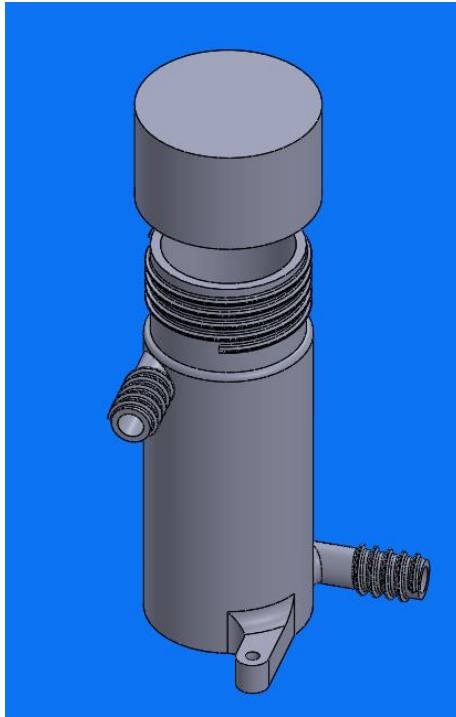


Innovatie van modulaire reservoirs van microvloeistoffen voor “*Orgaan-Op-Chip*”: verbetering op gebruikersvriendelijkheid, herbruikbaarheid en vloeistof bemonstering



Faculteit Technische Natuurwetenschappen (TNW)

Bachelor opdracht Biomedische technologie

Universiteit van Twente

Cynthia Ong

Examencomité:

Ir. Eric Safai (dagelijkse begeleider)

Dr. Ir. J.T Loessberg-Zahl (dagelijkse begeleider)

Dr. Ir. J.T.W. Berendsen (begeleider)

Prof. dr. A.D. Van der Meer (voorzitter)

Prof. dr. Ir. M. Odijk (extern lid)

Afdeling: Applied Stem Cell Technology (AST)

1 september 2023

**UNIVERSITY
OF TWENTE.**

Samenvatting

Meeste *'Organ-On-Chips'* zijn stand-alone. Een groot nadeel van stand-alone systemen is dat ze niet met meerdere OOC systemen kunnen integreren. Een verbetering zou kunnen zijn om modulair componenten te ontwerpen zodat ze kunnen passen op een Fluidic Circuit Board. Aangezien het een nieuwe techniek is, kan er nog veel aan worden verbeterd. In dit onderzoek wordt er gekeken naar nieuwe mogelijkheden om het concept van het naaldreservoir te vervangen of te verbeteren. Hierbij is het belangrijk dat er rekening gehouden wordt met een viertal belangrijke kenmerken: modulariteit, gebruiksvriendelijkheid, herbruikbaarheid en vloeistof bemonstering. De potentiële, nieuwe reservoirs worden eerst ontworpen in SolidWorks. Deze onderdelen worden vervolgens gefabriceerd met behulp van de 3D-printtechniek genaamd SLA-printen. Vervolgens werden ze op het laboratorium getest op de vier belangrijkste eisen. Deze resultaten werden via een tabel in Excel en in MATLAB-script verwerkt. Daaruit kan worden geconcludeerd dat de huidige 3D geprinte reservoirs nog veel werk nodig hebben om te kunnen voldoen de vier eisen. Om deze techniek toch in de praktijk toe te passen, is het essentieel om een beter begrip te hebben van de instellingen van de 3D-printer. Daarnaast is het ook van belang om kleine ontwerpaanpassingen toe te voegen aan de reservoirs.

Abstract

Most *'Organ-On-Chips'* systems are stand-alone. A downside of stand-alone systems are the lack of interaction between different OOCs . A new innovative technique could be is to design a modular component that can be placed on a Fluidic Circuit Board. Since it is a new technology, there is still a lot that can be improved. For example, the needle reservoir provides fluid for the organ-on-chip. This concept uses sharp needles, which is not user-friendly. This research looks at the possibilities to replace or improve the concept of the needle reservoir. It is important that four important features are taken into account: modularity, user-friendliness, reusability and fluid sampling.

The new reservoirs were first designed in SolidWorks. Then, the products were manufactured by using a 3D-printer, which applied technique called SLA. Afterwards, they were tested in the laboratory on the four most important requirements. These results were then processed via a table and in a MATLAB script. The findings of this study show that there is a need of improvement to using a 3D printed reservoir. However, it is still unclear what the settings of the 3D printer should be, and there are some adjustments needed to have functional reservoirs.

Inhoud

Samenvatting.....	2
Abstract	2
1. Introductie.....	5
1.1.1 Reservoirs in “Orgaan-Op-Chips”	5
1.1.2 Reservoirs in verschillende opstellingen	6
Passieve reservoirs	6
Actieve reservoirs	8
1.2 Probleemstelling.....	9
1.3 Verbeteringen voor microvloeistoffen reservoirs.....	10
1.4 Doel van het onderzoek	10
2. Eisen van het reservoir	11
2.1 Ontwerpeisen	11
2.2 Kwaliteitseisen.....	11
2.3 Eis voor bemonstering.....	13
2.4 Eisen voor gebruiksvriendelijkheid.....	13
2.5 Schematische samenvatting.....	13
3. Methode en materialen	15
3.1 Ontwerp en productie van het reservoir.....	15
3.2 Protocol voor de kwaliteitseisen	15
3.3 Bemonsteringseisen	16
3.4 Gebruiksvriendelijkheidseisen.....	17
3.5 Beoordeling van het reservoir	18
4. Ontwerp beschrijving	19
4.1 Ventielsysteem reservoir.....	19
4.1.1 Afmetingen van het ventielsysteem reservoir	19
4.1.2 Functie van de buizen.....	20
4.2 Dopsysteem: cilindrisch reservoir	20
4.2.1 Afmetingen van het dopsysteem reservoir.....	20
4.2.2 Bemonstering functies van het dopsysteem reservoir	21
5. Resultaten en discussie	22
5.1 Kwaliteitseisen.....	22
5.1.1 Stevigheid van het reservoir.....	22
5.1.2 Waterdichtheid van het reservoir	23
5.1.3 Luchtdichtheid van het reservoir	24
5.1.4 Herbruikbaarheid	28

5.2	Bemonsteringseisen	28
5.3	Gebruikersvriendelijkheid	29
5.3.1	Gemak van het gebruik	29
5.3.2	Veiligheid van het reservoir.....	29
5.3.3	Toegankelijkheid van het reservoir	30
5.6	Algemene discussie	31
5.7	Beoordeling van het reservoir.....	32
5.8	Een nieuw ontwerp voor het reservoir	32
5.8.1	Afmetingen van het nieuwe reservoir.....	33
6.	Conclusie en aanbevelingen.....	34
	Referenties	35
	Appendix A: Achtergrond informatie	40
A.1	Drukmechanisme van het reservoir	40
A.2	Naaldreservoir	40
A.3	Productie van het reservoir.....	41
A.3.1	SLA print techniek.....	41
A.3.2	FDM print techniek.....	41
A.4	Capaciteit van het reservoir	42
A.5	Materiaalkeuze.....	42
	Appendix B: Gebruikte materialen en software voor reservoir productie	43
	Appendix C: Gedetailleerde afmetingen van de reservoirs	44
	Appendix D: Luchtdichtheid van de reservoirs berekeningen	46
D.1	Berekeningen voor het experiment	46
D.2	Berekeningen na het experiment.....	49
	Appendix E: Productie kosten en tijd per reservoir	52
	Appendix F: MATLAB scripts.....	53
F.1	Sensor kalibratie.....	53
F.2	Barstdruk	53
F.3	Luchtdichtheid.....	54

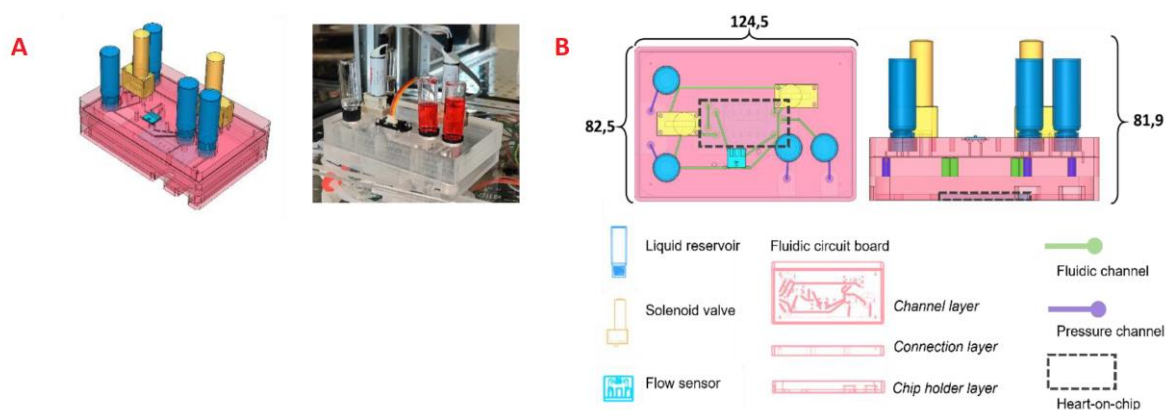
1. Introductie

In dit hoofdstuk wordt de aanleiding en het belang besproken van het ontwerpen van een nieuw reservoir voor 'Orgaan-Op-Chips'. Ook wordt er gekeken naar de bestaande reservoirs. Een belangrijk eigenschap van een reservoir is het opslaan van vloeistoffen. Deze reservoirs zijn onderverdeeld in twee categorieën; passieve reservoirs (zonder pomp) en actieve reservoirs (met pomp). Vervolgens worden de potentiële verbeteringen voor het nieuwe reservoir besproken. Het uiteindelijke doel van het onderzoek is om een reservoir te ontwikkelen voor 'Orgaan-Op-Chips' die gebruiksvriendelijk, modulair, herbruikbaar is en de mogelijkheid moet er zijn om de vloeistoffen in het reservoir te bemonsteren.

1.1.1 Reservoirs in "Orgaan-Op-Chips"

Er worden op het gebied van microvloeistoffen verschillende reservoirs gebruikt [1–4], elk met een eigen werking. Deze reservoirs worden bijvoorbeeld gebruikt in "Orgaan-Op-Chips" (OOCs). OOCs zijn chips waar een functioneel eenheid van een orgaan in een omgeving zit die vergelijkbaar is als *in vivo* [5,6]. Deze chips zijn klein, flexibel en vaak gemaakt van polydimethylsiloxaan (PDMS) [7]. Er wordt veel onderzoek gedaan naar OOCs, omdat deze chips veel voordelen kunnen bieden. Bijvoorbeeld, OOCs bieden de mogelijkheid om nieuwe medicijnen te testen voor farmaceutische bedrijven [8,9].

Er wordt nog veel onderzoek gedaan naar OOCs. Onder andere in het onderzoek van *Vivas et al.*[1], waar ze onderzoek deden naar hoe ze stand-alone OOCs kunnen verbeteren. Een groot nadeel van een stand-alone systemen is dat het is lastig om meerdere OOCs systemen te laten integreren. Het is ook moeilijk om de verschillende componenten van verschillende OOCs uit te wisselen en om deze componenten individueel te kunnen verbeteren. Voor hun onderzoek hebben ze geprobeerd om vijf dagen lang een geautomatiseerde hart-op-chip te perfuseren met celculturen, bestaand uit hartweefsel. Het hartweefsel is afgeleid van humane pluripotente stamcellen van cardiomyocyten en mono endotheelcellen.



Figuur 1: A laat de schematische en werkelijke weergave van het experiment zien. B laat de zij- en topaanzicht zien[1]. De naaldreservoirs die aan het FCB zijn bevestigd, zijn gemarkeerd in blauw. Het roze gedeelte is het FCB, dat bestaat uit drie lagen: een kanaallaag, een verbindingslaag en een chipshouderlaag.

Om een modulair systeem te realiseren hebben ze gebruik gemaakt van een Fluidic Circuit Board (FCB), waarop de componenten aan bevestigd kunnen worden. Dit FCB bestaat uit drie lagen. De eerste laag bevat kanalen waar de vloeistoffen voor de OOC doorheen stromen. De tweede laag is de bevestiging laag. Hierop kunnen de componenten aan het FCB worden vastgemaakt. De laatste laag, is de laag waar de componenten in gemonteerd kunnen worden. In figuur 1 is deze FCB te zien. De componenten die werden gebruikt waren; een hart-op-chip, magneetventiel, flow sensor en een

vloeistof reservoir. Deze componenten zijn ook te zien in figuur 1, A geeft het isometrische aanzicht en figuur B geeft het boven- en zijaanzicht.

Ondanks dat het modulair systeem gedurende vijf dagen volledig is geautomatiseerd, deden zich nog enkele complicaties voor zoals infecties, vloeistoflekkages en het ontstaan van luchtbellen [1]. Deze factoren kunnen een impact hebben op de resultaten van de OOC experimenten [10,11]. De complicaties die zich hebben voorgedaan in het onderzoek van Vivas *et al.* [1] vormen de aanleiding voor deze bachelor opdracht. Voor dit onderzoek wordt er dieper ingegaan op de problemen die betrekking hebben op het naaldreservoir en er wordt onderzocht of alternatieve reservoirs een mogelijke oplossing kunnen bieden.

1.1.2 Reservoirs in verschillende opstellingen

Het hoofdzakelijk doel van een reservoir is het opslaan van een bepaald hoeveelheid vloeistof. In het kopje hieronder worden er verschillende reservoirs besproken. Deze reservoirs zijn opgedeeld in twee verschillende categorieën; actieve reservoirs (met pomp) en passieve reservoirs (zonder pomp). Van elk reservoir wordt de werking verder toegelicht.

Passieve reservoirs

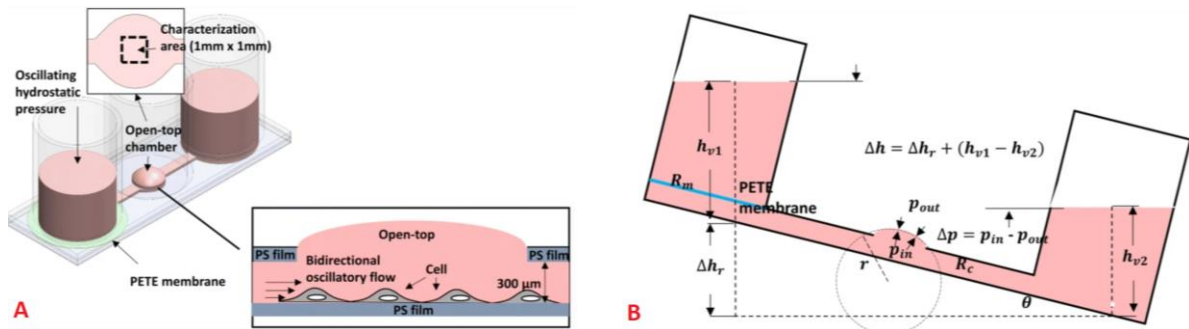
Passieve reservoirs worden hier beschreven als reservoirs die niet afhankelijk zijn van een pomp om vloeistof te kunnen verplaatsen. Het eerste voorbeeld van een passief reservoir komt uit het onderzoek van Chen *et al.* [2]. In dit onderzoek hebben ze een reservoir ontworpen die de bi-directionele oscillerende schuifspanning kan nabootsen die de osteoblasten ondervinden op het grensvlak tussen bot en beenmerg. Het reservoir is gebaseerd op een 96 multititerplaat (Wells' plaat). Deze plaat wordt in drie delen opgedeeld, waarvan twee derde deel van de wellen gebruikt wordt als reservoir en een derde deel wordt gebruikt als doorvoer. Figuur 2A geeft een rij van de Wells' plaat met reservoirs weer.

Dit type reservoir is ontstaan doordat het zaaien, plaatsen en kleuren van cellen door microkanalen vaak problematisch is. Eén van de problemen is bij het direct injecteren van cellen levert dit veel cel aggregatie op [12]. Ook bij het gebruik van een pomp bestaat uit veel buisverbinding, zoals de toevoer en afvoer van het reservoir, wat arbeidsintensief is [2]. Daarnaast zorgt deze behuizing ook voor luchtbelvorming[2]. Luchtbelvorming zorgt voor obstructie van vloeistofpaden, verstoring van stromingen door vloeistofpaden en beschadiging van het cellen [11].

Het reservoir is zodanig ontworpen om deze complicaties te voorkomen. De bovenkant van het reservoir is open zodat het zaaien en kleuren van cellen eenvoudig is[2], te zien in figuur 2A. Met dit concept is het mogelijk om cellen toe te voegen met behulp van een pipet. Daarnaast heeft dit reservoir ook het voordeel dat er geen luchtbellen ontstaan, omdat er geen gebruikt wordt gemaakt van een luchtpomp. Een reservoir dat geen pomp nodig heeft, zouden deze problemen kunnen oplossen. Echter, een nadeel van dit concept is dat een klein aantal cellen hechten aan de verbindingskanalen en andere wellen. Dit had te maken door een te lage vloeistofstroom van het pipet en de vloeistofweerstand van de kanalen[2].

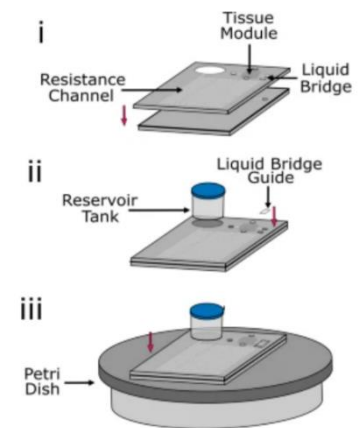
De pompwerking van dit reservoir is gebaseerd op de verandering in de hydrostatische druk, die ontstaat door de beweging van het schommelplatform. In figuur 2B is een schematische weergave van deze werking te zien. Het statief wordt weergegeven als een gestippelde cirkel met daarboven het platform waarop de reservoirs zich bevinden. Het statief wordt gereguleerd door een programma die de kantelhoek bepaald over de tijd. Doordat de kantelhoek verandert, varieert ook de hydrostatische druk in de reservoirs. Deze hydrostatische druk beïnvloedt de uitgaande stroom uit de reservoirs en daarmee ook de schuifspanning. In het onderzoek van Chen *et al.*[2] was het gelukt om

op deze manier de schuifspanning na te bootsen die de osteoblasten ervaren. In figuur 2 is er een schematische weergave van het reservoir. Figuur 2A geeft de een enkele rij weer van een reservoir op een Well's plaat en figuur 2B laat de werking zien van het reservoir.



Figuur 2: A laat een enkele rij van een Wells' plaat zien met daarbovenop de open-bovenkant reservoir en B laat de schematische werking zien van het reservoir [2].

Een ander voorbeeld van een passief reservoir werd geïllustreerd in het onderzoek van Tronolone *et al.* [3]. Ze hebben een modulair microfysiologisch systeem (MFS) van het endotheel ontwikkeld dat niet afhankelijk is van een pomp. Dit MFS kan de *in vivo* omgeving van het endotheel simuleren door het endothele lumen langdurig te perfuseren met menselijke endotheelcellen afkomstig van de navelstrengader en menselijke microvasculaire (long)endotheelcellen. Het reservoir dat zij hebben gebruikt, maakt gebruik van hydrostatische druk. De stroming hiervan kan worden gereguleerd door zowel de hoeveelheid medium in het reservoir te variëren als de weerstand van de kanalen aan te passen. Het belangrijkste voordeel van dit ontwerp is de modulariteit, waardoor het gemakkelijk wordt om diverse orgaanmodelleringssystemen te bouwen[3]. Echter was er veel cel verlies in de weerstandskanalen [3].



Figuur 3: Het proces van het bevestigen van het reservoir aan een petrischaal [3].

De reservoirs van dit ontwerp werden gemaakt van kegelvormige buizen van 15 milliliter. Daarna werden deze buizen afgesneden zodat de inhoud 12 milliliter was. Vervolgens werden deze reservoirs op een PDMS-plaat geplaatst. De reservoirs werden permanent vastgelijmd aan de niet-uitgeharde PDMS-plaat. Deze plaat werd vervolgens bevestigd aan een petrischaal die gemaakt is van polystyreen. In figuur 3 is het proces schematisch weergegeven.

In voorgaande onderzoeken werden vooral zelfgemaakte reservoirs geïntroduceerd. In een onderzoek van Ingber *et al.* [13] hebben ze een commercieel reservoir gebruikt van het bedrijf CN-BIO[14]. Een voordeel van dit reservoir is dat de dop aan de bovenkant van het reservoir open kan. Een open bovenkant met een kliksysteem zorgt voor een betere toegankelijkheid om vloeistof toe te voegen aan het reservoir en het maakt mogelijk om de vloeistoffen uit het reservoir te bemonsteren[13,14]. Een ander voordeel van deze reservoirs is dat ze in grote hoeveelheden in kunnen worden gekocht, zodat de reservoirs makkelijk vervangen kunnen worden. Andere bedrijven zoals "ChipShop" en "PreciGenome"[15,16] verkopen ook verschillende soorten reservoirs en componenten van reservoirs, die zijn te zien in figuur 4.



Figuur 4: Voorbeelden van hydrostatische druk reservoirs links en midden van het figuur en rechts zijn reservoirs uit een kit die zelf gebouwd moeten worden [15,16].

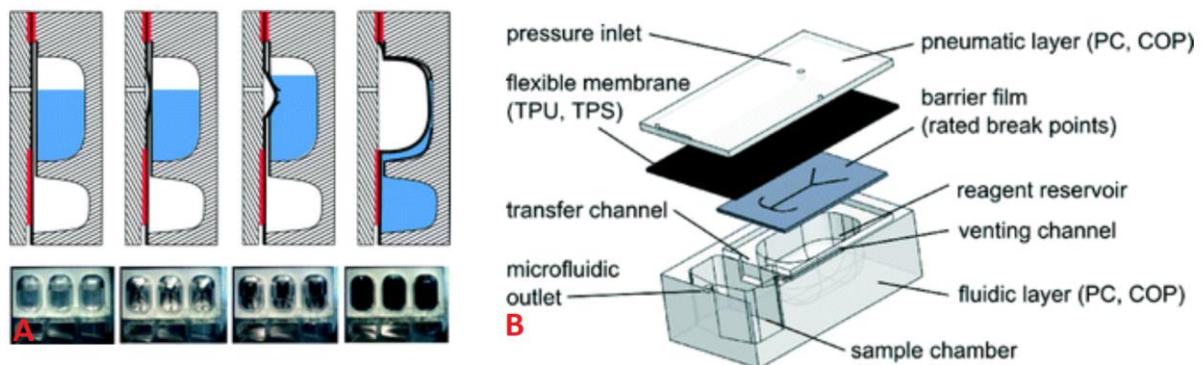
Actieve reservoirs

Een actief reservoir wordt hier gedefinieerd als een reservoir dat een actieve pomp vereist om vloeistof te kunnen verplaatsen. Het naald reservoir dat gebruikt is in het onderzoek van *Vivas et al.* [1] is een druk-afhankelijk reservoir. Er is een bepaalde luchtdruk nodig in het reservoir om de vloeistof te kunnen verplaatsen. De luchtdruk werd geleverd door een luchtdrukpomp. In Appendix A zal deze werking verder worden toegelicht.

