



Doctoral Thesis

Acoustophoresis of cells, core-shell particles, disks and droplets

Author(s):

Leibacher, Ivo

Publication Date:

2016

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010579278> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Acoustophoresis of cells, core-shell particles, disks and droplets

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES OF ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

IVO LEIBACHER

MSc ETH in mechanical engineering
born on 17. 1. 1987
citizen of Luzern (LU) and Hemishofen (SH)

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Jürg Dual, examiner
Prof. Dr. Roland Zengerle, co-examiner
Prof. Dr. André Studart, co-examiner

Abstract

Acoustophoresis means the movement of particles and objects in a fluid by acoustic radiation forces, which are generated by acoustic waves. The technology is also referred to as "ultrasonic particle manipulation". It has numerous applications for the contactless handling of various particles and objects, mainly in the field of microtechnology.

Acoustophoresis has manifold applications e. g. for biological cells. In the life sciences, this allows operations for the realization of a "lab-on-a-chip", which means the miniaturization of biochemical processes on fast and cheap microsystems. As outlined in this thesis, there is broad application potential also for the acoustic handling of fluid droplets, disk-shaped particles and core-shell particles.

In this thesis, acoustophoresis is examined in microfluidic acoustic domains in the size range of micrometers to centimeters with ultrasonic frequencies in the kilohertz to megahertz range. The particle sizes range from 5 μm to 500 μm . Silicon structures were fabricated by microtechnological, wafer-based fabrication methods. In the silicon, fluid cavities were fabricated to introduce suspended particles. Bulk piezoelectric transducers were employed to excite acoustic fields by converting a harmonic electric excitation to mechanical waves. The advantages of this concept, also called "bulk acoustic wave" (BAW) acoustophoresis, were discussed.

Regarding the acoustophoresis of hollow and core-shell spherical particles, the experimental, analytical and numerical studies in this thesis showed that the inhomogeneity of the particle material leads to different acoustic radiation force potentials than previously known for homogeneous, full particles. Specific effects on hollow and core-shell particles occurred e. g. in two-dimensional acoustic resonance modes in square cavities, which led to patterns like the Chladni figures.

In a novel application, acoustophoresis was demonstrated for the handling of microfluidic droplets in a flowing carrier fluid. Thereby, several unit operations for droplets could be realized, namely the acoustic droplet fusion, focusing, sorting and suspending medium exchange. This is of interest for the novel and rapidly growing field of droplet microfluidics, which treats the processing of minute fluid amounts in the format of droplets. In biotechnology, the droplet format enables much faster, automated and cheap high-throughput analysis of fluid samples in the lab-on-a-chip concept.

In addition, droplet formation by a method called "step emulsification" was analyzed in a parameter study, whereby the droplet formation showed to be flow rate independent in a wide

range. Step emulsification was then combined with flow-focusing, which resulted in a stable process for the formation of double emulsions. The channels for step emulsification were fabricated in a soft silicone material by "soft lithography". As an advantage, this allowed planar fabrication unlike other methods, which require 3D manufacturing.

To date, most of the acoustophoretic literature deals with spherical particles, whereas this thesis also studies the acoustophoresis of disk-shaped particles. The non-spherical shape results in acoustic radiation torques additional to the acoustic radiation forces. Experiments, numerical simulations and theories showed that these acoustic radiation torques rotate disk-shaped particles to an equilibrium orientation perpendicular to the direction of the standing wave. This phenomenon was already described by Lord Rayleigh for macroscopic "Rayleigh disks", whereas here the novel handling of micron-sized disks on microchips is described. Numerical simulations resulted in a fluid dynamic explanation and quantitative description of the acoustic radiation torques. This enables applications for disk-shaped cells as e. g. red blood cells, and for disk-reinforced composites. A spheroid geometry with maximal torque could be identified.

In a next chapter, acoustophoresis was applied in a single-cell printer. The single-cell printer is a device for the targeted printing of cells in a suspending fluid on a substrate with spatial and temporal control. By the application of acoustophoresis, cells could be focused in the cell printer's dispensing head on a channel centerline. This resulted in an improvement of the cell printer in terms of reliability, printing speed and bead loss, which could be reduced from 52% to 28%.

