

光流控三叉型结构改进及其 3D 聚焦性能动态分析

骆鹏程¹ 王亚伟² 王 磊¹ 邢玲玲¹ 徐媛媛¹ 卜 敏² 尚学府² 吕翠红²

¹江苏大学机械学院,江苏 镇江 212013

²江苏大学理学院,江苏 镇江 212013

摘要 基于光流控技术对细胞分析仪器的重要应用,针对三叉型结构光流控的三维(3D)聚焦能力不足的现状,对传统结构的聚焦能力进行了动态分析,探明了影响 3D 聚焦能力的因素,设计了一种适用于白细胞光学检测的高效三维聚焦微流控通道结构。该结构应用两侧鞘液流的夹流,实现样本流的二维聚焦,通道内新增的凹陷实现样本流的第三维聚焦。通过聚焦面积、速度分布和粒迹分布的动态仿真实验,对所设计结构下的 3D 聚焦效果进行了对比分析,其结果表明所设计的结构具有更好的 3D 聚焦效果,这对于光流控芯片在细胞分析仪器中的开发和应用具有很好的潜在应用价值。

关键词 生物光学;光流控;细胞;三维聚焦;结构

中图分类号 O436 文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201535.s217001

The Structure Improvement of Trigeminal Optofluidic and its 3D Focusing Performance Analysis

Luo Pengcheng¹ Wang Yawei² Wang Lei¹ Xing Lingling¹

Xu Yuanyuan¹ Bu Min² Shang Xuefu² Lü Cuihong²

¹ School of Mechanical Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

² Faculty of Science, Jiangsu University, Zhenjiang, Jiangsu 212013, China

Abstract Optofluidic technique has an important application in cell analysis instrument. In view of the insufficient three-dimensional (3D) focusing ability of the trigeminal type-optofluidic, the dynamic analysis of optofluidic with traditional structures is done, some factors affecting the 3D focusing are analyzed, and an efficient 3D focusing micro channel architecture is designed, which is suitable for the optical detection of white blood cells. The structure uses sheath stream flow's press on both sides to achieve sample stream's two-dimensional focusing. By adding the sags in the channel, it can achieve the sample stream's 3D focusing. The focusing areas, velocity distribution and particle trajectory distribution under different kinds of sag are obtained with numerical simulation technique, and the corresponding 3D focusing effect is analyzed comparatively. Result shows that the proposed structure has a better 3D focusing ability and indicates that it will have a good potential application value for the optofluidic chip's development and application in cytoanalyze.

Key words biotechnology; optofluidic; cell; three-dimensional focusing; structures

OCIS codes 170.1420; 170.1530; 290.5850; 350.3950

1 引 言

流式细胞仪^[1]以其快速、灵活、大量和定量的特点,广泛应用于医学基础研究和临床实践各个方面,根据

收稿日期: 2015-01-25; 收到修改稿日期: 2015-03-11

基金项目: 国家自然科学基金(11374130, 11474134, 11404145)、江苏省自然科学基金(BK20141296)、中国博士后科学基金(2014M561574)、江苏省大学生创新计划(KYLX_1017)、江苏省光子制造科学与技术重点实验室(江苏大学)开放基金(GZ201308)

作者简介: 骆鹏程(1990—),男,硕士研究生,主要从事光流控芯片设计方面的研究。E-mail:373729247@qq.com

导师简介: 王亚伟(1957—),男,教授,博士生导师,主要从事激光应用技术与光学检测等方向的研究。

E-mail: jszjwyw@sina.cn(通信联系人)

Mie 散射理论,可由细胞的散射光强度谱确定细胞大小的分布。测量时,为了保证细胞单列流过光敏区,出现了鞘流技术:流动室中的鞘液将样本流环包,利用鞘液的压差使细胞稳定在液流的轴线方向。

