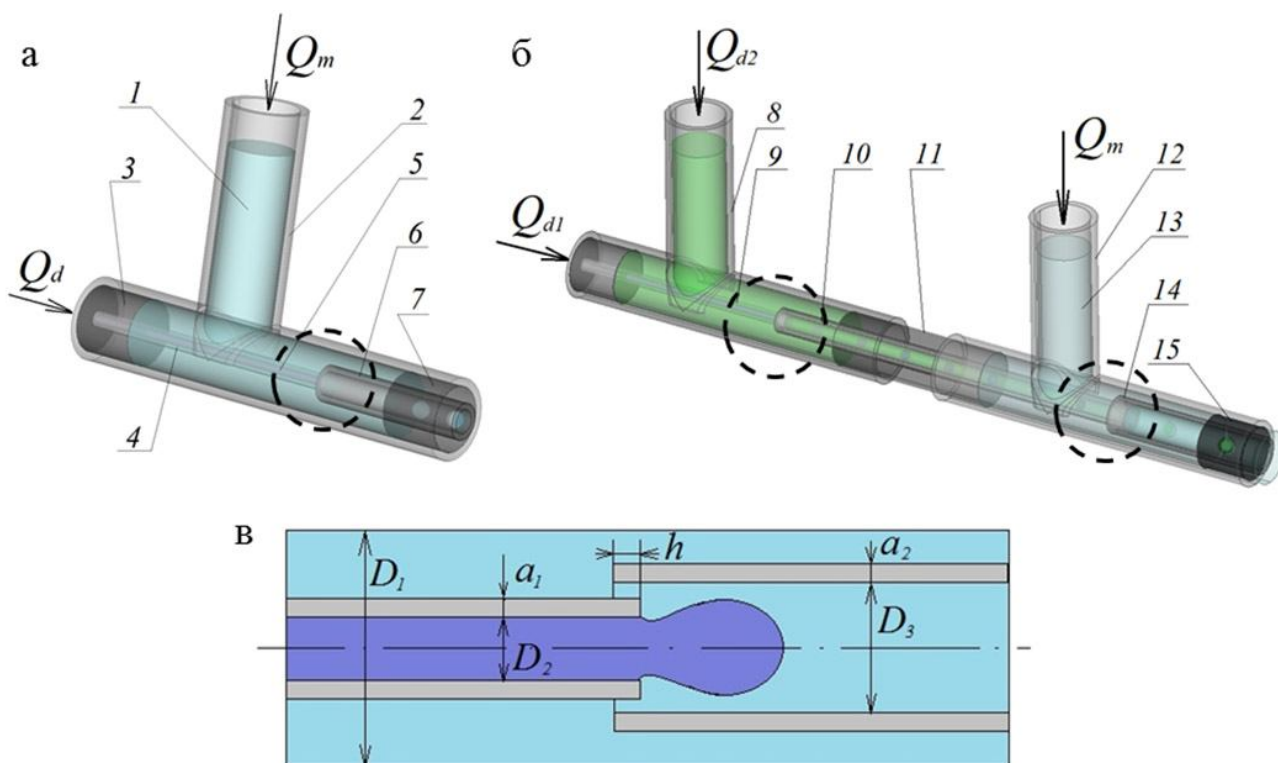


Рис. 2. Конструкция микрофлюидных чипов.

а — МФЧ для формирования капель одинарных эмульсий;

б — МФЧ для формирования капель двойных эмульсий;

в — схема участка генерации капель (узла) с указанием основных размеров (выделены пунктирными окружностями на а и б): D_1 — внутренний диаметр корпуса Т-образного переходника; D_2 , D_3 — внутренний диаметр меньшей и большей иглы участка генерации капель соответственно; a_1 , a_2 — толщина стенки меньшей и большей иглы; h — расстояние между концами игл;

Q_d — объемный расход дисперсной фазы; Q_{d1} , Q_{d2} — объемные расходы первой и второй дисперсных фаз для случая двойных эмульсий; Q_m — объемный расход матрицы;

1 — непрерывная фаза, 2 — вертикальный канал переходника, 3 — фиксатор, 4 — игла, 5 — дисперсная фаза, 6 — игла, 7 — фиксатор, 8 — Т-образный переходник, 9, 10 — иглы, 11 — фиксатор, 12 — вертикальный канал второго переходника, 13 — непрерывная фаза, 14 — игла, 15 — фиксатор

Табл. 1. Основные размеры области генерации капель микрофлюидных устройств, изображенной на рис. 2, в

Параметр области	Размеры, мм			
	МФЧ 1	МФЧ 2	МФЧ 3	
			Узел 1	Узел 2
D_1	2.5	2.5	2.5	2.5
D_2	0.210	0.210	0.210	0.603
D_3	1.194	0.603	0.603	1.194
a_1	0.100	0.100	0.100	0.150
a_2	0.230	0.150	0.150	0.230
h	0.7	0.7	0.7	0.7

выбрана игла калибра 27G с внутренним диаметром (D_2) 210 мкм. Для иглы 6 использовались калибры 16G и 20G с внутренними диаметрами (D_3) 1194 мкм (МФЧ 1) и 603 мкм (МФЧ 2).

МФЧ 3 представляет собой МФЧ 2, скомпонованный посредством фиксатора 11 со вторым Т-образным переходником 12. В фиксатор соосно горизонтальным каналам переходников 8 и 12 и на одном уровне с первой иглой 9 вставляется вторая игла 10. Через иглу 9 подается первая дисперсная фаза с объемным расходом Q_{d1} , а вторая дисперсная фаза через вертикальный канал переходника 8 с объемным расходом Q_{d2} . Через вертикальный канал второго Т-образного переходника подается третья жидкость 13, которая в данном случае будет являться непрерывной фазой (Q_m). Образование композитных капель происходит на выходе из иглы 10, которая соосно введена внутрь третьей иглы 14 (узел 2). Игла 14 также фиксируется в переходнике 12 посредством резинового фиксатора 15. Для игл 9, 10 и 14 были выбраны калибры 27G, 20G и 16G соответственно.

ЖИДКИЕ ИНГРЕДИЕНТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В РАБОТЕ

В работе с использованием разработанных МФЧ были получены одинарные типа вода-в-масле и двойные типа вода-в-масле-в-воде (V_1 -М- V_2) стабилизированные эмульсии. В случае одинарных эмульсий в качестве непрерывной фазы использовалось вазелиновое масло (ВМ, ООО "ЮжФарм"), в качестве дисперсной фазы — дистиллированная вода. Для стабилизации эмульсий в непрерывную фазу ВМ вводилось неионогенное поверхностно-активное вещество — сорбитанмонолеат (Span 80, ГОСТ 32770-2014) в количестве 7 масс.%.

Двойная эмульсия V_1 -М- V_2 представляет собой композитные капли, состоящие из масляной фазы, в которой диспергированы капли воды (первая

водная фаза, V_1), которые в свою очередь окружены непрерывной водной фазой, являющейся матрицей (вторая водная фаза, V_2) (см. ниже Тестирование микрофлюидной установки, рис. 7, б–г). В качестве фазы V_1 была выбрана дистиллированная вода, которая подкрашивалась небольшим количеством водорастворимого красителя для создания контраста при микроскопических исследованиях морфологии формируемой эмульсии. В качестве масляной фазы использовалось ВМ с добавлением 7 масс.% Span 80. Вторая водная фаза V_2 представляла раствор поливинилового спирта (ПВС, ГОСТ 10779-88) в воде. Содержание ПВС в растворе составляло 7 масс.%. Для обозначения всех величин, относящихся к фазе V_1 , которая является первой дисперсной фазой в двойной эмульсии, будет использоваться индекс $d1$, для масляной фазы, являющейся второй дисперсной фазой, — индекс $d2$, для матрицы — индекс m (см. рис. 2).

Характеристики применяемых в работе жидкостей приведены в табл. 2. Значения поверхностного натяжения (γ), динамической вязкости (η) и плотности (ρ) для воды при температуре 25 °С взяты из литературы [37]. Поверхностные натяжения для растворов (ВМ + 7 масс.% Span 80) и (вода + 7 масс.% ПВС), а также межфазные натяжения (γ_{12}) в системах вода/(ВМ + 7 масс.% Span 80) и (вода + 7 масс.% ПВС)/(ВМ + 7 масс.% Span 80) были определены с использованием метода висящей капли на гониометре ЛК-1 (ООО "НПК Открытая Наука", Россия). Плотность растворов определялась пикнометрическим методом. Динамическая вязкость измерялась на приборе НААКЕ Rheostress 1 (Thermo Scientific, США). Все величины измерялись при температуре 23.0 ± 0.5 °С.

В табл. 2 также приведены значения плотности для чистого вазелинового масла, используемого в работе для осуществления процедуры градуировки шприцевых насосов.

Табл. 2. Характеристики используемых в работе жидкостей

Характеристики	Вазелиновое масло	Вода	Вазелиновое масло + 7 масс.% Span80	Вода + 7 масс.% ПВС
Вязкость дин. η , Па·с	—	$0.891 \cdot 10^{-3}$	0.084	0.145
Поверхн. натяж. γ , мН/м	—	71.97	28.91	54.53
Межфазное натяж. γ_{12} , мН/м	—	3.84		4.07
Плотность ρ , кг/м ³	846.0	997.1	852.5	1025.7

ТЕСТИРОВАНИЕ ШПРИЦЕВЫХ НАСОСОВ

Как было указано ранее, объемный расход жидких компонентов варьируется посредством изменения скорости вращения шаговых двигателей. На первом этапе работы проводились процедуры градуировки и последующей калибровки шприцевых насосов. Для этой цели частоты подачи управляющих импульсов на шаговые двигатели сопоставлялись с объемными расходами жидкости

(Q , мкл/мин). Для определения объемного расхода при неизменной скорости вращения двигателя в течение 15 мин с интервалом в 1 мин проводились отбор и последующее взвешивание жидкости, выдавленной из шприца. Градуировка осуществлялась с использованием шприца объемом 5 мл. Образцы жидкости взвешивались на электронных весах Adventurer AR2140 (Ohaus, США) с точностью 0.1 мг. Чтобы предотвратить потерю части

Табл. 3. Результаты тестирования шприцевых насосов

a , имп./с	Q_b , мкл/мин	\bar{Q} , мкл/мин	S_b , мкл/мин	$S_{\bar{Q}}$, мкл/мин	$(\delta Q)_1$, %	$(\delta Q)_2$, %	c_v , %
Шприц 5 мл							
70	63.4	63.3	0.5	0.1	0.45	0.18	0.82
100	90.6	90.4	0.6	0.2	0.37	0.28	0.67
200	181.1	180.8	1.1	0.3	0.33	0.16	0.59
300	271.7	271.3	1.3	0.3	0.27	0.13	0.49
400	362.3	361.9	2.3	0.6	0.35	0.12	0.62
500	452.9	453.8	2.4	0.6	0.30	-0.22	0.54
600	543.4	542.4	2.6	0.7	0.26	0.19	0.47
700	634.0	634.8	3.1	0.8	0.27	-0.12	0.49
800	724.6	723.3	3.7	1.0	0.28	0.18	0.51
1000	905.7	905.2	3.3	0.6	0.13	0.06	0.36
1200	1086.9	1084.9	5.2	1.3	0.26	0.18	0.48
1500	1358.6	1361.1	8.1	2.1	0.33	-0.18	0.60
2000	1811.4	1815.0	7.7	2.0	0.24	-0.20	0.43
3000	2717.1	2721.3	10.8	2.8	0.22	-0.15	0.40
4000	3622.9	3628.5	18.4	4.7	0.28	-0.15	0.51
5000	4528.6	4525.5	16.3	4.2	0.20	0.07	0.36
6000	5434.3	5430.1	24.9	6.4	0.25	0.08	0.46
Шприц 1 мл							
200	23.9	239.6 (24.0)	1.7	0.6	0.57		0.69
300	35.8	359.0 (35.9)	2.0	0.7	0.45		0.54
400	47.7	477.3 (44.7)	2.5	0.9	0.44	-	0.53
500	59.7	596.7 (59.7)	3.1	1.1	0.43		0.52

Примечание. Для шприца 1 мл указаны объемные расходы за 10 мин, в скобках указаны — за 1 мин.

