

مطالعه عددی تفکیک سلول های قرمز خون از پلاکتها توسط نیروی دی الکتروفورزیس در میکروفلوئیدیک

کیوان فلاح*

استادیار، گروه مهندسی مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی، ساری، ایران، شماره ی همراه ۰۹۱۱۳۲۷۹۳۷۰ Keivan.fallah@gmail.com

دریافت: ۱۳۹۹/۰۸/۱۶ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۲/۲۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۲۵

چکیده

یک تکنیک مناسب برای جداسازی ذرات در سیستم میکروسیالی استفاده از دی الکتروفورزیس می باشد. دی الکتروفورزیس پدیده ای است که به حرکت ذرات در یک میدان الکتریکی غیر یکنواخت که منجر به نیروهای الکترواستاتیک نامتوازن روی ذرات قطبی القایی می شود، اشاره دارد. از این رو، در مطالعه حاضر، جداسازی سلول های پلاکت از سلول های قرمز خونی در جریان پیوسته توسط مکانیزم دی الکتروفورزیس بصورت عددی در کانال میکروفلوئیدیک بررسی می شود. برای این منظور از نرم افزار کامسول استفاده می شود. بمنظور اعتبارسنجی شبیه سازی حاضر، نتایج عددی حاضر با نتایج آزمایشگاهی محققان پیشین مقایسه می شود. اثر پارامترهای مختلف شامل اختلاف پتانسیل الکتریکی، سرعت جریان و فرکانس روی فرآیند جداسازی با جزئیات مطالعه می شود. نتایج نشان می دهد که با اعمال میدان الکتریکی، عمل جداسازی پلاکت ها از سلول های قرمز خونی انجام می شود. ولتاژ کم باعث می شود که پلاکت ها و سلول های قرمز خونی از یک سمت کانال خارج شوند در حالیکه ولتاژ بالا سبب برخورد گلبول های قرمز به جداره کانال می شود. با توجه به شرایط، یک طیف مشخصی از ولتاژ در دستگاه مورد نظر برای جداسازی سلول های قرمز خون و پلاکت ها از هم مناسب می باشد. همچنین، با افزایش سرعت ورودی ذرات، مکان جداسازی در فاصله دورتری از ورودی اتفاق می افتد و فاصله بین دو ذره متوالی جدا شده گلبول های قرمز یا پلاکت ها بیشتر می شود.

*عهده دار مکاتبات: Keivan.fallah@gmail.com

کلمات کلیدی: میکروفلوئیدیک، کامسول، نیروی دی الکتروفورزیس، سلول های خون، پلاکت ها

۱- مقدمه

میکروفلوئیدیک با رفتار، کنترل دقیق و نگهداری سیالاتی سرو کار دارد که به لحاظ هندسی به مقیاس کوچکی، معمولاً زیر میلیمتر، محدود شده اند. رفتار سیالات در محدوده میکروسکوپی میتواند از رفتار ماکروفلوئیدیک در عواملی مانند کشش سطحی، اتلاف انرژی، و شروع مقاومت سیال در برابر سیستم متفاوت باشد. میکروفلوئیدیک درباره چگونگی تغییر این رفتارها و اینکه چگونه آنها می توانند در اطراف کار کنند، یا برای استفاده های جدید مورد استفاده قرار گیرند، مطالعه می کند.

توانایی جداسازی سلول‌های زیستی، بر اساس انواع و اندازه‌های مختلف آن‌ها امری مهم و ضروری در فرآیندهای تشخیصی، درمانی و پزشکی است. محققان در دهه‌های اخیر با استفاده از ریزتراشه‌های آزمایشگاهی بر مبنای میکروسیال‌ها، کارهای مختلفی نظیر جداسازی و مرتب سازی میکروذرات، کشت میکروذرات، و آنالیز میکروذرات را انجام داده‌اند [۱]. یکی از کاربردهای مهم تراشه‌های آزمایشگاهی جداسازی و کشت سلول‌های خونی برای استفاده در کاربردهای بعدی مانند فرایندهای پزشکی، کاربردهای تشخیصی، صنایع شیمیایی و کاربردهای دیگر است [۲]. روش‌های مختلفی برای جداسازی و مرتب سازی میکرو ذرات ارائه شده است. به طور کلی تکنیک‌ها، و روش جداسازی و مرتب سازی میکروذرات بر اساس عملکرد آنها به دو دسته روش‌های غیر فعال و روش‌های فعال تقسیم می‌شوند. کیفیت انجام یک روش معمولاً با پارامترهایی نظیر توان، راندمان، دقت عملکرد، میزان مصرف انرژی، کنترل پذیری روش و پارامترهای دیگر سنجیده می‌شود [۳]. از روش‌های غیرفعال به کارگرفته شده نیز می‌توان به روش‌هایی چون رسوب [۴]، فیلتراسیون [۵]، انحراف سلولی که به روش‌های مختلفی انجام می‌شود و شامل روش جابه‌جایی جانبی معین^۱ [۶]، استفاده از موانع شیب‌دار [۷]، و اینرسی [۸] اشاره کرد. از روش‌های فعال به کارگرفته شده در زمینه جداسازی میکروذرات می‌توان به روش‌های دی‌الکتروفورزیس^۲، مغناطیسی [۹]، و جداسازی با استفاده از نیروی صوت اشاره کرد [۱۰]. پدیده دی‌الکتروفورزیس در اوایل قرن بیستم مورد بحث بوده است اما در سال ۱۹۵۱ برای اولین بار مورد مطالعات جدی توسط پل قرار گرفته و توسط او نام‌گذاری شده است [۱۱، ۱۲]. دی‌الکتروفورزیس به نیرویی که به یک ذره قطبش‌پذیر در یک میدان الکتریکی غیریکنواخت و معمولاً متغیر با زمان وارد می‌شود، گفته می‌شود. بسته به خواص الکتریکی ذره و سیال اطراف آن، ذرات به سمت جایی که شدت میدان الکتریکی زیاد است جذب شده (دی‌الکتروفورزیس مثبت) و یا از آن رانده می‌شود (دی‌الکتروفورزیس منفی). بنابراین سیستم باید به نحوی طراحی گردد که ذرات تحت اثر میدان الکتریکی غیریکنواخت قرار گیرند. برای ایجاد این میدان تاکنون الگوهای مختلفی پیشنهاد شده است [۱۳]. از آن جمله می‌توان به نوع الگوهای شانهای [۱۴ و ۱۵]، چندجمله‌ای [۱۶] و کنگره‌ای [۱۷] اشاره کرد. کانگ و همکاران [۱۸]، عایق مستطیل شکلی را در یک میکروکانال برای جداسازی ذرات پلی‌استایرن برحسب اندازه‌ی معرفی کردند. لاپیکو و همکاران [۱۹]، پست دایره‌ای شکلی را جهت جداسازی گونه‌های مختلف باکتری، معرفی کردند. شفیع و همکاران [۲۰]، پیشنهاد استفاده از دیواره‌ی جدا از دیواره‌ی اصلی کانال با مانعی به ضخامت ۲۰ میلی‌متری را دادند. در مقاله‌ی حاضر، تفکیک سلول‌های پلاکت از سلول‌های قرمز خونی در جریان پیوسته توسط مکانیزم دی‌الکتروفورزیس بصورت دوبعدی بوسیله نرم‌افزار کامسول شبیه‌سازی می‌شود. هندسه میکروکانل مورد بررسی از کار آزمایشگاهی معرفی شده توسط پیانستی و همکاران [۲۱] گرفته شده است. عوامل مختلف تاثیر گذار بر تفکیک سلول‌های خونی شامل ولتاژ، سرعت جریان و فرکانس بررسی می‌شود. بسکیگلیا و همکاران [۲۲] میکروجداسازی برای دام‌انداختن و خواص یابی سلولهای خونی ارائه دادند. در این طراحی از آرایش الکترودهای موازی استفاده شد و سلولها تحت تاثیر نیروی دی‌الکتروفورسیس مثبت قرار گرفتند. در این بررسی، قسمت موهومی ضریب کلازیوس ماسوتی برای سلولهای خونی به‌طور عددی محاسبه شد و با نتایج آزمایشگاهی مقایسه گردید و نشان داده شد که نتایج از تطابق خوبی برخوردارند. در یک پژوهش عددی پارک و همکاران [۲۳]، سلول‌های گلبول قرمز، گلبول سفید و پلاکتهای محلول در خون را با استفاده از ولتاژ پایین از یکدیگر جدا کردند. در بررسی آنها از یک سیال واسط برای هدایت سلولهای خونی به سمت الکترودها استفاده شد. اثر سرعت جریان در ورودی‌های کانال، ولتاژ و فرکانس اعمال شده به الکترودها و اندازه ذرات بر کیفیت جداسازی سلولهای خونی بررسی شد. ردلمن و همکاران [۲۴]، یک میکروجداساز بر پایه میدان سیال و نیروی دی‌الکتروفورسیس مثبت پیشنهاد کردند الکترودهایی که در این دستگاه استفاده گردید، از نوع مورب است و باعث می‌شود که به ذرات در راستای الکترودها نیرو وارد شود و ذراتی که تحت تاثیر نیروی دیالکتروفورسیس قرار میگیرند، در راستای الکترودها به حرکت درآیند. در این طراحی، از یک جریان اضافی نیز استفاده شد تا