In a next study, special acoustic boundary conditions were fabricated in the fluidic channel by acoustic impedance matching of the channel walls. This allowed more freedom for the design of the acoustic fields as previously possible in silicon channels without impedance matching. By insertion of an additional, impedance-matched material in the channel, it was possible to decouple the fluidic from the acoustic boundary, so that particles could also be moved towards channel walls, which is of interest for cell separations and particle sensors.

Finally, an acoustic effect was discovered on sharp edges in ultrasonically excited fluid channels. The vibration of the sharp edge led to the attraction of suspended biological cells which were located in the suspension near the sharp edge. Experimental and numerical analysis shed light on the physical cause of this trapping effect. This so-called cell trapping is useful for biological experiments. Here, acoustophoresis was not induced by acoustic standing waves but rather by the particular acoustic field around a vibrating sharp edge.

This dissertation describes experimental work with good agreement to numerical and analytical results. It is mainly written from an engineering perspective, but with bridgings to physical, microtechnological and biological topics.

Zusammenfassung

Akustophorese heisst die Bewegung von Partikeln und Objekten in einem Fluid mittels akustischer Wellen, welche akustische Strahlungskräfte ausüben. Die Technologie wird oft auch Ultraschall-Partikelmanipulation genannt. Ihre zahlreichen Anwendungen bestehen in der berührungsfreien Handhabung verschiedenster Partikel und Objekte, insbesondere in der Mikrotechnologie.

Akustophorese hat zahlreiche Anwendungen z. B. für biologische Zellen als Partikel. In den Lebenswissenschaften ergeben sich dadurch Möglichkeiten zur Realisierung eines "Labors auf einem Chip" (lab-on-a-chip), also der Miniaturisierung von biochemischen Abläufen auf schnellen und günstigen Mikrosystemen. Wie in dieser Dissertation dargelegt, bestehen vielfältige weitere Möglichkeiten zur akustischen Handhabung von Flüssigkeitstropfen, scheibenförmigen Partikeln und Partikeln mit Kern-Schale-Struktur.

In dieser Arbeit wurde Akustophorese in mikrofluidischen akustischen Domänen in der Grössenordnung von Mikrometern bis Zentimetern durchgeführt mit Ultraschallfrequenzen im Kilohertz- bis Megahertzbereich. Die Partikelgrössen in dieser Arbeit reichen von 5 μm bis 500 μm . Für die Experimente wurden Strukturen in Silizium hergestellt mit mikrotechnologischen, wafer-basierten Fabrikationsschritten. Im Silizium wurden Flüssigkeitsbehältnisse geschaffen, in welche suspendierte Partikel eingeleitet werden konnten. Zum Anregen der akustischen Felder wurden piezoelektrische Wandler eingesetzt, welche eine harmonische elektrische Anregung in mechanische Schwingungen umwandeln. Die Vorteile dieser Bauweise, welche auch als "bulk acoustic wave" (BAW) Akustophorese bezeichnet wird, wurden diskutiert.

Bezüglich der Akustophorese von hohlen Partikeln und Kern-Schale-Partikeln zeigten übereinstimmende experimentelle, analytische und numerische Betrachtungen, dass die Inhomogenität des Partikelmaterials zu unterschiedlichen akustischen Potentialfeldern führt als bisher bekannt bei homogenen, vollen Partikeln. Spezifische Effekte auf hohle und Kern-Schale-Partikel traten insbesondere bei zweidimensionalen akustischen Resonanzmoden in quadratischen Kammern auf, wobei sich Muster ähnlich wie die Chladni-Figuren ergaben.

Neu wurde Akustophorese zur Handhabung von flüssigen Tropfen angewendet. Dadurch wurden verschiedene Grundoperationen für mikrofluidische Tropfen in einem fliessenden Trägermedium erreicht, namentlich die akustische Tropfen-Fusion, -Fokussierung, -Sortierung und der Austausch des Mediums, das die Tropfen umgibt. Dies ist von Interesse für das neue und schnell wachsende Feld der Tropfen-Mikrofluidik, welches sich mit dem Prozessieren

von kleinsten Flüssigkeitsvolumen in Tropfenform befasst. In der Biotechnologie ergibt sich daraus die Möglichkeit, im Tropfenformat viel schnellere, automatisierte und günstigere Hochdurchsatz-Analysen von Flüssigkeiten durchzuführen.