Een ander soort gelijk reservoir die ook druk afhankelijk is, wordt gebruikt in het onderzoek van *Czurratis et al.* [4] waarbij gekeken is naar liquids-on-chip (LoC). LoC is een chip waar vloeistof kan worden opgeslagen en waarbij de vloeistof onder een specifieke druk wordt vrijgegeven[4,17,18]. Het onderzoek van *Czurratis et al.* [4] heeft gewerkt aan LoCs waarin het mogelijk is vloeistoffen op te slaan zonder extra verpakking en na gebruik kan het LoC worden weggegooid. Dit idee is ontstaan om vloeistoffen langdurig op te kunnen slaan, waardoor de vloeistoffen direct kunnen worden toegediend wanneer dat nodig is. Het biedt ook andere voordelen, zoals het elimineren van handmatig pipetteren, de automatisering van het systeem, verbeterde gebruiksvriendelijkheid, verminderde kans op verontreiniging en minder risico's bij het transport[4].

Het reservoir bestaat uit verschillende onderdelen[4]. In figuur 3A is het 'reagent reservoir' te zien aan de bovenkant en daaronder bevindt zich de bemonsteringskamer. Bij een bepaalde druk zal het flexibele membraan openen en kan de vloeistof van de bovenste kamer naar onderste kamer stromen. In figuur 3B is de exploded view van het ontwerp te zien. In totaal bestaat het ontwerp uit drie lagen; pneumatische laag, flexibele membraan en 'fluidic layer'. De 'fluidic layer' bestaat uit een barrière folie, 'reagent reservoir' en de bemonstering kamer. De pneumatische laag en de 'fluidic layer' zijn gemaakt van sterke polymeren zoals cyclisch olefinepolymeer (COP) of polycarbonaat (PC). Het flexibele membraan is gemaakt van thermoplastisch materiaal, zoals thermoplastisch urethaan (TPU) of thermoplastisch styreen (TPS).

Een nadeel van dit concept is dat de vloeistoffen in het 'reagent reservoir' niet langer bewaard kunnen worden dan twee jaar. Het experiment die ze hebben uitgevoerd, heeft aangetoond dat het flexibele membraan, gemaakt van PC, te veel waterdamp doorliet [4]. Een betere coating laag is nodig om dit probleem te verhelpen.



Figuur 5: A laat de werking zien van het LoC en B laat de exploded view zien van het LoC [4].

1.2 Probleemstelling

Andere onderzoeken hebben aangetoond dat passieve reservoirs vaak leiden tot cel aggregatie, terwijl actieve reservoirs ongewenste effecten in het systeem kunnen veroorzaken, zoals de vorming van luchtbellens. Voor het onderzoek van deze bachelor opdracht worden de complicaties die voornamelijk gerelateerd zijn aan het reservoir met naalden verder besproken. In de paragrafen hieronder worden deze complicaties in meer detail beschreven met behulp van de kennis van mijn dagelijkse supervisor, Eric Safai. In Appendix A zal de precieze werking van het naald reservoir beschreven worden.

In het onderzoek van Vivas *et al.*[1] is gebruik gemaakt van een naald reservoir. Het probleem van dit concept ontstaat bij het monteren van het reservoir. Hierbij wordt er gebruik gemaakt van scherpe naalden en dit kan verwondingen veroorzaken bij de gebruiker. Deze naalden kunnen zorgen voor een slechtere gebruiksvriendelijkheid. Echter, deze scherpe naalden zijn nodig om een opening te maken in het septum. Het septum dient ervoor om het systeem waterdicht dicht te houden en om de naalden gepositioneerd te houden.

Het tweede probleem ontstaat wanneer er nieuwe vloeistof moet worden toegevoegd of wanneer de vloeistof bemonsterd moet worden. Voor elke toevoeging of bemonstering van vloeistof is er een nieuw septum nodig voor het reservoir. Wanneer dit niet wordt gedaan, zal het reservoir gevoeliger zijn voor lekkage. Het vorige gat kan nooit volledig dicht gemaakt worden. Bij frequente toevoeging of bemonstering van vloeistoffen ontstaat er veel afval.

Het derde probleem ontstaat bij de verplaatsing van de vloeistof in het reservoir. De vloeistof verplaatsing is gebaseerd op een overdruk in het reservoir. De overdruk wordt gecreëerd door een pompmachine. Als de druk in het reservoir hoog genoeg is, zal er vloeistof worden verplaatst. Het nadeel daarvan is als het reservoir bijna leeg is dan komt er lucht in het systeem en zullen er luchtbellens ontstaan. Luchtbelvorming kan zorgen voor obstructie van vloeistofpaden, verstoring van flow en beschadiging van de cellen [11].

In het kort, het naald reservoir dat wordt gebruikt in het experiment zorgt voor een slechte gebruiksvriendelijkheid door de scherpe naalden, het is gevoelig voor lekkages als het septum niet wordt vervangen of er ontstaat veel afval als het septum wel wordt vervangen en het systeem is heel gevoelig voor luchtbellens zodra het reservoir bijna leeg is.

1.3 Verbeteringen voor microvloeistoffen reservoirs

Er kan worden geconcludeerd dat er veel verschillende reservoirs zijn met hun eigen voor- en nadelen[1–6,11–13]. Het voordeel van een passief reservoir is dat er geen luchtbelletjes worden gevormd en dat er geen hinder is van de buizen[2]. Helaas zorgen deze systemen voor veel cel aggregatie in de kanalen doordat de uitgaande flow te laag is[2]. Een open-boven systeem reservoir zorgt voor goede gebruiksvriendelijkheid[2]. Een actief reservoir (reservoir met een pomp) kan problemen veroorzaken, zoals de vorming van luchtbelletjes[1]. Het idee van deze bachelor opdracht is om naar nieuwe mogelijkheden te kijken om de vloeistof bemonstering uit te voeren terwijl het systeem nog aan het draaien is. Ook wordt er gekeken naar mogelijkheden om verplaatsbare componenten te maken zoals in het onderzoek van Tronolone *et al.* [3]. Als laatste wordt er ook gekeken naar de herbruikbaarheid op basis van het herhalende experimenten en hun mogelijke afbraakproducten.

1.4 Doel van het onderzoek

Het doel van het onderzoek is om een reservoir te ontwikkelen voor 'Orgaan-Op-Chips' waarbij het mogelijk is om vloeistof te bemonsteren waar ook gelet is op modulariteit, gebruiksvriendelijkheid en herbruikbaarheid. Het naaldreservoir is modulair, en dat zal ook het streven zijn voor het nieuwe reservoir. Om de gebruiksvriendelijkheid van het reservoir te verbeteren, is gekozen voor een ontwerp waarbij geen naalden nodig zijn. Voor de herbruikbaarheid wordt er gekeken naar materiaal die de herbruikbaarheid van het reservoir mogelijk maakt. Het septum van het naald reservoir kan niet worden hergebruikt. Als laatste wordt er gekeken naar nieuwe manieren om vloeistof te bemonsteren, terwijl het systeem ongestoord door kan gaan. Dit is nog niet mogelijk bij het naald reservoir.

2. Eisen van het reservoir

Het doel van deze bachelor opdracht is om een reservoir te creëren dat gebruiksvriendelijk, herbruikbaar en modulair is en waarbij het ook mogelijk is om vloeistof te bemonsteren. Er zijn echter enkele eisen waaraan een nieuw reservoir moet voldoen. Het belangrijkste doel van het reservoir is het opslaan van een bepaalde hoeveelheid microvloeistof. Er zijn nog meerdere eisen waarmee rekening gehouden moet worden bij het ontwikkelen van een reservoir. Voor dit onderzoek zijn de eisen verdeeld in 4 secties waarin elk onderdeel in meer detail zal worden besproken.

2.1 Ontwerpeisen

Het ontwerp kent drie belangrijke eisen; de verplaatsbaarheid, de afmetingen en de inhoud van het reservoir. Het ontwerp zal worden gemaakt in SolidWorks SP5 2022, waarbij er rekening zal worden gehouden met deze eisen.

1. Het reservoir moet verplaatsbaar zijn op het FCB die gemaakt is door de supervisor (Eric Safai).
2. De lengte en breedte van het reservoir mag niet groter zijn dan 30 millimeter zodat het reservoir voldoet aan de Translational Organ-on-chip Platform (TOP) ISO 22916:2022 criterium.
3. De inhoud van het reservoir mag niet meer zijn dan 30 milliliter, gebaseerd op de gebruikte hoeveelheid kweekmedia in verschillende celprotocollen [20–22].

2.2 Kwaliteitseisen

De kwaliteitseisen van het reservoir zijn verdeeld in vier delen; stevigheid, waterdichtheid, luchtdichtheid en herbruikbaarheid. Om deze eisen te evalueren, zullen er experimenten worden uitgevoerd.

1. **Voor stevigheid is de eis dat het reservoir minimaal 10 seconden 100 millibar kan weerstaan zonder beschadigingen te hebben aan het reservoir.** Dit kan worden bepaald door het reservoir onder een bepaalde druk te zetten voor een bepaalde tijd. Als er geen barsten of beschadigingen zijn gevonden aan het reservoir na gedurende tijd, kan er worden aangenomen dat het reservoir stevig genoeg is. Er is gekozen om de barstdruk te testen op maximaal 100 millibar. Polydimethylsiloxaan of PDMS is een vaak voorkomend materiaal die wordt gebruikt in het vakgebied van microvloeistoffen [7,19–21]. Afhankelijk van de bewerking, kan dit materiaal een gemiddelde druk van 100 millibar weerstaan [22–25]. De nieuwe reservoirs moeten ook minstens deze druk kunnen weerstaan.
2. **Voor de waterdichtheid is de eis dat er niet meer dan 0.2 milliliter verschil zitten tussen de begin en eind vloeistof en er mag geen vloeistof rondom de opstelling worden waargenomen tijdens het experiment om aan deze eis te voldoen Het reservoir moet waterdicht zijn.** Lekkages zijn niet gunstig voor cel experimenten bijvoorbeeld door een hoge concentratie aan afvalstoffen of door verlies van kweekmedium en voedingsstoffen. Er mogen geen vloeistoffen lekken tijdens de experimenten. De aanwezigheid van lekkages kan worden gecontroleerd door tijdens het experiment de omgeving van de opstelling te bekijken op eventuele lekkages. Voor het meetbaar maken van deze eis, wordt er ook naar het verschil in begin vloeistof en eind vloeistof gekeken. Begin vloeistof is de vloeistof die is toegevoegd aan het systeem. Eind vloeistof is de vloeistof die door het systeem is gegaan en is opgevangen. Er mag niet meer dan 0.2 milliliter verschil zitten tussen de begin en eind vloeistof. Dit is gebaseerd op het onderzoek van Yoshimura *et al.* [26]. In dit onderzoek was aangetoond dat een verschil van 0,2 milliliter van het medium een negatieve invloed heeft op de mineralisatie van gekweekte osteoblasten.

3. **De eis voor luchtdichtheid van het reservoir is dat de verhouding tussen de berekende waarde van flow en druk niet meer dan $\pm 10\%$ mag verschillen dan de gemeten waarde van de druk en flow.** Luchtdichtheid is een eis voor reservoirs die afhankelijk zijn van luchtdruk. Als er lucht uit het reservoir lekt, kan de druk niet toenemen en zal er weinig tot geen vloeistof worden getransporteerd. Dit betekent ook dat het geen gesloten systeem meer is. Om dit te controleren wordt er gekeken naar het verschil tussen de gemeten waarden van flow-druk en de berekende waarde van de flow-druk. Als de grafiek te veel afwijkt van de voorspelde waarde, dan is er sprake van een niet-luchtdichte reservoir. Doordat een perfect luchtdichtsysteem in de praktijk niet te realiseren is, wordt er een tolerantie ingevoerd. Deze tolerantie mag niet meer verschillen dan $\pm 10\%$ van de berekende druk. Deze waarde is gebaseerd op het proces waar medium wordt vervangen voor cel experimenten. In deze situatie wordt een 6-Well met inhoud van 2 ml vergeleken met een flow door een 'Orgaan-op-Chips'. Ook moet er rekening mee gehouden dat het maximale volume verschil 0,2ml is. Uit voorgaande onderzoeken is er aangetoond dat een te groot verschil in medium een negatief effect heeft op cellen zoals beschreven onder de paragraaf van 'Waterdichtheid'. De maximale toegestane fout is $10\% \left(\frac{0,2}{2} * 100\% = 10\%\right)$. Ook wordt ervan uitgegaan dat er een lineair verband is tussen de hoeveelheid cellen en de hoeveelheid medium die er nodig is om de cellen te voorzien van voedingsstoffen. Vervolgens kan het volume worden omgezet in de theoretische flow waarde, omdat het geen echte flow is. In de meeste cel experimenten die ik heb gedaan, wordt er dagelijks medium ververs. Uit eigen ervaring gebruik ik een 1-10 milliliter pipet met een nauwkeurigheid van 1% om het medium te vervangen. Meerdere mensen hebben dezelfde pipet gebruikt zonder een fout te hebben in hun resultaat. Hiervan is de mogelijk foutmarge 1%, omdat het afhankelijk is van de accuraatheid van de pipet. De mogelijke fout is 10 % van het volume over 24 uur, omdat de fout van de pipet relatief veel lager ligt dan de toegestane fout. Het volume en de fout van het volume over 24 uur kan worden omgezet in de flow. Hierdoor heeft de flow ook een fout van 10%. De flow en weerstand hebben een lineaire verband volgens de aangepaste versie van de wet van Ohm [27] ($R = \frac{V}{I} \approx \frac{\Delta P}{Q}$). Voor deze eis is er aangenomen dat de relatieve fout van de weerstand van OOCs veel kleiner is dan het toegestane verschil in flow. Kortom, de relatieve fout van de theoretisch flow is gelijk aan de relatieve fout van de berekende druk.
4. **Het reservoir moet herbruikbaar zijn**, zodat er zo min mogelijk afval zal ontstaan. Dit probleem ontstond bij het naaldreservoir, dat werd toelicht door de supervisor. **Het reservoir moet minstens 20 dagen gebruikt worden zonder dat er afbraakproducten te vinden zijn van het reservoir, zoals microplastic.** Deze afbraakproducten kunnen worden waargenomen door de microscoop. Deze eis is gebaseerd op de tijd die nodig is om een cel protocol uit te voeren. Er is gekeken naar verschillende cel protocollen, zoals voor chondrocyten, neurale progenitor cellen, neurale vasculaire cellen en nefronen [28–31]. Hieruit is gebleken dat de duur van het experiment afhankelijk is van wat voor cel het is en wat het doeleinde van het experiment is. Er is gekozen om 20 dagen lang de herbruikbaarheid te testen door het reservoir systematische opnieuw te vullen en te legen. Vervolgens wordt er in het proces ook gekeken naar de waterdichtheid en de luchtdichtheid.

2.3 Eis voor bemonstering

De eis van de bemonstering wordt beoordeeld door een experiment.

1. **Het moet mogelijk zijn om de vloeistof te bemonsteren, zonder dat het totale systeem wordt gestopt.** Het reservoir kan bijvoorbeeld worden verstoord als er te veel vloeistof uit het reservoir wordt gehaald. Bij een actief reservoir (met pomp) kan er lucht in het systeem komen. Luchtbelvorming kan het resultaat van cel experimenten negatief beïnvloeden. Dit kan zorgen voor obstructie van vloeistofpaden, verstoring van flow en beschadiging van het cellen [11]. Voor een passief reservoir, zal het systeem stoppen omdat er niet genoeg vloeistof is om de vloeistof te kunnen verplaatsen. Bij een onderbreking van de stroom

2.4 Eisen voor gebruiksvriendelijkheid

De gebruiksvriendelijkheid wordt beoordeeld aan de hand van drie criteria: het gemak, de veiligheid en de toegankelijkheid van het reservoir. Dit zal worden beoordeeld op twee verschillende manieren. Het gemak en de veiligheid worden bepaald door verschillende gebruikers. De gebruiker zal het ontwerp beoordelen op een schaal van 1 tot 5. De tweede manier kijkt naar de toegankelijkheid die zijn gebaseerd op de kosten van het reservoir en tijd die ervoor nodig is om het hetzelfde reservoir te laten produceren.

1. **Het reservoir moet makkelijk gebruiken te zijn voor de gebruiker.**
2. **Het reservoir moet veilig zijn.**
3. **Het reservoir moet gemakkelijk te vervangen zijn.** Bij celbiologische microvloeistoffen komt het vaak voor dat componenten na gebruik moeten worden vervangen. De cellen kunnen besmet raken, wat een impact geeft op de celgroei. Onderzoek heeft aangetoond dat een verandering in de micro-omgeving kan leiden tot een afwijkende differentiatie, groei en functionaliteit van cellen[32]. Een goede vervangbaarheid wordt hier gedefinieerd dat het reservoir binnen drie dagen volledig te produceren en samengesteld is. Hierbij wordt er gelet op de kosten en de tijd die daarvoor nodig is.

2.5 Schematische samenvatting

Eis		Methode
Ontwerp	Maten en modulariteit van het reservoir	In SolidWorks SP5 2022 eisen van TOP ISO 22916:2022 toepassen
Kwaliteit	Stevigheid	Barstdruk bepalen
	Waterdichtheid	Verschil bepalen tussen begin- en eindvolume en visueel bekijken op lekkages
	Luchtdichtheid	Afwijking tussen gemeten waarde en berekende waarde bepalen
	Herbruikbaarheid	Afbraakproducten waarnemen onder een microscoop
Bemonstering	Afnemen van vloeistof zonder dat het systeem stopt	Vloeistof afname
Gebruikersvriendelijkheid	Gemak van gebruik en veiligheid	Schaling van 1 tot 5

	Vervangbaarheid	Tijd en kosten bepalen van het produceren van een reservoir
--	-----------------	---

3. Methode en materialen

In dit hoofdstuk wordt er uitgelegd hoe het reservoir is ontworpen en is gemaakt. Daarna worden de experimenten beschreven die uitgevoerd zijn om te bepalen of de reservoirs voldoen aan het eisen. Vervolgens wordt er gekeken naar hoe de “Gebruiksvriendelijkheid” gedefinieerd kan worden. In Appendix B worden alle gebruikte materialen in een tabel beschreven.

3.1 Ontwerp en productie van het reservoir

Het ontwerp van de reservoirs werden gemaakt in SolidWorks SP5 2022 volgens de eisen van Translational Organ-on-chip Platform (TOP) ISO 22916:2022. De ondergrond van het reservoir mocht niet groter zijn dan 30 bij 30 millimeter en het moest modulair zijn. De hoogte van het reservoir was variabel met als voorwaarde dat de inhoud niet meer dan 30 milliliter was. Er waren twee soorten reservoir bedacht; een cilindrisch reservoir met een dopsysteem en een rechthoekig reservoir met een ventielsysteem. De ondergrond van het reservoir bevatte bevestigingspunten zodat het vastgemaakt kon worden aan de FCB. De FCB werd gemaakt door de supervisor (Eric Safai) met behulp van micromilling. De reservoirs werden vervolgens opgeslagen in een STL-bestand. Dit bestand werd overgezet naar een snij-programma genaamd ‘Chitubox’. Er werden ondersteuning toegevoegd aan het reservoir. Deze reservoirs werden geprint met Phrozen Sonic Mini 8K (stereo lithografische printer(SLA)) die gevuld was met ABS-Like Photopolymer Resin Translucent. Het print proces duurde ongeveer 11 uur. Daarna werden de ondersteuning van de reservoirs weggehaald met isopropanol. Deze reservoirs werden vervolgens gewassen in de wasmachine gevuld met de isopropanol voor 10 minuten. Als laatst werden de reservoirs 45 minuten in de UV-machine geplaatst om het reservoir uit te harden.

3.2 Protocol voor de kwaliteitseisen

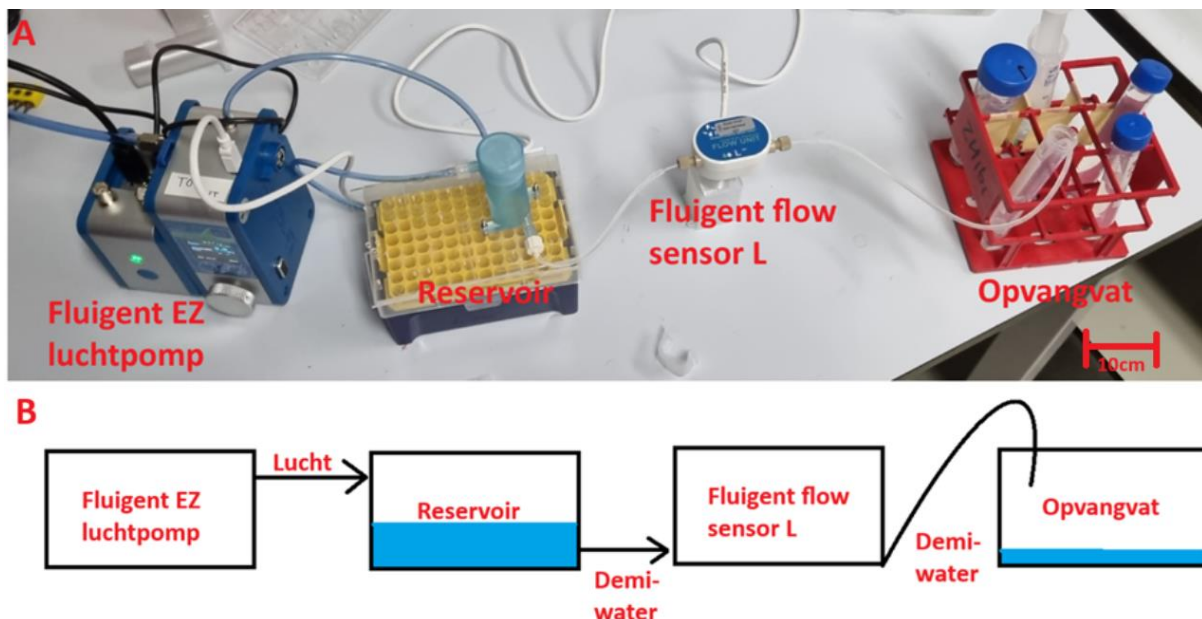
De **stevigheid** werd getest door de maximale luchtdruk, die werd geleverd door de Flow EZ luchtpomp, uit te oefenen op het reservoir. Deze pomp kon maximaal 1000mbar leveren met een nauwkeurigheid van 0.03% [33]. Hier werd gekeken of het reservoir zal barsten of dat er schade zal oplopen. Dit werd getest door het reservoir af te sluiten met parafilm en Male Luer to barb 200 series (Luer-Lock). De toevoer van het reservoir was verbonden met de Flow EZ luchtpomp met behulp van een Luer-Lock. De afvoer en de bemonstering buis werden afgesloten met parafilm en de SLA geprinte doppen. Vervolgens werd het reservoir stapsgewijs gedurende een bepaalde tijd onder druk gezet met behulp van de luchtpomp. De druk werd bepaald door ingebouwde Fluigent MFCS in de Fluigent EZ luchtpomp die functioneerde als een druk sensor. In “Oxygen” werd het protocol uitgevoerd om stapsgewijs de druk toe te nemen. Voor het halvemaan systeem werd er bij elke 10 seconde 100mbar toegevoegd en voor het dopsysteem werd er 100mbar per 20 seconde toegevoegd.