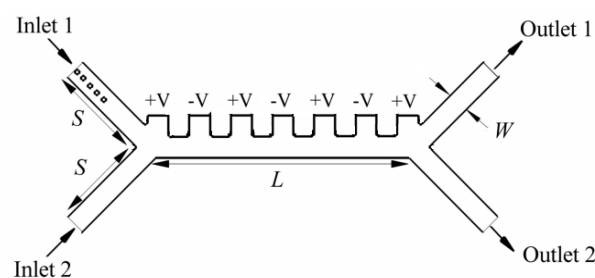
¹ Deterministic Lateral Displacement² Dielectrophoresis

جریان ذرات متمرکز شود و به سمت سر الکترودها هدایت گردد. پرهام و همکاران [۲۵] یک دستگاه میکروفلوئیدیک با چهار الکتروده مثلی برای جداسازی سلول های زنده از مرده و همچنین ذرات پلی استریل پیشنهاد نمودند. نشان دادند تحت شرایط بهینه، راندمان تقریباً به ۱۰۰٪ نیز می رسد.

در این مقاله فرآیند جداسازی سلول های پلاکت از سلول های قرمز خونی در جریان پیوسته توسط مکانیزم دی-الکتروفورزیس بوسیله نرم افزار کامسول شبیه سازی می شود. اثر تغییرات پارامترهایی مانند تغییرات ولتاژ و تغییرات فرکانس، همچنین تغییرات سرعت ورودی ها و تاثیر آن بر مسیر حرکت ذرات مورد بررسی قرار می گیرد.

۲- هندسه مورد بررسی

شکل ۱ نمایی شماتیک از هندسه مورد بررسی را نشان می دهد. هندسه ی میکروکانال در شبیه سازی موجود دارای دو ورودی، دو خروجی با طول مشخص می باشد. میدان الکتریکی غیریکنواختی توسط الکترودهای تعبیه شده در طول میکروکانال به ذرات در حال حرکت در طول کانال وارد می شود. از ناحیه ی ورودی ۱ سلول های خونی و محلول بافر از ورودی ۲ که در شکل ۱ نشان داده شده است وارد می شوند. عرض میکروکانال، عرض دهانه ی ورودی و خروجی میکروکانال با W مشخص شده است که مقدار آن برابر ۴۰ میکرومتر، طول میکروکانال با L نشان داده شده است و برابر ۵۵۰ میکرومتر است. در انتها که دو خروجی تعبیه شده، پلاکت ها پس از جداسازی به سمت خروجی بالا یعنی خروجی ۱ می روند و گلبول های قرمز به سمت خروجی پایین یعنی خروجی ۲ حرکت می کنند. خواص الکتریکی و مکانیکی ذرات و سیال در جدول شماره (۱) بیان شده است. سیال مورد استفاده در این تحقیق آب خالص در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد می باشد.



شکل ۱-نمایی شماتیک از هندسه ورد بررسی.

جدول ۱- خصوصیات سلول ها و سیال مورد نظر.

خصوصیت سیال	علامت	سیال	گلبول های قرمز	پلاکت ها
شعاع	r	-	۵	$1/8 (\mu m)$
ضخامت غشا	d	-	۹	$8 (\mu m)$
گذردهی نسبی	ϵ_r	۸۰	۵۹	۵۰
گذردهی نسبی غشا	ϵ_{mem}	-	۴,۴۴	۶
رسانندگی الکتریکی	σ	۵۵	۳۱ (ms/m)	۲۵ (ms/m)
رسانندگی الکتریکی غشا	σ_{mem}	-	۰/۰۰۱ (ms/m)	۰/۰۰۱ (ms/m)
چگالی	ρ	۱۰۰۰ (Kg/m ³)	-	-
ویسکوزیته سیال	μ	۱ (Kg/m ³)	-	-

۳- روابط ریاضی

۳-۱- معادلات سیالاتی جریان

عدد رینولدز در دستگاه میکروفلوئیدیک به صورت $Re = \frac{\rho w u}{\mu}$ تعریف می‌شود. ρ چگالی سیال ($\frac{kg}{m^3}$)، w عرض کانال میکروفلوئیدیک (μm)، u سرعت جریان ($\frac{\mu m}{s}$) و μ ویسکوزیته دینامیکی سیال (Pa.s) است. به دلیل اینکه عدد رینولدز در دستگاه میکروفلوئیدیک مقدار کمی دارد ($Re \approx 0.4$) و عرض میکروکانال (w) هم ابعاد کوچکی دارد، جریان خزشی یا استوکس (جریان خزشی در رینولدزهای کم اتفاق می‌افتند ($Re < 1$) در میکروکانال حاکم است. در سیستم با ویسکوزیته بالا و مقیاس هندسی طول کم (میکروفلوئیدیک)، نیروهای اینرسی در مقایسه با نیروهای ویسکوز کوچک هستند، بنابراین می‌توان از ترم اینرسی در معادلات ناویر-استوکس صرف‌نظر کرد [۲۶].

$$\nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (1)$$

$$\nabla \cdot [-P\mathbf{I} + \mu(\nabla \mathbf{u} + \nabla \mathbf{u}^T)] + \mathbf{F} = 0 \quad (2)$$

در معادله (۲) P فشار جریان (Pa) و I تانسور واحد، F نیروهای حجمی وارد شده ($\frac{N}{m^3}$) و فشار خروجی وارد بر پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز برابر فشار اتمسفر می‌باشد.