光流控技术将光学测量和鞘流控制结合,在微芯片上实现细胞的计数和分选功能^[2],芯片通道大小与细胞的尺寸相近,现阶段利用 CO₂ 激光直写加工方法^[3]得到的微芯片只能实现二维平面内的聚焦^[4]。对光流控芯片三维(3D)聚焦结构^[5]的研究是目前的热点:李向红等^[6]在样本流道和鞘液流道汇聚的后方设计与芯片基面成 45°角的聚焦斜坡,对前方二维聚焦的液流起到上抬的作用,达到三维聚焦的功能;吴元庆^[7]通过鞘流通道和样本流通道交口的角度和形状的设计,优化了微流控芯片的内部结构,并且提高了流体聚焦的能力;Chabinye 等^[8]将微型雪崩光电二极管入了聚二甲基硅氧烷(PDMS)薄膜中,紧贴微流控芯片通道下方探测荧光;Tsai 等^[9]在聚焦通道上方增加了一股鞘液流对前方聚焦流起到了下压的作用,同时在通道壁下方制作了微文件结构对聚焦流起到了上抬的作用,以此实现对样本流的三维聚焦。

本文针对目前光流控芯片对细胞 3D 聚焦能力不强的问题,分析了聚焦方法的特征及其结构参数对聚焦能力的动态影响,设计了一种对样本流具有较好三维聚焦能力的芯片结构,并应用仿真技术生成了相关的相图、速度图、粒子追迹图等,对其三维聚焦能力进行了动态分析。结果表明所设计的 3D 聚焦具有较好的效果,对于光流控芯片在细胞分析仪器中的开发和应用具有很好的潜在应用价值。

2 光流控芯片下的聚焦原理

光流控芯片中间为样本流,两侧为鞘液流,雷诺系数^[10]通常在 $10^{-6} \sim 10$ 之间,呈层流状态,惯性力影响很小,黏性力起主导作用,可以通过调节三个沟道内流体的流速,将样本流的宽度缩减至单细胞的尺寸,从而实现聚焦。

简单二维聚焦芯片模型中样本流通道和鞘液流通道呈 90°,鞘液流通道和样本流通道宽度都为 D ,样本流聚焦宽度为 d 。由质量守恒定律可知,同时通过样本流通道的流体质量和聚焦流中样本的质量相等,即

$$\bar{v}_1 D = v_c d, \quad (1)$$

式中 v_1 , v_c 是样本流聚焦前后的流速。不考虑流体之间的物质扩散和混合,可得

$$\bar{v}_a = \frac{\rho_1 \bar{v}_1 D_1 + \rho_2 \bar{v}_2 D_2 + \rho_3 \bar{v}_2 D_3}{\rho_a D_a}, \quad (2)$$

式中 D_1 、 D_2 和 D_3 分别为三个入口的宽度, D_a 为出口处的宽度, v_2 为鞘液流流速, v_a 为出口处的流体平均速度, ρ_1 、 ρ_2 和 ρ_3 分别为样本流密度和两侧鞘液流密度, ρ_a 是整个出口处所有液体混合的平均密度。一般通道构型中, $D_1 = D_2 = D_3 = D_a$, $\rho_2 = \rho_3$, 可将(2)式化简为

$$\bar{v}_a = \frac{\rho_1 \bar{v}_1 + 2\rho_2 \bar{v}_2}{\rho_a}. \quad (3)$$

流体聚焦后的宽度可以表示为

$$d = \frac{\rho_a D}{1.5[\rho_1 + (\rho_2 + \rho_3)(\bar{v}_2 / \bar{v}_1)]}. \quad (4)$$

从(4)式可以看出聚焦流的宽度随着鞘液流和样本流的速度比上升而下降。

3 光流控芯片通道结构设计

3.1 样本流流速与鞘液流流速对聚焦效果的影响

1) 确定光流控芯片通道结构。选取典型的三叉型结构^[7],如图 1 所示,中间为样本流通道,两侧为鞘液流通道,夹角 45°,既节约样品又不影响到后端的检测^[7]。通道截面是长为 80 μm ,高为 60 μm 的矩形。