жидкости в результате ее испарения, для градуировки было выбрано вазелиновое масло. Найденный описанным образом массовый расход жидкости пересчитывался с использованием предварительно измеренного значения плотности ВМ (см. табл. 2) в объемный расход. Для экспериментальных данных, полученных в ходе тестирования шприцевых насосов, выполнялась стандартная процедура их статистической обработки (ГОСТ Р 8.736–2011) с расчетом средних арифметических значений (\bar{Q}), средних квадратических отклонений (S), средних квадратических отклонений средних арифметических ($S_{\bar{Q}}$), относительных отклонений (δQ)₁ (при количестве измерений $n = 15$, доверительной вероятности $p = 0.95$) и коэффициентов вариации ($c_v = S / \bar{Q}$). Полученные результаты представлены в табл. 3.

Для шприца объемом 1 мл при выбранных частотах управляющих импульсов выдавливается очень малое для взвешивания количество жидкости (около 0.01 г), что приводит к появлению больших погрешностей измерения, поэтому определение величины \bar{Q} по описанной выше методике не осуществлялось. Для данного шприца отбор и дальнейшее взвешивание выдавленной жидкости проводили 8 раз с интервалом 10 мин. После этого рассчитывался объемный расход за 10 мин, и полученное значение делилось на 10 для определения \bar{Q} за одну минуту. В табл. 3 приведены оба значения объемного расхода, при этом расход за минуту указан в скобках.

Дополнительно для обоих шприцов были найдены теоретические значения объемного расхода жидкостей Q_t . Значение Q_t рассчитывалось следующим способом. Первоначально вычислялась угловая скорость вращения используемых в работе шаговых двигателей, с учетом реализуемого дробления шага, равного 1/32, по формуле

$$B = \frac{a[\text{имп./с}] \cdot 360^\circ}{200[\text{шаг.}] \cdot 32} = 0.05625 \cdot a[\text{град/с}],$$

где a — частота подачи управляющих импульсов на двигатель, задаваемая программно, что эквивалентно количеству шагов, совершаемых двигателем в секунду. Поскольку двигатель совершает один полный оборот за 200 шагов, в выражении появляется коэффициент 360/200.

Затем рассчитывалась линейная скорость X каретки. Учитывая, что шаг резьбы шпильки равен 0.8 мм, каретка, толкающая плунжер шприца, за счет поворота вала двигателя с угловой скоростью B , приобретает линейную скорость, равную

$$X = \frac{B[\text{град/с}] \cdot 0.8[\text{мм}]}{360^\circ} = 1.25 \cdot 10^{-4} \cdot a[\text{мм/с}].$$

Окончательно для теоретического объемного расхода жидкости за одну минуту получаем выражение

$$\begin{aligned} Q_t &= s[\text{мм}^2] \cdot X[\text{мм/с}] \cdot 60 = \\ &= 7.5 \cdot 10^{-3} \cdot s \cdot a[\text{мм}^3/\text{мин}], \end{aligned}$$

где s — поперечная площадь цилиндра шприца, которая вычисляется как площадь круга:

$$s = \frac{\pi \cdot d^2}{4}[\text{мм}^2].$$

Внутренний диаметр d цилиндра шприца равен 4.5 и 12.4 мм для шприцов объемом 1 и 5 мл соответственно.

Отклонение средних значений объемного расхода от теоретических оценивалось при помощи величины относительной погрешности (δQ) ₂, которая может служить мерой систематической погрешности. Значения Q_t и (δQ) ₂, найденные для всех используемых в работе скоростей подачи импульсов, приведены в табл. 3.

Как видно из этой табл. 3, использование в установке шприца объемом 5 мл позволяет варьировать объемный расход жидкости в довольно широком интервале примерно от 65 мкл/мин до 5.4 мл/мин. Величина случайной погрешности, оцениваемая коэффициентом вариации, для большинства скоростей не превышает 0.7%, в то время как отклонение средних значений объемного расхода от теоретических не превышает 0.3%, что не уступает характеристикам шприцевых насосов, которые были разработаны другими авторами, а также промышленно выпускаемых аналогов [14]. При необходимости объемный расход жидкости можно легко снизить либо увеличить, используя шприц меньшего или большего объема соответственно. Например, использование шприца объемом 1 мл, как показано в табл. 3, позволило уменьшить объемный расход до 24.0 мкл/мин, при этом коэффициенты вариации сохраняются на прежнем уровне.

ТЕСТИРОВАНИЕ МИКРОФЛЮИДНОЙ УСТАНОВКИ

Генерация одинарных эмульсий

Общая схема микрофлюидной установки, предназначенной для генерации одинарных эмульсий (рис. 3), состоит из двух шприцевых насосов, подключенных посредством силиконовых шлангов к микрофлюидному чипу с геометрией первого типа (МФЧ 1 и МФЧ 2). В данной части

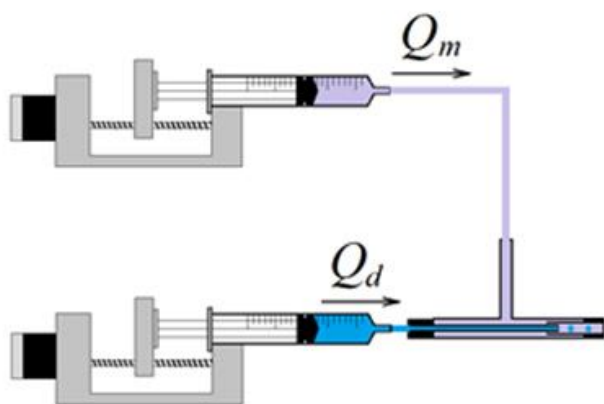


Рис. 3. Общая схема микрофлюидной установки для генерации одинарных эмульсий

работы было исследовано влияние объемного расхода матрицы (Q_m) и дисперсной фазы (Q_d) на размер каплей эмульсии, а также изучена стабильность получения каплей путем оценки коэффициента вариации для их диаметров. С этой целью эмульсия собиралась в стеклянную емкость, после чего проводилось ее микроскопическое исследование с использованием оптического микроскопа МИР-2 (ЛОМО, Россия), соединенного с цифро-

вой окулярной камерой Levenhuk модели C130, подключаемой через USB кабель к компьютеру, что позволяло выводить изображение непосредственно на экран монитора. Для каждого образца эмульсии анализировалось порядка 80 каплей. Определение средних диаметров каплей проводилось с использованием программы Fiji [38].

На рис. 4 представлены зависимости средних диаметров каплей эмульсий от объемных расходов матрицы и дисперсной фазы для МФЧ 1 и 2 во всем исследуемом интервале объемных расходов. На данных диаграммах размер кружков соответствует диаметрам генерируемых каплей. Для МФЧ 1 Q_m варьировался в интервале от 63.3 мкл/мин до 5430.1 мкл/мин, Q_d — от 63.3 мкл/мин до 361.9 мкл/мин. Для МФЧ 2 Q_m варьировался от 180.8 мкл/мин до 1361.1 мкл/мин, Q_d — от 24.0 мкл/мин до 180.8 мкл/мин. Как видно из приведенных диаграмм, с использованием разработанных микрофлюидных чипов удалось получить капли в широком диапазоне диаметров от 1200 до 156 мкм.

В качестве примера на рис. 5 представлены микрофотографии эмульсий, полученные при помощи микрофлюидных чипов 1 (б–г, и) и 2 (д–з) при различных отношениях объемных расходов $q = Q_m / Q_d$. Для МФЧ 1 q равна 2.0 (и), 3.0 (б), 50.3 (в) и 60.4 (г), для МФЧ 2 — 2.9 (д), 5.0 (ж, з) и 22.6 (е).

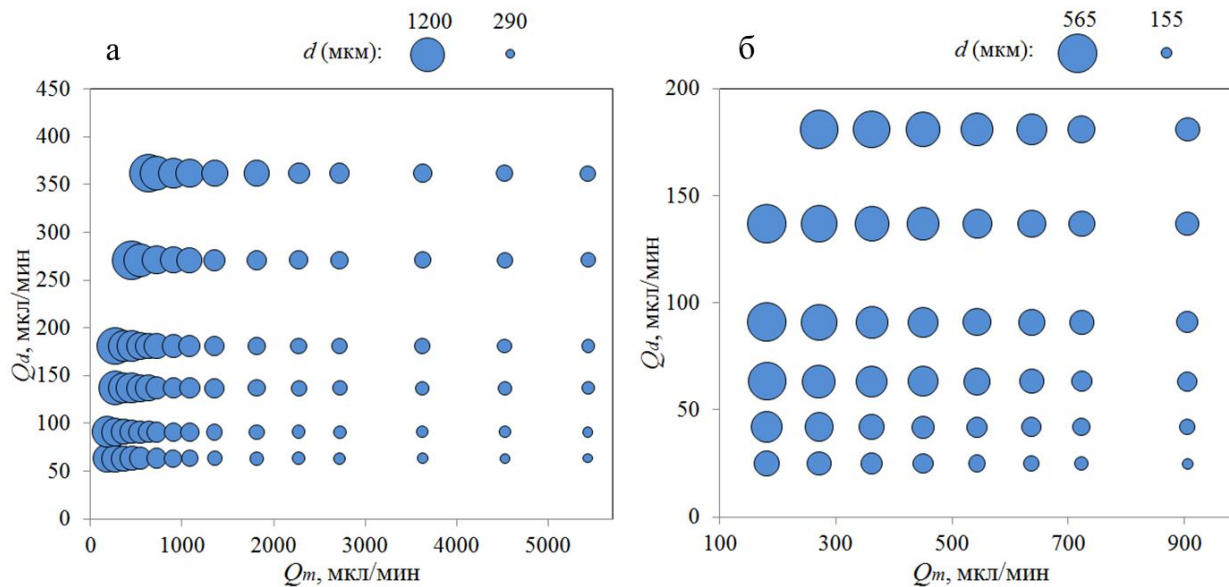


Рис. 4. Зависимость среднего диаметра каплей воды d в эмульсиях вода / (ВМ + 7 масс.% Span) от объемного расхода дисперсной фазы Q_d и фазы матрицы Q_m для МФЧ 1 (а) и МФЧ 2 (б)