۳-۲- معادلات میدان الکتریکی جریان

معادلات میدان الکتریکی در دستگاه میکروفلوئیدیک دی‌الکتروفورزیس تحت شرایط پایدار بصورت زیر در نظر گرفته می‌شود [۲۶].

$$\mathbf{j} = \sigma \mathbf{E} + \mathbf{j}_e \quad (3)$$

در رابطه‌ی (۳)، j چگالی ذره ($\frac{A}{m^2}$)، σ ضریب هدایت الکتریکی ($\frac{S}{m}$)، E میدان الکتریکی ($\frac{N}{C}$)، j_e مقدار چگالی تولید شده ($\frac{A}{m^2}$) می‌باشند. همچنین معادله‌ی پیوستگی ماکسول تحت شرایط الکتریکی پایدار از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید [۲۶].

$$\nabla \cdot \mathbf{j} = -\nabla \cdot (\sigma \nabla V - \mathbf{j}_e) \quad (4)$$

معادله‌ی (۴) معادله‌ی پیوستگی برای میدان با ولتاژ (V) می‌باشد، وقتی که میدان الکتریکی (E) و جریان J از معادلات زیر پیروی می‌کنند [۲۶].

$$\mathbf{E} = -\nabla V \quad (5)$$

$$\mathbf{j} = \sigma \mathbf{E} \quad (6)$$

هنگامی که یک ذره قطبش‌پذیر در یک میدان الکتریکی غیریکنواخت قرار گیرد، دو قطبی شکل می‌گیرد و نیرویی از سمت میدان الکتریکی به ذره وارد می‌شود که از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید [۲۷].

$$F_{DEP} = \frac{1}{2} \pi \epsilon_m a^3 \text{Re}[f_{cm}] \nabla |E|^2 \quad (7)$$

در رابطه‌ی (۱۱) a شعاع ذره ϵ_m ضریب گذرده‌ی ذره، $|\nabla E|^2$ گرادیان دوم میدان الکتریکی و $\text{Re}[f_{cm}]$ فاکتور کلازیوس ماستی^۳ می‌باشد که از رابطه‌ی زیر بدست می‌آید [۲۷].

$$f_{cm} = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*} \quad (۸)$$

در معادله‌ی (۸) برای بدست آوردن $\epsilon_p^*, \epsilon_m^*$ از رابطه‌ی زیر استفاده می‌کنیم [۲۷].

$$\epsilon_y^* = \epsilon_0 \epsilon_y - j \frac{\sigma_y}{\omega} \quad y = p, m \quad (۹)$$

در رابطه (۹) $\epsilon_0 = 8.854 \times 10^{-12}$ ضریب گذرده‌ی در خلا، ϵ_y ضریب گذرده‌ی نسبی، σ_y ضریب هدایت الکتریکی و ω فرکانس زاویه‌ای اعمال شده بر میدان الکتریکی می‌باشد. در صورتی که ذره یکنواخت باشد فاکتور کلازیوس ماستی از رابطه (۱۲) بدست می‌آید. ولی هنگامی که مانند بیشتر سلولها ذره یک غشا داشته باشد ϵ_p موجود در رابطه (۸) باید از رابطه زیر بدست بیاید [۲۷].

$$\begin{aligned} \epsilon_p^* &= \epsilon_{mem}^* \frac{\epsilon_1}{\epsilon_2} \\ \epsilon_1 &= \left[\left(\frac{r+d}{r} \right)^3 + 2 \left(\frac{\epsilon_{int}^* - \epsilon_{mem}^*}{\epsilon_{int}^* + 2\epsilon_{mem}^*} \right) \right] \\ \epsilon_2 &= \left[\left(\frac{r+d}{r} \right)^3 - \left(\frac{\epsilon_{int}^* - \epsilon_{mem}^*}{\epsilon_{int}^* + 2\epsilon_{mem}^*} \right) \right] \end{aligned} \quad (۱۰)$$

در رابطه‌ی (۱۰) اندیس mem و int به ترتیب نشان دهنده غشا و محیط داخلی سلول می‌باشد. فاکتور کلازیوس_ماستی تعیین کننده جهت و اندازه نیروی وارد بر ذره است. در مقاله‌ی حاضر برای دستگاه میکروفلوئیدیک از جریان ولتاژ کم برای تولید نیروی دی‌الکتروفورزیس بر روی سلول‌های خونی استفاده شده است که بیشتر در کاربردهای درمانی استفاده می‌شود. بنابراین الکترودها و شرایط مرزی پتانسیل الکتریکی طوری طراحی شده‌اند که با ولتاژ الکتریکی بین ۲ تا ۱۰ ولت کمترین آسیب به سلول‌های خونی وارد شود. مومنوم وارد بر سلول‌های خونی در دستگاه میکروفلوئیدیک از قانون دوم نیوتون برگرفته است. نیروی دی‌الکتروفورزیس نیز روی حرکت ذرات تاثیر می‌گذارد و در ولتاژهای مختلف بین ذرات و جریان سیال (محلول بافر) با ایجاد میدان غیریکنواخت عامل جداسازی ذرات باردار را بوجود می‌آورد. جریان سیال (محلول بافر) در میکروکانال نیروی درگ را روی سلول‌های خونی اعمال می‌کند که این نیرو در اثر اختلاف سرعت بین سلول‌های خونی و محلول بافر بوجود می‌آید. معادلات حاکم برای مومنوم سلول‌های خونی تحت تاثیر نیروی دی‌الکتروفورزیس و درگ از معادلات زیر پیروی می‌کنند [۲۸].

$$\frac{d}{dt}(m_p u_p) = F_{DEP} \quad (۱۱)$$

$$\frac{d}{dt}(m_p u_p) = F_D(u_b - u_p) \quad (۱۲)$$

$$F_D = \frac{18\mu}{\rho_p d_p^2} \quad (۱۳)$$

³ Clausius Mosotti

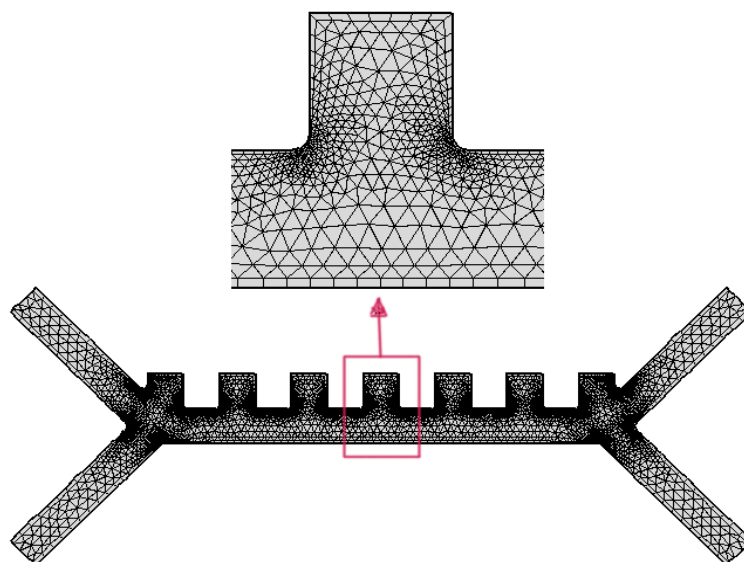
m_p جرم سلول های خونی (Kg)، سرعت سلول های خونی $(\frac{\mu m}{s})$ ، F_{DEP} نیروی دی الکتروفورزیس (N)، F_D نیروی درگ (N)، d_p قطر سلول های خونی (μm) و ρ_p چگالی سلول های خونی می یاشند.