2) 确定最佳入口流速。通过改变鞘液流流速和样本流流速的大小来观察聚焦宽度的变化,从而寻找出最符合白细胞大小(7~20 μm)^[11]的聚焦宽度,由此确定最佳流速。鞘液流对样本流的聚焦作用不是完全规则的,一般在 Z 轴中心处的宽度最小,两端的宽度最大,如图 2 所示。不同速度下的聚焦宽度测量结果如表 1 所示。

当样本流流速为 0.007 m/s,鞘液流流速为 0.004 m/s 时,聚焦的宽度最符合实际测量白细胞的大小。

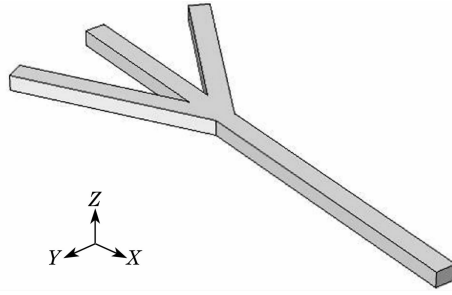


图 1 三叉型微流控通道结构图

Fig. 1 Structure diagram of the channel in trigeminal type-microfluidic



图 2 聚焦宽度切面图

Fig. 1 Seational drawing of the focusing width

表 1 不同速度下聚焦宽度的大小

Table 1 Size of the focusing width under different speeds

	Inlet-1	Inlet-2	Inlet-3	$D_{max}/\mu\text{m}$	$d_{min}/\mu\text{m}$
Flow velocity /(m/s)	0.007	0.0035	0.0035	37.2	28.4
	0.007	0.004	0.004	30.8	23.2
	0.007	0.005	0.005	26.5	15.6
	0.007	0.006	0.006	22.7	14.5
	0.007	0.007	0.007	18.7	12.3

3.2 3D 聚焦通道构型的设计

应用相关有限元软件对所有设计的通道进行仿真,得到其聚焦图并进行切片处理,如图 3(a)所示样本流宽度由原来的 $80\ \mu\text{m}$ 聚焦为现有的 $1/3$,从图 3(b)各个不同位置的切片图中可以看到 Z 轴方向上样本流高度始终不变,且从图 4 中可以看到在 Z 轴方向上样本流中细胞紊乱重叠的流动。

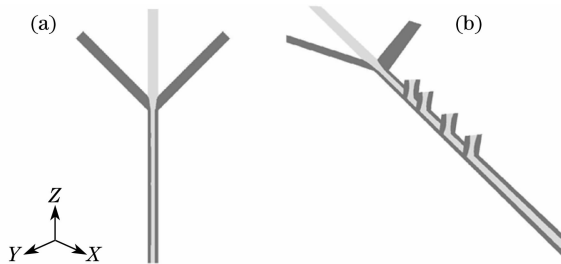


图 3 简单构型微通道的仿真图。(a) 聚焦仿真图; (b) 聚焦仿真切片图

Fig. 3 Simulation diagram of simple microchannel. (a) Simulation diagram of the focusing; (b) simulation slice diagram of the focusing

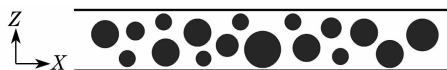


图 4 通道检测区域侧视图

Fig. 4 Side view of the surveyed area in the channel

为了实现 Z 轴方向的聚焦,在距离汇聚入口 400 μm 处,分别将通道上下壁制作成向内凹陷,凹陷的形状为挡流板型,椭球形和圆柱形,如图 5 所示。

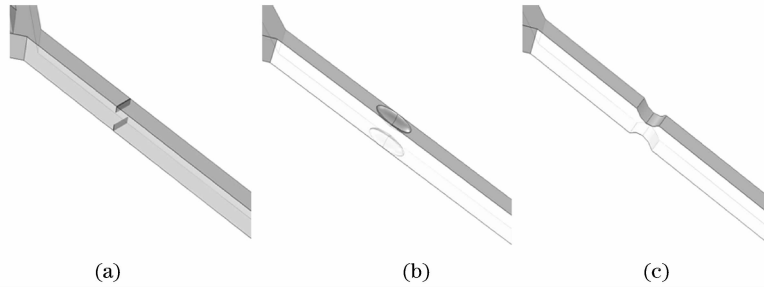


图 5 增加凹陷构型的微流道设计图。(a) 挡流板型;(b) 椭球形凹陷;(c) 圆柱形凹陷
Fig. 5 Design diagram of micro-channels add sag configurations. (a) Flow-baffle structure;
(b) ellipsoidal structure; (c) cylindrical structure