Weiter wurde die Tropfenbildung mit der Methode der Stufen-Emulgierung untersucht mit Parameterstudien, wobei die Tropfenbildung über grosse Bereiche unabhängig von der Flussrate beobachtet wurde. Die Stufen-Emulgierung wurde dann mit der Fluss-Fokussierung kombiniert, wodurch sich ein stabiler Prozess zur Erzeugung von Doppel-Emulsionen ergab. Die zur Stufen-Emulgierung benötigten Kanäle wurden in Silikonmaterial hergestellt mittels "weicher Lithographie" (soft lithography). Vorteil dabei ist, dass nur auf 2.5D-Fabrikationsmethoden zurückgegriffen werden musste statt auf 3D, wie in anderen üblichen Methoden.

Während der Grossteil der Literatur bisher von sphärischen Partikel handelt, wurde in dieser Arbeit auch die Akustophorese von scheibenförmigen Partikeln untersucht. Es zeigte sich, dass durch die nicht-sphärische Form – zusätzlich zu den akustischen Strahlungskräften – akustische Strahlungsdrehmomente entstehen. Experiment, Simulation und Theorie zeigten übereinstimmend, dass diese Drehmomente die Scheibchen rechtwinklig zur Richtung der stehenden Welle ausrichten. Dieses Phänomen wurde schon von Lord Rayleigh beschrieben für makroskopische "Rayleigh-Scheiben", während hier mikroskopische Scheibchen auf Mikrochips in neuer Weise behandelt werden. Die numerischen Simulationen resultierten in einer fluiddynamischen Erklärung und quantitativen Beschreibung der Strahlungsdrehmomente. Dadurch ermöglichen sich Anwendungen für scheibchenförmige Zellen wie z. B. rote Blutkörperchen sowie für scheibchenverstärkte Faserverbundwerkstoffe. Ein Rotationsellipsoid mit maximalem Drehmoment konnte ermittelt werden.

In einem weiteren Kapitel wurde Akustophorese an einem Einzelzelldrucker eingesetzt. Der Einzelzelldrucker kann gezielt Zellen in einer suspendierenden Flüssigkeit auf ein Substrat abgeben mit örtlicher und zeitlicher Kontrolle. Durch den Einsatz der Akustophorese wurde eine Fokussierung der Zellen im Druckkopf auf die Mittellinie des Flusskanals erzielt. Dadurch konnte der Zelldrucker verbessert werden bezüglich seiner Druck-Zuverlässigkeit, der Druck-Geschwindigkeit und dem Partikel-Verlust, welcher von 52% auf 28% reduziert werden konnte.

In einer weiteren Studie wurden spezielle akustische Randbedingungen am Flüssigkeitskanal geschaffen durch akustische Impedanzanpassung der Kanalwände. Das ermöglichte die freiere Gestaltung des akustischen Feldes als bisher bekannt in Siliziumkanälen ohne Impedanzanpassung. Durch Einbringung eines zusätzlichen impedanzangepassten Materials in den Kanal liess sich die akustische von der fluidischen Randbedingung entkoppeln, so dass dann Partikel z. B. auch nahe an die Kanalwände bewegt werden konnten. Daraus ermöglichen sich Anwendungen für Zell-Separationen oder Partikel-Sensoren.

Schliesslich wurde ein akustischer Effekt entdeckt, welcher an scharfen Kanten in ultraschallangeregten Flüssigkeitskanälen auftritt. Die Schwingung der scharfen Kante führte zur Anziehung von biologischen Zellen, welche sich in einer Suspension um die Kante befanden. Mittels experimenteller und numerischer Methoden wurde die physikalische Ursache dieses Effekts ergründet. Das gezeigte Einfangen von Zellen an bestimmte Orte ist nutzbar

für biologische Experimente. Im Gegensatz zu den anderen Teilen dieser Arbeit wurde die Akustophorese in diesem Kapitel nicht durch stehende Wellen hervorgerufen, sondern durch die spezielle Ausprägung des akustischen Feldes um die scharfe Kante.

Die Dissertation hat eine experimentelle Ausrichtung mit guter Übereinstimmung zu numerischen und analytischen Betrachtungen. Die Perspektive ist hauptsächlich ingenieurstechnisch, es wurden jedoch Brücken zu physikalischen, mikrotechnologischen und biologischen Themen geschlagen.