۴- حل عددی

در این تحقیق با استفاده از روش المان محدود در نرم افزار کامسول مالتی فیزیک ۵.۳، نیروی دی الکتروفورزیس اعمالی به سلول های خونی شبیه سازی شده است. در این مطالعه، جریان سیال با ورودی ذره و جریان سیال از ورودیهای ۱ و ۲ به صورت کاملاً توسعه یافته وارد می شوند. برای تمامی دیوارها، شرط عدم لغزش در نظر گرفته شده است. شرط فشار نسبی صفر برای خروجی ها اعمال شده است. همچنین مقدار پتانسیل الکتریکی در محل استقرار الکترودها در قسمت باریک شونده میکروکانال، برابر با V_0 ولت در نظر گرفته شده است که مطابق شکل ۱، به صورت تناوبی مثبت و منفی اعمال می شوند. برای شبکه بندی مدل شبیه سازی، از مش بندی تنظیمات پیش فرض نرم افزار از با خصوصیات ذکر شده در جدول (۱) که استفاده شده است. مش بندی لایه مرزی و سه وجهی برای مسئله حاضر بکار برده شده است. شکل ۲ نمای مش بندی در مسئله حاضر را نشان می دهد. بمنظور بررسی استقلال حل از شبکه، چهار مش بندی که مشخصات آن در جدول (۲) بیان شده است در نظر گرفته شده است.

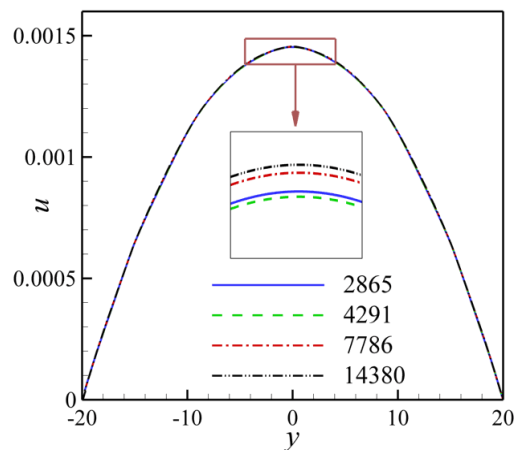
جدول ۲- مش بندی

تعداد مش	المان های راس	المان های مرز	کمترین اندازه سلول	بیشترین اندازه سلول
۱۴۳۸۰	۵۹	۸۷۶	۱۰	۰/۱۳
۷۷۸۶	۵۹	۶۶۱	۱۵	۰/۶۵
۴۲۹۱	۵۹	۴۷۲	۲۲	۰/۹۷
۲۸۶۵	۵۹	۳۵۳	۳۰	۱/۳۱



شکل ۲ مش بندی دوبعدی مدل در جداسازی دستگاه دی الکتروفورزیس.

نتایج حاصل از مش بندی های مختلف برای پروفیل سرعت در راستای x در وسط میکروکانال در شکل ۳ نشان داده شده است. از شکل می توان پی برد که تعداد مش ها تأثیر ناچیزی کمی بر نتایج شبیه سازی پوفیل سرعت دارند. از تصویر بزرگنمایی شده، مشاهده می شود که منحنی قرمز رنگ به منحنی سیاه نزدیکتر است. با در نظر گرفتن زمان محاسبه و میزان خطا شبیه سازی، تعداد ۷۷۸۶ مش برای مسئله حاضر در نظر گرفته شده است.

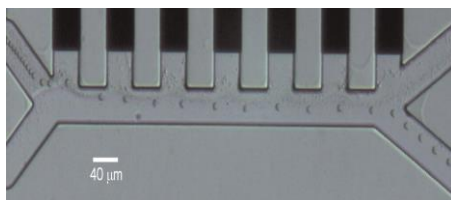


شکل ۳ مطالعه استقلال حل از شبکه برای پروفیل سرعت در راستای x در وسط میکروکانال.

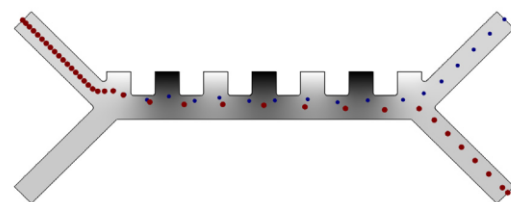
۵- شبیه سازی عددی

۵-۱- اعتبارسنجی

برای اعتبارسنجی در این بخش جداسازی سلول های گلبول قرمز از پلاکت های خونی مطابق با نتایج آزمایشگاهی پیانستی و همکاران [۲۱] استفاده شده است. رنگ های قرمز و آبی به ترتیب گلبول های قرمز و پلاکت ها را نشان می دهند. همان طور که در شکل ۴ مشاهده می شود همخوانی خوبی بین نتایج شبیه سازی شده و نتایج آزمایشگاهی وجود دارد.

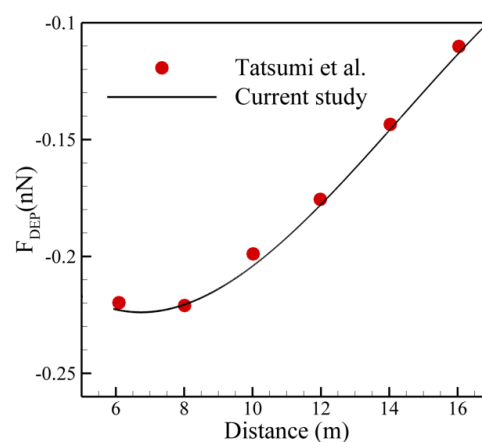


نتایج آزمایشگاهی



مطالعه حاضر

شکل ۴- مقایسه نتایج شبیه سازی حاضر و نتایج آزمایشگاهی پیانستی در جداسازی گلبول های قرمز از سلول های پلاکت خونی [۲۱].