在血细胞分析仪应用中,参照白细胞的大小,挡流板高度为 15 μm ,椭球凹陷的长半轴为 40 μm ,短半轴为 30 μm ,高为 15 μm ,相应椭球形和圆柱形凹陷的长度都为 60 μm ,高度都为 15 μm ,通道在 Z 轴方向上的距离由原来的 60 μm 缩小至 30 μm ,白细胞通过检测区域时不会因为通道最窄处过小而堵塞过大导致重叠,凹陷模型的设计考虑了后续光学检测的工作。

4 3D 聚焦仿真效果分析

4.1 聚焦相分析

对通道按照图 6 中 Y 轴方向垂直纸面向内对通道进行切面,观察在 Z 轴方向上凹陷的聚焦效果如图 7 所示。

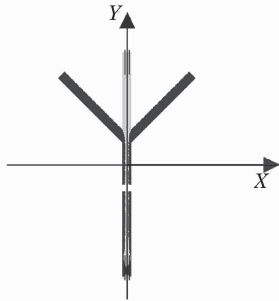


图 6 通道界面示意图

Fig. 6 Schematic diagram of the channels

从图 7(a)~(c)中均可以看到内凹结构对样本流在 Z 轴方向上的聚焦,图 7(a)中挡流板对样本流的压缩是无任何缓冲结构下的压缩,而图 7(b)与(c)中的压缩趋势是缓慢的。

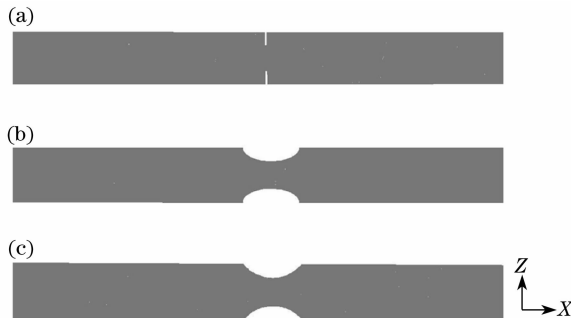


图 7 Y 轴方向切面。(a) 挡流板型凹陷在 Z 轴方向上的聚焦;(b) 椭球形凹陷在 Z 轴方向上的聚焦;
(c) 圆柱形凹陷在 Z 轴方向上的聚焦

Fig. 7 Y axis plane. (a) Flow-baffle structure concave focusing on the Z axis; (b) ellipsoidal structure concave focusing on the Z axis; (c) cylindrical structure concave focusing on the Z axis