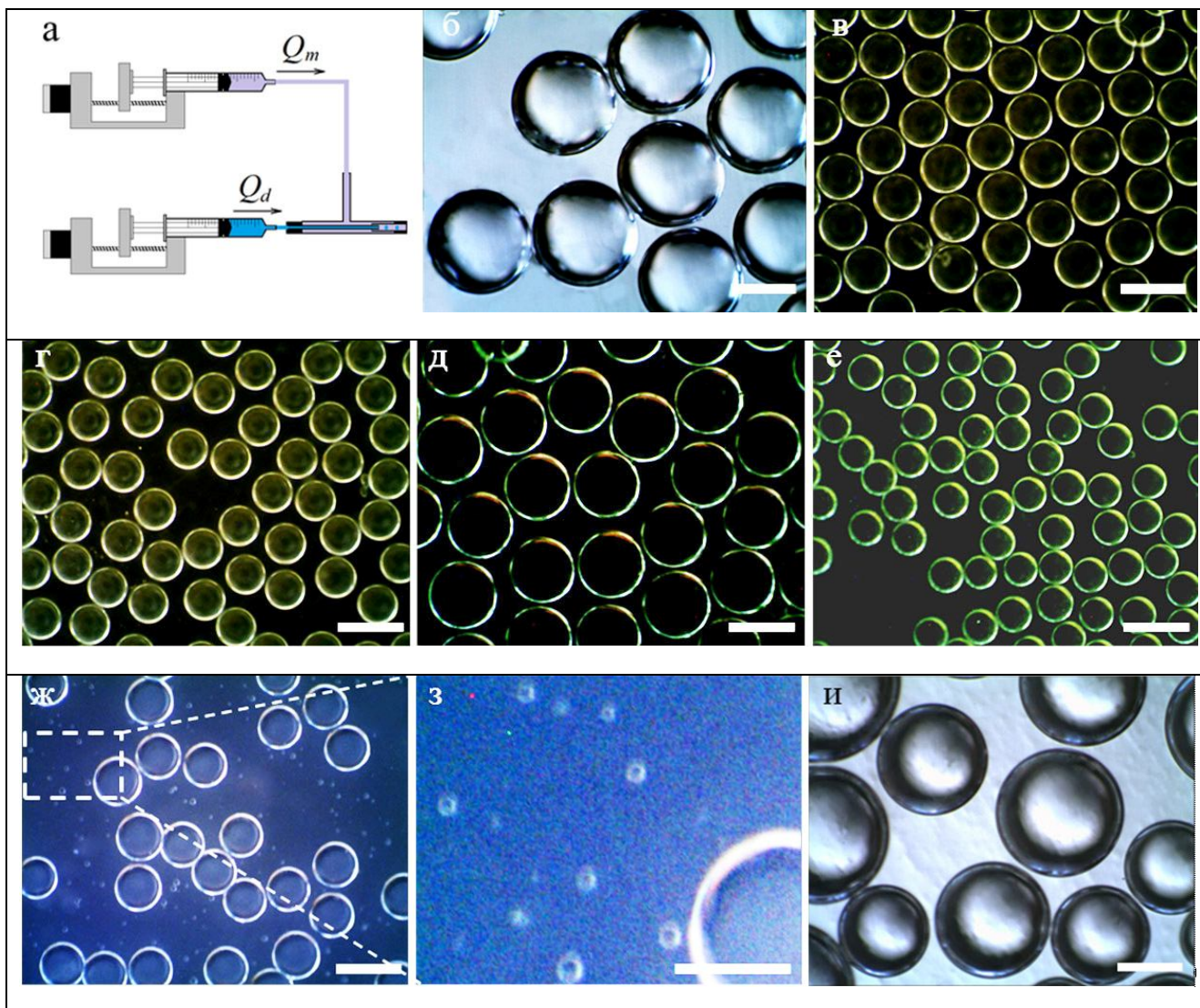


Рис. 5. Микрофотографии одинарных эмульсий, полученных с использованием МФЧ 1 и МФЧ 2 по схеме (а) при различных объемных расходах матрицы Q_m и дисперсной фазы Q_d .

МФЧ 1: (б) — $Q_d = 90.4$ мкл/мин, $Q_m = 271.3$ мкл/мин; (в) — $Q_d = 90.4$ мкл/мин, $Q_m = 4525.5$ мкл/мин; (г) — $Q_d = 90.4$ мкл/мин, $Q_m = 5430.1$ мкл/мин; (и) — $Q_d = 361.9$ мкл/мин, $Q_m = 723.3$ мкл/мин; МФЧ 2: (д) — $Q_d = 63.3$ мкл/мин, $Q_m = 180.8$ мкл/мин; (е) — $Q_d = 24.0$ мкл/мин, $Q_m = 542.1$ мкл/мин; (ж), (з) — $Q_d = 180.8$ мкл/мин, $Q_m = 905.2$ мкл/мин.

Масштабная линейка для (з) — 250 мкм, на остальных — 500 мкм

Степень дисперсности капель при этом может сильно варьироваться в зависимости от величины Q_m и Q_d . Для МФЧ 1 вплоть до значений $Q_d = 271.3$ мкл/мин и во всем исследованном интервале Q_m коэффициент вариации не превышает 1.9%, что, в частности, демонстрируют микрофотографии, приведенные на рис. 5, б–г. При Q_d выше 271.3 мкл/мин происходит увеличение степени полидисперсности генерируемых капель, так, для $Q_d = 361.5$ мкл/мин c_v изменяется в интервале от 6.2% (для $Q_m = 905.2$ мкл/мин) до 9.8% (для $Q_m = 1360$ мкл/мин).

Иначе обстоит дело с МФЧ 2. При всех используемых в работе значениях Q_d и значениях Q_m ниже 634.8 мкл/мин наблюдался процесс генерации однородных капель эмульсии, для которых c_v был ниже 2.0% (см. рис. 5, д, е). Превышение Q_m величины 634.8 мкл/мин приводит к появлению капель с малыми диаметрами в интервале 10–40 мкм, как показано на рис. 5, ж, и в увеличенном масштабе на рис. 5, з. Полученные результаты могут быть объяснены сменой режимов формирования капель с капаящего (dripping) на струйный (jetting) при превышении критических значений

объемных расходов матрицы или дисперсной фазы. В качестве критериев, определяющих границы режимов, было предложено [39] для матрицы использовать капиллярное число $Ca_m = \eta_m u_m / \gamma_{12}$ (η_m — вязкость матрицы, u_m — скорость матрицы), для дисперсной фазы — число Вебера $We_d = \rho_d D_2 u_d^2 / \gamma_{12}$ (ρ_d — плотность дисперсной фазы, u_d — скорость дисперсной фазы). При малых значениях Q_m и Q_d и, как следствие, малых Ca_m и We_d для обоих МФЧ наблюдается капающий режим, характеризующийся высокой степенью монодисперсности генерируемых капель. При увеличении We_d в условиях неизменности Ca_m происходит переход к режиму "уширяющейся струи" (widening jetting); в свою очередь увеличение Ca_m при неизменном We_d приводит к переходу в режим "сужающейся струи" (narrowing jetting). Генерация капель в струйном режиме осуществляется в результате возникновения неустойчивости Релея — Плато и обычно сопровождается увеличением степени полидисперсности капель эмульсии [40, 41]. Вероятно, именно сменой режимов можно объяснить рост коэффициентов вариации для обоих чипов при больших Q_m и Q_d , наблюдающихся в настоящей работе. В частности, для МФЧ 1 при $Q_d = 361.5$ мкл/мин, при котором происходит рост неоднородности размеров генерируемых капель (рис. 5, и), число Вебера We_d равно 1.65. При этом, несмотря на то что Ca_m при максимальном объемном расходе матрицы $Q_m = 5430.1$ мкл/мин достигает значения 2.0, влияния Q_m на степень монодисперсности капель не было обнаружено, что, к примеру, можно увидеть из рис. 5, г. Для МФЧ 2 максимальное значение We_d при $Q_d = 180.8$ мкл/мин составляет 0.41, и коэффициент вариации для генерируемых капель практически не изменяется в изученном интервале Q_d . Достижение величины $Q_m = 453.8$ мкл/мин, при которой $Ca_m = 1.1$, сопровождается появлением значительного количества капель-спутников, чьи диаметры составляют в среднем 10% от диаметров основных капель. На рис. 4 средние диаметры приведены без учета таких капель. Отметим, что разработанные микрофлюидные установки, использующие оба МФЧ, позволяют получать эмульсии в режиме стабильной генерации капель, не уступающие по степени однородности эмульсиям, генерируемым в работах других авторов [32, 33].

Анализ рис. 4 показывает, что увеличение Q_m при неизменном Q_d приводит к закономерному уменьшению среднего диаметра генерируемых капель, что объясняется увеличением капиллярного числа матрицы Ca_m . Например, при $Q_d = 63.3$ мкл/мин для МФЧ 1 средний диаметр капель уменьшается с 880 мкм до 290 мкм при увеличении Q_m от 180.8 до 5430.1 мкл/мин;

для МФЧ 2 — с 553 мкм до 280 мкм при увеличении Q_m от 180.8 до 905.2 мкл/мин. Из данного примера также видно, что замена в МФЧ 1 второй иглы на иглу с меньшим внутренним диаметром, т.е. переход к МФЧ 2 также приводит к генерации капель с меньшими размерами, поскольку увеличиваются скорость матрицы u_m и, как следствие, Ca_m .

Генерация двойных эмульсий

Для генерации двойных эмульсий использовалась установка, состоящая из трех шприцевых насосов, соединенных посредством силиконовых шлангов с микрофлюидным устройством со вторым типом геометрии, МФЧ 3, которая схематично изображена на рис. 6. Как и в предыдущем случае, капли эмульсии собирались в стеклянную емкость, после чего проводилось их микроскопическое исследование. Морфология двойных эмульсий гораздо богаче по сравнению с морфологией одинарных. Для композитных капель появляется возможность варьировать большее количество их структурных параметров, включая диаметр композитной капли, толщину оболочки, диаметр внутренней фазы — ядра, а также количество ядер. Этими параметрами можно управлять при помощи изменения объемных расходов всех трех фаз. Некоторые примеры эмульсий, полученных с использованием данной установки, представлены на рис. 7, б–г. Как отмечалось выше, матрицей в данном случае являлась вода с добавлением 7 масс.% ПВС, оболочкой (второй дисперсной фазой, индекс d_2) — вазелиновое масло с 7 масс.% Span 80 и ядром (первой дисперсной фазой, индекс d_1) — вода. Значения объемных расходов Q , приводимые далее, указаны в мкл/мин. Как видно из представленных микрофотографий, при соотношении

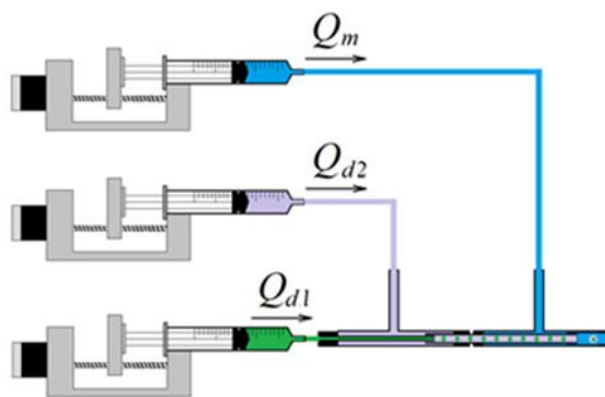


Рис. 6. Схема микрофлюидной установки МФЧ 3 для генерации двойных эмульсий

$Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 90.4 / 1361.1$ (рис. 7, б) происходит образование композитных капель с малой толщиной оболочки равной 20 мкм, при этом диаметр всей капли составляет 430 мкм. Увеличение объемного расхода второй дисперсной фазы в два раза (рис. 7, в), при неизменных Q_{d2} и Q_m , приводит к генерации капель с большей толщиной оболочки, равной 70 мкм. Диаметр композитной капли в данном случае составляет 520 мкм. Диаметр ядра при этом практически не изменяется. Если дополнительно уменьшать объемный расход дисперсной фазы $d1$, как в случае, изображенном на

рис. 7, г, то толщина оболочки также будет увеличиваться за счет уменьшения диаметра ядра. Толщина оболочки в данном случае равна 100 мкм, диаметр ядра — 330 мкм. Диаметр композитной капли практически не изменяется и составляет порядка 540 мкм. Приведенные микрофотографии двойных эмульсий демонстрируют довольно высокую степень однородности генерируемых капель. Коэффициент вариации для ядер композитных капель изменяется в интервале 1.5–3.4%, для диаметров всей композитной капли в интервале 1.5–3.2%.