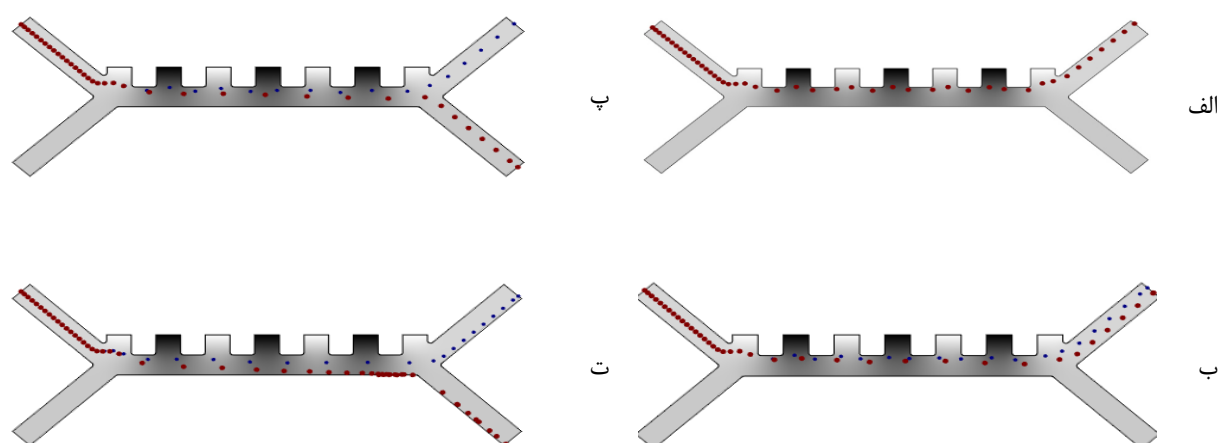


شکل ۵- مقایسه کمی، نتایج عددی حاضر با نتیجه تاسومی و همکاران [۲۹] در زمینه نیروی دی الکتروفورسیس.

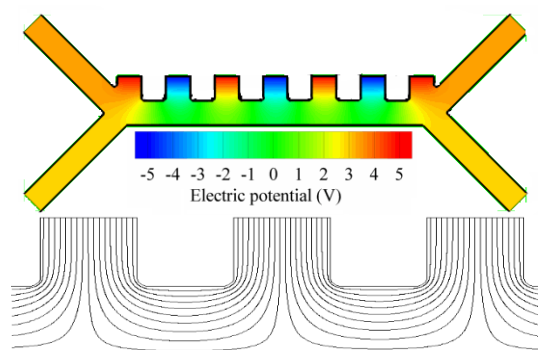
بمنظور مقایسه کمی، نتایج عددی حاضر با نتیجه تاسومی و همکاران [۲۹] در زمینه نیروی دی‌الکتروفوریسیس مقایسه و در شکل ۵ نشان داده شده است. همان طور که از شکل پیداست، نتایج شبیه سازی بصورت کمی تطابق بسیار خوبی با نتایج آزمایشگاهی را نشان می‌دهد.

۵-۲- تاثیر ولتاژ بر مسیر حرکت سلول‌ها

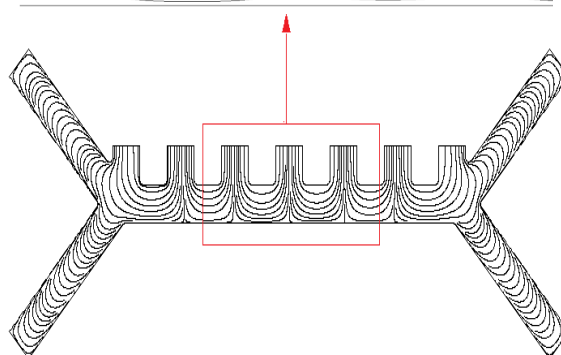
شکل ۶ مسیر حرکت سلول‌ها در فرکانس 100 KHz ، سرعت ورودی ذرات $150\text{ }\mu\text{m/s}$ و سرعت ورودی محلول بافر $900\text{ }\mu\text{m/s}$ در ولتاژهای مختلف ۰، ۳، ۵ و ۱۰ ولت را نشان می‌دهد. همان طور که در شکل ۶-الف مشاهده می‌شود، زمانی که ولتاژ صفر می‌باشد نیروی دی‌الکتروفورزیس به ذرات وارد نمی‌شود و گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها در مسیر یکسانی حرکت نموده و از خروجی اول خارج می‌گردند. هنگامیکه به سیستم ولتاژ اعمال می‌شود، سلول‌های خونی در نتیجه اختلاف در خواص الکتریکی گلبول‌های قرمز و پلاکت‌ها، نیروی دی‌الکتروفورزیس به آنها وارد می‌شوند و از هم جدا می‌شوند (شکل‌های ۶-ب، پ و ت). برای درک بهتر مطلب، در شکل (۷-الف) و شکل (۷-ب) به ترتیب توزیع پتانسیل الکتریکی و توزیع خطوط میدان الکتریکی را در میکروکانال نشان می‌دهد. ولتاژ اعمال شده به تیغه‌ها (۵ و -۵) -ولت می‌باشد. ولتاژهای مثبت و منفی باعث ایجاد تغییر پتانسیل در ناحیه جدایش ذرات و در نتیجه میدان الکتریکی غیریکنواخت می‌گردد. همانطور که در شکل (۷-ب) مشاهده می‌شود، جهت خطوط میدان از الکترودهای مثبت به الکترودهای منفی می‌باشد. در شکل ۶-الف مشاهده می‌شود، جداسازی گلبول‌ها از پلاکت‌ها صورت می‌گیرد اما به علت کم بودن مقدار ولتاژ تاثیر نیروی دی‌الکتروفورزیس بر گلبول‌های قرمز کوچک می‌باشد و نمی‌تواند آنها را به سمت خروجی پایین هدایت کند. یادآوری این نکته ضروری است که دی‌الکتروفورزیس برای گلبول‌های قرمز در این فرکانس منفی می‌باشد و می‌بایست منجر به انحراف آن و خروج گلبول‌های قرمز از خروجی پایین شود. به نظر می‌رسد با کم بودن دی‌الکتروفورزیس نیروی درگ ناشی از حرکت محلول بافر گلبول‌های قرمز را به سمت خروجی بالا هدایت می‌کند. در شکل (۶-پ) ولتاژ بیش از حد زیاد است و با ایجاد میدان بزرگ باعث انحراف بیش از حد گلبول‌های قرمز و برخورد آنها به دیواره می‌شود بنابراین نمی‌تواند ولتاژ مناسبی برای جداسازی گلبول‌های قرمز از پلاکت‌ها باشد. با توجه به شکل ۶ محدوده‌ی ولتاژ جداسازی بین ۳ تا ۱۰ ولت می‌تواند مناسب باشد که طبق شکل (۶-ب) ولتاژ ۵ ولت می‌تواند مناسب برای جداسازی گلبول‌های قرمز از پلاکت‌ها در نظر گرفته شود.



شکل ۶- مسیر سلول‌های خونی در فرکانس 100 KHz ، سرعت ورودی ذرات $150\text{ }\mu\text{m/s}$ و سرعت ورودی محلول بافر $900\text{ }\mu\text{m/s}$ در ولتاژ-های مختلف: الف) ولتاژ صفر، ب) ولتاژ ۳V، پ) ولتاژ ۵V و ت) ولتاژ ۱۰V.