De **waterdichtheid** werd beoordeeld door visueel te controleren op lekkages rondom de opstelling en er werd gemeten of er sprake was van vloeistoflekkage. Deze eis werd getest door eerst 12ml demiwater toe te voegen aan het reservoir. Na het vullen van de reservoirs, werden de bemonsteringbuizen van de reservoirs afgesloten met parafilm. De vloeistof ging door het systeem, behalve door de luchtpomp. Het systeem bestond uit een computer met de software ‘Oxygen’, een Fluigent EZ lucht pomp, een flow sensor, twee buizen en een opvangvat. De luchtpomp was gekoppeld aan de toevoer van het reservoir met behulp van een Luer-Lock. Ook was de luchtpomp gekoppeld aan de computer. Het reservoir was gekoppeld aan Fluigent flowsensor L met daartussen een buis van 30cm en binnen diameter van 1mm. Het bereik van de flowsensor voor water is tussen 0 en 1000µl met een nauwkeurigheid van $\pm 40 \mu\text{l}/\text{min}$ [34]. De flowsensor bevatte een buis die 10cm lang was. Deze flowsensor was ook gekoppeld aan de Fluigent EZ luchtpomp. Als laatst was de

flowsensor ook gekoppeld aan een andere buis, met een lengte van 12cm en een binnen diameter van 1mm, die leidde naar het opvangvat. Voor dit systeem werden eerst twee tussenmetingen uitgevoerd voordat de eindmeting plaatsvond. De nauwkeurigheid van de injectiepomp was ± 1 ml en van het opvangvat was dit $\pm 0,5$ ml. Figuur 6 toont de opstelling voor het waterdichtheidsexperiment.

Luchtdichtheid werd getest met dezelfde opstelling als de waterdichtheid. Als er lucht ontsnapte uit het reservoir, kon de druk niet meer toenemen en kon er ook geen vloeistof worden getransporteerd. Er werd gekeken naar de afwijking tussen de gemeten en de voorspelde drukval en flow om te bepalen of er lucht was gelekt uit het reservoir. Voor het experiment werd de drukval geregeld door Fluigent EZ luchtpomp en werd de flow waargenomen door Fluigent flowsensor L (bereik van water: 0-1000 μ l/min ± 40 μ l/min[34]). De flowsensor werd gekalibreerd met behulp van een injectiepomp. Voor kalibreren van de flowsensor werd de flow om de 60 seconde verhoogd met 100 μ l/min. Voor het experiment voor de luchtdichtheid werd iedere minuut de druk in het reservoir verhoogd met 0,5mbar. Figuur 6 toont de opstelling voor het luchtdichtheidsexperiment. Alle gegevens werden verwerkt in 'Oxygen', opgeslagen in 'Microsoft Excel' en weergegeven in 'MATLAB R2022b'. Het script dat is gebruikt om de grafieken te plotten, bevindt zich in de Appendix F. Voor de voorspelde waarde van drukval en flow is theoretisch onderlegd, waar in meer detail wordt besproken in het kopje 'Resultaten en discussie'. De berekende gegevens werden ook verwerkt in MATLAB R2022b.

De eis voor de **herbruikbaarheid** is niet getest vanwege de tijdslimiet.



Figuur 6: Opstelling van de waterdichtheid en luchtdichtheid experiment. Figuur 6A toont de daadwerkelijke opstelling en figuur 6B geeft de schematische opstelling weer.

3.3 Bemonsteringseisen

Een belangrijke eigenschap van het nieuwe reservoir is dat vloeistof kan worden bemonsterd zonder dat het systeem wordt verstoord. Dit werd gedaan door het reservoir te vullen met demi-water. Vervolgens werd het aangesloten op de Fluigent EZ luchtpomp en het opvangvat. Daarna werd de dop of ventiel opgedraaid om te zien of de vloeistof eruit gehaald kon worden. Als het systeem niet stopte of werd verstoord, kan worden beschouwd dat het reservoir aan deze eis voldoet.

3.4 Gebruiksvriendelijkheidseisen

Als laatst werd er gekeken naar gebruiksvriendelijkheid. Gebruiksvriendelijkheid is een subjectief woord, dus het is persoonsafhankelijk. In deze sectie wordt het woord 'gebruiksvriendelijkheid' beschreven in drie onderdelen: de gebruiksgemak, veiligheid voor de gebruiker en vervangbaarheid van de benodigde materialen.

Als eerst werd er gekeken naar de **gebruiksgemak**. Hierbij werd het reservoir beoordeeld op het gemak van het reservoir bevestigen aan het FCB (1 punt), het aansluiten van de afvoer (1 punt) en de aanvoer op het reservoir (1 punt) en het vloeistof bemonsteren van het reservoir (2 punten). Deze beoordeling werd uitgevoerd op een schaal van 1 tot 5, waarbij 1 als onpraktisch werd beschouwd, 3 als neutraal, en 5 als praktisch.

Vervolgens werd er naar de **veiligheid** van het ontwerp gekeken. De veiligheid werd beoordeeld op het gevaar van de gebruikte chemicaliën (3 punten) en de aanwezigheid van scherpe objecten aan het reservoir (2 punten). Deze reservoirs werden ook beoordeeld op een schaal van 1 tot 5, waarbij 1 staat voor onveilig, 3 voor neutraal en 5 voor veilig.

Als laatst werd gekeken naar de **vervangbaarheid**, waarbij de beoordeling gebaseerd was op de kosten van benodigde materialen en de tijd die nodig was om het reservoir te produceren. Een goede vervangbaarheid houdt in dat de componenten voor het samenstellen van het reservoir binnen 3 dagen beschikbaar zijn. Als het samenstellen van een reservoir langer dan drie dagen duurt, voldoet het niet aan de vervangbaarheidseis. In tabel 1 geeft deze beoordeling weer.

Tabel 1: Beoordelingstabel van reservoir 1 en 2

		Reservoir 1	Reservoir 2
Gemakkelijkheid van het gebruik (5punten)	Bevestiging aan het FCB (1 punt)		
	Aansluiting van aanvoer en afvoer op het reservoir (2 punten)		
	Vloeistof bemonstering (2 punten)		
Veiligheid (5punten)	Gevaar van chemicaliën (3 punten)		
	Aanwezigheid van scherpe objecten (2 punten)		
Vervangbaarheid: productie tijd			
Vervangbaarheid: benodigde kosten			

3.5 Beoordeling van het reservoir

Tabel 2 geeft een overzicht waarop het nieuwe reservoir is beoordeeld: ontwerpseisen, kwaliteitseisen, bemonsteringseisen en gebruikersvriendelijkheid. Elke eis bestaat uit meerdere specifieke vereisten die beschreven zijn in het hoofdstuk "Eisen van het reservoir". De ontwerpseisen, kwaliteitseisen en de bemonsteringseis zijn elk 10 punten waard. De gebruikersvriendelijkheid is 15 punten waard. Het reservoir met de meeste punten zal in dit onderzoek als het beste reservoir worden beschouwd.

De puntenverdeling is te zien in tabel 2. Elk onderdeel van de ontwerpseisen en kwaliteitseisen is 2,5 punten waard en voor de gebruikersvriendelijkheid is elk onderdeel 5 punten waard. Een uitgebreide beschrijving van de puntenverdeling voor de gebruikersvriendelijkheid is te vinden onder het kopje "Gebruiksvriendelijkheidseisen" en in tabel 1.

Tabel 2: Overzicht van de eisen in een tabel. De ontwerpseisen hebben een totale waarde van 10 punten, waarbij elk onderdeel 2,5 punten waard is. De kwaliteitseisen hebben ook een waarde van 10 punten, waarbij elk onderdeel 2,5 punten waard is. De bemonsteringseis is 10 punten waard en de gebruiksvriendelijkheidseisen zijn 15 punten waard. Elke onderdeel van de gebruiksvriendelijkheidseisen is 5 punten waard.

Eisen		Reservoir type #1	Reservoir type #2
Ontwerpeisen	Lengte (2,5 punten)		
	Breedte (2,5 punten)		
	Inhoud (2,5 punten)		
Kwaliteitseisen	Verplaatsbaarheid (2,5 punten)		
	Stevigheid (2,5 punten)		
	Waterdichtheid (2,5 punten)		
	Luchtdichtheid (2,5 punten)		
Bemonsteringseis	Herbruikbaarheid (2,5 punten)		
	Bemonstering van vloeistof (10 punten)		
Gebruiksvriendelijkheidseisen	Gebruiksgemak (5 punten)		
	Veiligheid (5 punten)		
	Vervangbaarheid (5 punten)		
Totale punten			

4. Ontwerp beschrijving

In totaal waren er twee verschillende reservoirs gemaakt waar rekening gehouden was met de ontwerp eisen; een ventielsysteem reservoir en een dopsysteem reservoir. In dit hoofdstuk zullen deze twee designs verder worden toegelicht. De gedetailleerde afmetingen van de reservoirs zijn te vinden in de Appendix C.

4.1 Ventielsysteem reservoir

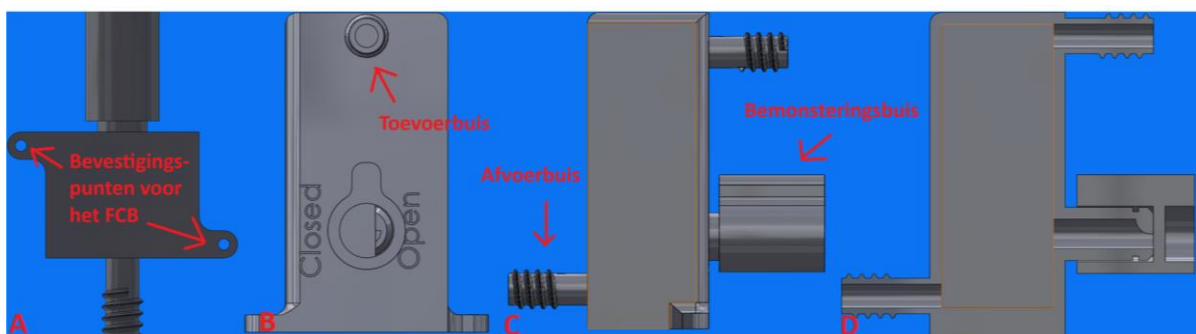
Het ventielsysteem dankt zijn naam aan de halfgesloten poort van de bemonstering buis en halfgesloten poort van het ventiel. Het is een rechthoekig reservoir zodat er optimaal gebruik gemaakt kan worden van de ondergrond. Het reservoir is luchtdruk afhankelijk, dus voor een hogere stroming is er meer druk nodig dan voor een lagere stroming. De andere functies en afmetingen van het reservoir worden in de onderste kopjes besproken.

4.1.1 Afmetingen van het ventielsysteem reservoir

Voor het ontwerp is er gekozen om het reservoir direct te verbinden aan de ondergrond van de chip. Het voordeel hiervan is dat er minder handelingen nodig zijn om het reservoir te bevestigen aan het FCB. Dit reservoir is rechthoekig en is afhankelijk van de luchtdruk. Het reservoir wordt bevestigd door de twee gaten op bodem. Deze twee gaten hebben een afstand van 41,1mm, een diameter van 2,1mm en een diepte van 3mm. De ondergrond van het reservoir inclusief de bevestiging is 42mm bij 23mm en zonder de bevestigingspunten is dat 28mm bij 23mm. De inhoud van het reservoir is 16ml. De hoogte van dit ontwerp is 55mm. Het ventielsysteem reservoir is te zien in figuur 7.

Aan het reservoir zitten drie buizen; de toevoerbuis, afvoerbuis en bemonstering buis. De toevoerbuis en de afvoerbuis hebben een binnendiameter van 4mm en een buiten diameter van 6mm. Beide buizen hebben een SP4xx-bottle van het type SP424-L-12, met een diameter van 6 mm en draadafstanden van 2,12 mm. Deze buizen hebben een lengte van 15mm. De bemonstering buis bestaat uit een open deel en een gesloten deel. De straal van de buis is 2,5mm. Het gesloten deel is vanuit het middelpunt gezien 3,5mm. De buitenste diameter van deze buis is 9mm. Voor een betere aansluiting is er een fillet toegevoegd tussen de binnenste en buitenste diameter. Op deze buis zit ook een sleuf, deze sleuf is bedoeld voor een o-ring. Deze indeuking is 0,75mm diep en 1mm breed.

Op de bemonsteringbuis hoort een ventiel, dat is te zien in figuur 7 en 8. De totale lengte van het ventiel is 20mm. Boven op het ventiel zit een handvat, die is 5mm gezien vanaf de buitenste diameter van het ventiel. De buitenstraal is 7,5mm en de binnen straal is 5,5mm. Binnen het ventiel zit een afsluiting met een lengte van 15mm lang, zodat de sluis om de bemonstering buis past. Deze afsluiting heeft een diameter van 5,5 mm, waarvan de afstand vanaf de wand tot het gesloten deel 7mm bedraagt.

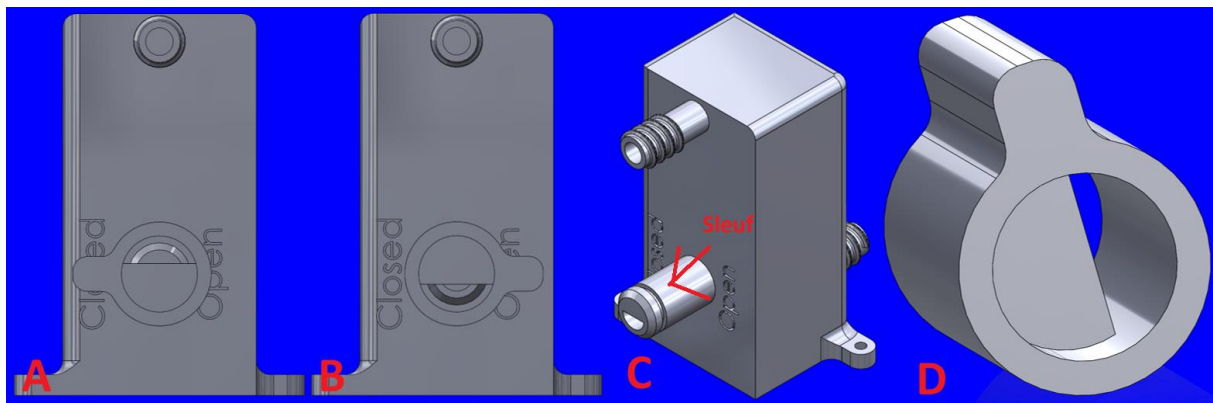


Figuur 7: A toont het onderaanzicht van het reservoir met twee gaten die dienen als bevestigingspunten om het reservoir aan het FCB te bevestigen. B is het vooraanzicht, waar de toevoerbuis en daaronder de bemonsteringsbuis zichtbaar zijn. C toont het zijaanzicht

4.1.2 Functie van de buizen

Er zijn in totaal 3 buizen aan het reservoir ontworpen, zoals te zien is in figuur 7. De bovenste buis dient als toevoer naar het reservoir, waar lucht doorheen stroomt om druk op te bouwen in het reservoir. Deze buis kan ook worden gebruikt om het reservoir te vullen. De onderste buis is voor de afvoer. Deze buis laat vloeistoffen door die in het reservoir hebben gezeten. Beide buizen bevatten een SP4xx Bottle type draad met een grootte van SP425-L-12, waarvan de diameter 6mm is en de afstand tussen het draad 2,12mm is. Aan deze buizen kan een Male Luer Lock to barb 200 series (Luer-Lock) worden bevestigd.

De middelste buis is voor het bemonsteren van vloeistoffen. Deze buis is half open en half gesloten. Hetzelfde geldt voor het ventiel. Aan deze zijde van het reservoir staan "open" en "gesloten" geprint. Als het aan het ventiel de kant van "open" staat, zal het gat van de buis en van het ventiel in lijn staan. Het reservoir zal dan vloeistof vrijlaten. Wanneer het ventiel bij gesloten staat, zal het geen vloeistof doorlaten. Het gesloten deel is groter dan het open gedeelte om een betere waterdichtheid te garanderen. Om het ventiel te kunnen draaien, is er een sleuf gemaakt in de buis. In deze sleuf past een O-ring. De O-ring dient ook als afdichting om te voorkomen dat er water lekt uit de bemonsteringsbuis. Dit ontwerp is te zien in figuur 8.



Figuur 8: A laat de stand van het ventiel zien wanneer de bemonstering buis is gesloten. B laat de stand van het ventiel zien wanneer de bemonstering buis is geopend. C weergeeft de sleuf waar een O-ring in past. D laat het ventiel zien.

4.2 Dopsysteem: cilindrisch reservoir

Het dopsysteem is een cilindrisch reservoir waar de bovenkant opgedraaid kan worden om vloeistof toe te voegen in het reservoir of om de vloeistof te kunnen bemonsteren met een pipet. De toevoer en afvoer van dit reservoir is hetzelfde als bij het ventielsysteem ontwerp. De reden voor een cilindervormig reservoir is om betere toegankelijkheid te bieden voor de bevestigingen aan het reservoir. Ook dit reservoir is afhankelijk van de luchtdruk net zoals bij het ventielsysteem reservoir.

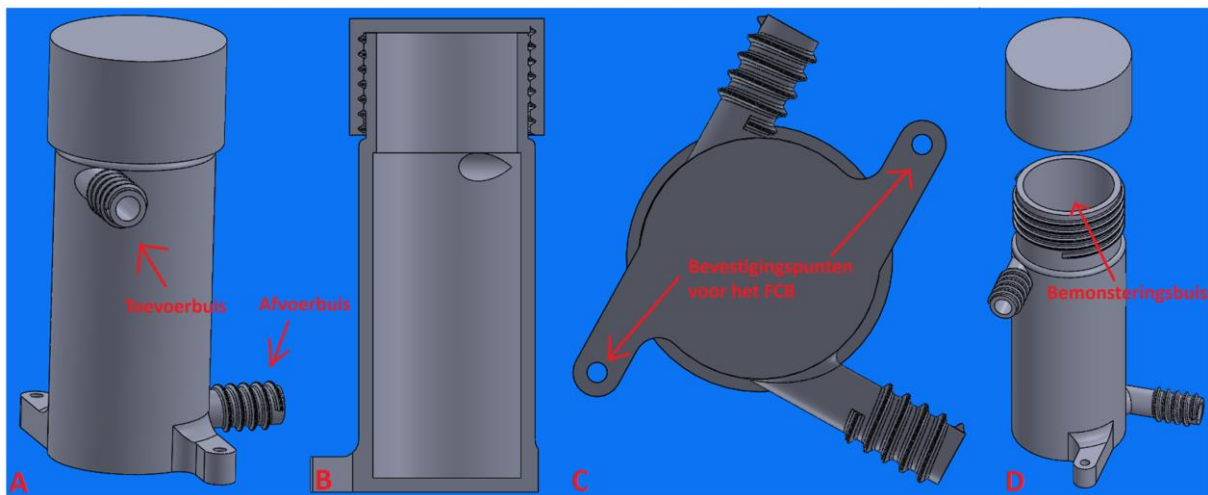
4.2.1 Afmetingen van het dopsysteem reservoir

Het dopsysteem reservoir ontwerp is vergelijkbaar met het ventielsysteem reservoir ontwerp. Het reservoir is ook direct verbonden met de ondergrond. De afstand tussen de gaten is 41,1mm en deze gaten hebben een diameter van 2,1mm en een diepte van 3mm. Dit reservoir heeft een cilindrische vorm. De ondergrond is een cirkel met een diameter van 25mm, wat ook de buitendiameter is. De hoogte van het reservoir is 67mm en het heeft een binnendiameter van 23mm. De inhoud van het reservoir is 14ml. De toevoer- en afvoerbuizen zijn hetzelfde als het rechthoekig reservoir. Deze buizen hebben ook een schroefdraad van SP4xx Bottle type met een grootte van SP424-L-12 met een buitendiameter van 6mm, binnendiameter van 4mm en een lengte van 15mm. De bovenkant van het reservoir is een dopsysteem. Het bevat een SP4xx Bottle type met een grootte van SP452-L-12 en een diameter van 23mm. De dop bevat hetzelfde schroefdraad als de toevoer- en afvoerbuizen. Het

reservoir heeft een binnendiameter van 23,6mm, een buitendiameter van 27,6mm en een hoogte van 16,5mm.

4.2.2 Bemonstering functies van het dopsysteem reservoir

Het dopsysteem maakt gebruik van een andere techniek voor het bemonsteren van vloeistoffen vergeleken met het ventielsysteem. Het bevat een schroefdraad in de dop en op de bovenkant van het reservoir. Het doel van deze schroefdraden is om het reservoir af te sluiten van de omgeving en om het systeem waterdicht te maken. De vloeistof kan worden bemonsterd door de dop los te draaien, zodat het reservoir geopend kan worden. Met behulp van een pipet kan een gewenste hoeveelheid vloeistof worden bemonsterd, maar deze opening kan ook worden gebruikt om het reservoir bij te vullen. Dit ontwerp is te vinden in figuur 9.



Figuur 9: A toont het vooraanzicht van het reservoir met de toevoerbuis aan de bovenkant en de afvoerbuis die zich 90 graden onder de toevoerbuis bevindt. B geeft een dwarsdoorsnede van het reservoir weer. C is het onderaanzicht en toont de bevestigingspunten voor het FCB. D is een 'exploded view,' waarin de dop geopend kan worden door deze te draaien. De dop is verbonden met de bemonsteringsbuis.

5. Resultaten en discussie

In dit hoofdstuk worden de experimenten besproken die in het laboratorium zijn uitgevoerd. In totaal zijn er twee reservoirs geproduceerd; een ventielsysteem en een dopsysteem. Beide reservoirs hebben aangetoond dat ze niet water- en luchtdicht zijn. Om toch de kwaliteit te testen is ervoor gekozen om de bemonstering buizen van de reservoirs af te dichten met parafilm. De grafieken zijn gemaakt in MATLAB 2022b. Deze scripts zijn te vinden in de Appendix F.

