

文章编号 1004-924X(2014)10-2733-07

CD-like 全血分析芯片内压缩空气的定量泵送

范建华^{1,2}, 邓永波¹, 宣 明¹, 周 松^{1,2}, 武俊峰¹, 刘永顺^{1,2}, 吴一辉^{1*}

(1. 中国科学院 长春光学精密机械与物理研究所, 吉林 长春 130033;

2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 为了克服离心式微流控芯片上血清提取对虹吸管亲水性的依赖, 保证离心式微流控芯片功能的稳定性和可靠性, 在芯片上设计了连接于血液分离腔的压缩空气腔, 实现了高转速下血液的分离。基于压缩空气的辅助作用, 并通过转速降低导致压缩空气腔内所储存气体压强的释放对血清的泵送作用, 实现了离心式微流控芯片上血清的定量提取。基于等温气体的热力学平衡理论, 分析了压缩空气腔压缩体积和虹吸管内液面位置与电机转速之间的关系, 给出了基于压缩空气辅助作用的离心式血清提取结构的设计规律。以聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)为基材, 采用 CO₂ 激光加工工艺, 制作了离心式血清提取芯片, 并测试了不同转速下被压缩气体的体积和血清液面在虹吸管中的位置。实验结果表明: 转速为 4000 r/min 时, 空气的被压缩量为 8.7 μL , 虹吸管能有效抑制全血溢出以防止全血进入血清提取腔; 当转速降为 1000 r/min 时, 压缩气体所储存压强得到释放, 克服了离心力, 并驱动血清流过虹吸管最高点, 进而实现血清的定量提取。

关键词: 压缩空气泵; 离心式微流控芯片; 血清提取; 虹吸管; 离心力

中图分类号: Q-33; TQ022.1 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20142210.2733

Pneumatic-pumping metering in CD-like microfluidic chip for whole blood analysis

FAN Jian-hua^{1,2}, DENG Yong-bo¹, XUAN Ming¹, ZHOU Song^{1,2},

WU Jun-feng¹, LIU Yong-shun^{1,2}, WU Yi-hui^{1*}

(1. Changchun Institute of Optics, Fine Mechanics and Physics,

Chinese Academy of Sciences, Changchun 130033, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

* Corresponding author, E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn

Abstract: To overcome the dependence of the plasma extraction on siphon hydrophilicity in a centrifugal microfluidic chip and to ensure long-term stability and reliability of the microfluidic chip, a compressed air reservoir connected to the blood separated reservoir was proposed to separate the blood in blood separated reservoir at high rotating speeds. Through lowering the spinning speed, the plasma in the separated reservoir was pumped toward the CD-like chip center to release the stored air pressure produced by the rotation at high spinning speeds. Based on the thermodynamics of the isothermal gas, the pneumatic pumping method was modeled, and the model was confirmed by analyzing pumping positions and air compression versus spinning

收稿日期: 2013-12-07; 修订日期: 2014-01-20.

基金项目: 国家 863 高技术研究发展计划资助项目(No. 2012AA040503); 国家自然科学基金资助项目(No. 5120538)

speeds. By using the layered Polymethyl Methacrylate(PMMA) as materials, the centrifugal microfluidic chips for plasma extraction were fabricated with a CO₂ laser process technique and the volume of compressed air and the blood position at siphon were tested at different rotational speeds. Experimental results demonstrate that the achieved volume of compression is 8.7 μ L and the siphon valve effectively inhibits whole blood to overflow the crest of siphon at 4 000 r/min speed. With lowering the spin speed to 1 000 r/min, the release of compressed air overcomes the centrifugal force and drives the plasma to flow past the crest of siphon. Then the plasma extraction is realized in quantitation.

Key words: compressed air pump; CD-like microfluidic chip; plasma extraction; siphon valve; centrifugal force

1 引言

在许多生物测定实验中,血清的提取是最初的、也是至关重要的一步^[1]。由于血液包含了人体各器官的很多信息,血液检测在临床诊断中被广泛使用。在检测之前首先需要进行血清的提取,以减少红细胞和血色素的干扰。传统的血清提取不仅耗时长,而且需要专人进行一系列的独立操作步骤,过程繁琐。由于微流控芯片具有消耗试剂少、响应速度快、精度高、成本低等优点,近年来获得了快速的发展。除传统的血清提取方法外,基于微流体的尺度效应和动力学性能的方法也得到了广泛的研究和发展,如平板提取^[2]、弯曲通道提取^[3]、T 型通道提取^[4]等。但这些提取方法往往需要外加蠕动泵或注射泵驱动液体,不利于芯片集成度的提高。