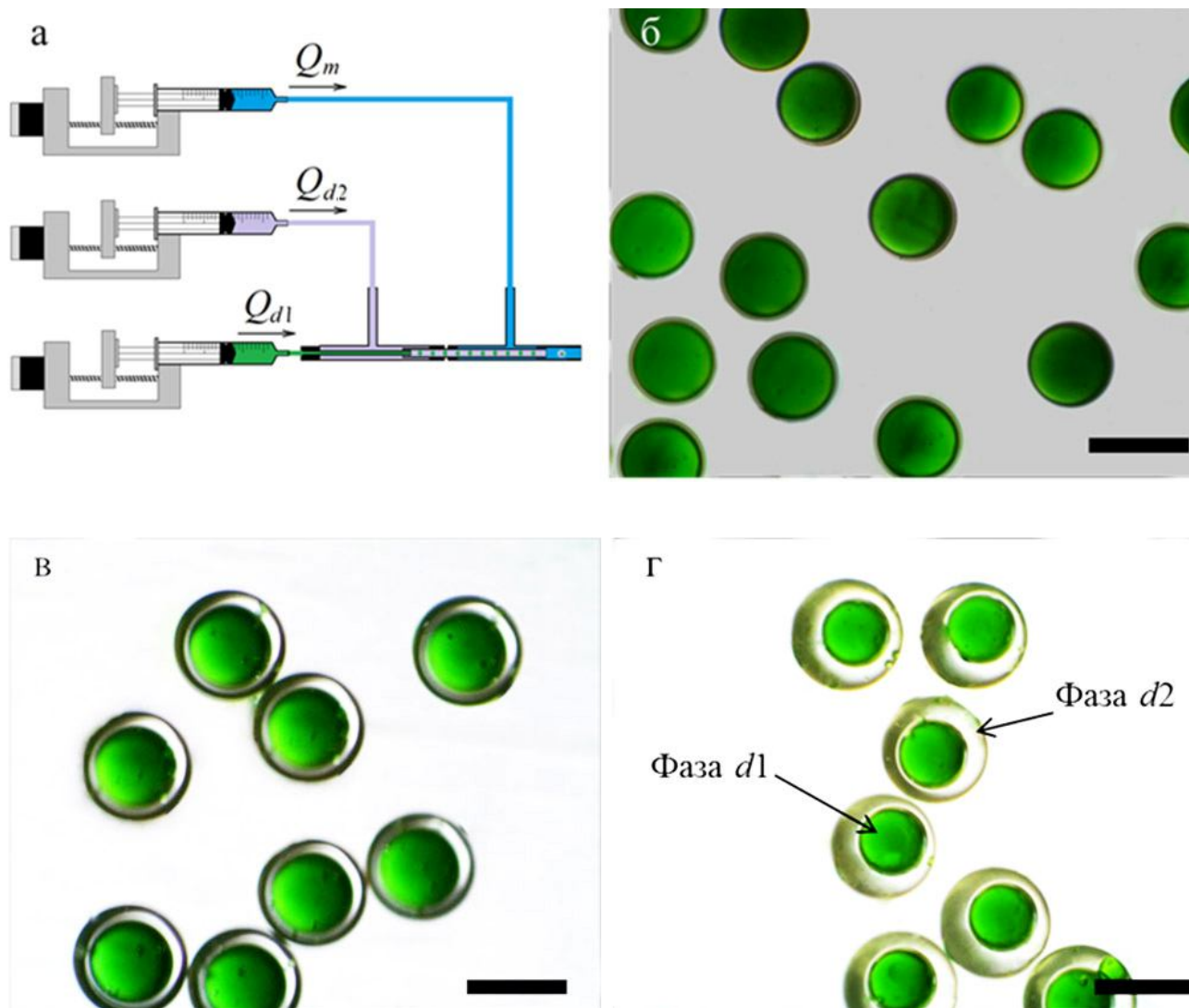


Рис. 7. Микрофотографии эмульсий, полученных с использованием установки МФЧ 3 (а) при различных соотношениях объемных расходов матрицы Q_m и дисперсных фаз ядра Q_{d1} и оболочки Q_{d2} .

б — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 90.4 / 1361.1$; в — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 180.8 / 1361.1$; г — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 63.3 / 180.8 / 1361.1$.

Значения объемных расходов указаны в мкл/мин. Масштабные линейки соответствуют 500 мкм

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе были спроектированы и собраны DIY-микрофлюидные установки для капельной микрофлюидики, включающие систему подачи жидких компонентов, выполненную на основе шприцевых насосов, и микрофлюидные чипы с различной геометрией. Разработка составных частей микрофлюидных установок осуществлялась с использованием широкодоступных компонентов и метода 3D-печати для создания некоторых деталей шприцевых насосов, что позволило создать очень недорогие установки для генерации эмульсий с различной морфологией. Производство одного шприцевого насоса с учетом стоимости полимеров, затраченных на печать, составляет около 2.5 тыс. руб., что совершенно несопоставимо с коммерческими аналогами, обладающими схожими характеристиками, чья стоимость может доходить до нескольких сотен тыс. руб. [14]. Цена полной системы, состоящей из трех насосов, системы управления, выполненной на базе микроконтроллерной платформы Arduino UNO и микрофлюидного чипа, составляет порядка 10 тыс. руб.

На примере получения одинарных и двойных эмульсий были продемонстрированы возможности разработанных микрофлюидных установок и показано, что они ничем не уступают ранее пред-

ставленным проектам. Для микрофлюидных чипов, собранных для генерации одинарных эмульсий (МФЧ 1 и МФЧ 2), были определены границы объемных расходов матрицы Q_m и дисперсной фазы Q_d , в которых возможно получать монодисперсные капли. Для МФЧ 1 генерация капель с высокой степенью однородности ($c_v \leq 1.9\%$) наблюдается вплоть до значений $Q_d = 271.3$ мкл/мин и во всем исследованном интервале Q_m (от 63.3 до 5430.1 мкл/мин). Для МФЧ 2 капли, имеющие $c_v \leq 2.0\%$, были получены при всех используемых значениях Q_d (от 24.0 до 180.8 мкл/мин) и Q_m ниже 634.8 мкл/мин. Также высокая однородность наблюдалась при генерации двойных эмульсий типа вода-в-масле-в-воде, в данном случае коэффициент вариации для ядер композитных капель не превышал 3.4%, для всей капли — 3.2%.

Таким образом, на основе полученных результатов можно сделать вывод о принципиальной возможности разработки недорогих DIY-установок для капельной микрофлюидики, обладающих достаточными для большинства приложений характеристиками, не прибегая к использованию дорогостоящих коммерческих решений и трудоемких технологий прототипирования чипов.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Табл. П. Составные части, используемые для сборки системы из трех шприцевых насосов

Позиция на рис. 1	Составные части	Количество
Механические компоненты		
1	Левая опора	3
2	Правая опора	3
3	Каретка	3
4, 13, 15, 20	Болт М3×16	36
4, 13, 15, 16, 20	Шайба М3	60
13, 15, 16, 20	Гайка М3	36
5	Муфта	3
6	Шпилька М5×200	3
7	Подшипник шариковый 625ZZ	3
7	Шайба М12	3
8	Гайка М5	3
9	Направляющие	6
10	Линейный подшипник	6
11	Шприц	3
12, 14	Пластина	6
19	Основа	3

Табл. II. Окончание

Позиция на рис. 1	Составные части	Количество
Электронные компоненты		
–	Arduino Uno R3	1
17	Шаговый двигатель Nema	3
18	Концевой выключатель	3
–	Шильд CNC для Arduino Uno	1
–	Драйвер шагового двигателя DRV8825	3
–	Переключатель 2.54 мм	9
–	Источник питания	1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Berlanda S.F., Breifeld M., Dietsche C.L., Dittrich P.S. Recent advances in microfluidic technology for bioanalysis and diagnostics // *Anal. Chem.* 2021. Vol. 93, no. 1. P. 311–331. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04366
- Microfluidics: fundamentals, devices and applications / Eds.: Song Y., Cheng D., Zhao L. Weinheim: Wiley-VCH, 2018. 544 p.
- Whitesides G.M. The origins and the future of microfluidics // *Nature.* 2006. Vol. 442, no. 7101. P. 368–373. DOI: 10.1038/nature05058
- Iakovlev A.P., Erofeev A.S., Gorelkin P.V. Novel pumping methods for microfluidic devices: a comprehensive review // *Biosensors.* 2022. Vol. 12, no. 11. Id. 956. DOI: 10.3390/bios12110956
- Mavrogianis N., Ibo M., Fu X., Crivellari F., Gagnon Z. Microfluidics made easy: a robust low-cost constant pressure flow controller for engineers and cell biologists // *Biomicrofluidics.* 2016. Vol. 10. Id. 034107. DOI: 10.1063/1.4950753
- Shang L., Cheng Y., Zhao Y. Emerging Droplet Microfluidics // *Chem. Rev.* 2017. Vol. 117. P. 7964–8040. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00848
- Кухтевич И.В., Посмитная Я.С., Белоусов К.И., Букатин А.С., Евстапов А.А. Принципы, технологии и устройства “капельной” микрофлюидики. Ч. 1. // *Научное приборостроение.* 2015. Т. 25, № 3. С. 65–85. URL: <http://iairas.ru/mag/2015/full3/Art7.pdf>
- Matula K., Rivello F., Huck W.T.S. Single-cell analysis using droplet microfluidics // *Adv. Biosys.* 2020. Vol. 4, iss. 1. Id. 1900188. DOI: 10.1002/adbi.201900188
- Clausell-Tormos J., Lieber D., Baret J.-C., et al. Droplet-based microfluidic platforms for the encapsulation and screening of mammalian cells and multicellular organisms // *Chem. Biol.* 2008. Vol. 15, iss. 5. P. 427–437. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.04.004
- Wang J., Li Y., Wang X., et al. Droplet microfluidics for the production of microparticles and nanoparticles // *Micromachines.* 2017. Vol. 8, no. 1. Id. 22. DOI: 10.3390/mi8010022
- Kim J. H., Jeon T.Y., Choi T.M., Shim T.S., Kim S., Yang S. Droplet microfluidics for producing functional microparticles // *Langmuir.* 2014. Vol. 30, no. 6. P. 1473–1488. DOI: 10.1021/la403220p
- Han X., Zhang Y., Tian J., Wu T., Li Z., Xing F., Fu S. Polymer-based microfluidic devices: a comprehensive review // *Polym. Eng. Sci.* 2022. Vol. 62, iss. 1. P. 3–24. DOI: 10.1002/pen.25831
- Faustino V., Catarino S.O., Lima R., Minas G. Biomedical microfluidic devices by using low-cost fabrication techniques: A review // *J. Biomech.* 2016. Vol. 49, no. 11. P. 2280–2292. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.031
- Wijnen B., Hunt E.J., Anzalone G.C., Pearce J.M. Open-source syringe pump library // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, iss. 9. Id. E107216. DOI: 10.1371/journal.pone.0107216
- Damoah I.S., Botchie D. Do-It-Yourself (DIY) laboratories and science, technology, and innovation (STI): trends, implications and future research // *Technol. Anal. Strateg. Manag.* 2021. Vol. 33, iss. 10. P. 1267–1280. DOI: 10.1080/09537325.2021.1942826
- Ravindran S. How DIY technologies are democratizing science // *Nature.* 2020. Vol. 587, no. 7834. P. 509–511. DOI: 10.1038/d41586-020-03193-5
- Booeshaghi A.S., Beltrame E.V., Bannon D., Gehring J., Pachter L. Principles of open source bioinstrumentation applied to the Poseidon syringe pump system // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9. Id. 12385. DOI: 10.1038/s41598-019-48815-9
- Lake J.R., Heyde K.C., Ruder W.C. Low-cost feedback-controlled syringe pressure pumps for microfluidics applications // *PLoS One.* 2017. Vol. 12, iss. 4. Id. E175089. DOI: 10.1371/journal.pone.0175089
- Garcia V.E., Liu J., DeRisi J.L. Low-cost touchscreen driven programmable dual syringe pump for life science applications // *HardwareX.* 2018. Vol. 4. Id. E00027. DOI: 10.1016/j.ohx.2018.e00027
- Sadegh-cheri M. Using the recycled parts of a computer DVD drive for fabrication of a low-cost Arduino-based syringe pump // *J. Chem. Educ.* 2022. Vol. 99, iss. 2. P. 521–525. DOI: 10.1021/acs.jchemed.1c00260
- Samokhin A.S. Syringe pump created using 3D printing technology and Arduino platform // *J. Anal. Chem.* 2020. Vol. 75, no. 3. P. 416–421. DOI: 10.1134/S1061934820030156
- Behrens M.R., Fuller H.C., Swist E.R., Wu J., Islam Md.M., Long Z., Ruder W.C., Steward R. Open-source, 3D-printed peristaltic pumps for small volume