5.1 Kwaliteitseisen

Door een tijdlimiet was het niet mogelijk om alle testen uit te voeren. In totaal waren drie van de vier kwaliteitseisen uitgevoerd; stevigheid, waterdichtheid en luchtdichtheid. Om de stevigheid te bepalen is er gekozen om de barstdruk te vinden bij de reservoirs. Voor de waterdichtheid is er gekeken naar het verschil in begin en eind volume. Voor de luchtdichtheid is er gekeken naar het verband tussen de gemeten en de berekende waarde van de druk-flow verhouding om te bepalen of het reservoir luchtdicht is.

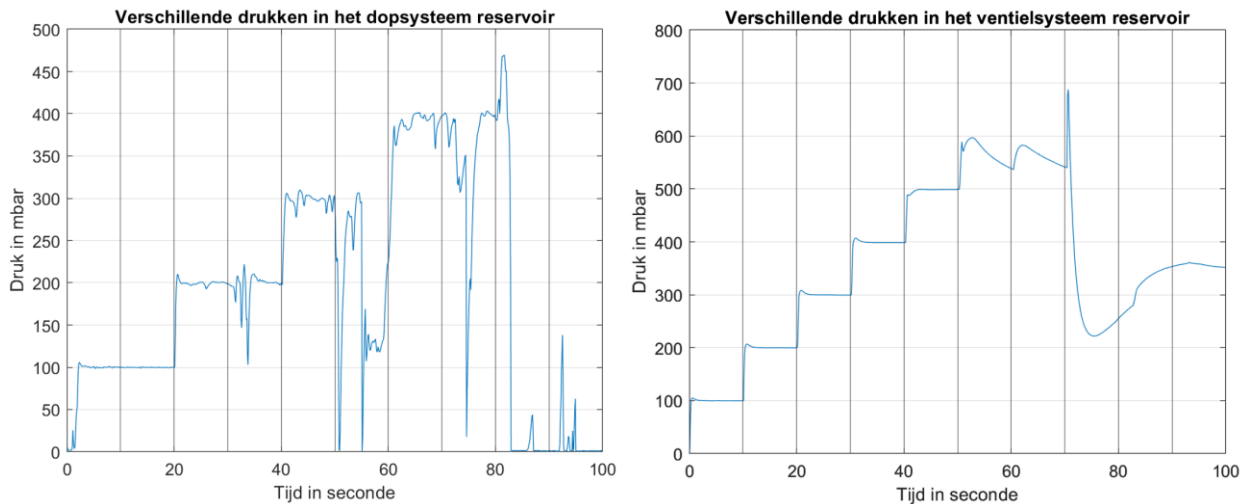
5.1.1 Stevigheid van het reservoir

De stevigheid van de reservoirs werd beoordeeld door de barstdruk te meten. De druk in het reservoir is geleidelijk opgevoerd totdat er schade te zien was. Het protocol voor het bepalen van de barstdruk werd echter niet volledig uitgevoerd. De afsluiting van het reservoir met parafilm bleek niet sterk genoeg te zijn om de hoge drukken in het reservoir te weerhouden. Het parafilm scheurde, wat resulteerde in luchtlekkage uit het reservoir. Deze scheur voorkwam dat de druk in het reservoir verder kon toenemen. Aan het einde van het experiment waren er geen beschadigingen te zien aan de reservoirs.

Aan de linkerkant van figuur 10 wordt het resultaat getoond van het ventielsysteem waarbij om de 10 seconden de druk met 100mbar werd verhoogd. In de eerste 50 seconden kon het reservoir de geleverde druk constant op 500 mbar houden. Na 50 seconden begon het systeem moeite te krijgen om de druk van 600mbar te behouden, zoals te zien is aan de instabiele lijn in figuur 10. Na 60 seconden kon de ingestelde druk van 700 mbar niet langer worden bereikt. De hoge druk had geleid tot schade aan de parafilm op de bemonsteringbuis, wat resulteerde in een gaslekkage.

Aan de rechterkant van figuur 10 is het resultaat te zien van het dopsysteem, waarbij om de 20 seconden een drukverhoging van 100mbar heeft plaatsgevonden. Er werd gekozen om de druk elke 20 seconden te verhogen in plaats van elke 10 seconden, omdat de druk in dit reservoir moeilijker te behouden was wanneer de luchtdruk te snel werd verhoogd. Een mogelijke reden hiervoor zou kunnen zijn, is dat de opening waar lucht kon ontsnappen groter was in vergelijking met het reservoir van het ventielsysteem. In de eerste 40 seconden was de druk stapsgewijs en constant toegenomen tot aan 200mbar. Na 40 seconden werd de druk verder verhoogd naar 300mbar, waar er vervolgens een daling te zien is tussen 50-60 seconde. Deze daling kan worden verklaard doordat de dop niet strak genoeg werd aangedraaid. Het gevolg hiervan was dat er lucht lekte. De dop werd strakker aangedraaid bij 60 seconden. Vervolgens nam de druk verder toe tot aan 400 mbar. Het dopsysteem reservoir kon hierdoor 10 seconde lang op een constante waarde blijven. De druk verhoging op 80 seconden had ervoor gezorgd dat de parafilm van het reservoir dusdanig beschadigd is geraakt, dat de druk in het reservoir niet meer te behouden was.

Kortom, beide reservoirs hebben aangetoond dat ze druk kunnen weerstaan boven 100mbar. Voor het ventielsysteem reservoir is dit rond de 500mbar en voor het dopsysteem reservoir ligt dit rond de 300-400mbar. Deze reservoirs voldoen aan de stevigheid eis als er gebruik gemaakt wordt van parafilm.



Figuur 10: Aan de linkerkant zijn de verschillende drukken weergegeven van het ventielsysteem en aan de rechterkant zijn de verschillende drukken van het dopsysteem weergegeven.

5.1.2 Waterdichtheid van het reservoir

De waterdichtheid werd bepaald door visueel te controleren of er lekkages waren ontstaan tijdens het experiment. Uit het experiment was gebleken dat de reservoirs op zichzelf niet waterdicht waren. Om de test toch uit te voeren was er gekozen om de bemonsteringbuizen van de reservoirs af te dichten met parafilm. Dit experiment mat het begin- en eindvolume. In beide reservoirs werd 12ml toegevoegd met injectiepomp met een accuraatheid van 1ml. Dit experiment was tegelijkertijd uitgevoerd met het experiment van de luchtdichtheid. Het protocol werd twee keer uitgevoerd. De waarden in de tabel waren gebaseerd op de nauwkeurigheid van de injectiepomp (± 1 ml) en van het opvangvat ($\pm 0,5$ ml).

De luchtdichtheid en waterdichtheidstest werden gelijktijdig uitgevoerd. De eerste en tweede meting waren achtereenvolgend gemeten. In tabel 3 staat een overzicht van de gemeten volumes. Uit dit tabel is af te leiden dat beide systemen dezelfde eindvolume had van 11,5ml. Het verschil tussen begin- en eindvolume was 0,5ml. Dit verschil kon mogelijk worden verklaard doordat niet alle vloeistoffen uit het reservoir en de buizen waren verwijderd. Bovendien had het opvangvat een nauwkeurigheid van $\pm 0,5$ ml. Met deze nauwkeurigheid was het niet mogelijk om het verschil van 0,2ml te meten. Daardoor was het niet mogelijk om de waterdichtheid te bepalen van de reservoirs. De nauwkeurigheid van het opvangvat was dusdanig groot dat het mogelijk was dat er 12ml of 11ml in plaats van 11,5ml in het opvangvat zat. Hetzelfde gold voor de injectiepomp, waar de nauwkeurigheid ± 1 ml was. Dit experiment was niet met voldoende nauwkeurigheid uitgevoerd om de waterdichtheid van het reservoir te bepalen.

Het viel ook op dat er een verschil was in de hoeveelheid demiwater die per protocol door het systeem (van reservoir naar flowsensor naar opvangvat) werd verplaatst. Bij de eerste meting werd er 4,0ml demiwater opgevangen uit het ventielsysteemreservoir, terwijl bij de tweede meting 6,6ml werd opgevangen. Het verschil bedraagt 1,5 ml, wat aangeeft dat de eerste meting meer demiwater heeft verplaatst dan de tweede meting. Een mogelijke verklaring hiervoor zou kunnen zijn, is dat vlak voor het uitvoeren van het protocol lucht uit de buizen werd verwijderd om de metingen betrouwbaarder te maken. Tijdens het verwijderen van de lucht uit de buizen bestaat de mogelijkheid dat een deel van het demiwater in het opvangvat terecht was gekomen.

Tabel 3: Een overzicht van de hoeveelheid demi-water in het opvangvat.

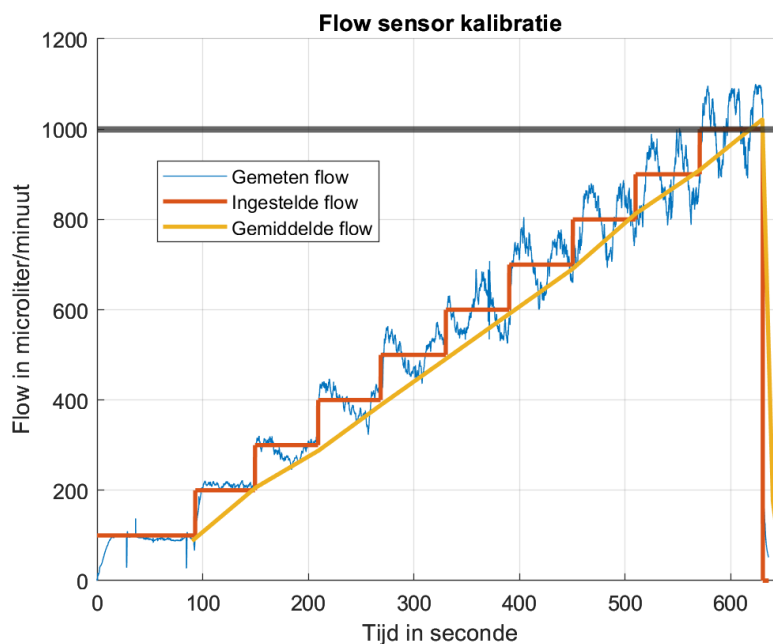
Reservoir	Begin volume	Eerste meting van het opvangvat	Tweede meting van het opvangvat	Eind volume
Ventielsysteem	12ml ± 1ml	4,0ml ± 0,5ml	6,5ml ± 0,5ml	11,5ml ± 0,5ml
Dopsysteem	12ml ± 1ml	3,5 ml ± 0,5ml	5,5 ml ± 0,5ml	11,5ml ± 0,5ml

Voor het volgend experiment is het aan te raden om een nauwkeuriger opvangvat te gebruiken zodat een verschil van 0,2ml zichtbaar is. Ook kan er gekozen worden om al het water op te vangen en daarvan de massa te bepalen met behulp van de dichtheid van water. Verder is het belangrijk dat er rekening gehouden wordt met de mogelijke vloeistof die achter is gebleven in het reservoir en de buizen.

5.1.3 Luchtdichtheid van het reservoir

Voordat de dichtheid werd bepaald, werd eerst een kalibratie uitgevoerd op de Fluigent Flowsensor L. Deze kalibratie werd uitgevoerd met behulp van een injectiepomp die was aangesloten op een verplaatsingspomp. De verplaatsingspomp was zo ingesteld dat de flow elke 60 seconden met 100µl/min werd verhoogd. In figuur 11 is een grafiek te zien van de kalibratie. De blauwe lijn representeert de gemeten waarde van de flowsensor. De rode lijn is de ingestelde flow op verplaatsing pomp, de gele lijn is het gemiddelde van alle gemeten flowwaarden.

Het is opvallend dat de flow niet constant is, met name bij hogere flows (rond de 600µl/min) zijn er schommelingen te zien van 100µl/min in figuur 11. Voor lage flow, onder de 600µl/min, zijn vooral kleine schommelingen zichtbaar van ongeveer 10µl/min. Deze schommelingen kunnen waarschijnlijk worden verklaard door de beweging van de injectiepomp. Wanneer de pomp werd ingedrukt, stroomde er meer vloeistof dan wanneer de pomp werd teruggetrokken. Deze variatie van de flow werd groter naarmate de flow toenam. De kleinere schommelingen kunnen mogelijk worden verklaard doordat de afvoerbuis geen contact had met het water in het opvangvat, wat resulteerde in een verhoogde wateroppervlaktenspanning van het demiwater.

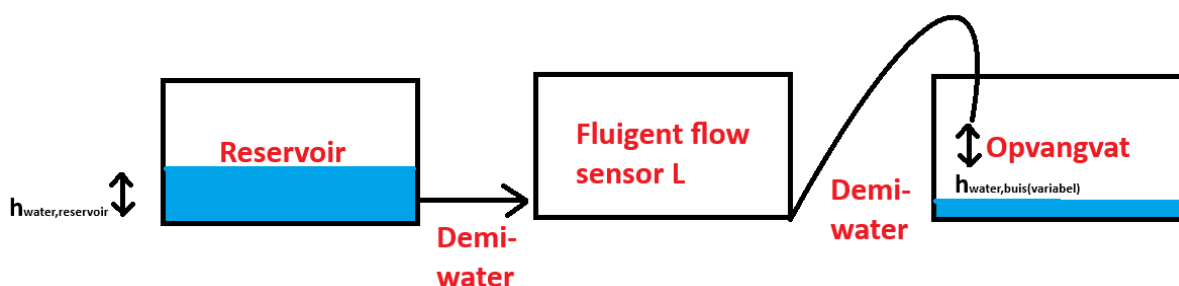


Figuur 11: Kalibratie van de Fluigent flowsensor L

De grote schommeling en kleine schommelingen hadden veel ruis opgeleverd in het resultaat. Om de resultaten goed te kunnen interpreteren, werden de druk- en flowwaarden van het ventielsysteem en dopsysteem voor de waterdichtheid en luchtdichtheid genormaliseerd. Voor het ventielsysteem werden alle gemeten druk- en flowwaarden omgezet naar het gemiddelde over periodes van 10 seconden. Voor het dopsysteem werden deze waarden omgerekend naar het gemiddelde over een periode van 20 seconden.

In figuur 13 en 14 zijn er grafieken van het ventielsysteem en dopsysteem reservoir te zien die gemaakt zijn in MATLAB R2022b. De rode lijn beschrijft de verhouding tussen gemeten druk en flow van het reservoir tijdens het experiment. Het bestaat uit een horizontaal gedeelte en een verticaal gedeelte. De horizontale, rode lijn beschrijft de foutmarge van de druk. Deze waarde is gebaseerd op de $\pm 0.03\%$ ($\pm 0,3$ mbar) marge van de Fluigent EZ luchtpomp[33]. De verticale, rode lijn beschrijft de foutmarge van de Fluigent flowsensor L die gebaseerd is op de productinformatie[34]. Deze waarde is ± 40 $\mu\text{l}/\text{minuut}$. De zwarte lijn markeert het limiet waarbinnen de flow nog nauwkeurig werd gemeten door de Fluigent flowsensor. In dat geval is dat 1000 $\mu\text{l}/\text{minuut}$. De overige lijnen zijn de berekende waarden van verschillende hoogteverschillen in waterniveaus die mogelijk waren tijdens het experiment. Deze verschillende hoogteverschillen zal in de volgende alinea worden uitgelegd. De y-as beschrijft de flow in $\mu\text{l}/\text{min}$, gemeten door de fluigent flowsensor L, en de x-as beschrijft de gemeten druk in mbar door de Fluigent EZ luchtpomp.

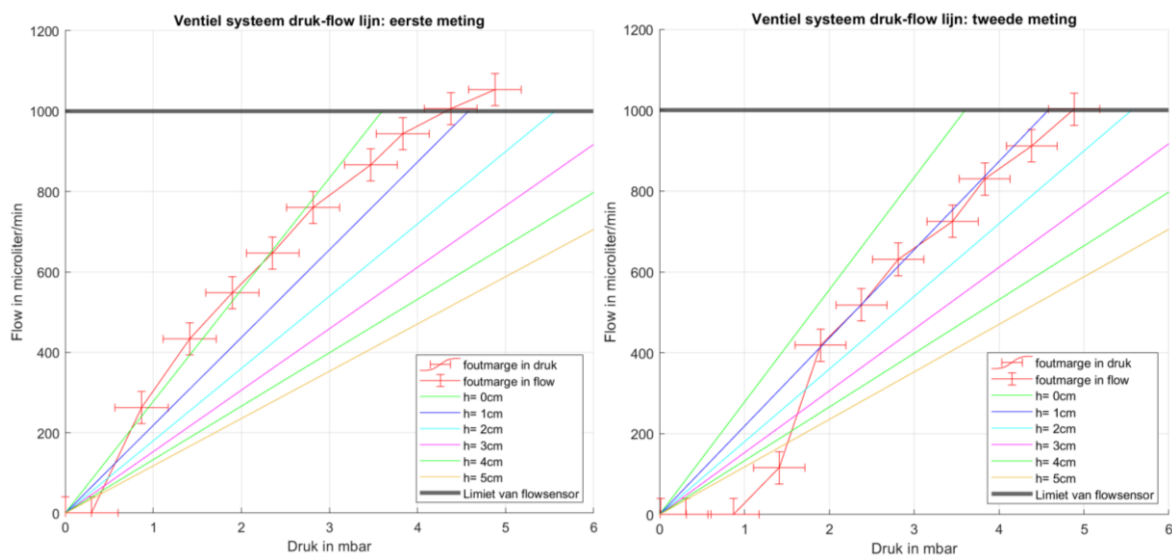
Er zijn verschillende hoogteverschilwaarden berekend, omdat de hoogte van het uiteinde van de buis, zoals te zien in figuur 12, niet exact is gemeten. Het waterniveau in het reservoir oefent hydrostatische druk uit op het water, wat bijdraagt aan de verplaatsing van water in de buis. Hierdoor hoeft de luchtpomp minder druk uit te oefenen wanneer het waterniveau in het reservoir hoger ligt dan het waterniveau aan het uiteinde van de buis. In figuur 12 is een deel van de schematische opstelling te zien ter verduidelijking, hier is $h_{\text{water, buis(variabel)}}$ het hoogteverschil tussen de uiteinde van de buis en het waterniveau in het reservoir. $h_{\text{water, reservoir}}$ is de hoogte van het waterniveau in het reservoir. Bijvoorbeeld, als het hoogteverschil 5 cm bedraagt, wordt dit in figuur 13 en 14 aangegeven als de gele lijn.



Figuur 12: Schematische opstelling van het reservoir, de Fluigent flow sensor L en het opvangvat. De hoogte van de buis die over het opvangvat ligt is variabel, omdat deze hoogte niet is opgemeten.

Figuur 13 laat de gemeten gegevens zien van het ventielsysteem reservoir. Er zijn in totaal twee metingen genomen met hetzelfde protocol. Het protocol was dat de druk met 0,5mbar om de minuut werd verhoogd. Wat opmerkelijk is aan dit experiment is dat bij een flow van rond 400 $\mu\text{l}/\text{minuut}$, de gemeten flow ongeveer gelijkloopt aan de voorspelde waarden. Bij de eerste meting volgde de gemeten lijn de berekende lijn voor een hoogteverschil van 0cm. Voor de tweede meting was het hoogteverschil 1cm. Dit verschil kan worden verklaard doordat bij het voorspellen van de druk-flow verhouding geen rekening is gehouden met het gedaalde waterniveau in het reservoir. Het gedaalde waterniveau heeft invloed op de hydrostatische druk. Uit de eerste en tweede meting (tabel 3) van het waterdichtheidsexperiment is gebleken dat één cyclus van het protocol 1,5ml gebruikt. Het hoogteverschil in het reservoir zou voor het dopsysteem 8,4mm bedragen en voor het ventielsysteem 6,2mm. Deze hoogteverschillen leiden tot een druk verschil van 0,84 mbar voor het ventielsysteemreservoir en 0,62mbar voor het dopsysteemreservoir. De luchtpomp moest voor de tweede meting meer druk uitoefenen dan voor de eerste meting bij dezelfde flowsnelheid. Dit zou ook betekenen dat de drukvoorspelling op 0cm aan het begin te hoog was voorspeld en aan het einde te laag was voorspeld. Dit komt doordat de hydrostatische druk de flow kan beïnvloeden wanneer het waterniveau hoger is dan het uiteinde van de afvoerbuis. Dit effect is licht te zien aan de rode lijn aan de linkerkant van figuur 13.

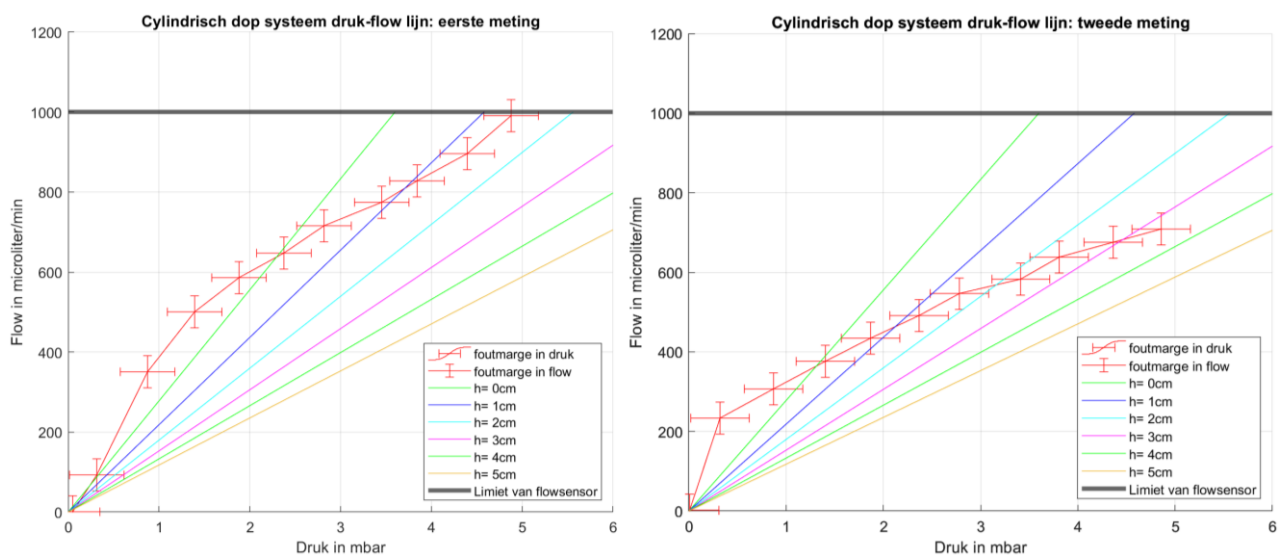
Aan de rechterkant van figuur 13 is dat effect niet te zien. Bij de eerste meting is er een flow te zien bij ongeveer 0,3 mbar en bij de tweede meting is er een flow rond 1 mbar. Het is mogelijk dat tijdens de overgang van de eerste naar de tweede meting de afvoerbuis omhoog is geschoven. Hierdoor moet de luchtpomp meer druk leveren om dezelfde flow te behouden. Ook valt op dat er een lineair verband is tussen de flow en de druk. Wanneer de druk toeneemt, stijgt ook de flow, wat overeenkomt met de wet van Ohm [27].