الف

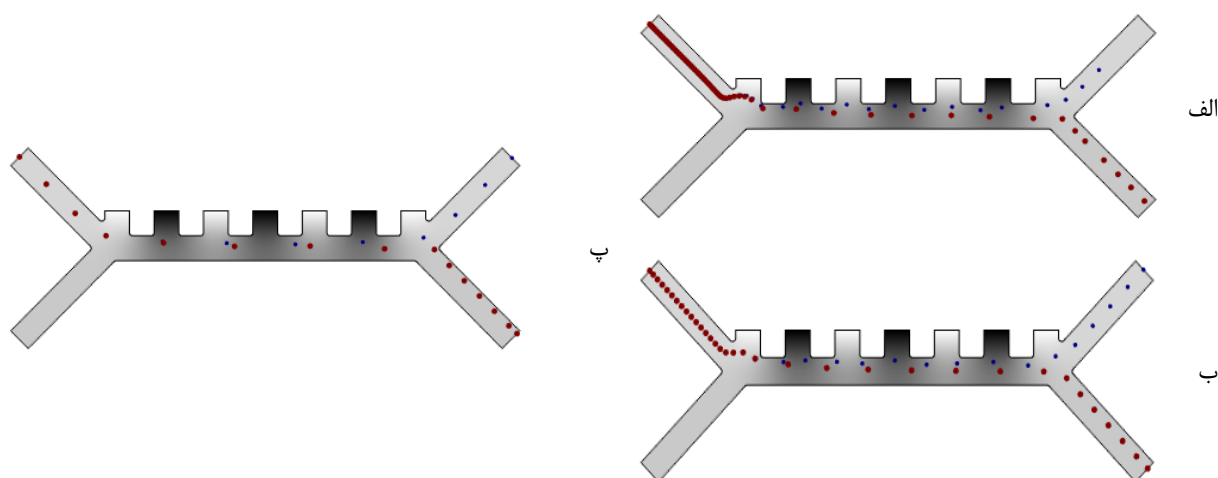


ب

شکل ۷- الف) توزیع پتانسیل الکتریکی و ب) توزیع خطوط میدان الکتریکی.

۳-۵- اثر تغییرات سرعت ورودی سلول های خونی در میکروکانال

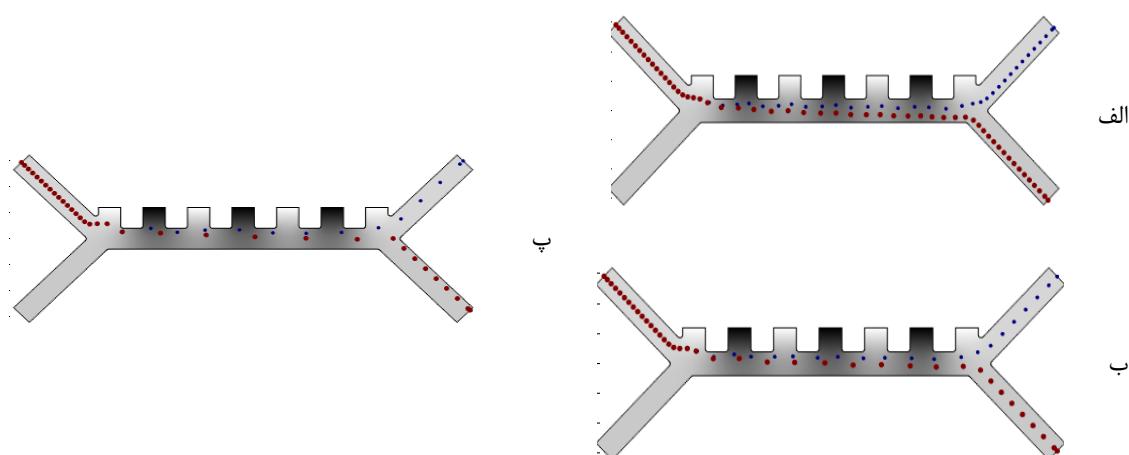
شکل ۸ مسیر حرکت سلول ها در فرکانس ۱۰۰ KHz، ولتاژ ۵V و سرعت ورودی محلول بافر $900 \mu\text{m/s}$ برای سرعت ذرات ۷۰، ۱۵۰ و ۹۰۰ میکرومتر بر ثانیه در زمان ۳ ثانیه را نشان می دهد. همانطور که از شکل ۸ پیداست با افزایش سرعت ورودی ذرات، مکان جداسازی در فاصله دورتری از ورودی اتفاق می افتد و پلاکت ها زودتر از ورودی ۱ خارج می شوند ولی فاصله بین دو ذره متوالی جدا شده گلبول های قرمز یا پلاکت ها بیشتر می شود. همچنین در شکل ۸-پ مشاهده می شود گلبول های قرمز نیز هنگام جداسازی و عبور از کانال در مقطع خروجی به سطح کانال برخورد می کنند که این عامل علاوه بر کاهش راندمان جداسازی، می تواند به گلبول های قرمز نیز آسیب برساند.



شکل ۸- تغییرات سرعت در ورودی میکروکانال در فرکانس ۱۰۰ KHz، ولتاژ ۵V و سرعت ورودی محلول بافر $900 \mu\text{m/s}$ در زمان ۳ ثانیه برای سرعت ذرات متفاوت: الف) $70 \mu\text{m/s}$ ، ب) $150 \mu\text{m/s}$ و پ) $900 \mu\text{m/s}$.

۴-۵- تاثیر تغییرات سرعت ورودی محلول بافر در میکروکانال

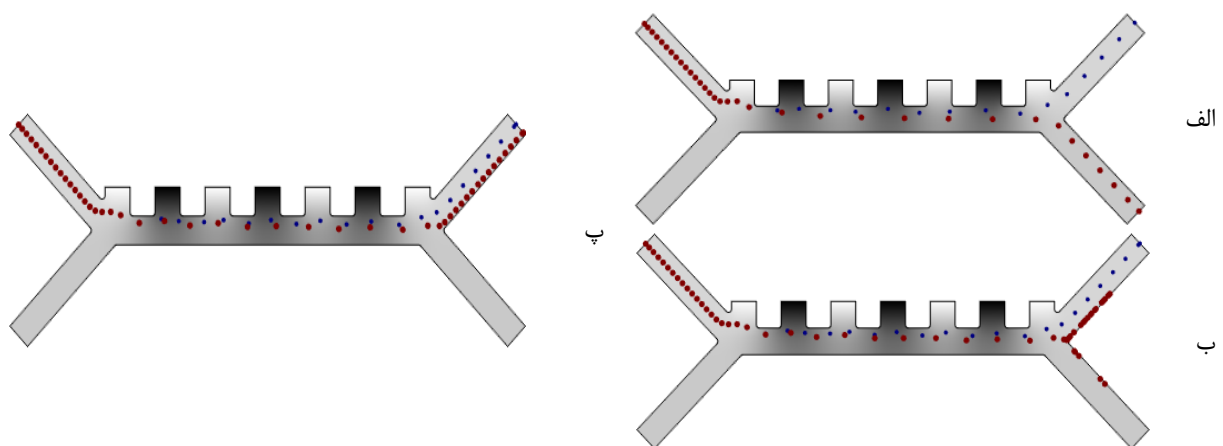
شکل ۹ تغییرات سرعت در ورودی محلول بافر و تاثیر آن بر روی روند مسیر حرکت ذرات در فرکانس ۱۰۰ KHz، ولتاژ ۵V و سرعت ورودی ذرات $150 \mu\text{m/s}$ در سرعت ورودی محلول بافر مختلف در زمان ۳ ثانیه را نشان می‌دهد. در شکل ۹-الف همان‌طور که ملاحظه می‌شود، جداسازی بخوبی صورت می‌گیرد. با افزایش سرعت محلول بافر، فاصله بین ذرات افزایش می‌یابد. همچنین مشخص است که افزایش سرعت ورودی محلول بافر نیز تا حدودی جایز است زیرا طبق شکل ۹-پ سرعت ورودی محلول بافر بیش از حد زیاد است و علاوه بر اینکه تاخیر در جدایش سلول‌های خونی اتفاق می‌افتد و جدایش کمتری در بازه‌ی زمانی مذکور رخ می‌دهد.