- point-of-care liquid handling // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10. Id. 1543. DOI: 10.1038/s41598-020-58246-6
23. *Ching T., Vasudevan J., Tan H. Y., Lim C.T., Fernandez J., Toh Y., Hashimoto M.* Highly-customizable 3D-printed peristaltic pump kit // *HardwareX.* 2021. Vol. 10. Id. E00202. DOI: 10.1016/j.ohx.2021.e00202
 24. *Gao R.Z., Hebert M., Huissoon J., Ren C.L.* μ Pump: an open-source pressure pump for precision fluid handling in microfluidics // *HardwareX.* 2020. Vol. 7. Id. E00096. DOI: 10.1016/j.ohx.2020.e00096
 25. *Challa P.K., Kartanas T., Charmet J., Knowles T.P.J.* Microfluidic devices fabricated using fast wafer-scale LED-lithography patterning // *Biomicrofluidics.* 2017. Vol. 11, iss. 1. Id. 014113. DOI: 10.1063/1.4976690
 26. *Rizqika R., Whulanza Y., Charmet J., Kiswanto G., Soemardi T. P.* Characterization of homemade UV-LED photolithography to realize high aspect ratio channels // *AIP Conf. Proc.* 2020. Vol. 2227, iss. 1. Id. 020010. DOI: 10.1063/5.0000873
 27. *Rajan D.K., Lekkala J.* A maskless exposure device for rapid photolithographic prototyping of sensor and microstructure layouts // *Procedia Eng.* 2010. Vol. 5. P. 331–334. DOI: 10.1016/j.proeng.2010.09.115
 28. *Ghosh R., Gopalakrishnan S., Savitha R., Renganathan T., Pushpavanam S.* Fabrication of laser printed microfluidic paper-based analytical devices (LP- μ PADs) for point-of-care applications // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9. Id. 7896. DOI: 10.1038/s41598-019-44455-1
 29. *Nishat S., Jafry A.T., Martinez A.W., Awan F.R.* Paper-based microfluidics: simplified fabrication and assay methods // *Sens. Actuators B: Chem.* 2021. Vol. 336. Id. 129681. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129681
 30. *Singhal H.R., Prabhu A., Nandagopal G.M.S., Dheivasingamani T., Mani N.K.* One-dollar microfluidic paper-based analytical devices: Do-It-Yourself approaches // *Microchem. J.* 2021. Vol. 165. Id. 106126. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106126
 31. *Bhattacharjee N., Urrios A., Kanga S., Folch A.* The upcoming 3D-printing revolution in microfluidics // *Lab. Chip.* 2016. Vol. 16, iss. 10. P. 1720–1742. DOI: 10.1039/c6lc00163g
 32. *Li T., Zhao L., Liu W., Xua J., Wang J.* Simple and reusable off-the-shelf microfluidic devices for the versatile generation of droplets // *Lab. Chip.* 2016. Vol. 16, iss. 24. P. 4718–4724. DOI: 10.1039/c6lc00967k
 33. *Sun L., Li T., Zhang B., Zhang M., Xu J., Wang J.* An off-the-shelf microfluidic device for the controllable fabrication of multiple-holed hollow particles and their cell culture applications // *Mater. Chem. Front.* 2021. Vol. 5, iss. 7. P. 3149–3158. DOI: 10.1039/d0qm01014f
 34. FreeCAD, Your own 3D parametric modeler. URL: <https://www.freecadweb.org> (дата обращения: 15.05.2023).
 35. Software: Arduino. URL: <https://www.arduino.cc/en/software> (дата обращения: 15.05.2023).
 36. AccelStepper library for Arduino. [Электронный ресурс] URL: <https://www.airspayce.com/mikem/arduino/AccelStepper/index.html> (дата обращения: 15.05.2023).
 37. *Dincer I., Zamfirescu C.* *Drying phenomena: theory and applications.* Chichester: Wiley, 2016. 512 p.
 38. *Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Cardona A.* Fiji: an open-source platform for biological-image analysis // *Nat. Methods.* 2012. Vol. 9, no. 7. P. 676–682. DOI: 10.1038/nmeth.2019
 39. *Utada A.S., Fernandez-Nieves A., Stone H.A., Weitz D.A.* Dripping to jetting transitions in coflowing liquid streams // *Phys. Rev. Lett.* 2007. Vol. 99, iss. 9. Id. 094502. DOI: 10.1103/PhysRevLett.99.094502
 40. *Chen Y., Wu L., Zhang C.* Emulsion droplet formation in coflowing liquid streams // *Phys. Rev. E.* 2013. Vol. 87, iss. 1. Id. 013002. DOI: 10.1103/PhysRevE.87.013002
 41. *Wang Y., Huang Y., Li H., Zhang L.* A convenient plug-and-play coaxial microfluidic device and quantitative prediction of monodisperse droplets generation // *J. Micro-mech. Microeng.* 2020. Vol. 30, no. 6. Id. 065009. DOI: 10.1088/1361-6439/ab87ee

МИРЭА – Российский технологический университет, Москва

Контакты: *Полдушов Максим Александрович*, poldushov@mail.ru

Материал поступил в редакцию 27.05.2023

DEVELOPMENT OF A DIY PLATFORM FOR DROPLET-BASED MICROFLUIDICS

M. A. Poldushov

MIREA – Russian Technological University, Moscow, Russia

The development of a microfluidic platform for most research laboratories is a difficult task, primarily because of the high cost of its components. In this regard, numerous studies are being carried out to modernize existing or find new methods for manufacturing such devices. The paper discusses the possibility of developing a DIY (Do-It-Yourself) droplet-based microfluidic platform, which includes a fluid delivery system consisting of syringe pumps and microfluidic chips with various geometries. Both syringe pumps and microfluidic chips were fabricated using widely available off-the-shelf components. Some mechanical parts of the pumps were made using 3D printing. The microfluidic setup was controlled using an Arduino UNO board. It was shown that the proposed platform is not inferior to the systems previously reported by other authors on a variety of examples of the generation of emulsions with various forms of morphology.

Keywords: microfluidic platform, droplet-based microfluidic, microcontroller boards, Arduino

INTRODUCTION

The last few decades have been truly revolutionary for the development of microfluidic technologies. During this time, microfluidics has formed a separate interdisciplinary field of science, and its methods have become practically indispensable in a number of industrial applications and research areas [1, 2]. Microfluidics, as a separate scientific discipline, deals with the study of the behavior and control of fluid flows at the micron and nanometer levels [2, 3]. The generation of fluid flows is carried out using special devices called microfluidic devices, or microfluidic chips (MFC). Microfluidic chips are usually defined as devices for manipulating small (up to picoliter) volumes of fluids (gases) through the use of systems of microchannels formed in substrates of various natures [2]. In addition to MFCs, microfluidic platforms (MPs) necessarily include systems for supplying and controlling the flow of liquids (or gases), which in most cases use syringe, peristaltic, or pressure pumps [4, 5], but can be implemented in many other ways [4].

One of the intensively developing areas of microfluidic technologies is the development of DBMDs — droplet-based microfluidic devices that allow the formation and control of microdroplets of liquids that are in the continuous phase of another immiscible liquid [6, 7]. The possibility of generating monodisperse emulsions and further precise manipulation of individual small volumes of liquid within a microfluidic chip makes DBMDs extremely popular in many areas. In biological studies, droplet microfluidics methods are used to encapsulate individual cells [6–8], DNA or RNA molecules [6], and multicellular organisms [9] within drops of an emulsion. Separate drops can be

used as microreactors (the so-called "droplet microreactors"), inside of which micro- and nanoparticles of various natures can be synthesized [2, 6, 10, 11].

Despite the undeniable advantages of using microfluidic technologies to solve many problems, their high cost remains the main factor limiting their implementation by various laboratories. For this reason, an intensive search for new methods and improvements to already available ones is necessary for the production of various components of microfluidic platforms. First of all, this concerns the manufacturing technologies of MPs. Initially used for these purposes, quartz and silicate glass are replaced, where possible, by more accessible and easy-to-process polymeric materials, such as polycarbonate (PC), polymethyl methacrylate (PMMA), polydimethylsiloxane (PDMS), and others [12]. Depending on the substrate material of the microfluidic chip, various methods for prototyping microfluidic chips are used. Soft lithography is widely used [2, 6, 12], but it is a multi-stage and very labor-intensive process that requires photomasks, the production of which makes a significant contribution to the cost of the final product [13]. Alternative methods of chip prototyping are being developed, including maskless lithography technologies, injection molding, pressing (embossing) methods for the development of MPs from thermoplastics, laser ablation, and others. In all of the above methods of manufacturing chips, specialized, very expensive equipment is required. No less financial costs are required for the implementation of liquid component flow control systems, which, in addition to the hardware, include software that regulates the operation of these systems. The cost of commercial ready-made solutions in this case can be many tens of thousands of dollars [5, 14].

One of the possible solutions for research teams could be the use of both software and hardware open-source products. In many ways, numerous open-source initiatives gave impetus to the emergence of a very significant phenomenon of modern science — Do-It-Yourself (DIY) projects, on the basis of which it became possible to create entire research laboratories [15, 16]. Among the technologies that allow the creation of many, including very complex DIY research tools, one can single out 3D printing technologies, as well as the emergence of very affordable microcontroller platforms for prototyping electronic devices using open source code, such as Arduino, Raspberry Pi, and their analogues [14, 17]. Various open-source tools are also fully utilized for the development of microfluidic components. We only mention some of the solutions proposed in this area. Based on the microcontroller platforms Arduino and Raspberry Pi, systems for supplying liquid components were developed using DIY syringe [14, 17–21], peristaltic [22, 23], and pressure [24] pumps. In most of these products, the mechanical parts of the installations were produced with 3D printing [14, 17–19, 21–23], sometimes it was proposed to use parts of manufactured devices [20]. DIY-technologies in the field of prototyping microfluidic chips are intensively developing. First, research continues on "traditional" lithographic prototyping methods: the development of photolithographic setups using UV LEDs [25, 26], the use of DLP (Digital Light Processing) projectors for maskless lithography [27], etc. Secondly, very promising is research in the field of creating paper-based chips [28, 29], which allow the making of very low-cost products [30]. Thirdly, 3D printing technologies are being intensively introduced in the production of chips [31]. Within the framework of drop microfluidics for MFC prototyping, it was proposed [32, 33] to use industrially produced, widely available components, such as medical needles, plastic fittings, tubes, etc., sometimes together with 3D-printed parts, which can significantly reduce the cost and simplify the assembly of these devices. Numerous open-source solutions not only help in the creation of various DIY components of microfluidic installations, but also make it possible to build a full cycle of scientific research based on them, from the design and control of the MFC to the analysis of the obtained data.

Based on the conducted literature analysis, it can be argued that there is a great interest in the creation of self-made devices for use as parts of microfluidic systems in the scientific community. The purpose of this work in this regard was to develop and evaluate the technical capabilities of an affordable and easy-to-build DIY microfluidic setup designed to generate droplets of single and double emulsions.

DESIGN OF THE MICROFLUIDIC DEVICE

General characteristics

The developed MFC consists of two parts: a system for supplying liquid components, and microfluidic chips with varying geometries, in which the direct formation of emulsion droplets occurs. All components of the microfluidic setups came from different sources: either manufactured parts that are widely available, or parts produced using 3D printing. The design of microfluidic installations differed depending on the type (single or double) of the generated emulsions. First, there were microfluidic chips with different designs, which will be described in detail further. Secondly, the system for supplying liquid components differed. A system consisting of two syringe pumps was used to generate single emulsions, and a system of three syringe pumps was used to generate double emulsions. The setup and method for manufacturing both syringe pumps and microfluidic chips are to be described in detail below.

Liquid component supply system

As already noted, the supply of liquid components was carried out using a system of syringe pumps. The general scheme of the developed pumps is shown in Fig. 1.

Fig. 1. General scheme of the syringe pump.

1 — left support; 2 — right support; 3 — carriage; 4 — M3×16 bolts and washers; 5 — clutch; 6 — stud M5×200; 7 — ball bearing and washer; 8 — nut M5; 9 — cylindrical guides; 10 — linear bearing; 11 — syringe; 12, 14 — plates for fastening the syringe; 13, 15, 20 — M3 × 16 bolts, nuts and washers; 16 — M3 nuts, and washers; 17 — stepper motor; 18 — limit switch; 19 — base.
 Insets: I — fastening the limit switch to the carriage, II — fixing the nut 8 in the carriage

The mechanical part of the pump consists of three main elements: the left 1 and right 2 fixed supports, and the movable part, the carriage 3. These parts, as well as the base 19 and plates 12, 14, for attaching the syringe, were 3D printed on an Ender-3 Pro from polylactide. Three-dimensional models for printing were designed using the FreeCAD [34] open source software version 0.19.