Figuur 13: Aan de linkerkant van de figuur laat de eerste meting zien en aan de rechterkant laat de tweede meting zien van het ventielsysteem van het experiment. De foutmarges zijn in het rood weergegeven. De zwarte lijn representeert de maximum meetbare waarde van de flowsensor. De overige kleuren zijn de berekende waarden voor hoogteverschillen tussen 0cm en 5cm.

Figuur 14 toont de meetgegevens van het dopsysteemreservoir. Ook hier zijn twee metingen genomen met hetzelfde protocol. De gemeten lijn komt niet overeen met de voorspelde waarden. Deze lijn zit wel in het bereik van de voorspelde waarden. De afwijking van de lijn kan worden veroorzaakt door luchtverlies of doordat het hoogteverschil tussen het cilindrisch reservoir en het opvangvat niet nauwkeurig is ingeschat. Voor de eerste meting kan de groene lijn worden aangehouden. Hier is het hoogteverschil 0cm. Op basis van de inschatting tijdens dit experiment was dit niet het geval. Wat ook opmerkelijk is in figuur 13, is dat op het begin zit de gemeten lijn boven de voorspelde waarde. Rond 2,2mbar voor de eerste meting en rond 1,2 mbar voor de tweede meting neemt de toename toe van de gemeten lijn af. Dit effect veroorzaakt kunnen zijn door luchtverlies bij een hogere druk.

Wat ook opvallend is, is dat de lijn bij de eerste meting niet meteen stijgt, maar dit wel het geval is bij de tweede meting. Bij de eerste meting is ook te zien dat de flow 1000 $\mu\text{l}/\text{min}$ bereikt, terwijl dat niet het geval is bij de tweede meting. Dit kan komen doordat het protocol niet genoeg druk had geleverd, omdat de hydrostatische druk in het reservoir is gedaald. Uit tabel 3 blijkt dat het reservoir voor de eerste meting 12 ml bevatte, terwijl dit voor de tweede meting was afgenomen tot 8 ml.



Figuur 14: Aan de linkerkant van de figuur laat de eerste meting zien en aan de rechterkant laat de tweede meting zien van het dopsysteem zien van het experiment. De foutmarges zijn in het rood weergegeven. De zwarte lijn representeert de maximum meetbare waarde van de flowsensor. De overige kleuren zijn de berekende waarden voor hoogteverschillen tussen 0cm en 5cm.

Hieruit blijkt dat de afwijking door de hydrostatische druk veel hoger ligt dan 10%. Bijvoorbeeld, bij een flow van 600 $\mu\text{l}/\text{min}$ en een hoogteverandering van 0cm is een druk van 2,3 mbar nodig, terwijl voor dezelfde flow bij een hoogteverandering van 5cm een druk van 5,2 mbar nodig is. Het effect van de hydrostatische druk bedraagt 2,9mbar. Deze bijdrage van de hydrostatische druk is aanzienlijk voor groter waardoor deze methode niet accuraat genoeg is om de juiste conclusie te kunnen trekken.

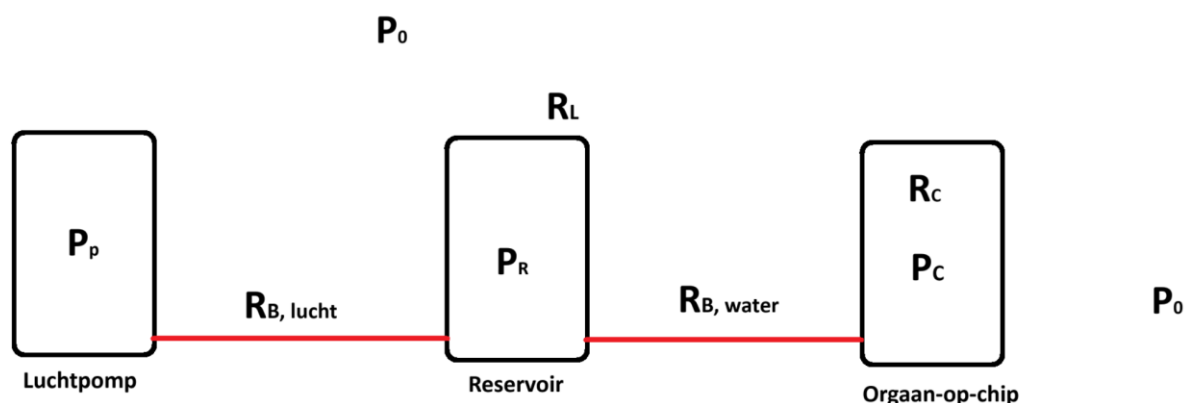
Een meer accuraat experiment is nodig om te bepalen of het reservoir waterdicht is. Een nieuwe, voorgestelde methode is om een extra druksensor te plaatsen in de opstelling, zodat het experiment niet meer afhankelijk is van de hydrostatische druk. In totaal zullen er twee druksensoren worden geplaatst, een sensor in de luchtpomp en een sensor in het reservoir. Als de druk in het reservoir en uit de luchtpomp hetzelfde zijn, betekent dat het systeem luchtdicht is. Echter, in de praktijk zal geen enkele systeem volledig luchtdicht zijn en zal er een afwijking worden verwacht in de metingen.

Om deze afwijking te kunnen bepalen, moet eerst de flow worden berekend. Deze flow kan worden berekend door eerst de weerstand van het OOC te bepalen. De weerstand van het OOC kan worden berekend met de wet van Hagen-Poiseuille[27]. De druk is bekend door de geplaatste sensoren in het reservoir en in de luchtpomp. Hiermee kan de flow worden bepaald op basis van de druk in het reservoir en de flow kan op basis van de druk in de luchtpomp worden bepaald. Het verschil tussen deze twee flows wordt met elkaar vergeleken. Dit verschil mag niet groter zijn dan de mogelijke fout van 10%, zoals bepaald in het kopje "Kwaliteitseisen". Als het verschil in flow kleiner is dan de mogelijke fout, kan er worden geconcludeerd dat het reservoir luchtdicht is. Een meer gedetailleerde uitwerking is te vinden in Appendix D.

Om de berekening hiervan te bepalen zijn er vier aannames gemaakt. De aannames zijn gebaseerd op eigen ervaring en op de ervaring van de supervisor:

1. Weerstand van orgaan-op-chip is veel hoger dan de weerstand van de buizen, dus zijn de andere weerstanden te verwaarlozen. In Appendix D wordt deze aanname beargumenteerd.
 - $R_{B,lucht} < R_{B,water} < R_C$
2. Systeem is waterdicht
 - In het geval zal het drukverlies alleen komen door een luchtlekkage en niet door de waterlekkages.
3. Fout is 10%
 - Deze waarde is bepaald onder het kopje "Kwaliteitseisen" op pagina 12.

Voor een beter begrip is er schematische opstelling van het experiment te zien in figuur 15.



Figuur 15: Een schematische weergave van de verbeterde opstelling. Waarbij P_p de druk in de pomp is, P_R is de druk in het reservoir, P_C is de druk in het OOC, P_0 is de druk in de omgeving, $R_{B,lucht}$ is de weerstand van een buis gevuld met lucht, $R_{B,water}$ is weerstand van een buis gevuld met water, R_C is de weerstand van orgaan-op-chip.

5.1.4 Herbruikbaarheid

Er zijn geen resultaten voor de herbruikbaarheid omdat er geen experimenten zijn uitgevoerd vanwege tijdsgebrek.

5.2 Bemonsteringseisen

Het was niet mogelijk om vloeistof uit het reservoir te halen zonder het systeem te stoppen. Dit kwam doordat de reservoirs zijn gebaseerd op luchtdruk. Doordat de bemonsteringsbuizen niet volledig waterdicht en luchtdicht zijn kon er hierdoor geen druk worden opgebouwd in het reservoir. Om dit op te lossen is ervoor gekozen om parafilm te gebruiken zodat het reservoir waterdicht en luchtdicht is. De parafilm op het ventielsysteem zorgde ervoor dat het niet mogelijk was om de

vloeistof te bemonsteren. Als de parafilm eraf werd gehaald dan lekte het reservoir meteen vloeistof. Voor het dopsysteem was het alleen mogelijk als de bemonstering snel werd gedaan. Als de dop van het reservoir werd verwijderd, verloor het reservoir meteen de opgebouwde druk. Dit drukverlies leidde tot verstoring in de flow. In de toekomst moet worden onderzocht hoelang een orgaan-op-chip zonder of met verminderde flow kan functioneren.

5.3 Gebruikersvriendelijkheid

De gebruikersvriendelijkheid van de reservoirs wordt beoordeeld in drie aspecten; gemak van het gebruik, veiligheid, benodigde tijd en de kosten.

5.3.1 Gemak van het gebruik

Het ventielsysteem reservoir en het dopsysteem reservoir waren niet gemakkelijk te gebruiken, omdat de bevestiging van de Luer-Lock aan de uitvoer van het reservoir lastig te bevestigen was. Dit levert 0,5 punt op omdat het wel mogelijk was, maar niet erg gemakkelijk. De hoogte van de uitvoer was te laag, wat het moeilijk maakte om de Luer-Lock stevig aan te draaien. Het correct aandraaien van de Luer-Lock is belangrijk om lekkages van vloeistof te voorkomen. Het bevestigen van de Luer-Lock aan de toevoer van beide reservoir verliep zonder problemen (1 punt). Het aansluiten van het dopsysteem reservoir op het FCB kon ook probleemloos worden bevestigd (1 punt). Voor het ventielsysteem was het bevestigen van het reservoir aan het FCB lastiger omdat de vorm ervoor zorgde dat er minder ruimte was voor de schroevendraaier. Voor dit reservoir is er 0,5 punt toegekend omdat het wel mogelijk was, maar niet heel gemakkelijk.

Beide reservoirs scoren geen punten op het gemak van het bemonsteren van de vloeistof. Het ventielsysteem kon geen vloeistof bemonsteren omdat het zorgde voor waterlekkage. Voor het dopsysteem was het alleen mogelijk als het systeem tolerant is voor flowverlies. Als de dop eraf werd gehaald verloor het meteen de druk in het reservoir. De parafilm die het reservoir afdichtte, moest ook worden vervangen bij het bijvullen met demi-water. Wanneer het vaak nodig was om het demi-water te verversen, resulteerde dit in een barst in de dop, te zien in figuur 16. Om het ontwerp van het dopsysteem reservoir te verbeteren, kan een sleuf in de dop worden gemaakt om een O-ring te plaatsen. Deze O-ring kan water- en luchtlekkage voorkomen.



Figuur 16: Links is een kapotte dop te zien van het dopsysteem reservoir bij veelvoudig gebruik. Rechts laat het parafilm zien die is aangebracht op de reservoirs.

5.3.2 Veiligheid van het reservoir

De beoordeling van de veiligheid van het reservoir kijkt naar twee belangrijke punten, de mogelijke chemicaliën die worden gebruikt en naar de aanwezigheid van scherpe objecten. Het ontwerp van

beide reservoirs bevat geen scherpe objecten. De randen zijn in SolidWorks SP5 2022 bijgewerkt met fillets, waardoor de randen zijn afgerond.

Voor het maken van de reservoirs is gebruik gemaakt van twee chemicaliën ABS-Like Photopolymer Resin Translucent en isopropanol. Voor de beoordeling van veiligheid wordt er gekeken naar het gevaar van deze chemicaliën op basis van hun Safety Data Sheet (SDS) [35,36]. Voor beide stoffen geldt als de stof in aanraking komt met de ogen en de huid zorgt dit voor irritaties. Het is van belang dat er gebruikt gemaakt wordt van handschoenen tijdens het produceren van de reservoirs. Een ander gevaar van isopropanol is dat het licht ontvlambaar is. Met de juiste maatregelen voor het produceren van het reservoir, is het proces veilig. Dit levert 2 punten op voor beide reservoirs, omdat de stoffen niet helemaal vrij zijn van risico's.

5.3.3 Toegankelijkheid van het reservoir

Voor de toegankelijkheid wordt er gekeken naar de kosten van de benodigde materialen en de tijd die er nodig is om het reservoir te produceren. De exacte berekening voor de prijzen van het produceren van een reservoir kan worden gevonden in de Appendix E. De tijd die voor het reservoir nodig om te printen was ongeveer 11 uur, het wassen van de reservoirs duurde 10 minuten en het uitharden duurde 45 minuten. De totale productietijd van één reservoir is ongeveer 12 uur. Tabel 4 laat de beoordeling zien van beide reservoirs.

Tabel 4: Beoordeling van de gebruiksvriendelijkheid

		Dopsysteem reservoir	Ventielsysteem reservoir
Gemakkelijkheid van het gebruik (5punten)	Bevestiging aan het FCB (1 punt)	1	0,5
	Aansluiting van aanvoer en afvoer op het reservoir (2 punten)	1,5	1,5
	Vloeistof bemonstering (2 punten)	0	0
Veiligheid (5punten)	Gevaar van chemicaliën (3 punten)	2	2
	Aanwezigheid van scherpe objecten (2 punten)	2	2
Totaal aantal punten		6,5	6
Vervangbaarheid: productie tijd		12	12
Vervangbaarheid: benodigde kosten		10,26	10,26

5.6 Algemene discussie

De resultaten van de luchtdichtheid experimenten waren niet nauwkeurig genoeg om een correcte conclusie te trekken. Dit komt hoogstwaarschijnlijk door de invloed van de hydrostatische druk van het water in de buis vergeleken met het waterniveau in het reservoir. Bij de eerste poging is er gekozen om de uitvoerende buis over de rand te leggen van het opvangvat en de tweede poging is om de buis in het water te stoppen om de oppervlaktetenspanning van water te vermijden in het resultaat. Het probleem hierbij is dat de hydrostatische druk met de tijd verandert, wat betekent dat de geleverde druk ook verandert voor een constante flow. Bij het tweede experiment ging het water terug naar het reservoir wanneer de druk van de pomp afnam. Dit zorgde voor een andere verhouding tussen de geleverde druk en de gemeten flow. Een nieuwe methode is voorgesteld waarvan de luchtdichtheid niet meer afhankelijk is van de hydrostatische druk.

De tweede reden waarom er geen correcte conclusie kan worden getrokken, heeft te maken met de berekening van de flow. Voor de berekening was er geen rekening gehouden met de binnendiameter van de flow sensor. Dit heeft een effect op de buisweerstand, waardoor er een minder accuraat voorspelde verhouding is tussen volume en druk. In Appendix D wordt het effect bepaald van deze aanname.

De beoordeling van gebruiksvriendelijk is alleen uitgevoerd door één persoon. Voor meer validiteit is het aan te raden om het door verschillende laboranten het reservoir te laten testen en te beoordelen.

Het experiment mist ook voor het beoordelen van herbruikbaarheid van het reservoir. Dit experiment is niet gedaan in het laboratorium omdat het niet haalbaar was in 10 weken. De eis van de herbruikbaarheid is dat het reservoir minstens 10 keer kan worden gebruikt, zonder dat afbraakproducten waar te nemen zijn onder een microscoop. Het idee om dit experiment uit te voeren is om 10 keer het reservoir te legen en vullen met demi-water. Daarbij wordt er ook gelet op de waterdichtheid en de luchtdichtheid. Vervolgens wordt er gekeken onder de microscoop of er deeltjes te zien zijn van afbraakproducten.

Uit het ontwerp is gebleken dat de geprinte reservoirs niet luchtdicht zijn, dat de bemonsteringsbuis van het ventielsysteemreservoir niet waterdicht is en automatisch ook niet luchtdicht. Het dopsysteemreservoir was ook niet luchtdicht. Ook was de bevestiging tussen de afvoer van het reservoir lastig te bevestigen aan de Luer-Lock. Als het niet goed werd bevestigd, zorgde dit voor waterlekage. Een mogelijke verklaring voor een slechte verbinding tussen de Luer-Lock en het reservoir zou kunnen zijn dat de instellingen van 'Phrozen Sonic Mini 8K' en 'Chitubox' niet goed waren geoptimaliseerd.

5.7 Beoordeling van het reservoir

In tabel 5 worden alle eisen beoordeeld. De ontwerpeisen, kwaliteitseisen en bemonsteringeis zijn elk 10 punten waard. De resultaten van de luchtdichtheid waren niet duidelijk genoeg om een conclusie te trekken. De herbruikbaarheid van het reservoir is niet getest en is gemarkeerd in rood. De gebruiksvriendelijkheid is in totaal 15 punten waard.

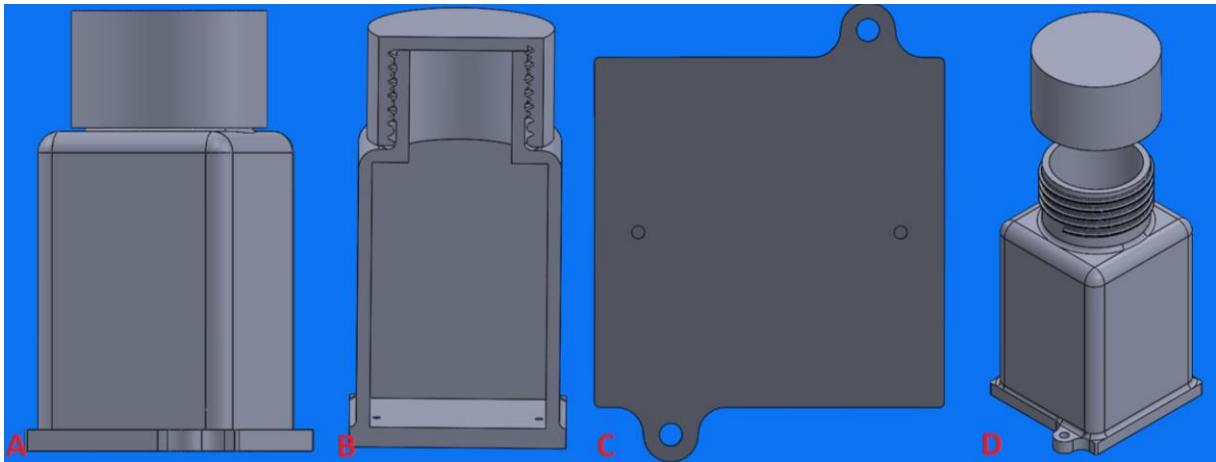
Tabel 5: Beoordeling van de reservoirs

Eisen		Ventielsysteem reservoir	Dopsysteem reservoir
Ontwerpeisen (10 punten)	Lengte (2,5 punten)	Voldoet, 28mm	N.v.t
	Breedte (2,5 punten)	Voldoet, 23mm	Voldoet, 27,6mm (buitendiameter)
	Inhoud (2,5 punten)	Voldoet, 16ml	Voldoet, 14ml
	Verplaatsbaarheid (2,5 punten)	Voldoet	Voldoet
Kwaliteitseisen (10 punten)	Stevigheid (2,5 punten)	Voldoet, 500mbar	Voldoet, 400mbar
	Waterdichtheid (2,5 punten)	Voldoet, geen zichtbaar vloeistof verlies	Voldoet, geen zichtbaar vloeistof verlies
	Luchtdichtheid(2,5 punten)	Niet eenduidig	Niet eenduidig
	Herbruikbaarheid (2,5 punten)		
Bemonsteringseis (10 punten)	Bemonstering van vloeistof (10 punten)	Voldoet niet	Voldoet niet
Gebruiksvriendelijkheid (15 punten)	Gebruiksgemak (5 punten)	2	2,5
	Veiligheid (5 punten)	4	4
	Vervangbaarheid (5 punten)	Voldoet, 12 uur	Voldoet, 12 uur
Totaal punten		26	26,5

5.8 Een nieuw ontwerp voor het reservoir

Uit de experimenten is gebleken dat het systeem niet waterdicht is. Een druk-afhankelijk reservoir heeft aangetoond dat het niet mogelijk is om vloeistof te bemonsteren en de druk te behouden in het reservoir tegelijkertijd. Ook is er gebleken dat het lastig was om de Luer-Lock te bevestigen aan de aanvoer- en afvoerbuizen van het reservoir, omdat het reservoir te dicht op het FCB zat.

Voor deze complicaties is er een nieuw reservoir voor bedacht. Voor het nieuwe ontwerp is er gekozen om een niet druk-afhankelijk reservoir te maken. Voor dit reservoir is een vloeistof-verplaatsing pomp nodig. Het voordeel van dit ontwerp is dat de toevoer en afvoer willekeurig zijn. Onder de aanvoer- en afvoergaten kunnen er O-ringen aan bevestigd worden zodat het reservoir waterdicht is. Voor een vervolgonderzoek kunnen dezelfde testen worden uitgevoerd. In figuur 17 wordt het nieuwe ontwerp weergegeven.



Figuur 17: A is het vooraanzicht van het reservoir. B is een dwarsdoorsnede. C is het onderaanzicht en D is de 'exploded view'

5.8.1 Afmetingen van het nieuwe reservoir

Het reservoir is ook direct verbonden met de ondergrond. De afstand tussen de bevestigingsgaten is 41,1mm en deze gaten hebben een diameter van 2,1mm en een diepte van 3mm. De afstand tussen de aanvoer en afvoer is 24mm. De aanvoer en afvoergaten hebben een diepte van 3mm en een diameter van 1,2mm. Dit reservoir heeft een rechthoekige vorm. De ondergrond is 32mm bij 32mm. De hoogte van het reservoir is 60mm hoog. De inhoud van het reservoir is 29ml. Het bevat een SP4xx Bottle type met een grootte van SP452-L-12 en een diameter van 23mm. De dop bevat hetzelfde schroefdraad. De wanden hebben een dikte van 2mm.

6. Conclusie en aanbevelingen

Het doel van het onderzoek is om een reservoir te ontwikkelen voor "Orgaan-Op-Chips" met de mogelijkheid voor vloeistofbemonstering, waarbij ook gelet is op modulariteit, gebruiksvriendelijkheid en herbruikbaarheid.