按照图 6 中 X 轴方向垂直纸面对通道进行切割,得到图 8。

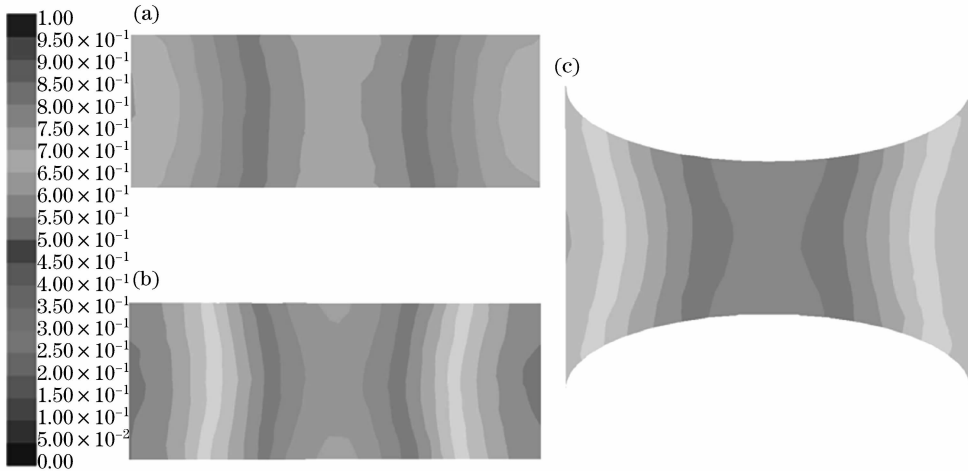


图 8 X 轴方向切面。(a) 挡流板型凹陷在 Z 轴方向上的聚焦;(b) 椭球形凹陷在 Z 轴方向上的聚焦;
(c) 圆柱形凹陷在 Z 轴方向上的聚焦

Fig. 8 X axis plane. (a) Flow-baffle structure concave focusing on the Z axis; (b) ellipsoidal structure concave focusing on the Z axis; (c) cylindrical structure concave focusing on the Z axis

分析比较图 8,挡流板型和圆柱形的凹陷构型所形成的相图切面形状较规则,图 8(a)、(c)中间样本流的聚焦相比图 8(b)更接近于矩形,通过计算样本流聚焦截面积大小,确定哪个构型的聚焦效果更优。应用相关数值分析技术对图 8(a)~(c)三幅图进行像素点分析,结果如表 2 所示。

表 2 不同形状凹陷的聚焦参数

Table 2 Concave focusing parameters in different shapes of sag

Concave types	Pixels of the focusing sample flow	Pixels of the sheath flow	Actual area of the cross section/ μm^2	Actual area of the focusing sample flow/ μm^2
None	105866	196349	4800	1681.4
Micro-weir	85095	168808	2400	804.3
Ellipsoidal	107473	196543	2916	1030.8
Cylindrical	117311	201887	2400	882.0

由表 2 可知挡流板型凹陷结构的聚焦面积最小,圆柱形结构次之,椭球形凹陷的面积明显大于前者,挡流板凹陷构型聚焦面积相比于椭球形缩小了 22%,圆柱形凹陷构型聚焦面积相比于椭球型缩小了 14.4%。当细胞或粒子处于检测通道中心处时(即光学检测最优处),检测结果是最准确的,通过比较挡流板型、圆柱形凹陷和无凹陷结构下聚焦样本流实际面积的大小,得出挡流板型和圆柱形通道将细胞束缚在最优检测区域的准确性较无凹陷通道分别提高了 52.2%和 47.5%。

4.2 聚焦速度分析

图 9 为沿 X 轴切面的速度图,在图 9 中通过色标显示凹陷处聚焦中心的速度最大,为 5.33×10^{-2} m/s,但是从图 9(a)中可以看到表示矢量速度的箭头较图 9(b)、(c)要杂乱,这是由于挡流板采用突然凹陷的结构对粒子或细胞进行阻隔筛选,在短时间陡然的压缩空间容易产生紊流现象,体积较小的粒子或细胞很有可能粘附在挡流板的下方,可能会阻塞通道。

4.3 粒子追迹

图 10(a)~(c)分别为不同光流控通道结构下的粒子追迹图,从图中可以看出,粒子在 X-Y 平面二维方向上在鞘液流的夹流作用下的聚焦效果都很好。而在 Z 轴方向上,在图 10(a)右侧中,粒子追迹线是陡然上升的,并且可以清晰的看到在靠近通道上下壁的粒子迹线在挡流板处被捕获而终止流动,而图 10(b)、(c)右侧部分由于凹陷结构是缓慢变化的,对粒子的阻挡具有缓冲的作用,可见粒子或细胞流经较窄区域时是平稳顺滑的通过。