A stepper motor 17 is attached to the left support 1 with four M3 × 16 bolts 4. The stepper motor is connected through the clutch 5 to the M5 × 200 stud 6, which, on the opposite side, is held in the right support using a ball bearing and washer 7. The rotation of the stepper motor is transferred to the stud and is converted by means of nut 8 into the forward movement

of the carriage. Nut 8 is firmly fixed in the recess of the carriage, as shown in an enlarged scale in Fig. 1, inset II. The carriage moves smoothly along cylindrical guides 9 on linear bearings 10 located in special recesses.

The thread is cut at both ends of the guides, and they are fixed to the left and right supports with nuts 16. To make the structure more rigid, the left and right supports are attached to the base 19 with bolts 20. The travel of the carriage is limited by the switch 18 installed on its lower part as shown in inset I. Liquid components are fed into the microfluidic chip from standard disposable syringes 11. The plunger of the disposable syringe is attached with plate 12 to the carriage, which is pressed by bolts 13, and the syringe barrel — by plate 14 and bolts 15 — to the right support. The fastening used allows one to securely fix syringes of various volumes (in the work, 1 and 5 ml syringes were used). A similar type of design is implemented in a number of previously presented open-source syringe pump projects [14, 17, 21]. A complete list of parts used to assemble the mechanical parts of the pumps is given in the Appendix, Tab. II. The list is based on a system with three syringe pumps.

Stepper motor control system

The volumetric flow rate of liquid components is regulated by changing the speed of movement of the carriage 3, which in turn is set by the rotation of the stepper motor 17. In the work, stepper motors of the Nema type were used, which were carried out using the Arduino Uno R3 microcontroller platform, coupled with the CNC Shield expansion board version 3.0. The stepper motors used in the work make one complete rotation in 200 steps, which corresponds to an angular resolution of 1.8° . Control pulses were applied to stepper motors using DRV8825 model drivers, which allow working in microstepping mode. A step split of 1/32 was chosen, to establish that the necessary jumpers were fixed on the CNC Shield board. The Arduino board was programmed through the freely distributed software product Arduino IDE, which is available on the official website of the manufacturer [35]. Simultaneous control of three stepper motors was implemented using the AccelStepper library [36]. The code (sketch) is loaded onto the board via a USB cable connected to a personal computer. The entire system was powered by a 90 W (19 V, 4.74 A) power supply connected to the board via a standard 5.5×2.5 mm connector. A complete list of electronic components used in this work is also given in the Appendix, Tab. II.

Design of microfluidic chips

Microfluidic chips for the formation of droplets of single (MFCs 1 and 2) and double (MFC 3) emulsions

were designed in the two geometries shown in Fig. 2, a, б, which can be easily converted one into another.

Fig. 2. Design of microfluidic chips.

a — MFC for the generation of droplets of single emulsions;
 б — MFC for the generation of droplets of double emulsions;
 в — diagram of the droplet generation section (node) with indication of the main dimensions (highlighted by dotted circles on a and б): D_1 — internal diameter of the T-adapter body; D_2, D_3 — internal diameters of the smaller and larger needles of the droplet generation section, respectively; a_1, a_2 — wall thickness of the smaller and larger needles; h is the distance between the ends of the needles;
 Q_d — volumetric flow rate of the dispersed phase;
 Q_{d1}, Q_{d2} — volumetric flow rates of the first and second dispersed phases in the case of double emulsions; Q_m — the volumetric flow rate of the matrix;
 1 — continuous phase, 2 — vertical channel of the adapter, 3 — retainer, 4 — needle, 5 — dispersed phase, 6 — needle, 7 — retainer, 8 — T-shaped adapter, 9, 10 — needles, 11 — retainer, 12 — vertical channel of the second adapter, 13 — continuous phase, 14 — needle, 15 — retainer

Fig. 2, в, shows a diagram of the areas (nodes) for the formation of drops with an indication of the main dimensions, the numerical values of which are presented in Tab. 1. The location of these areas is marked with dotted circles in Fig. 2, a and б. MFC 3 has two drop formation zones: in the first (node 1) the core of the composite drop forms, and in the second (node 2) the whole drop is generated.

In this work, we follow the idea of using publicly available components for assembling MFCs, which was proposed earlier in a number of publications [32, 33]. In the manufacture of chips, T-shaped adapters were used as the body of the MFC, and we used a needle with blunt tips, from which a system of microchannels was built. The chips used only metal needle tips, which were previously removed from their plastic heads. An important advantage of the design of these systems is the ease of assembly of components, which allows, if necessary, their replacement, as well as disassembly for cleaning. Additional processing of the inner surfaces of the needle tips in order to change their wettability with the liquids used in the work was not carried out. The T-shaped adapters were made of polyethylene and had an inner diameter (D_1 in Fig. 2, в) of 2.5 mm. The supply of the continuous phase 1 is carried out through the vertical channel of the T-piece 2 with a volumetric flow Q_m . On one side of the horizontal channel, with the help of a rubber retainer 3, which guarantees the tightness of the assembly, a needle 4 is installed coaxially with the

channel, and through it the dispersed phase 5 with volumetric flow Q_d is supplied. On the opposite side of the horizontal channel, the second needle 6 is also installed coaxially with the first needle with the help of a latch 7. Needle 4 is introduced into needle 6 at a distance of $h = 0.7$ mm, which was set under a microscope.

The dispersed and continuous phases are supplied using syringe pumps connected to the MFC through silicone hoses with an inner diameter of 2.0 mm. In order to vary the size of the droplets obtained, needles with different inner diameters were used. To supply the dispersed phase, a 27G gauge needle with an inner diameter (D_2) of 210 μm was chosen. Needle 6 used gauges 16G and 20G with internal diameters (D_3) 1194 μm (MFC 1) and 603 μm (MFC 2).

Tab. 1. Main dimensions of the droplet generation area of microfluidic devices shown in Fig. 2, B

MFC 3 is a MFC 2 combined with the second T-shaped adapter 12 by means of a latch 11. The second needle 10 is inserted into the latch of the adapters 8 and 12 coaxially with the horizontal channels and at the same level as the first needle 9. The first dispersed phase with a volumetric flow rate Q_{d1} is fed through the needle 9, and the second dispersed phase with a volumetric flow Q_{d2} — through the vertical channel of the adapter 8. Through the vertical channel of the second T-shaped adapter, the third liquid 13 is supplied, which in this case is the continuous phase (Q_m). The generation of composite drops occurs at the exit of the needle 10, which is coaxially inserted into the third needle 14 (node 2). Needle 14 is also fixed in adapter 12 by means of a rubber retainer 15. For needles 9, 10 and 14 gauges, 27G, 20G, and 16G were chosen, respectively.

LIQUID INGREDIENTS, USED IN WORK

In this work, single water-in-oil and double water-in-oil-in-water (B_1 -M- B_2) stabilized emulsions were obtained using the developed MFCs. In the case of single emulsions, vaseline oil VO (OOO YuzhFarm) was used as the continuous phase, and distilled water was used as the dispersed phase. For stabilization of emulsions, a nonionic surfactant, sorbitan monooleate (Span 80, GOST 32770-2014) in an amount of 7 wt.%, was introduced into the continuous phase of the VO.

The B_1 -M- B_2 double emulsion is a composite droplet consisting of an oil phase in which water droplets (first aqueous phase, B_1) are dispersed, which in turn are surrounded by a continuous aqueous phase, which is a matrix (second aqueous phase, B_2) (see be-

low Testing of the microfluidic platform, Fig. 7, 6–r). Distilled water was chosen as phase B_1 and tinted with a small amount of a water-soluble dye to create a contrast for microscopic studies of the morphology of the generated emulsion. VO with the addition of 7 wt.% Span 80 was used as the oil phase. The second aqueous phase B_2 was a solution of polyvinyl alcohol (PVA, GOST 10779-88) in water. The content of PVA in the solution was 7 wt.%. For the designation of all values related to the B_1 phase, which is the first dispersed phase in the double emulsion, the index $d1$ will be used, for the oil phase, which is the second dispersed phase, — the index $d2$, for the matrix, — the index m (see Fig. 2).

The characteristics of the liquids used in the work are given in Tab. 2. The values of surface tension (γ), dynamic viscosity (η) and density (ρ) for water at a temperature of 25 °C are taken from the literature [37]. Surface tensions for solutions (VO + 7 wt.% Span 80) and (Water + 7 wt.% PVA), as well as interfacial tensions (γ_{12}) in water / (VO + 7 wt.% Span 80) systems and (water + 7 wt.% PVA) / (VO + 7 wt.% Span 80) were determined using the hanging drop method with an LK-1 goniometer (OOO NPK Open Science, Russia). The density of the solutions was determined using the pycnometric method. Dynamic viscosity was measured using a HAAKE Rheostress 1 (Thermo Scientific, USA). All values were measured at a temperature of 23.0 ± 0.5 °C.

Tab. 2. Characteristics of the liquids used in the work

In Tab. 2. density values are also given for the pure vaseline oil used to carry out the calibration procedure for syringe pumps.

TESTING OF THE MICROFLUIDIC PLATFORM

As mentioned earlier, the volumetric flow of liquid components is varied by changing the rotation speed of stepper motors. At the first stage of the work, the procedure of calibration and subsequent calibration of syringe pumps were carried out. For this purpose, the frequencies of the supply of control pulses to stepper motors were compared with the volumetric flow rates of the liquid (Q , $\mu\text{L}/\text{min}$). To determine the volumetric flow at a constant motor speed within 15 min with an interval of 1 min, the selection and subsequent weighing of the liquid squeezed out of the syringe were carried out. Graduation was carried out using a 5 mL syringe.

Liquid samples were weighed on an Adventurer AR2140 electronic scale (Ohaus, USA) with an accuracy of 0.1 mg. In order to prevent the loss of part of the liquid as a result of its evaporation, vaseline oil

was chosen for the calibration. The mass flow rate of the liquid determined in the described manner was recalculated into the volumetric flow rate using the preliminary measured value of the density of the VO (see Tab. 2). For the experimental data obtained during the testing of syringe pumps, the standard procedure for their statistical processing (GOST P 8.736–2011) was carried out with the calculation of arithmetic mean values (\bar{Q}), standard deviations (S), standard deviations of arithmetic means ($S_{\bar{Q}}$), relative deviations $(\delta Q)_1$ (at $n = 15$, $p = 0.95$) and coefficients of variation ($c_v = S / \bar{Q}$). The results obtained are presented in Tab. 3.

Tab. 3. Syringe pump test results

For a syringe with a volume of 1 ml in the case of the selected frequencies of control pulses, a very small amount of liquid is squeezed out for weighing (about 0.01 g), which leads to large measurement errors, so the determination of the value \bar{Q} according to the method described above was not carried out. Withdrawal and further weighing of the extruded liquid for this syringe were carried out 8 times with an interval of 10 min. After that, the volumetric flow per 10 min was calculated, and the resulting value was divided by 10 to determine \bar{Q} per minute. Tab. 3 shows both values of the volumetric flow, and the flow per minute is shown in parentheses.

Additionally, for both syringes, the theoretical values of the volumetric flow rate of liquids Q_t were found. The Q_t value was calculated in the following way. Initially, the angular speed of rotation of the stepper motors was calculated, taking into account the implemented step splitting, equal to 1/32, according to the formula

$$B = \frac{a[\text{puls./s}] \cdot 360^\circ}{200[\text{step.}] \cdot 32} = 0.05625 \cdot a[\text{g/s}],$$

where a is the frequency of supply of control pulses to the engine, set with software, and equivalent to the number of steps taken by the engine per second. Since the motor makes one full revolution in 200 steps, a factor of 360/200 appears in the expression.

Then the linear speed X of the carriage was calculated. Considering that the thread pitch of the stud is 0.8 mm, the carriage pushing the syringe plunger due to the rotation of the motor shaft with an angular velocity B , acquires a linear velocity equal to

$$X = \frac{B[\text{g/s}] \cdot 0.8[\text{mm}]}{360^\circ} = 1.25 \cdot 10^{-4} \cdot a[\text{mm/s}].$$

Finally, for the theoretical volumetric flow rate of liquid per 1 minute, we obtain the expression

$$\begin{aligned} Q_t &= s[\text{mm}^2] \cdot X[\text{mm/s}] \cdot 60 = \\ &= 7.5 \cdot 10^{-3} \cdot s \cdot a[\text{mm}^3/\text{min}], \end{aligned}$$

where s is the transverse area of the syringe barrel, which is calculated as the area of a circle:

$$s = \frac{\pi \cdot d^2}{4} [\text{mm}^2].$$

The inner diameter d of the syringe barrel is 4.5 and 12.4 mm for 1 and 5 mL syringes, respectively.