Er zijn een aantal aanpassingen nodig aan het dopsysteem en ventielsysteem reservoirs om de gebruiksvriendelijkheid te verbeteren. De afvoerbuizen van de reservoirs bevonden zich te dicht bij de FCB. Dit probleem kan worden verholpen door de hoogte van deze buis te vergroten. Op deze manier is het toegankelijker om de Luer-Lock te plaatsen. De bovenkant van het dopsysteem reservoir was niet luchtdicht. Lucht kon van bovenaf ontsnappen, waardoor het niet mogelijk was dat de druk in het reservoir toenam.

De herbruikbaarheid zou ook kunnen worden verbeterd door het ontwerp van het dopsysteem te verbeteren. Dit kan worden gedaan door bijvoorbeeld een sleuf boven de schroefdraad aan te brengen om het reservoir luchtdicht te maken. Voor het klepsysteem kan de sleuf voor de bemonstering dieper worden gemaakt om te voorkomen dat de O-ring beweegt. Dit zou ook betekenen dat er geen parafilm nodig is, wat ook minder materiaalverspilling betekent.

De reservoirs waren ontworpen in SolidWorks SP5 2022, waarbij rekening werd gehouden met de modulariteit van het reservoir. Deze reservoirs waren gemakkelijk te verplaatsen van de ene plaats naar de andere plaats op de FCB. Een mogelijke verbetering voor het ventielsysteem reservoir is de vorm. De rechthoekige vorm zorgde ervoor dat de bout en moer lastiger te bevestigen was aan de FCB.

Voor de huidige SLA geprinte reservoirs zou het niet mogelijk zijn om de vloeistof te bemonsteren terwijl het systeem draait. Het probleem van het dopsysteem is dat het niet luchtdicht is wanneer de vloeistof wordt bemonsterd en dat de aansluiting van het ventiel op het ventielsysteem niet waterdicht is.

Kortom, het zou mogelijk zijn om aan deze criteria te voldoen als de nodige aanpassingen worden doorgevoerd. Met de huidige ontwerpen van dopsysteem en ventielsysteem zou het in de praktijk niet mogelijk zijn om deze reservoirs optimaal te benutten. SLA een veelbelovende techniek voor op maat gemaakte reservoirs in OOC. Wellicht kunnen er nieuwe reservoirs worden vervaardigd die het mogelijk maken vloeistof te bemonsteren terwijl het systeem nog draait.

Referenties

- [1] Vivas A, van den Berg A, Passier R, Odijk M, van der Meer AD. Fluidic circuit board with modular sensor and valves enables stand-alone, tubeless microfluidic flow control in organs-on-chips. *Lab Chip* 2022;22:1231–43. <https://doi.org/10.1039/D1LC00999K>.
- [2] Chen Z, Zilberberg J, Lee W. Pumpless microfluidic device with open top cell culture under oscillatory shear stress. *Biomed Microdevices* 2020;22:1–10. <https://doi.org/10.1007/S10544-020-00515-2/FIGURES/8>.
- [3] Tronolone JJ, Lam J, Agrawal A, Sung K. Pumpless, modular, microphysiological systems enabling tunable perfusion for long-term cultivation of endothelialized lumens. *Biomed Microdevices* 2021;23:1–14. <https://doi.org/10.1007/S10544-021-00562-3/FIGURES/7>.
- [4] Czurratis D, Beyl Y, Grimm A, Brettschneider T, Zinober S, Lärmer F, et al. Liquids on-chip: direct storage and release employing micro-perforated vapor barrier films. *Lab Chip* 2015;15:2887–95. <https://doi.org/10.1039/C5LC00510H>.
- [5] Beißner N, Reichl S, Lorenz T. Organ on chip. *Microsystems for Pharmatechnology: Manipulation of Fluids, Particles, Droplets, and Cells* 2016:299–339. https://doi.org/10.1007/978-3-319-26920-7_11/FIGURES/14.
- [6] van Berlo D, van de Steeg E, Amirabadi HE, Masereeuw R. The potential of multi-organ-on-chip models for assessment of drug disposition as alternative to animal testing. *Curr Opin Toxicol* 2021;27:8–17. <https://doi.org/10.1016/J.COTOX.2021.05.001>.
- [7] Campbell SB, Wu Q, Yazbeck J, Liu C, Okhovatian S, Radisic M. Beyond Polydimethylsiloxane: Alternative Materials for Fabrication of Organ-on-a-Chip Devices and Microphysiological Systems. *ACS Biomater Sci Eng* 2021;7:2880–99. https://doi.org/10.1021/ACSBIOMATERIALS.0C00640/ASSET/IMAGES/LARGE/ABOC00640_0006.JPEG.
- [8] Shanti A, Teo J, Stefanini C. In Vitro Immune Organs-on-Chip for Drug Development: A Review. *Pharmaceutics* 2018, Vol 10, Page 278 2018;10:278. <https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS10040278>.
- [9] Ferrari E, Rasponi M. Liver-Heart on chip models for drug safety. *APL Bioeng* 2021;5:31505. <https://doi.org/10.1063/5.0048986/1025065>.
- [10] Mastrangeli M, Millet S, van den Eijnden-Van Raaij J. Organ-on-chip in development: Towards a roadmap for organs-on-chip. *ALTEX - Alternatives to Animal Experimentation* 2019;36:650–68. <https://doi.org/10.14573/ALTEX.1908271>.
- [11] Sung JH, Shuler ML. Prevention of air bubble formation in a microfluidic perfusion cell culture system using a microscale bubble trap. *Biomed Microdevices* 2009;11:731–8. <https://doi.org/10.1007/S10544-009-9286-8/FIGURES/5>.
- [12] Ong LJY, Chong LH, Jin L, Singh PK, Lee PS, Yu H, et al. A pump-free microfluidic 3D perfusion platform for the efficient differentiation of human hepatocyte-like cells. *Biotechnol Bioeng* 2017;114:2360–70. <https://doi.org/10.1002/BIT.26341>.
- [13] Ingber DE. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nature Reviews Genetics* 2022 23:8 2022;23:467–91. <https://doi.org/10.1038/s41576-022-00466-9>.

- [14] Organ-on-a-Chip Models | Single- & Multi- Organ | CN Bio n.d. <https://cn-bio.com/models/#multi-organ> (accessed August 21, 2023).
- [15] Liquid Storage - Tanks - microfluidic ChipShop n.d. <https://www.microfluidic-chipshop.com/catalogue/accessories/liquid-storage/liquid-storage-tanks/> (accessed August 21, 2023).
- [16] Guide to Select & Use Microfluidic Reservoir Kits & Connectors n.d. https://www.precigenome.com/microfluidic-reservoir?gad=1&gclid=Cj0KCQjwz8emBhDrARIsANNJjS79ZKqTcsMRCy8reOfmjadIC5pD98xP_nyUdqgfZ1QkSOVOINQr7UYaApavEALw_wcB (accessed August 21, 2023).
- [17] Tadimety A, Closson A, Li C, Yi S, Shen T, Zhang JXJ. Advances in Liquid Biopsy On-Chip for Cancer Management: Technologies, Biomarkers, and Clinical Analysis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2018;55:140. <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1425976>.
- [18] Melin J, Roxhed N, Gimenez G, Griss P, Van Der Wijngaart W, Stemme G. A liquid-triggered liquid microvalve for on-chip flow control. *Sens Actuators B Chem* 2004;100:463–8. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2004.03.010>.
- [19] Gao C, Sun X, Gillis KD. Fabrication of two-layer poly(dimethyl siloxane) devices for hydrodynamic cell trapping and exocytosis measurement with integrated indium tin oxide microelectrodes arrays. *Biomed Microdevices* 2013;15:445–51. <https://doi.org/10.1007/S10544-013-9744-1/FIGURES/6>.
- [20] Shiroma LS, Piazzetta MHO, Duarte-Junior GF, Coltro WKT, Carrilho E, Gobbi AL, et al. Self-regenerating and hybrid irreversible/reversible PDMS microfluidic devices. *Scientific Reports* 2016 6:1 2016;6:1–12. <https://doi.org/10.1038/srep26032>.
- [21] Vladislavljević GT, Khalid N, Neves MA, Kuroiwa T, Nakajima M, Uemura K, et al. Industrial lab-on-a-chip: Design, applications and scale-up for drug discovery and delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65:1626–63. <https://doi.org/10.1016/J.ADDR.2013.07.017>.
- [22] Patel JN, Kaminska B, Gray BL, Gates BD. PDMS as a sacrificial substrate for SU-8-based biomedical and microfluidic applications. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 2008;18. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/18/9/095028>.
- [23] Shen F, Ai M, Ma J, Li Z, Xue S. An Easy Method for Pressure Measurement in Microchannels Using Trapped Air Compression in a One-End-Sealed Capillary. *Micromachines (Basel)* 2020;11. <https://doi.org/10.3390/M111100914>.
- [24] Xie S, Wu J, Tang B, Zhou G, Jin M, Shui L. Large-Area and High-Throughput PDMS Microfluidic Chip Fabrication Assisted by Vacuum Airbag Laminator. *Micromachines* 2017, Vol 8, Page 218 2017;8:218. <https://doi.org/10.3390/M18070218>.
- [25] Pressure Drop Calculator | Microfluidics Manufacturer | uFluidix n.d. <https://www.ufluidix.com/microfluidic-technical-knowledgebase/pressure-drop-calculator/> (accessed September 7, 2023).
- [26] Yoshimura Y, Kikuri T, Hasegawa T, Matsuno M, Minamikawa H, Deyama Y, et al. How much medium do you use for cell culture? Medium volume influences mineralization and osteoclastogenesis in vitro. *Mol Med Rep* 2017;16:429–34. <https://doi.org/10.3892/MMR.2017.6611/HTML>.

- [27] Boron WF, Boulpaep EL. *Medical Physiology*, Boron, Boulpaep. 3rd ed. Elsevier - Health Sciences Division; 2016.
- [28] Maoz BM, Herland A, Fitzgerald EA, Grevesse T, Vidoudez C, Pacheco AR, et al. A linked organ-on-chip model of the human neurovascular unit reveals the metabolic coupling of endothelial and neuronal cells. *Nature Biotechnology* 2018 36:9 2018;36:865–74. <https://doi.org/10.1038/nbt.4226>.
- [29] Menéndez ABC, Du Z, van den Bosch TPP, Othman A, Gaio N, Silvestri C, et al. Creating a kidney organoid-vasculature interaction model using a novel organ-on-chip system. *Scientific Reports* 2022 12:1 2022;12:1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24945-5>.
- [30] Zhang T, Tao R, Yue C, Jing N. Protocol for generating human induced neural progenitor cells from immobilized adult peripheral blood. *STAR Protoc* 2021;2:100346. <https://doi.org/10.1016/J.XPRO.2021.100346>.
- [31] Xu S, De Becker A, Van Camp B, Vanderkerken K, Van Riet I. An improved harvest and in vitro expansion protocol for murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010. <https://doi.org/10.1155/2010/105940>.
- [32] Yi HG, Lee H, Cho DW. 3D Printing of Organs-On-Chips. *Bioengineering* 2017, Vol 4, Page 10 2017;4:10. <https://doi.org/10.3390/BIOENGINEERING4010010>.
- [33] Flow EZ™, Most Advanced Microfluidic flow controller - Fluigent n.d. <https://www.fluigent.com/research/instruments/pressure-flow-controllers/flow-ez/#specifications> (accessed September 8, 2023).
- [34] FLOW UNIT Bidirectional Microfluidic Flow Sensor - Fluigent n.d. <https://www.fluigent.com/research/instruments/sensors/flow-unit/> (accessed September 8, 2023).
- [35] Roth GmbH C. SECTION 1: Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking 1.1 Product identifier n.d.
- [36] Photopolymer Resin From ELEGOO MATERIAL SAFETY DATA SHEET n.d.
- [37] Li Z, Mak SY, Sauret A, Shum HC. Syringe-pump-induced fluctuation in all-aqueous microfluidic system implications for flow rate accuracy. *Lab Chip* 2014;14:744–9. <https://doi.org/10.1039/C3LC51176F>.
- [38] Guckenberger DJ, De Groot TE, Wan AMD, Beebe DJ, Young EWK. Micromilling: a method for ultra-rapid prototyping of plastic microfluidic devices. *Lab Chip* 2015;15:2364–78. <https://doi.org/10.1039/C5LC00234F>.
- [39] He Y, Wu Y, Fu JZ, Gao Q, Qiu JJ. Developments of 3D Printing Microfluidics and Applications in Chemistry and Biology: a Review. *Electroanalysis* 2016;28:1658–78. <https://doi.org/10.1002/ELAN.201600043>.
- [40] Bozkurt Y, Karayel E. 3D printing technology; methods, biomedical applications, future opportunities and trends. *Journal of Materials Research and Technology* 2021;14:1430–50. <https://doi.org/10.1016/J.JMRT.2021.07.050>.

- [41] Gordelier T, Thies PR, Johanning L, Turner L. Optimising the FDM additive manufacturing process to achieve maximum tensile strength: a state-of-the-art review 2019. <https://doi.org/10.1108/rpj-07-2018-0183>.
- [42] Di Rosa L. Filaments and Resins for 3D Medical Printing. 3D Printing in Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery: A Guide for Clinical Practice 2022:15–22. https://doi.org/10.1007/978-3-031-10558-6_2/COVER.
- [43] Satoh T, Sugiura S, Shin K, Onuki-Nagasaki R, Ishida S, Kikuchi K, et al. A multi-throughput multi-organ-on-a-chip system on a plate formatted pneumatic pressure-driven medium circulation platform. *Lab Chip* 2017;18:115–25. <https://doi.org/10.1039/C7LC00952F>.
- [44] Jonsson MKB, Wang QD, Becker B. Impedance-based detection of beating rhythm and proarrhythmic effects of compounds on stem cell-derived cardiomyocytes. *Assay Drug Dev Technol* 2011;9:589–99. <https://doi.org/10.1089/ADT.2011.0396/ASSET/IMAGES/LARGE/FIGURE3.JPEG>.
- [45] Versari S, Barenghi L, van Loon J, Bradamante S. The SCD – Stem Cell Differentiation ESA Project: Preparatory Work for the Spaceflight Mission. *Microgravity Sci Technol* 2016;28:19–28. <https://doi.org/10.1007/S12217-015-9466-5/TABLES/2>.
- [46] Ianiro G, Monini M, Ammendolia MG, De Sabato L, Ostanello F, Vaccari G, et al. In Vitro Replication of Swine Hepatitis E Virus (HEV): Production of Cell-Adapted Strains. *Animals* 2023, Vol 13, Page 276 2023;13:276. <https://doi.org/10.3390/ANI13020276>.
- [47] Occhetta P, Visone R, Russo L, Cipolla L, Moretti M, Rasponi M. VA-086 methacrylate gelatine photopolymerizable hydrogels: A parametric study for highly biocompatible 3D cell embedding. *J Biomed Mater Res A* 2015;103:2109–17. <https://doi.org/10.1002/JBM.A.35346>.
- [48] Xu S, De Becker A, Van Camp B, Vanderkerken K, Van Riet I. An improved harvest and in vitro expansion protocol for murine bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010. <https://doi.org/10.1155/2010/105940>.
- [49] Xie DM, Chen Y, Liao Y, Lin W, Dai G, Lu DH, et al. Cardiac Derived CD51-Positive Mesenchymal Stem Cells Enhance the Cardiac Repair Through SCF-Mediated Angiogenesis in Mice With Myocardial Infarction. *Front Cell Dev Biol* 2021;9:642533. <https://doi.org/10.3389/FCELL.2021.642533/BIBTEX>.
- [50] 2ml Autosampler Vials Pack Of 100 - Hplc Vials 9-425 Clear Vials With Blue Screw Caps,blue White Se | Fruugo NL n.d. https://www.fruugo.nl/2ml-autosampler-vials-pack-of-100-hplc-vials-9-425-clear-vials-with-blue-screw-capsblue-white-se/p-134689536-284293906?language=en&ac=ProductCasterAPI&asc=pmax&gclid=CjwKCAjw-7OIBhB8EiwAnoOEK2mrKxIFNsLX6s0f3VmIEZD3mAX5bIIAwR1XQ-5gz-eBCQ4trvv6vx0C6McQAvD_BwE (accessed July 12, 2023).
- [51] Luer lock male tbv acushot (1136) n.d. https://www.agro-topshop.nl/luer-lock-male-tbv-acushot-1136.html?srsId=ASuE1wQNZuSTh2lqmgdPxzgoqZ4Hr6_y-erqFI5yAZ5XQ5LhOXeLFC7_9Eg (accessed July 12, 2023).
- [52] Thermo Scientific™ SureSTART™ 9 mm Screw Caps, Level 1 Everyday Analysis Thermo Scientific™ SureSTART™ 9 mm Screw Caps, Level 1 Everyday Analysis | Fisher Scientific n.d. <https://www.fishersci.fi/shop/products/surestart-blue-polypropylene-9-mm-screw-caps-pre->

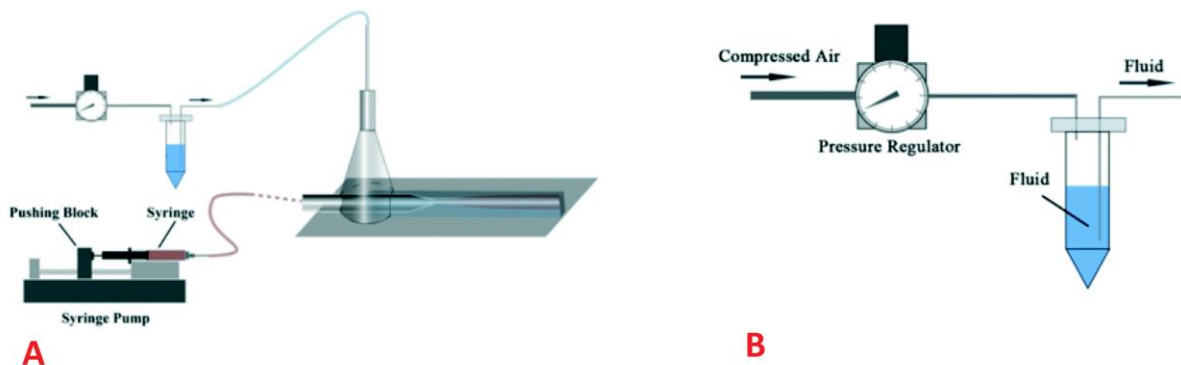
- slit-bonded-white-silicone-red-ptfe-septa-5000-pack-level-1/17895194 (accessed July 12, 2023).
- [53] Elegoo ABS-like resin Rokerig zwart 1 kg Elegoo 123-3d.nl n.d. https://www.123-3d.nl/Elegoo-ABS-like-resin-Rokerig-zwart-1-kg-14-0007-134-i8530-t27725.html?mkwid=s7OEtuBFu_dc%7Cpcrid%7C644435768399%7Cpkw%7C%7Cpmt%7C%7Cslid%7C%7Cprid%7CPCF_DLQ05017__14.0007.134&pgrid=145968742798&ptaid=pla-929407953753&gad=1&gclid=CjwKCAjw-7OIBhB8EiwAnoOEK96k2MWHZ7UkWWD3aSJpNXbA2-AnpiRfy0Nz-PG8MeWUF7oomVM6xoCRasQAvD_BwE (accessed July 12, 2023).
- [54] Thermo Scientific™ 9mm Autosampler Vial Septa PTFE/Silicone Thermo Scientific™ 9mm Autosampler Vial Septa | Fisher Scientific n.d. <https://www.fishersci.ie/shop/products/9mm-autosampler-vial-septa-red-ptfe-white-silicone/13151673> (accessed July 12, 2023).
- [55] Orphi Isopropanol 70% (250ml) n.d. https://www.koopjesdrogisterij.nl/orphi-isopropanol-70-percent-250ml-930271.html?gexcl=true&gclid=CjwKCAjw-7OIBhB8EiwAnoOEK67KRPQOoOxRH4K0oeAWu6b9ra_s-M8xDWYuz9q2t2fDdy8YA1_FShoCkEkQAvD_BwE (accessed July 12, 2023).
- [56] BD Microlance injectienaald 21G groen 0,8x40mm kopen? | Merkala.nl n.d. https://www.merkala.nl/bd-microlance-injectienaalden-21g-groen-0-8x40mm-100-stuks.html?gclid=CjwKCAjw-7OIBhB8EiwAnoOEK60n1ZHDiXVeCTIx5Qe-avONEPKTjas2v5egrOSY9XbtZdpWQ5ITfRoCSrEQAvD_BwE (accessed July 12, 2023).
- [57] Parafilm M - Labshop n.d. <https://www.labshop.nl/parafilm-m/> (accessed July 12, 2023).
- [58] BD Microlance injectienaald 23G blauw 0,6x25mm kopen? | Merkala | Merkala.nl n.d. https://www.merkala.nl/bd-microlance-injectienaalden-23g-blauw-0-6x25mm-100-stuks.html?gclid=CjwKCAjw-7OIBhB8EiwAnoOEK4YOB RN6nD3BqRrpSmMQwh0LGi6OTuD4aEWTr2VaY73qeBVqz7Ct-xoCDosQAvD_BwE (accessed July 12, 2023).
- [59] Bolt and Nut Set - M3-M4-M5 - 500 pieces - BOLT NUT SET-500PCS n.d. <https://www.tinytronics.nl/shop/en/tools-and-mounting/installation-and-mounting-material/bolts/bolt-and-nut-set-m3-m4-m5-500-pieces> (accessed July 12, 2023).

Appendix A: Achtergrond informatie

In dit kopje wordt de benodigde achtergrondinformatie beschreven van het reservoir met naalden. Als eerst worden twee verschillende drukmechanismes besproken. Daarna werd er nagedacht over de verschillende techniek om reservoirs te produceren. Ook wordt er besproken hoe de inhoud van cilindervormige en een rechthoekig reservoir berekend kan worden. Als laatst wordt er gekeken naar verschillende materialen die biocompatibel zijn.

A.1 Drukmechanisme van het reservoir

Er is druk nodig in het reservoir om de vloeistof te transporteren. Voor dit onderzoek kunnen twee typen micropompen worden gebruikt. Het eerste type is de luchtpomp die lucht gebruikt om druk te creëren in het reservoir. Dit type micropomp kan worden gebruikt bij reservoirs waar de toevoer hoger ligt dan de uitvoer. Bijvoorbeeld naaldreservoirs [37] waar de druk wordt opgewekt door twee naalden, een korte naald en een lange naald. Beide naalden worden op hun plaats gehouden door een septum. Dit septum is ook belangrijk voor het afsluiten van het reservoir, anders kunnen de vloeistoffen ontsnappen. De hoge naald voert de vloeistof af naar een OOC-kanaal en de kleine naald pompt lucht in het reservoir om druk te creëren. De tweede micropomp is de spuitpomp die de plunjer inbrengt en terugtrekt om de druk te creëren. Hoe meer vloeistoffen worden teruggetrokken, hoe groter het volume van de vloeistof die wordt verplaatst. Dit kan worden gebruikt voor reservoirs waar de toevoer en uitvoer op dezelfde hoogte zijn. De ingang van het reservoir is aangesloten op de spuit en de uitgang is aangesloten op de FCB die naar de OOC gaat. In figuur 18 uit het artikel Li Z *et al.*[37] toont het verschil tussen deze twee pompen.