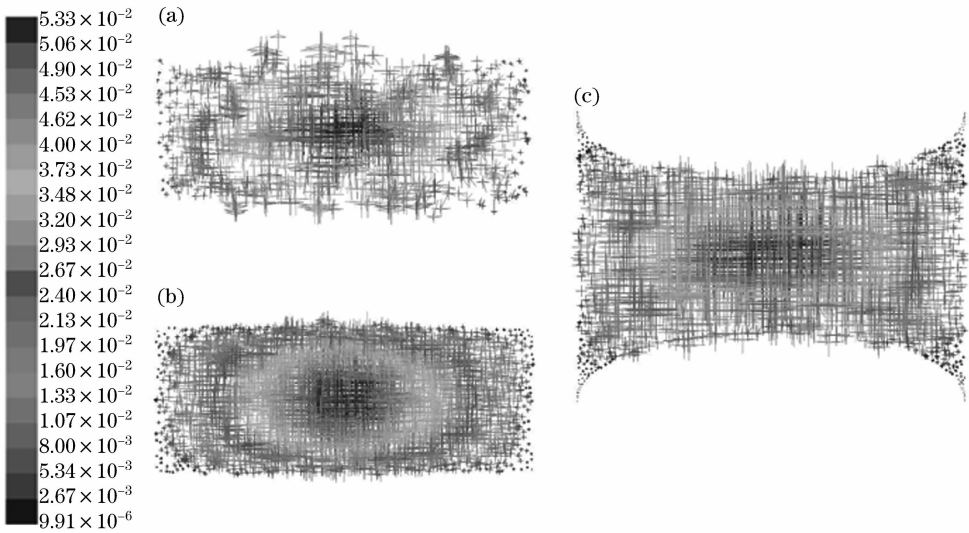


图 9 不同构型凹陷处速度的切面图。(a) 挡流板型凹陷;(b) 椭球形凹陷;(c) 圆柱形凹陷
Fig. 9 Different configurations of sag in speed sectional drawing. (a) Flow-baffle structure;
(b) ellipsoidal structure; (c) cylindrical structure

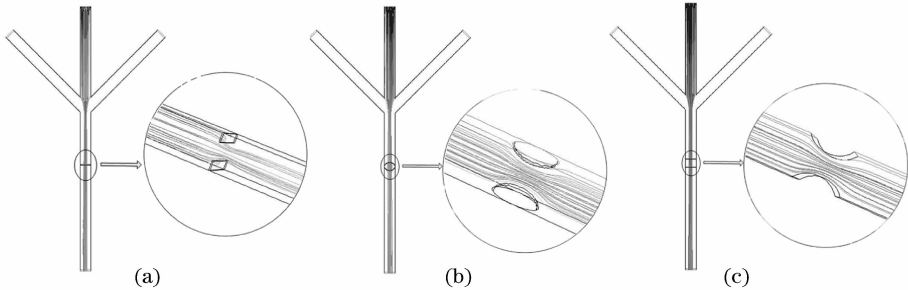


图 10 粒子在不同形状通道中的流动轨迹。(a) 挡流板型通道;(b) 椭球形通道;(c) 圆柱形通道
Fig. 10 Flow path of the particle in different types of channel. (a) Structure of flow baffle; (b) structure of ellipsoidal;
(c) structure of cylindrical

综合比较上述各个因素,三种类型的凹陷在 X-Y 轴二维平面内由于鞘液流的夹流作用都能达到比较好的聚焦,但是在 Z 轴方向上的聚焦,由于流体经过挡流板处时的突然凸起,会对内部流体造成紊流,较小的细胞也会附着于挡流板两侧夹角处,再通过对所设计的具有缓冲效果的椭球形凹陷和圆柱形凹陷两种结构的聚焦效果的比较分析,由于圆柱形凹陷对流体的聚焦面积更小,最终选定圆柱形凹陷结构为最优设计。

5 结 论

为了提高光流控芯片光敏区内细胞的 3D 聚焦效果,设计了一种具有三维聚焦功能的微流沟道,将通道上下壁制作成独特形状的凹陷,凹陷结构为三种:挡流板型、椭球形、以及圆柱形,应用仿真技术对不同设计进行聚焦仿真,通过相图,速度图以及粒子追迹的比较分析,最终确定椭球形凹陷为最优设计。整个芯片能够通过鞘液流的夹流作用实现在 X-Y 平面上的二维聚焦,进一步通过凹陷设计来实现 Z 轴上的聚焦,可以通过各入口速度的调节来控制聚焦面积的变化,从而适应不同大小白细胞的三维聚焦。