The deviation of the average values of the volume flow from the theoretical values was estimated using the value of the relative error $(\delta Q)_2$, which can serve as a measure of the systematic error. The values of Q_t and $(\delta Q)_2$ determined for all pulse feed rates used in the work are given in Tab. 3.

As Tab. 3 shows, the use of a 5 mL syringe in the setup makes it possible to vary the volumetric flow rate of liquid in a fairly wide range from about 65 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 5.4 mL/min. The value of random error, estimated by the coefficient of variation, for most speeds does not exceed 0.7%, while the deviation of the average values of volumetric flow from theoretical does not exceed 0.3%, which is not inferior to the characteristics of syringe pumps, developed by other authors, as well as industrially produced analogues [14]. If necessary, the volumetric flow rate of the liquid can be easily reduced or increased using a syringe of a smaller or larger volume, respectively. For example, using a 1 mL syringe, as shown in Tab. 3 made it possible to reduce the volumetric flow to 24.0 $\mu\text{L}/\text{min}$, while the coefficients of variation remained.

TESTING MICROFLUIDIC PLATFORM

Generation of single emulsions

The general scheme of a microfluidic setup designed to generate single emulsions (Fig. 3) consists of two syringe pumps connected via silicone hoses to a microfluidic chip with the geometry of the first type (MFC 1 and MFC 2). In this part of the work, the influence of the volumetric flow rate of the matrix (Q_m) and the dispersed phase (Q_d) on the size of emulsion droplets was studied, and the stability of droplet production was studied by estimating the coefficient of variation for their diameters.

Fig. 3. General scheme of a microfluidic platform for the generation of single emulsions

For this purpose, the emulsion was collected in a glass container, then it was examined microscopically using a MIR-2 optical microscope (LOMO, Russia) along with a Levenhuk C130 digital ocular camera connected via a USB cable to a computer, which made it possible to display the image directly on the monitor screen. About 80 drops were analyzed for each emulsion sample. The average droplet diameters were determined using the Fiji program [38].

Fig. 4. Dependence of the average diameter of water droplets d in emulsions of water / (VO + 7 wt.% Span) on the volumetric flow rate of the dispersed phase Q_d and the matrix phase Q_m for MFC 1 (a) and MFC 2 (б)

Fig. 4 shows the dependence of the average diameters of emulsion droplets on the volumetric flow rates of the matrix and dispersed phase for MFC 1 and 2 over the entire range of volumetric flow rates under study. In these diagrams, the size of the circles corresponds to the diameters of the generated droplets. For MFC 1, Q_m varied in the interval from 63.3 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 5430.1 $\mu\text{L}/\text{min}$, Q_d — from 63.3 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 361.9 $\mu\text{L}/\text{min}$. For MFC 2, Q_m varied from 180.8 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 1361.1 $\mu\text{L}/\text{min}$, Q_d — from 24.0 $\mu\text{L}/\text{min}$ to 180.8 $\mu\text{L}/\text{min}$. Using the developed microfluidic chips, it was possible to obtain drops in a wide range of diameters, from 1200 to 156 microns.

As an example, Fig. 5 shows micrographs of emulsions obtained using microfluidic chips 1 (б–г, и) and 2 (д–з) at various ratios of volumetric flow rates $q = Q_m / Q_d$. For MFC 1, q is 2.0 (и), 3.0 (б), 50.3 (в), and 60.4 (г), for MFC 2 — 2.9 (д), 5.0 (ж, з), and 22.6 (е).

Fig. 5. Micrographs of single emulsions obtained using MFC 1 and MFC 2 according to scheme (a) at various volume flow rates of the matrix Q_m and the dispersed phase Q_d .
MFC 1: (б) — $Q_d = 90.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 271.3 \mu\text{L}/\text{min}$; (в) — $Q_d = 90.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 4525.5 \mu\text{L}/\text{min}$; (г) — $Q_d = 90.4 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 5430.1 \mu\text{L}/\text{min}$; (и) — $Q_d = 361.9 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 723.3 \mu\text{L}/\text{min}$;
MFC 2: (д) — $Q_d = 63.3 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 180.8 \mu\text{L}/\text{min}$; (е) — $Q_d = 24.0 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 542.1 \mu\text{L}/\text{min}$; (ж), (з) — $Q_d = 180.8 \mu\text{L}/\text{min}$, $Q_m = 905.2 \mu\text{L}/\text{min}$.
Scale bar for (з) — 250 μm , for the rest — 500 μm

The degree of dispersion of droplets in this case can vary greatly depending on the values of Q_m and Q_d . For MFC 1, up to $Q_m = 271.3 \mu\text{L}/\text{min}$ and over the entire range of Q_m studied, the coefficient of variation does not exceed 1.9%, which, in particular, is demonstrated by the micrographs shown in Fig. 5, б–г.

If Q_d is above 271.3 $\mu\text{L}/\text{min}$, the degree of polydispersity of the generated droplets increases: for $Q_d = 361.5 \mu\text{L}/\text{min}$, c_v changes in the interval from 6.2% (for $Q_m = 905.2 \mu\text{L}/\text{min}$) to 9.8% (for $Q_m = 1360 \mu\text{L}/\text{min}$).

The situation is different with MFC 2. At all Q_d values used in the work and Q_m values below 634.8 $\mu\text{L}/\text{min}$, the process of generating homogeneous emulsion droplets was observed, for which c_v was below 2.0% (see Fig. 5, д, е). Exceeding the Q_m value of 634.8 $\mu\text{L}/\text{min}$ leads to the appearance of droplets with small diameters in the range of 10–40 μm as shown in Fig. 5, ж, and on an enlarged scale in Fig. 5, з. The results obtained can be explained by the change in the modes of droplet generation from dripping to jetting when the critical values of the volumetric flow rates of the matrix or the dispersed phase are exceeded. As criteria that determine the limits of the modes, it was proposed [39] to use the capillary number $Ca_m = \eta_m u_m / \gamma_{12}$ (η_m is the viscosity of the matrix, u_m is the velocity of the matrix) for the matrix, and the Weber number $We_d = \rho_d D_2 u_d^2 / \gamma_{12}$ (ρ_d is the density of the dispersed phase, u_d is the velocity of the dispersed phase) for the dispersed phase. At small values of Q_m and Q_d and, as a consequence, small Ca_m and We_d , for both MFCs, a dripping mode is observed, which is characterized by a high degree of monodispersity of the generated droplets. With an increase in We_d while Ca_m remains unchanged, a transition to the widening jet mode occurs; in turn, an increase in Ca_m with a constant We_d leads to a transition to the narrowing jet mode. The generation of droplets in the jet mode occurs as a result of the onset of the Rayleigh – Plato instability and is usually accompanied by an increase in the degree of polydispersity of the emulsion droplets [40, 41]. Probably, it is the regime change that can explain the increase in the coefficients of variation for both chips at large Q_m and Q_d , observed in the present work. In particular, for MFC 1 at $Q_d = 361.5 \mu\text{L}/\text{min}$, when the heterogeneity of the generated droplets' size increases (Fig. 5, и), the Weber number We_d is 1.65. However, despite the fact that Ca_m reaches 2.0 at the maximum matrix volumetric flow rate $Q_m = 5430.1 \mu\text{L}/\text{min}$, no effect of Q_m on the degree of droplet monodispersity was revealed, which, for example, can be seen in Fig. 5, г. For MFC 2, the maximum value of We_d at $Q_d = 180.8 \mu\text{L}/\text{min}$ is 0.41, and the coefficient of variation for the generated droplets practically does not change in the studied Q_d range. The achievement of $Q_m = 453.8 \mu\text{L}/\text{min}$, at which $Ca_m = 1.1$, is accompanied by the appearance of a significant number of satellite droplets, which diameters are on average 10% of the diameters of the main droplets. Fig. 3 shows average diameters without taking into account such drops. Note that the developed microfluidic platforms using both MFCs make it possible to obtain emulsions in the regime of stable

droplet generation that are not inferior in terms of homogeneity to emulsions generated in the works of other authors [32, 33].

Analysis of Fig. 3 shows that an increase in Q_m at a constant Q_d leads to a regular decrease in the average diameter of the generated droplets, which is explained by an increase in the capillary number of the Ca_m matrix. For example, if $Q_d = 63.3 \mu\text{L}/\text{min}$ for MFC 1, the average droplet diameter decreases from $880 \mu\text{m}$ to $290 \mu\text{m}$ with an increase in Q_m from 180.8 to $5430.1 \mu\text{L}/\text{min}$; for MFC 2 — from $553 \mu\text{m}$ to $280 \mu\text{m}$ with an increase in Q_m from 180.8 to $905.2 \mu\text{L}/\text{min}$. This example also shows that the replacement of the second needle in MFC 1 with a needle with a smaller inner diameter, i.e. the transition to MFC 2 also leads to the generation of droplets with smaller sizes, since the velocity of the matrix u_m and, as a consequence, Ca_m increase.

Generation of double emulsions

To generate double emulsions, we used a setup consisting of three syringe pumps connected via silicone hoses to a microfluidic device with the second type of geometry, MFC 3, which is schematically shown in Fig. 6. As in the previous case, emulsion drops were collected in a glass container, and then examined microscopically. The morphology of double emulsions is much more sophisticated than that of single emulsions. For composite drops, it becomes possible to vary a greater number of their structural parameters, including the diameter of the composite drop, the thickness of the shell, the diameter of the internal phase — the core, and the number of cores.

Fig. 6. Scheme of the microfluidic platform MFC 3 for the generation of double emulsions

These parameters can be controlled by changing the volume flow rates of all three phases. Some examples of emulsions obtained using this setup are shown in Fig. 7, б–г. As noted above, the matrix in this case was water with the addition of 7 wt.% PVA, the shell (the second dispersed phase, index $d2$) was vaseline oil with 7 wt.% Span 80, and the core (the first dispersed phase, index $d1$) was water. The volumetric flow rates Q below are given in $\mu\text{L}/\text{min}$. As can be seen in the micrographs, at the ratio $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 90.4 / 1361.1$ (Fig. 7, б), composite droplets are formed with a rather small shell thickness of $20 \mu\text{m}$, while the diameter of the entire droplet is $430 \mu\text{m}$. An increase in the volumetric flow rate of the second dispersed phase by a factor of two (Fig. 5, в), with Q_{d2} and Q_m unchanged, leads to the generation of drops with a larger shell thickness of $70 \mu\text{m}$. The diameter of the composite drop in this case is $520 \mu\text{m}$.

The core diameter practically does not change. If we additionally reduce the volumetric flow rate of the dispersed phase $d1$, as in the case shown in Fig. 5, г, the shell thickness will also increase due to a decrease in the core diameter. In this case, the shell thickness is $100 \mu\text{m}$, and the core diameter is $330 \mu\text{m}$. The diameter of the composite drop remains almost unchanged and is about $540 \mu\text{m}$. The given micrographs of double emulsions demonstrate a rather high degree of uniformity in the generated droplets. The coefficient of variation for the cores of composite drops varies in the range of 1.5–3.4%, for the diameters of the entire composite drop — in the range of 1.5–3.2%.

Fig. 7. Microphotographs of emulsions obtained using the MFC 3 platform (a) at various ratios of matrix volumetric flow rates Q_m and dispersed phases of the core Q_{d1} and shell Q_{d2} .

б — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 90.4 / 1361.1$;
в — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 90.4 / 180.8 / 1361.1$;
г — $Q_{d1} / Q_{d2} / Q_m = 63.3 / 180.8 / 1361.1$

CONCLUSION

In this work, DIY microfluidic platforms for droplet microfluidics were designed and assembled, including a system for supplying liquid components (based on syringe pumps) and microfluidic chips with different geometries. The development of the components of microfluidic setups was carried out using widely available components and 3D printing to create some parts of syringe pumps, which made it possible to create very inexpensive devices for generating emulsions with various morphologies. Production of one syringe pump, taking into account the cost of polymers, is about 2.5 thousand rubles, which is completely incomparable with commercial counterparts with similar characteristics, their cost can reach up to several hundred thousand rubles. [14]. The price of a complete system consisting of three pumps, a control system based on the Arduino UNO microcontroller platform, and a microfluidic chip is about 10 thousand rubles.

On the example of obtaining single and double emulsions, the capabilities of the developed microfluidic platforms were demonstrated, and it was shown that they are in no way inferior to the previously presented projects. For microfluidic chips assembled for the generation of single emulsions (MFC 1 and MFC 2), the range of volumetric flow rates of the matrix Q_m and the dispersed phase Q_d was determined, in which it is possible to obtain monodisperse drops. For MFC 1 droplet generation with a high degree of homogeneity ($c_v \leq 1.9\%$) is observed up to $Q_d = 271.3 \mu\text{L}/\text{min}$ and over the entire range of Q_m (from

63.3 to 5430.1 $\mu\text{L}/\text{min}$). For MFC 2, drops with $c_v \leq 2.0\%$ were obtained at all Q_d values used in the work (from 24.0 up to 180.8 $\mu\text{L}/\text{min}$) and Q_m below 634.8 $\mu\text{L}/\text{min}$. Also, high homogeneity was observed during the generation of water-in-oil-in-water double emulsions; in this case, the coefficient of variation for the cores of composite droplets did not exceed 3.4%, and for the entire drop — 3.2%.

Thus, based on the obtained results, we can conclude that it is fundamentally possible to develop low-cost DIY platforms for droplet microfluidics with characteristics sufficient for most applications without resorting to expensive commercial solutions and labor-intensive chip prototyping technologies.

APPENDIX

Tab. II. Components used to build a three syringe pump system

REFERENCES

- Berlanda S.F., Breitfeld M., Dietsche C.L., Dittrich P.S. Recent advances in microfluidic technology for bioanalysis and diagnostics. *Anal. Chem.*, 2021, vol. 93, no. 1, pp. 311–331. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c04366
- Song Y., Cheng D., Zhao L., Eds. *Microfluidics: fundamentals, devices and applications*. Weinheim, Wiley-VCH, 2018. 544 p.
- Whitesides G.M. The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 2006, vol. 442, no. 7101, pp. 368–373. DOI: 10.1038/nature05058
- Iakovlev A.P., Erofeev A.S., Gorelkin P.V. Novel pumping methods for microfluidic devices: a comprehensive review. *Biosensors*, 2022, vol. 12, no. 11, Id. 956. DOI: 10.3390/bios12110956
- Mavrogiannis N., Ibo M., Fu X., Crivellari F., Gagnon Z. Microfluidics made easy: a robust low-cost constant pressure flow controller for engineers and cell biologists. *Biomicrofluidics*, 2016, vol. 10, Id. 034107. DOI: 10.1063/1.4950753
- Shang L., Cheng Y., Zhao Y. Emerging Droplet Microfluidics. *Chem. Rev.*, 2017, vol. 117, no. 12, pp. 7964–8040. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00848
- Kukhtevich I.V., Posmitnaya Y.S., Belousov K.I., Bukatin A.S., Evstrapov A.A. [Principles, technologies and droplet-based microfluidic devices. Part 1 (review)]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Scientific Instrumentation], 2015, vol. 25, no. 3, pp. 65–85. DOI: 10.18358/np-25-3-i6585 (In Russ.).
- Matula K., Rivello F., Huck W.T.S. Single-cell analysis using droplet microfluidics. *Adv. Biosys.*, 2020, vol. 4, iss. 1, Id. 1900188. DOI: 10.1002/adbi.201900188
- Clausell-Tormos J., Lieber D., Baret J.-C., et al. Droplet-based microfluidic platforms for the encapsulation and screening of mammalian cells and multicellular organisms. *Chem. Biol.*, 2008, vol. 15, iss. 5, pp. 427–437. DOI: 10.1016/j.chembiol.2008.04.004
- Wang J., Li Y., Wang X., et al. Droplet microfluidics for the production of microparticles and nanoparticles. *Micromachines*, 2017, vol. 8, no. 1, Id. 22. DOI: 10.3390/mi8010022
- Kim J. H., Jeon T.Y., Choi T.M., Shim T.S., Kim S., Yang S. Droplet microfluidics for producing functional microparticles. *Langmuir*, 2014, vol. 30, no. 6, pp. 1473–1488. DOI: 10.1021/la403220p
- Han X., Zhang Y., Tian J., Wu T., Li Z., Xing F., Fu S. Polymer-based microfluidic devices: a comprehensive review. *Polym. Eng. Sci.*, 2022, vol. 62, iss. 1, pp. 3–24. DOI: 10.1002/pen.25831
- Faustino V., Catarino S.O., Lima R., Minas G. Biomedical microfluidic devices by using low-cost fabrication techniques: A review. *J. Biomech.*, 2016, vol. 49, no. 11, pp. 2280–2292. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.11.031
- Wijnen B., Hunt E.J., Anzalone G.C., Pearce J.M. Open-source syringe pump library. *PLoS One*, 2014, vol. 9, iss. 9, Id. E107216. DOI: 10.1371/journal.pone.0107216
- Damoah I.S., Botchie D. Do-It-Yourself (DIY) laboratories and science, technology, and innovation (STI): trends, implications and future research. *Technol. Anal. Strateg. Manag.*, 2021, vol. 33, iss. 10, pp. 1267–1280. DOI: 10.1080/09537325.2021.1942826
- Ravindran S. How DIY technologies are democratizing science. *Nature*, 2020, Vol. 587, no. 7834, pp. 509–511. DOI: 10.1038/d41586-020-03193-5
- Booeshaghi A.S., de Veiga Beltrame E., Bannon D., Gehring J., Pachter L. Principles of open source bioinstrumentation applied to the poseidon syringe pump system. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, Id. 12385. DOI: 10.1038/s41598-019-48815-9
- Lake J.R., Heyde K.C., Ruder W.C. Low-cost feedback-controlled syringe pressure pumps for microfluidics applications. *PLoS One*, 2017, vol. 12, iss. 4, Id. E175089. DOI: 10.1371/journal.pone.0175089
- Garcia V.E., Liu J., DeRisi J.L. Low-cost touchscreen driven programmable dual syringe pump for life science applications. *HardwareX*, 2018, vol. 4, Id. E00027. DOI: 10.1016/j.ohx.2018.e00027
- Sadegh-cheri M. Using the recycled parts of a computer DVD drive for fabrication of a low-cost Arduino-based syringe pump. *J. Chem. Educ.*, 2022, vol. 99, iss. 2, pp. 521–525. DOI: 10.1021/acs.jchemed.1c00260
- Samokhin A.S. Syringe pump created using 3D printing technology and Arduino platform. *J. Anal. Chem.*, 2020, vol. 75, no. 3, pp. 416–421. DOI: 10.1134/S1061934820030156
- Behrens M.R., Fuller H.C., Swist E.R., Wu J., Islam Md.M., Long Z., Ruder W.C., Steward R. Open-source, 3D-printed peristaltic pumps for small volume point-of-care liquid handling. *Sci. Rep.*, 2020, vol. 10, Id. 1543. DOI: 10.1038/s41598-020-58246-6
- Ching T., Vasudevan J., Tan H.Y., Lim C.T., Fernandez J., Toh Y.-C., Hashimoto M. Highly-customizable

- 3D-printed peristaltic pump kit. *HardwareX*, 2021, vol. 10, Id. E00202. DOI: 10.1016/j.ohx.2021.e00202
24. Gao R.Z., Hebert M., Huissoon J., Ren C.L. μ Pump: an open-source pressure pump for precision fluid handling in microfluidics. *HardwareX*, 2020, vol. 7, Id. E00096. DOI: 10.1016/j.ohx.2020.e00096
 25. Challa P.K., Kartanas T., Charmet J., Knowles T.P.J. Microfluidic devices fabricated using fast wafer-scale LED-lithography patterning. *Biomicrofluidics*, 2017, vol. 11, iss. 1, Id. 014113. DOI: 10.1063/1.4976690
 26. Rizqika R., Whulanza Y., Charmet J., Kiswanto G., Soemardi T.P. Characterization of homemade UV-LED photolithography to realize high aspect ratio channels. *AIP Conf. Proc.*, 2020, vol. 2227, iss. 1, Id. 020010. DOI: 10.1063/5.0000873
 27. Rajan D.K., Lekkala J. A maskless exposure device for rapid photolithographic prototyping of sensor and microstructure layouts. *Procedia Eng.*, 2010, vol. 5, pp. 331–334. DOI: 10.1016/j.proeng.2010.09.115
 28. Ghosh R., Gopalakrishnan S., Savitha R., Renganathan T., Pushpavanam S. Fabrication of laser printed microfluidic paper-based analytical devices (LP- μ PADs) for point-of-care applications. *Sci. Rep.*, 2019, vol. 9, Id. 7896. DOI: 10.1038/s41598-019-44455-1
 29. Nishat S., Jafry A.T., Martinez A.W., Awan F.R. Paper-based microfluidics: simplified fabrication and assay methods. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2021, vol. 336, Id. 129681. DOI: 10.1016/j.snb.2021.129681
 30. Singhal H.R., Prabhu A., Nandagopal G.M.S., Dheivasingamani T., Mani N.K. One-dollar microfluidic paper-based analytical devices: Do-It-Yourself approaches. *Microchem. J.*, 2021, vol. 165, Id. 106126. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106126
 31. Bhattacharjee N., Urrios A., Kanga S., Folch A. The upcoming 3D-printing revolution in microfluidics. *Lab. Chip.*, 2016, vol. 16, iss. 10, pp. 1720–1742. DOI: 10.1039/c6lc00163g
 32. Li T., Zhao L., Liu W., Xua J., Wang J. Simple and reusable off-the-shelf microfluidic devices for the versatile generation of droplets. *Lab. Chip.*, 2016, vol. 16, iss. 24, pp. 4718–4724. DOI: 10.1039/c6lc00967k
 33. Sun L., Li T., Zhang B., Zhang M., Xu J., Wang J. An off-the-shelf microfluidic device for the controllable fabrication of multiple-holed hollow particles and their cell culture applications. *Mater. Chem. Front.*, 2021, vol. 5, iss. 7, pp. 3149–3158. DOI: 10.1039/d0qm01014f
 34. *FreeCAD, Your own 3D parametric modeler*. URL: <https://www.freecadweb.org> (accessed 15.05.2023).
 35. *Software: Arduino*. URL: <https://www.arduino.cc/en/software> (accessed 15.05.2023).
 36. *AccelStepper library for Arduino*. URL: <https://www.airspayce.com/mikem/arduino/AccelStepper/index.html> (accessed 15.05.2023).
 37. Dincer I., Zamfirescu C. *Drying phenomena: theory and applications*. Chichester, Wiley, 2016. 512 p.
 38. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Cardona A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods*, 2012, vol. 9, no. 7, pp. 676–682. DOI: 10.1038/nmeth.2019
 39. Utada A.S., Fernandez-Nieves A., Stone H.A., Weitz D.A. Dripping to jetting transitions in coflowing liquid streams. *Phys. Rev. Lett.*, 2007, vol. 99, iss. 9, Id. 094502. DOI: 10.1103/PhysRevLett.99.094502
 40. Chen Y., Wu L., Zhang C. Emulsion droplet formation in coflowing liquid streams. *Phys. Rev. E*, 2013, vol. 87, iss. 1, Id. 013002. DOI: 10.1103/PhysRevE.87.013002
 41. Wang Y., Huang Y., Li H., Zhang L. A convenient plug-and-play coaxial microfluidic device and quantitative prediction of monodisperse droplets generation. *J. Micro-mech. Microeng.*, 2020, vol. 30, no. 6, Id. 065009. DOI: 10.1088/1361-6439/ab87ee

Contacts: *Poldushov Maxim Aleksandrovich*, poldushov@mail.ru

Article received by the editorial office on 27.05.2023