شکل ۹- تغییرات سرعت محلول بافر در ورودی میکروکانال در فرکانس ۱۰۰ KHz، ولتاژ ۵V و سرعت ورودی ذرات $150 \mu\text{m/s}$ در سرعت ورودی محلول بافر مختلف در زمان ۳ ثانیه: الف) $300 \mu\text{m/s}$ ، ب) $450 \mu\text{m/s}$ و پ) $900 \mu\text{m/s}$.

۵-۵- بررسی تغییر فرکانس و تاثیر آن روی سلول‌های خونی

در شکل ۱۰ اثر تغییرات فرکانس در ولتاژ ۵V، سرعت ورودی ذرات $150 \mu\text{m/s}$ و سرعت ورودی محلول بافر $900 \mu\text{m/s}$ در زمان ۳ ثانیه نشان داده شده است. با بررسی‌های صورت گرفته پلاکت‌ها در هر فرکانسی نیروی دی‌الکتروفورزیس مثبت دریافت می‌کنند و به سمت خروجی فوقانی (خروجی ۱) کانال هدایت می‌شوند، اما گلبول‌های قرمز در فرکانس ۶۵۵ کیلوهرتز نیروی دی‌الکتروفورزیس تقریباً ناچیزی را دریافت می‌کنند (شکل ۱۰-ب) و بدون انحراف به انتهای میکروکانال برخورد می‌کنند. در فرکانس کمتر از ۶۵۵ کیلوهرتز (شکل ۱۰-الف) با دریافت نیروی دی‌الکتروفورزیس منفی به سمت پایین دفع می‌شوند و از خروجی دوم به سمت خارج هدایت می‌شوند. در فرکانس بیشتر از ۶۵۵ کیلوهرتز نیروی دی‌الکتروفورزیس مثبت به گلبول‌های قرمز وارد می‌شود و آنها به سمت دهانه‌ی خروجی ۱ میکروکانال هدایت می‌شوند (شکل ۱۰-پ).



شکل ۱۰- تغییرات فرکانس روی سلول های خونی تحت دی الکتروفورزیس در ولتاژ ۵V، سرعت ورودی ذرات $150 \mu\text{m/s}$ و سرعت ورودی محلول بافر $900 \mu\text{m/s}$ در زمان ۳ ثانیه: الف) فرکانس ۱۰۰ Khz، ب) ۶۵۵ Khz و پ) فرکانس ۷۰۰ Khz

۶- نتیجه گیری

در این مقاله از نرم افزار کامسول برای شبیه سازی فرآیند جداسازی سلول های پلاکت از سلول های قرمز خونی در جریان پیوسته توسط مکانیزم دی الکتروفورزیس استفاده شده است. اعتبار نتایج عددی حاضر با نتایج آزمایشگاهی مورد مقایسه قرار گرفته و نتایج بیان گر این مطلب است که حل عددی مورد استفاده به خوبی قادر به پیش بینی رفتار فیزیکی مسئله حاضر می باشد. اثر تغییرات پارامترهای مهم مانند تغییرات ولتاژ و تغییرات فرکانس، همچنین تغییرات سرعت ورودی ها و تاثیر آن بر مسیر حرکت ذرات مورد بررسی قرار گرفته و نتایج زیر استخراج شده اند:

- در غیاب میدان الکتریکی، گلبول های قرمز و پلاکت ها بدلیل اینکه نیروی دی الکتروفورزیس به ذرات وارد نمی شود، از هم جدا نمی شوند. با اعمال میدان الکتریکی، سلول های خونی در نتیجه اختلاف در خواص الکتریکی گلبول های قرمز و پلاکت ها، عمل جداسازی ین آنها صورت می گیرد و از هم جدا می شوند،
- میدان الکتریکی کم سبب می شود که گلبول های قرمز و پلاکت ها از یک سمت خارج شوند. اعمال میدان الکتریکی زیاد باعث انحراف بیش از حد گلبول های قرمز و برخورد آنها به دیواره می شود بنابراین نمی تواند ولتاژ مناسبی برای جداسازی گلبول های قرمز از پلاکت ها باشد،
- با افزایش سرعت ورودی ذرات، مکان جداسازی در فاصله دورتری از ورودی اتفاق می افتد و پلاکت ها زودتر از ورودی ۱ خارج می شوند ولی فاصله بین دو ذره متوالی جدا شده گلبول های قرمز یا پلاکت ها بیشتر می شود،
- با افزایش سرعت محلول بافر، فاصله بین ذرات افزایش می یابد. و افزایش آن تا حدودی مجاز است. زیرا باعث تاخیر در جدایش سلول های خونی می شود و
- همواره نیروی دی الکتروفورزیس مثبت به پلاکت ها وارد می شود. اما بسته به مقدار فرکانس، به گلبول های قرمز نیروی دی الکتروفورزیس مثبت و منفی وارد می شود.

علائم انگلیسی

ضریب گذردهی الکتریکی	ϵ	ضخامت غشا	d
لزجت دینامیکی	μ	میدان الکتریکی	E

فرکانس زاویه‌ای	ω	نیرو	F
رسانایی الکتریکی ویژه	σ	شعاع	r
	اندیس‌ها	زمان	t
نیروی پسا	D	بردار سرعت	u
نیرو الکتروفرورزیس	DEP	مولفه در راستای افقی	x
اولیه		مولفه در راستای عمودی	y
سیال حامل ذره	mem	فشار سیال	P
ذره	p	علائم یونانی	
		چگالی سیال	ρ