Figuur 18: Overzicht van het verschil tussen een spuitpomp en een benzinepomp. B: Een ingezoomde foto van de benzinepomp waar de korte naald de lucht blaast en de lange naald de vloeistof opvangt[37]

A.2 Naaldreservoir

Het naald reservoir die in dit onderzoek wordt gebruikt heeft hetzelfde basisprincipe maar de naalden zijn omgekeerd. De lange naald zorgt voor de druk in het reservoir en de korte naald zorgt voor de afvoer van het vloeistof in het reservoir. De vloeistof verplaatst zich als een bepaalde druk is bereikt in het reservoir. Het is belangrijk dat de vloeistof boven de kleine naald ligt. Anders kan er lucht in het systeem komen. De druk wordt in het reservoir gereguleerd door een luchtpomp. Om de naalden op hun plaats te houden in het reservoir, wordt een septum gebruikt. Dit septum zorgt er ook voor dat er geen water lekt uit het reservoir. Voor elke vloeistof verversing is er nieuw septum nodig. Als het septum niet wordt vervangen, dan zal het naald reservoir lekken. In figuur 19 is een weergave van het naald reservoir met een volume van 1.5ml.



Figuur 19: Gebruikte naald reservoir

A.3 Productie van het reservoir

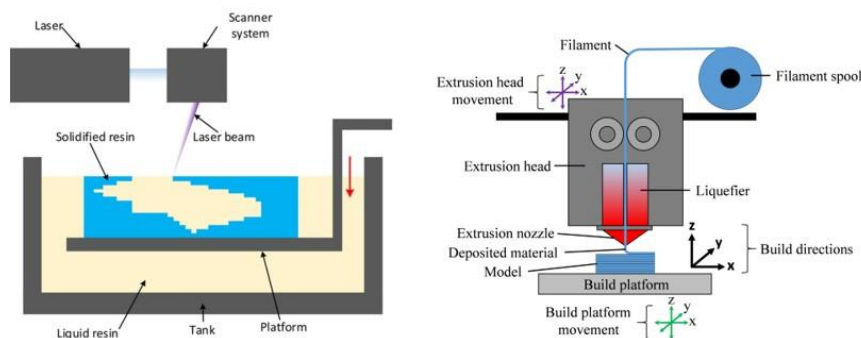
Er zijn veel manieren om een reservoir op chip te maken. Het onderzoek van Guckenberger D.J *et al.*[38] besprak de meest gebruikelijke technieken om een prototype van plastic microfluidische chips te produceren. De techniek die voor dit onderzoek interessant zou kunnen zijn, is stereolithografie of ook wel stereolithografie-apparaat (SLA) printer genoemd. Het is een soort 3D-printtechniek, die in het volgende gedeelte in meer detail zal worden besproken. Ook zal er gekeken worden naar fused deposition modeling (FDM) print techniek.

A.3.1 SLA print techniek

Een stereolithografie-apparaat (SLA) printer kan onderdelen laag voor laag 3D printen met behulp van supports [39,40]. Er zijn supports nodig voor het voorkomen van instorten van het reservoir tijdens het printen van de onderdelen. Deze printtechniek maakt gebruik van lichtgevoelige polymeervloeistof die kan worden geactiveerd door een lichtbron. Voor dit onderzoek wordt ultraviolet (UV) licht gebruikt om het polymeer (ABS-Like Photopolymer Resin Translucent) te activeren. De UV-laser bepaalt de doorsnede van het 3D-onderdeel. Wanneer het polymeer wordt geactiveerd, wordt de laag van het polymeer vast in plaats van vloeibaar. Op deze laag kan een nieuwe laag worden gevormd. Dit proces herhaalt zich totdat het hele reservoir is afgedrukt. Een schematisch overzicht is te zien in figuur 20.

A.3.2 FDM print techniek

Fused Deposition Modeling (FDM)[41] printer is ook een methode die laag voor laag print. Deze techniek gebruikt een spuitmond in plaats van een UV-laser om de onderdelen in 3D te printen. Het polymeer dat voor deze techniek wordt gebruikt, zijn polymelkzuur (PLA) filamenten[42]. Het mondstuk verwarmt het polymeer en kan op het bouwplatform worden gesmolten. Het polymeer hardt snel genoeg uit op het bouwplatform zodat de volgende laag direct kan worden bedrukt. Dit proces is sneller in vergelijking met SLA. In figuur 20 is een schematisch overzicht van deze druktechniek weergegeven.



Figuur 20 schematische weergave van een SLA print techniek [39] en FDM printtechniek[41]

A.4 Capaciteit van het reservoir

Voor dit onderzoek zou een ideaal volume voor een reservoir tussen de 10 en 15 milliliter zijn volgens de adviezen van mijn supervisor. Er zijn twee vormen van het reservoir gekozen, rechthoekig en cilindrisch.

De capaciteit van een rechthoek hangt af van de lengte, breedte of hoogte. Dit geeft de uitdrukking 9:

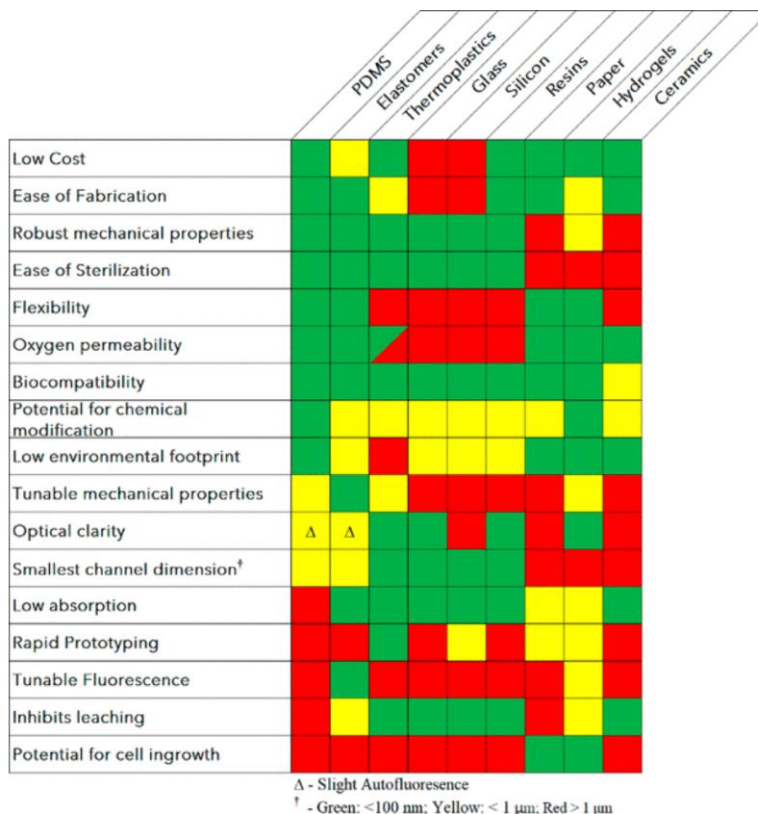
$$V_{rectangle} = l * b * h \quad (9)$$

Voor een reservoir dat een cilindrische vorm heeft, kan het volume worden berekend met deze formule 10:

$$V_{cylinder} = \pi r^2 h \quad (10)$$

Hier is h de hoogte, b de breedte, l is de lengte, en r is radius. Alle eenheden zijn in meters en het volume kan worden omgerekend naar milliliters.

A.5 Materiaalkeuze



^aGreen, yellow, red indicate generally positive, moderate, or negative characteristics, respectively.

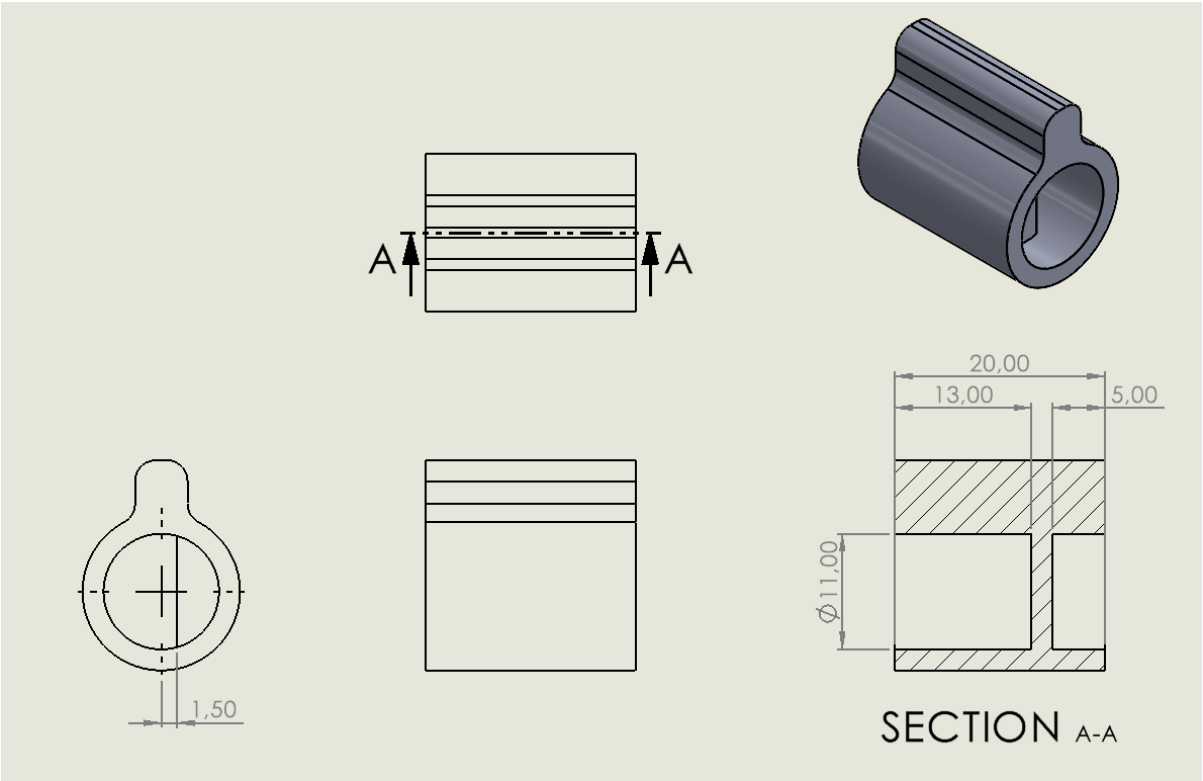
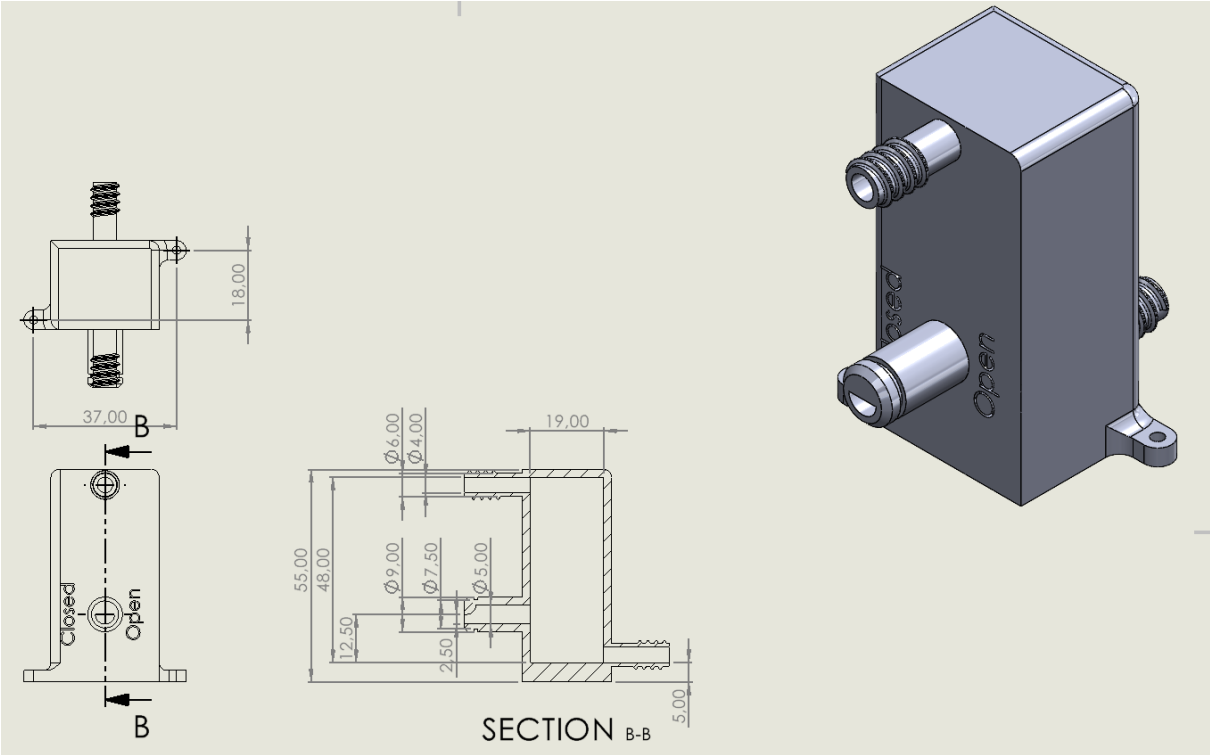
Figuur 21: Verschillende materialen die kunnen worden gebruikt in microfluidica van Campbell S et al. [7] met hun voor- en nadelen. De voordelen van het materiaal is groen gekleurd, de nadelen in het rood en de neutrals in het geel.

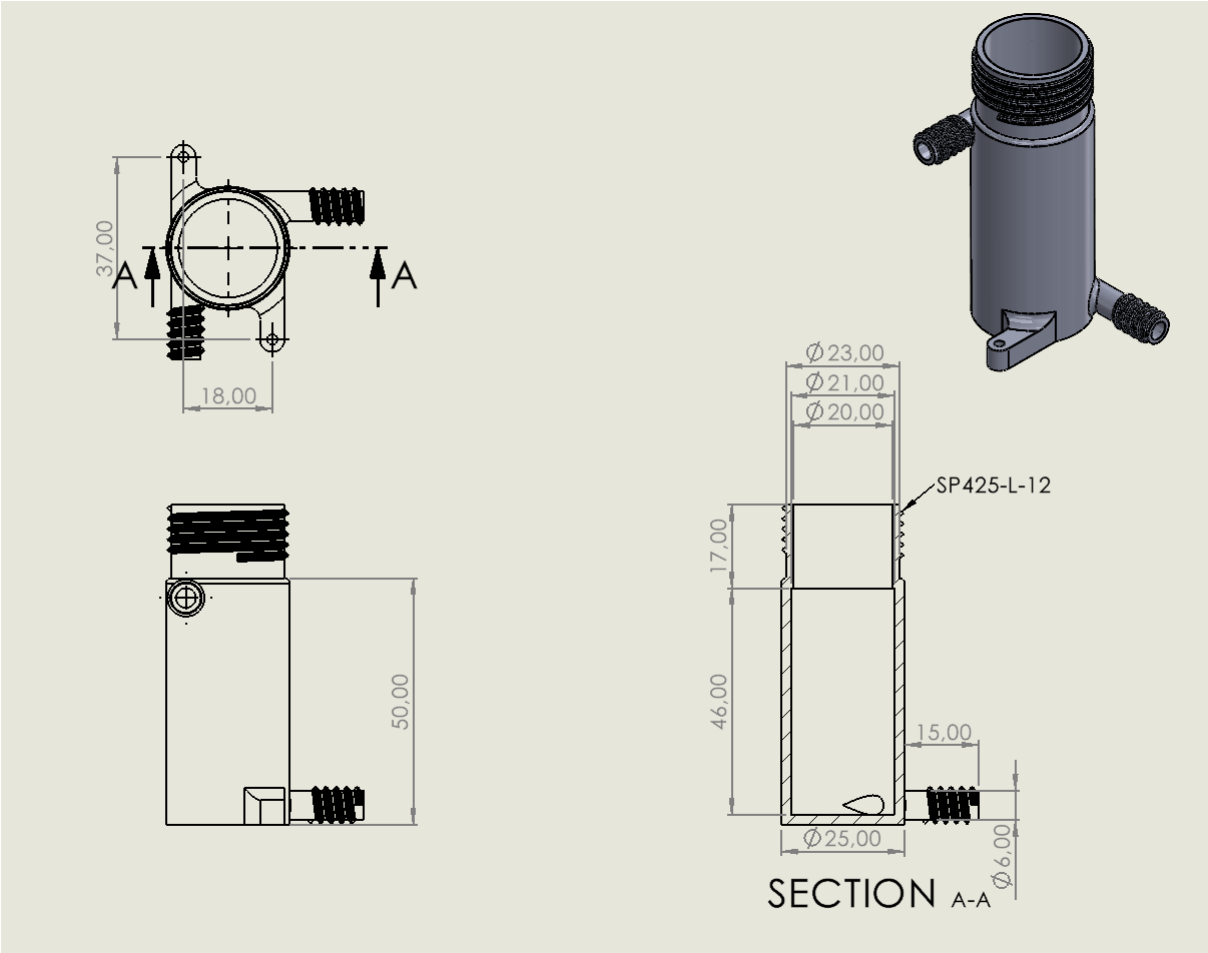
De materiaalkeuze is afhankelijk van eisen van het reservoir. Daarop kan bijvoorbeeld gelet worden op materiaaleigenschappen, kosten en dergelijke. In het onderzoek van Cambell *et al.* hebben ze gekeken naar verschillende soorten materialen [7] die kunnen worden in de celbiologie. Deze materialen hebben ze vergeleken met elkaar. In figuur 21 is er een schema te zien op welke eigenschappen ze hebben vergeleken. Hieruit is op te maken dat resins laag in kosten zijn, makkelijk te fabriceren zijn, stevige materialen zijn, goed te steriliseren zijn en biocompatibel zijn.

Appendix B: Gebruikte materialen en software voor reservoir productie

Software	SolidWorks SP5 2022 (ontwerpen van reservoirs)	MATLAB R2022b (verwerking van data)	Excel (opgeslagen metingen)
Production van het reservoir	Isopropanol	UV-machine	ABS-Like Photopolymer Resin Translucent
	Phrozen Sonic Mini 8K (SLA printer)	Elogoo Mercury Plus (was machine)	Chitubox (slicer)
Experiment benodigheden van het reservoir	Male Luer to barb 200 series (Luer-Lock)	FCB (gemaakt door supervisor fabricated in-house)	Demi water (semi-gedestilleerd)
	Flow EZ gas pump (range 0-1000 mbar)	Buizen (30 cm met binnendiameter 1 mm van reservoir naar sensor, 12 cm sensor naar opvangvat met ook een binnendiameter van 1 mm)	Fluigent flow sensor L(Range: 0-1000 μ l/min, met buislengte van 10 centimer)
	Fluigent MFCS (druk sensor)	OxyGEN (Fluigent software)	Elektrische kabels (verbinding tussen de computer en luchtpomp)
	Bolts M4	Nuts M4	Parafilm
	Injectiepomp (24 ml met een nauwkeurigheid van \pm 1 ml)	Opvangvat (15 ml met een nauwkeurigheid van \pm 0.5 ml)	

Appendix C: Gedetailleerde afmetingen van de reservoirs





Appendix D: Luchtdichtheid van de reservoirs berekeningen

In het eerste deel wordt de eerste berekening toegelicht. In het tweede deel worden deze berekening aangepast op basis van de ervaringen die zijn opgedaan tijdens en na het uitvoeren van het experiment.

D.1 Berekeningen voor het experiment

De luchtdichtheid werd bepaald door de gemeten druk-flow te vergelijken met de berekende druk-flow. Dit werd berekend aan de hand aan de aangepaste versie van de wet van Ohm [27], te zien aan formule 1.

$$R = \frac{V}{I} \approx \frac{\Delta P}{Q} \quad (1)$$

Hier staat R gelijk aan weerstand, V aan de spanning en I als de stroomsterkte. Voor microvloeistoffen staat de spanning gelijk aan de drukval of ΔP (uitgedrukt in Pascal) en de stroomsterkte staat gelijk flow of Q (uitgedrukt in m^3/s).