参 考 文 献

- 1 Zhao Shutao, Wu Xiaodong, Wang Ce, *et al.*. Principles, applications and latest developments of flow cytometer[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011, 11(22): 4378-4381.
赵书涛, 武晓东, 王 策, 等. 流式细胞仪的原理、应用及最新进展[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(22): 4378-4381.
- 2 Luo Dong, Lu Yuanpu, Jiao Guohua, *et al.*. Research progress of optofluidic flow cytometry [J]. Laser&Optoelectronics Progress, 2013, 50(12): 120004.
罗 栋, 鲁远甫, 焦国华, 等. 光流控流式细胞术的研究进展[J]. 激光与光电子进展, 2013, 50 (12): 120004.

- 3 Shen Xuefei, ChenTao. Improvement of processing technique of CO₂ laser direct writing on PMMA microchannels[J]. Chinese J Lasers, 2011,38(06):0603030.
申雪飞, 陈 涛. CO₂ 激光直写 PMMA 微通道工艺改进的实验研究[J]. 中国激光, 2011, 38 (06):0603030.
- 4 Yang Luxia, Hao Xiaojian, Wang Chunshui, *et al.*. Three-dimensional focusing microfluidic chip [J]. Optic Precision Engineering, 2013,21(9):2309-2316.
杨璐霞, 郝晓剑, 王春水, 等. 具有三维聚焦功能的微流控芯片[J]. 光学 精密工程, 2013, 21 (9):2309-2316.
- 5 Luo Wenbo, Liang Zhichuang, Cai Jianxiong, *et al.*. Micro flow cytometer with 3-D focusing for cell/particle detection[J]. J Funct Mater Devic. 2008,14(2):436-440.
雒文伯, 梁智创, 蔡建雄, 等. 具有三维聚焦之微型流式细胞/颗粒计数仪[J]. 功能材料与器件学报, 2008,14(2):436-440.
- 6 Li Xianghong, Zhang Bingzhen, Meng Xiangjiao, *et al.*. Design and fabrication of micro-flow channel based on SU-8[J]. Transducer and Microsystem Technologies, 2012, 31(10):94-96.
李向红, 张斌珍, 孟祥娇, 等. 基于 SU-8 的微流沟道的设计和制作[J]. 传感器与微系统, 2012,31(10):94-96.
- 7 Wu Yuanqing. Research on Microfluidic Chips Based on Flow Cytometry[D]. Tianjin: Tianjin University, 2012.
吴元庆. 基于流式细胞技术的微流控芯片的研究[D]. 天津:天津大学, 2012.
- 8 M L Chabinyc, D T Chiu, J C McDonald, *et al.*. An integrated fluorescence detection system in poly(dimethylsiloxane) for microfluidic applications[J]. Anal Chem. 2001, 73(18):4491-4498.
- 9 C H Tsai, H H Hou, L M Fu, *et al.*. An optimal three-dimensional focusing technique for micro-flow cytometers[J]. Microfluid and Nanofluid. 2008,5(6):827-836.
- 10 Li Zhanhua, Wu Jiankang. Fluid Flow in Microfluidic Chips[M]. Beijing: Science Press, 2012.
李战华, 吴健康. 微流控芯片中的流体流动[M]. 北京:科学出版社, 2012.
- 11 Xu Yuanyuan, Wang Yawei, Jin Weifeng, *et al.*. Study on phase characteristics of white blood cells and their optical models[J]. Chinese J Lasers, 2012,39(5): 0504001.
徐媛媛, 王亚伟, 金卫凤, 等. 白细胞光学模型及其相位分布特征分析[J]. 中国激光, 2012, 39(5):0504001.

栏目编辑: 苏 岑