مراجع

- [1] D.R., Gossett, W.M., Weaver, A.J., Mach, S.C., Hur, H.T., Kwong Tse, W., Lee, H., Amini, and D.D., Carlo, (2010), Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(8): 3249-3267.
- [2] A., Manz, D.J., Harrison, E.M.J., Verpoorte, J.C., Fettingner, A., Paulus, H., Lüdi, and H.M., Widmer, (1992), Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems: capillary electrophoresis on a chip. *Journal of Chromatography A*, 593(1-2): 253-258.
- [3] Ch., Qian, H., Huang, L., Chen, X., Li, Z., Ge, T., Chen, Zh., Yang, and L., Sun, (2014), Dielectrophoresis for bioparticle manipulation, *International journal of molecular sciences* 15(10): 18281-18309.
- [4] X., Chen, D.F., Cui, C.C., Liu, and H., Li (2008), Microfluidic chip for blood cell separation and collection based on crossflow filtration, *Sensors and Actuators B Chemical* 130(1): 216-221.
- [5] H.M., Ji, V., Samper, Y., Chen, C.K., Heng, T.M., Lim, L., and Yobas, (2008), Silicon based microfilters for whole blood cell separation, *Biomed Microdevices*, 10(5): 251-257.
- [6] M., Grath, and M., Jimenez, (2014), Deterministic lateral displacement for particle separation a review, *Lab Chip* 14: 4139-4158.
- [7] S. Choi and J. K. Park, (2007), Continuous blood cell separation by hydrophoretic filtration, *Lab on Chip*, 7(3): 890-897.
- [8] J., Zhang, (2013), Inertial focusing in a straight channel with asymmetrical expansion/contraction cavity arrays using two secondary flows, *Micromechanics and Microengineering*, 23(2): 8.
- [9] Ki-Ho., Han, (2004), Continuous Magnetophoretic Separation of Blood Cells in Microdevice Format, *Journal of Applied Physics*, 96: 5797-5802.
- [10] T. Laurell, F. Petersson and A. Nilsson, (2007), Chip integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles, *Chem. Soc. Rev*, 36: 492-506.
- [11] H.A., Pohl, and J.S., Crane, (1971), Dielectrophoresis of cells, *Biophysical journal* 11(9): 711.
- [12] H.A., Pohl, (1951), The motion and precipitation of suspensoids in divergent electric fields, *Journal of Applied Physics*, 22(7): 869-871.
- [13] K. Khoshmanesh, S. Nahavandi, S. Baratchi, A. Mitchell, and K. Kalantar-zadeh, (2011), Biosensors and Bioelectronics Dielectrophoretic platforms for bio-microfluidic systems, *Biosensors and Bioelectronics*, 26(5): 1800-1814.

- [14] H., Li, (2002), Dielectrophoretic separation and manipulation of live and heat-treated cells of *Listeria* on microfabricated devices with interdigitated electrodes, *Sensors and Actuators B: Chemical* 86(2-3): 215–221.
- [15] S., Park, Y., Zhang, T., Wang, and S., Yang, (2011), Continuous dielectrophoretic bacterial separation and concentration from physiological media of high conductivity, *Lab on a chip*, 2: 3–7.
- [16] Y., Huang, and R., Pethig, (1999), Electrode design for negative dielectrophoresis, *Measurement Science and Technology*, 2: 1142–1146.
- [17] R., Pethig, Y., Huang, X., Wang, and J.P.H., Burt, (1992), Positive and negative dielectrophoretic collection of colloidal particles using interdigitated castellated microelectrodes, *Journal of Physics D Applied Physic*, 25(5): 881–888.
- [18] Y., Kang, D., Li, Kalams, S.A., and J. E, Eid, (2008), DC-Dielectrophoretic separation of biological cells by size, *Biomed Microdevices*, 10(3): 243–249.
- [19] B.H., Lapizco-Encinas, B.A., Simmons, E.B., Cummings, and Y., Fintschenko, (2004), Dielectrophoretic concentration and separation of live and dead bacteria in an array of insulators, *Lab on Chip* 76(3): 1571-1579.
- [20] H., Shafiee, M.B., Sano, E.A., Henslee, J.L., Caldwell, and R.V., Davalos, (2010), Selective isolation of live/dead cells using contactless dielectrophoretic, *Lab Chip* 10: 438–445.
- [21] N, Piacentini, G., Mernier, R., Tornay, and Ph., Renaud, (2011), Separation of platelets from other blood cells in continuous-flow by dielectrophoresis field-flow-fractionation, *Biomicrofluidics* 5: 3.
- [22] E., Bisceglia, M., Cubizolles, C., Trainito, J., Berthier, C., Pudda, O., Français, and B., LePioufle (2015) A generic and label free method based on dielectrophoresis for the continuous separation of microorganism from whole blood samples, *Sens. Actuators B. Chem.*, 212: 335-343.
- [23] H., Ali, and CW., Park, (2016), Numerical study on the complete blood cell sorting using particle tracing and dielectrophoresis in a microfluidic device, *Korea-Aust Rheol. J.*, 28(4): 327-339.
- [24] H., Hadady, D., Redelman, SR., Hiibel and EJ., Geiger, (2016), Continuous-flow sorting of microalgae cells based on lipid content by high frequency dielectrophoresis, *AIMS Biophys*, 3(3): 398-414.
- [25] P., Tajik, M.S., Saidi, N., Kashaninejad, and N.T., Nguyen, (2019), Simple, cost-effective, and continuous 3D dielectrophoretic microchip for concentration and separation of bioparticles, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 59, 9, 3772–3783.
- [26] H., Ali, and Ch.W, Park, (2016), Numerical study on the complete blood cell sorting using particle tracing and dielectrophoresis in a microfluidic device, *Korea-Australia Rheology Journal*, 28(4): 327-339.
- [27] H. Morgan, N. G. Green (2003) *AC Electrokinetics, colloids and nanopatticles*. Institute of Physics 22(4): 23-80.
- [28] C.F., Ivory, ad S.K., Srivastava, (2011), Direct current dielectrophoretic simulation of proteins using an array of circular insulating posts, *Electrophoresis*, 32(17): 2323-2330.
- [29] K., Tatsumi, K., Kawano, H., Okui, H., Shintani, and K., Nakabe, (2016), Analysis and measurement of dielectrophoretic manipulation of particles and lymphocytes using rail-type electrodes, *Med. Eng. Phys.* 38, 24-32.

Numerical study of Separation of Red Blood Cells and Platelets using Dielectrophoretic Force in Microfluidic

Keivan Fallah*

* Department of mechanical engineering, Sari Branch, Islamic Azad University, Sari, Iran.

Received: May 2021, Accepted: May 2021

Abstract

An appropriate technique for separation of particles in microfluidic system is the use of dielectrophoresis (DEP), a phenomenon referring to the motion of a particle in a non-uniform electric field due to the unbalanced electrostatic forces on the particle's induced dipole. Therefore, in current study, separating platelet cells from red blood cells in a continuous flow using dielectrophoretics (DEP) mechanism is numerically investigated in microfluidic device. To this approach, COMSOL Multiphysics software is used. To verify the simulation, the results are compared to previous experimental data. The effects of different parameters including voltage, flow speed and frequency on the separation of platelets are studied in details. The results reveal that successful separation of platelets from blood cells are occurred by applying voltages. Low voltage causes platelet cells and red blood cells to exit from one side of the channel while high voltage causes the red blood cells to collide with the channel wall. According to condition, a range of voltage is suitable for current device to efficiently separate red blood cells and platelets. Also, with increasing particle inlet velocity, the separation takes place farther from the inlet, and the distance between the two consecutive isolated particles of red blood cells or platelets increases.

Key words: Microfluidics; COMSOL Multiphysics; Dielectrophoretics force; Red blood cells; Platelets.

*corresponding author: Keivan.fallah@gmail.com