De berekende gegevens werden bepaald door de nauwkeurigheid van de Fluigent flowsensor L voor water en door de weerstand te bepalen van het reservoir. De nauwkeurigheid van de flowsensor is in dit experiment 1000 $\mu l/min$ en de weerstand van het reservoir komt van de hydrostatische druk en de weerstand van de buis. Er wordt uitgegaan van een laminaire flow dus de weerstand van de buis kan worden bepaald door de wet van Hagen-Poiseuille[27], te zien in formule 2. Hierbij is L de lengte van de buis, μ is de dynamische viscositeit van water en r is de straal van de buis:

$$R = \frac{\Delta P}{Q} = \frac{8L\mu}{\pi r^4} \quad (2)$$

De totale lengte van de buis was 52cm, 30cm van buis tussen reservoir en flowsensor, 10cm van de buis in de flow sensor en 12cm van de flowsensor tot aan het opvangvat. De dynamische viscositeit van water (20°C) is 1,0016 mPa · s. De diameter van de buizen is 1mm, oftewel een straal van 0,5mm. Er is aangenomen dat de straal van de buizen even groot is als de straal van de buis in de flowsensor. Deze aanname is gemaakt omdat er werd gedacht dat de binnen diameter niet gemeten kon worden door de complexe bouw van de flowsensor. De weerstand van de flowsensor kan mogelijk een andere waarde hebben dan wat er is berekend. Bij het beoordelen van de luchtdichtheid, moet er ook rekening gehouden worden met deze aanname. Het drukverschil die ontstaat door de buisweerstand met een flow van 1000 $\mu l/min$ wordt bepaald:

$$R = \frac{8 * 0.52 * 1,0016 \cdot 10^{-3}}{\pi(0,5 \cdot 10^{-3})^4} = 2.12 \dots \cdot 10^{10} \frac{Pa \cdot s}{m^3} \quad (2)$$
$$Q = 1000 \frac{microliter}{min} = 1000 * 10^{-6} \frac{liter}{min} = 1000 * 10^{-9} \frac{m^3}{min} = 1000 * \frac{10^{-9} m^3}{60 s}$$
$$= 1,67 \dots \cdot 10^{-8} \frac{m^3}{s}$$
$$\Delta P_{buis} = 1,67 \dots \cdot 10^{-8} \cdot 2.12 \dots \cdot 10^{10} = 353,3 \dots Pa = 3,5 mbar \quad (2)$$

De hydrostatische druk werd bepaald aan de hand van formule 3:

$$\Delta P_{hydrostatisch} = h\rho g \quad (3)$$

Hier staat h voor het hoogteverschil tussen het waterniveau in het reservoir en het opvangvat in meters, ρ is de dichtheid van water en g is de zwaartekrachtsversnelling van de aarde. De hoogte is

het verschil in waterniveaus tussen het reservoir en de uitgang van de buis die verbonden is met het reservoir. De dichtheid van water is 1000kg/m^3 en de zwaartekrachtsversnelling is $9,81\text{ m/s}^2$. Het hoogteverschil is tijdens het experiment niet exact opgemeten en ook niet verandert. Deze buis hing boven de rand van het opvangvat. Het demi-water stroomde niet over het opvangvat. De inschatting is gebaseerd op zicht. De inschatting van deze hoogte zit tussen de 1cm en 5cm. Hieronder is een rekenvoorbeeld waar het hoogteverschil 5cm is.

$$\Delta P_{\text{hydrostatisch}} = h\rho g = 0,05 * 1000 * 9.81 = 490,5\text{Pa} = 4,905\text{ mbar} \approx 4.9\text{ mbar} \quad (3)$$

De totale druk die nodig is voor het reservoir om een flow te hebben van $1000\text{ }\mu\text{l/min}$ met een hoogteverschil van 5cm is:

$$\Delta P = \Delta P_{\text{buis}} + \Delta P_{\text{hydrostatisch}} = 3.6\text{ mbar} + 4.9\text{ mbar} = 8.5\text{ mbar}$$

Na het onderzoek is gebleken dat de diameter van de flowsensor 1,4mm bedraagt, dus een straal van 0,7mm. De lengte van de buis in de flowsensor is 10cm. De lengte van de buis verandert van 52cm naar 42cm. De nieuwe berekening zal zijn:

$$R_{\text{buis}} = \frac{8 * 0.42 * 1,0016 * 10^{-3}}{\pi(0,5 * 10^{-3})^4} = 1.71 \dots * 10^{10} \frac{\text{Pa} \cdot \text{s}}{\text{m}^3} \quad (2)$$

$$R_{\text{buis,flowsensor}} = \frac{8 * 0.10 * 1,0016 * 10^{-3}}{\pi(0,7 * 10^{-3})^4} = 1.06 \dots * 10^9 \frac{\text{Pa} \cdot \text{s}}{\text{m}^3} \quad (2)$$

$$R_{\text{tot}} = R_{\text{buis}} + R_{\text{buis,flowsensor}} = 1,82 \dots * 10^{10} \frac{\text{Pa} \cdot \text{s}}{\text{m}^3}$$

$$Q = 1000 \frac{\text{microliter}}{\text{min}} = 1000 * 10^{-6} \frac{\text{liter}}{\text{min}} = 1000 * 10^{-9} \frac{\text{m}^3}{\text{min}} = 1000 * \frac{10^{-9} \text{m}^3}{60 \text{ s}} = 1,7 * 10^{-8} \frac{\text{m}^3}{\text{s}}$$

$$\Delta P_{\text{buis}} = 1,7 * 10^{-8} * 1,82 \dots * 10^{10} = 309,4 \dots \text{Pa} = 3,1\text{ mbar} \quad (1)$$

Daarnaast moet er ook nog rekening gehouden worden met de hydrostatische druk.

$$\Delta P_{\text{hydrostatisch}} = h\rho g = 0.05 * 1000 * 9.81 = 490,5\text{Pa} = 4,905\text{ mbar} \approx 4,9\text{ mbar} \quad (3)$$

De totale druk die nodig is voor het systeem is bij een hoogteverschil van 5cm:

$$\Delta P = \Delta P_{\text{buis}} + \Delta P_{\text{hydrostatisch}} = 3,1\text{ mbar} + 4,9\text{ mbar} = 8\text{ mbar}$$

Uit deze formule is te zien dat de hydrostatische druk een grote rol speelt in het transport van vloeistoffen. Het tweede experiment dat was uitgevoerd was dat het afvoerende buis contact had met water in het opvangvat, zodat de hydrostatische druk een minder groot invloed had. Eerst wordt de inhoud van opvangvat bepaald. Vervolgens de inhoud van het reservoir. Op deze manier wordt het verschil in hoogte van waterniveau bepaald in het opvangvat en in het reservoir. Met deze hoogteverschil kan de hydrostatische druk bepaald worden. Hieronder wordt deze rekenstappen toegelicht.

De inhoud is afhankelijk van de straal en hoogte van het opvangvat, deze formule is te zien in

$$\text{Inhoud}_{\text{opvangvat}} = \pi r^2 h \quad (4)$$

Hier is r de straal, 7.5 mm. H is de hoogte van het water en de inhoud van het opvangvat is bekend uit de waterdichtheid test, 4 ml (4000 mm^3).

$$h_{opvangvat} = \frac{inhoud}{\pi r^2} = \frac{4000}{\pi(7,5)^2} = 22,63 \dots mm = 22,6 mm \quad (4)$$

Vervolgens wordt er gekeken naar het hoogte verschil in ventielsysteem reservoir

$$Inhoud_{reservoir} = l * b * h \quad (5)$$

Hierbij is l de lengte (28 mm), b de breedte (23 mm) en h de hoogte, de afmetingen zijn allemaal in mm. De inhoud van het reservoir (8000 mm³) komt het experiment van de waterdichtheid.

$$h = \frac{inhoud_{reservoir}}{l * b} = \frac{8.000}{28 * 23} = 12,42 \dots mm \approx 12,4mm \quad (5)$$

Het hoogte verschil tussen het reservoir en het opvangvat is -10.2mm.

$$\Delta h = 12.4 - 22.6 = -10.2 mm$$

Dit geeft een hydrostatische druk van:

$$\Delta P_{hydrostatisch} = h\rho g = -0.0102 * 1000 * 9.81 = -100.61 \dots Pa = -1.00 \dots mbar \\ \approx -1,0 mbar \quad (3)$$

Op dezelfde manier wordt het gedaan voor het dopsysteem, waar de inhoud van het reservoir 8.5 ml, de r is 10 mm

$$h = \frac{8.500}{\pi * 10^2} = 27.05 \dots mm \quad (4)$$

De inhoud van het opvangvat was 3.5 ml en een straal van 7.5 mm

$$h_{opvangvat} = \frac{inhoud}{\pi r^2} = \frac{3500}{\pi(7,5)^2} = 19.80 \dots mm \quad (4)$$

Het hoogte verschil bedraagt:

$$\Delta h = 27.05 \dots - 19.80 \dots = 7.25 \dots mm \approx 7,3mm$$

Hiermee kan de hydrostatische druk mee worden bepaald:

$$\Delta P_{hydrostatisch} = h\rho g = 0.00725 \dots * 1000 * 9.81 = 71,12 \dots Pa = 0,71 \dots mbar \\ \approx 0,7 mbar \quad (3)$$

Uit deze berekening kan worden geconcludeerd dat de hydrostatische druk bij dit experiment een kleiner invloed heeft. Het vorig experiment had een hydrostatische druk van 4,9mbar, terwijl dit experiment een hydrostatische druk van -1,0mbar tot 0,7mbar had. Dit experiment is niet volledig uitgevoerd omdat de meting pas gestart kon worden als het systeem een netto druk had 0mbar. Als het systeem geen netto druk van 0mbar had, waren de flow en druk metingen niet betrouwbaar om daar een conclusie over te trekken.

D.2 Berekeningen na het experiment

Uit de vorige experiment is er geleerd dat het verschil in hydrostatische druk te veel invloed had op de totale druk in het systeem. Dit zorgde voor dat dit experiment niet geschikt was om de lichte dichtheid van het reservoir te bepalen. Hiervoor is een nieuwe experiment voor bedacht.

Het experiment bevat twee druksensoren. Eén druksensor in de luchtpomp en één druksensor in het reservoir. Vervolgens wordt de weerstand bepaald over een OOC. Op deze manier kunnen er twee flows mee worden bepaald. De flow volgens de druksensor in de luchtpomp en de flow volgens de druksensor van het reservoir. Vervolgens wordt het verschil tussen deze twee flows bepaald. Als het verschil groter is dan 10% dan wordt er uitgegaan dat er een lucht lekkage is in het reservoir. Als het verschil kleiner is, dan wordt het reservoir als luchtdicht beschouwd. Onder het kopje "Kwaliteitseisen" bij luchtdichtheid is er toegelicht waarom dit 10% is. Hieronder wordt beschreven hoe deze berekeningen tot stand zijn gekomen.

Als eerst wordt er aangenomen dat de weerstand van het OOC veel groter is dan de buisweerstand van lucht en water:

$$R_{B,lucht} < R_{B,water} < R_C$$

Om dit te bewijzen wordt de aangepaste versie van de wet van Ohm [27]toegepast:

$$R = \frac{V}{I} \approx \frac{\Delta P}{Q} \rightarrow Q = \frac{\Delta P}{R} \quad (1)$$

Voor laminaire stroming in een buis wordt de formule van Hagen-Poiseuille[27] toegepast:

$$R = \frac{\Delta P}{u} = \frac{8L\mu}{\pi r^4} \quad (2)$$

Voor water en lucht die door een buis van 50cm en 15cm en een straal van 0,5mm levert deze uitwerking op:

$$\begin{aligned} R_{B,water} &= \frac{8 \cdot (50 \cdot 10^{-2}) \cdot (1.0016 \cdot 10^{-3})}{\pi \cdot (0,5 \cdot 10^{-3})^4} = 2,04 \dots \cdot 10^{10} \frac{Pa \cdot s}{m^3} \\ &= \frac{60}{10^{11}} \cdot 2,04 \dots \cdot 10^{10} \frac{mbar \cdot min}{\mu l} = 1.22 \dots \cdot 10^1 \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \approx 12 \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \quad (2) \\ R_{B,lucht} &= \frac{8 \cdot (15 \cdot 10^{-2}) \cdot (1.825 \times 10^{-5})}{\pi \cdot (0,5 \cdot 10^{-3})^4} = 1,11 \dots \cdot 10^8 \frac{Pa \cdot s}{m^3} \\ &= \frac{60}{10^{11}} \cdot 1,11 \dots \cdot 10^8 \frac{mbar \cdot min}{\mu l} = 6.69 \dots \cdot 10^{-2} \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \\ &\approx 6,7 \cdot 10^{-2} \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \quad (2) \end{aligned}$$

De weerstand van het OOC is gebaseerd op het onderzoek van Satoh *et al.*[43]. In dat onderzoek hebben ze een multi-orgaan-op-een-chip-systeem gebouwd waar ze meerdere MFSs van gecirculeerde medium kan voorzien op basis van druk. De druk en flow waarden waren 4kPa en $0,68 \pm 1,4$ ml/min[43]. Deze waarden kwamen uit een tweedelig orgaansysteem bestaande uit lever- en kankermodellen, waar ze hebben effect van capecitabine (CAP) hebben onderzocht[43]. Met deze gegevens wordt de weerstand van een OOC bepaald.

Als eerst werd de flow en druk omgezet in basiseenheden:

$$Q = 0,68 \frac{ml}{min} = 0,68 \cdot 10^{-6} \frac{m^3}{min} = \frac{0,68 \cdot 10^{-6}}{60} \frac{m^3}{s}$$

$$P = 4kpa = 4 \cdot 10^4 Pa$$

Hieruit kan met de aangepaste versie van de wet van Ohm[27] de weerstand van het OOC worden bepaald:

$$\begin{aligned} R_C &= \frac{4 \cdot 10^4}{\frac{0,68 \cdot 10^{-6}}{60}} = 3.529 \dots \cdot 10^{12} \frac{Pa \cdot s}{m^3} = 3.529 \dots \cdot 10^{10} \frac{mbar \cdot s}{m^3} \\ &= 3.529 \dots \cdot 10^{10} \cdot 60 \frac{mbar \cdot min}{m^3} = 2,117 \dots \cdot 10^{11} \frac{mbar \cdot min}{m^3} \\ &= 2,117 \dots \cdot \frac{10^{11}}{10^9} \frac{mbar \cdot min}{\mu l} = 211,7 \dots \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \approx 2,1 \cdot 10^2 \frac{mbar \cdot min}{\mu l} \quad (1) \end{aligned}$$

Uit deze berekening is gebleken dat de weerstand van het OOC ongeveer een factor 10 scheelt met water en een factor 10^4 scheelt met lucht. Hieruit kan worden geconcludeerd dat de buisweerstand van water en lucht kan worden verwaarloosd.

Voor de tweede stap wordt er gekeken naar de voorspelde flow in de OOC in een omgeving van de atmosferische druk (P_0) en de geleverde luchtdruk door de luchtpomp. Aangezien de buisweerstand zo klein zijn ten opzichte van de weerstand van het OOC (R_C) kan die weerstand worden verwaarloosd. Ook laat de wet van Ohm een lineair verband zien tussen de flow en weerstand. De vergelijking voor de voorspelde flow (Q_V) kan worden opgesteld gebaseerd op de aannames:

$$Q_V = \frac{P_P - P_0}{R_C} \quad (6)$$

Daarna kan de gemeten druk P_P in het reservoir omgerekend worden naar de flow in het OOC (Q_C). Hier wordt dezelfde aangenomen gedaan bij de voorspelde flow. Dit geeft de nieuwe uitdrukking:

$$Q_C = \frac{P_R - P_0}{R_C} \quad (7)$$

De flow van de menselijk fout (e) is gebaseerd op het medium verversen in cel experimenten. In de literatuur wordt gemiddeld elke dag het medium verversen [31,44–49]. Aangezien het geen echte flow is, zal dit worden omschreven als de theoretische flow (Q_T). Uit hierboven is er aangenomen dat het volume van het medium een ruime menselijk fout 10% is. De relatie tussen het toegevoegde volume ($V_{toegevoegd}$) en tijd (t) zal in een lineair verband worden beschreven:

$$Q_T = \frac{V_{totaal}}{t} = \frac{V_{toegevoegd} + V_{toegevoegd} * e}{t} \quad (8)$$

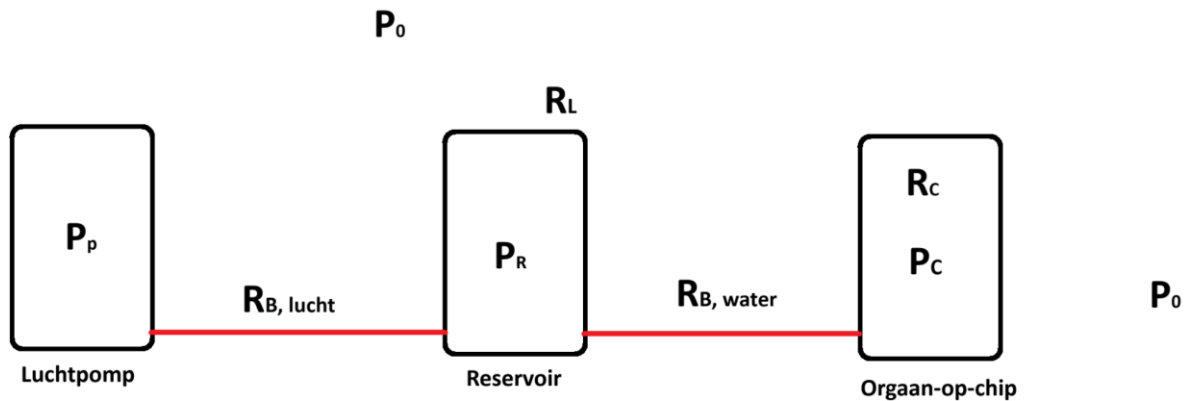
De fout van het toegevoegde volume zal worden gebruikt voor het bepalen of het reservoir waterdicht is. Om de flow te bepalen voor de mogelijke fout van de theoretische flow kan zo worden beschreven:

$$Q_e = \frac{V_{toegevoegd} * e}{t} \quad (9)$$

Om te bepalen of het reservoir luchtdicht is, moet het aan deze eis voldoen. Die zegt het verschil tussen de flow in het OOC die berekend is door de druk van de luchtpomp en de flow in het OOC die berekend is door de druk van het reservoir moet kleiner zijn dan de mogelijk fout van de theoretisch flow. Hieronder is de formule weer gegeven:

$$Q_P - Q_C < Q_e \quad (10)$$

Figuur 22 toont de schematische opstelling om de luchtdichtheid van het reservoir beter te beoordelen.



Figuur 22: Een schematische weergave van de verbeterde opstelling. Waarbij P_p de druk in de pomp is, P_R is de druk in het reservoir, P_c is de druk in het OOC, P_0 is de druk in de omgeving, $R_{B, lucht}$ is de weerstand van een buis gevuld met lucht, $R_{B, water}$ is weerstand van een buis gevuld met water, R_c is de weerstand van orgaan-op-chip.

Appendix E: Productie kosten en tijd per reservoir

Equipment of the needle reservoir	Costs per reservoir	Equipment of the SLA reservoirs	Costs per reservoir
Vial 2 ml Clear Screw 9 mm	€0.24 [50]	Luer-Lock (Male Luer to 200 barb series)	€1.40[51]
Cap Screw 9 mm Blue PP	€0.31 [52]	ABS-Like Photopolymer Resin Translucent (0.1 kg)	€ 5.45[53]
9 mm Auto sampler vial Septa	€0.19 [54]	Isopropanol	€3.03[55]
21 Gauge stainless steel needle	€0.53[56]	Parafilm	€0.34[57]
23 Gauge stainless steel needle	€0.53 [58]	Bolts M4 and nuts M4	€0.04 [59]
	Total cost = €1.80		Total cost = €10.26

Appendix F: MATLAB scripts

F.1 Sensor kalibratie

```
clc;
close all;
clear all;

Measurement2=readmatrix("Pompmeting 0 tot 630 bewerkt.csv");

Time=Measurement2(:,1);
MeasuredFlow= Measurement2(:,2);
GivenFlow= Measurement2(:,3);
AdjustedTime=Measurement2(:,4);
MeanFlow=Measurement2(:,5);

hold on
plot(Time,MeasuredFlow)
plot(Time, GivenFlow,'LineWidth',2)
plot(AdjustedTime,MeanFlow, "LineWidth",2)
yline(1000,"LineWidth",3)
grid on
xlim([0 650])
ylim([0 1200])
title('Flow sensor kalibratie')
xlabel('Tijd in seconde')
ylabel('Flow in microliter/ minuut')
legend('Gemeten flow', 'Ingestelde flow', 'Gemiddelde flow','Location','best')
hold off
```

F.2 Barstdruk

```
clc;
close all;
clear all;

Measurement2=readmatrix("Maximale druk met sealing 400 mbar bewerkt.csv");
Time=Measurement2(:,1);
Pressure= Measurement2(:,2);
plot(Time,Pressure)

MaximumPressure1=max(Pressure)

xline([0:10:100])

xlabel('Tijd in seconde')
ylabel('Druk in mbar')
```

```
title('Barstdruk met folie van het dopsysteem')
```

```
xlim([0 100])  
ylim([0 500])  
grid on
```

F.3 Luchtdichtheid

```
clc;  
close all;  
clear all;
```

```
Measurement2=readmatrix("Valve eerste meting bewerkt.csv");
```

```
Time=Measurement2(:,1);
```

```
Pressure= Measurement2(:,2);
```

```
Flow= Measurement2(:,3);
```

```
MeanPressure=Measurement2(:,5);
```

```
MeanFlow=Measurement2(:,6);
```

```
TimeIntervals=linspace(0,3006,3006)
```

```
TimeIntervals = 1×3006
```

```
103 x
```

```
0 0.0010 0.0020 0.0030 0.0040 0.0050 0.0060 0.0070 0.0080 0.0090 0.0100 0.0110 0.0120  
0.0130 0.0140 0.0150 0.0160 0.0170 0.0180 0.0190 0.0200 0.0210 0.0220 0.0230 0.0240 0.0250  
0.0260 0.0270 0.0280 0.0290 0.0300 0.0310 0.0320 0.0330 0.0340 0.0350 0.0360 0.0370 0.0380  
0.0390 0.0400 0.0410 0.0420 0.0430 0.0440 0.0450 0.0460 0.0470 0.0480 0.0490
```

```
%plot(MeanPressure,MeanFlow, 'b')
```

```
h=linspace(0,0.05,6);
```

```
g=9.81;
```

```
p=1000;
```

```
x_hydro=h*g*p;
```

```
x_hydroMBAR=x_hydro/102;
```

```
[B]=3.6+x_hydroMBAR;
```

```
x_1=linspace(0,B(:,1),10);
```

```
x_2=linspace(0,B(:,2),10);
```

```
x_3=linspace(0,B(:,3),10);
```

```
x_4=linspace(0,B(:,4),10);
```

```
x_5=linspace(0,B(:,5),10);
```

```
x_6=linspace(0,B(:,6),10);
```

```

a_1= 1000./B(:,1);
a_2= 1000./B(:,2);
a_3= 1000./B(:,3);
a_4= 1000./B(:,4);
a_5= 1000./B(:,5);
a_6= 1000./B(:,6);

y_1=a_1*x_1;
y_2=a_2.*x_2;
y_3=a_3.*x_3;
y_4=a_4.*x_4;
y_5=a_5.*x_5;
y_6=a_6.*x_6;

hold on;

erry = 40*ones(size(MeanFlow));
errx= 0.3*ones(size(MeanPressure));

errorbar(MeanPressure,MeanFlow,errx,"horizontal",
"MarkerSize",100,"Color","r");
errorbar(MeanPressure,MeanFlow,erry, "vertical", "MarkerSize",100,"Color", "r");

plot(x_1,y_1,"MarkerSize",100,'Color','g')
plot(x_2,y_2,"MarkerSize",100,'Color','b')
plot(x_3,y_3,"MarkerSize",100,'Color','c')
plot(x_4,y_4,"MarkerSize",100,'Color','m')
plot(x_5,y_5,"MarkerSize",100,'Color','g')
plot(x_6,y_6,"MarkerSize",100,'Color','#EDB120')
xlim([0 6])
ylim([0 1200])
% text(MaxPressure,MaxvalueFlow,'\leftarrow maximumflowrate')
grid on
yline(1000,'LineWidth', 3)
xlabel('Druk in mbar')
ylabel('Flow in microliter/min')
title("Ventielsysteem druk-flow lijn: eerste meting")
legend('foutmarge in druk', 'foutmarge in flow', 'h= 0cm','h= 1cm', 'h= 2cm',
'h= 3cm', 'h= 4cm', 'h= 5cm','Limiet van flowsensor','Location', 'southeast')

hold off

```