目前,在微流控芯片内全血的分离与血清的提取常采用离心力与毛细力的结合,毛细常被作为一种有效的驱动方式,通过合理设计芯片结构,可使芯片上液体向圆心回流,实现分离后的血清提取。Steiger^[5]等以环烯烃共聚物(COC)为材料制作微流控芯片,利用亲水表面使其发生毛细,提取血清,并实现后续的检测;Amasia^[1]等采用聚碳酸酯(PC)材料,经过 O₂-Plasma 处理使其芯片表面足够亲水,通过自发的毛细流动使其发生虹吸,进而实现血清的提取。

毛细的发生需要微通道表面具有较高的自由能^[6]。为了获得较高的自由能,常通过微通道表面的化学或物理表面修饰^[7],降低接触角,达到足够的表面亲水性^[8,9]。然而,基于化学或物理表面修饰的亲水处理存在保持时间短,易退化,稳定性差等问题,不能保证芯片内毛细回流的稳定性

和可靠性,进而影响芯片的长期稳定性和可靠性。为克服毛细回流对表面亲水性的依赖和材料表面处理的不稳定性导致的功能可靠性问题,Madou 提出了压缩空气泵送机制^[6]。

为了在离心式微流控芯片上产生稳定、可靠的回流机制来实现血清的定量提取,本文设计了连接于血液分离腔的压缩空气腔,基于压缩空气的辅助作用克服离心力方向单一和毛细回流对材料表面性质的依赖性问题;通过压缩空气腔内压缩空气所储存压强的释放驱动虹吸管内血清的回流,并通过分离腔的合理设计抑制了分离后的血细胞弹性势能释放导致的血细胞与血清间的二次混合,保证了血清的纯度。所提出的血液分离和血清提取方法避免了外部的驱动部件和材料的表面处理,具有可靠性高、易集成、可保证芯片功能长期稳定性等优点。

2 实验

2.1 芯片制作

芯片制作所需的主要材料和设备包括:PMMA 硬质塑料板材,压敏胶(PSA),CO₂ 激光雕刻机。采用 CO₂ 激光雕刻机切割聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)板材和压敏胶,得到图 1 中的圆片,将所加工的 PMMA 圆片内相应的结构对准,黏合并施加压力,使片内微流控结构周围没有泄漏。键合过程如图 1 所示,整个离心式微流控芯片由 5 层组成,3 层 PMMA 和 2 层压敏胶,芯片上层 PMMA 包括通气孔和进样孔,中层 PMMA 为结构层,包括所有的微通道结构,底层 PMMA 为封装层,每两层 PMMA 之间用压敏胶实现不可逆键合。芯片上层和封装层的厚度为 0.8 mm。芯片结构层的厚度为 1 mm,压敏胶厚度为 0.25

mm, 芯片直径为 110 mm, 芯片的具体结构及尺寸参数如图 2 所示。

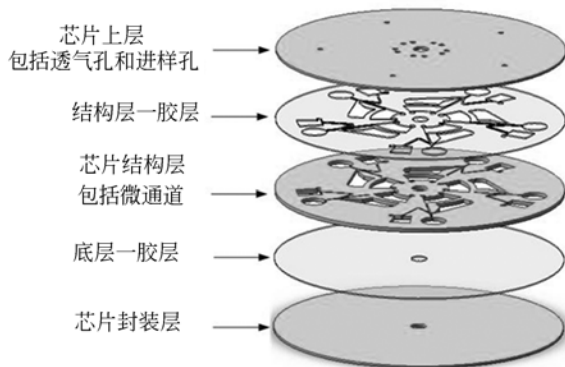


图 1 PMMA 离心式微流控芯片键合示意图

Fig. 1 Schematic of PMMA centrifugal microfluidic chip bonding

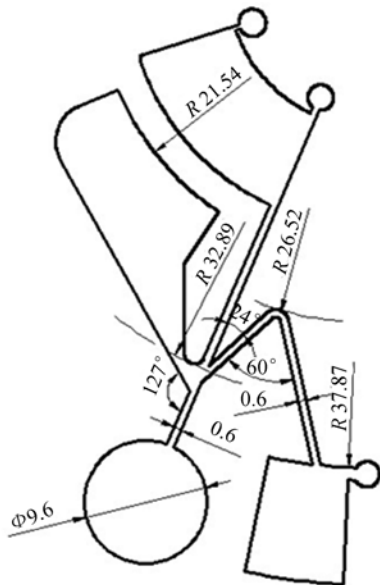


图 2 微流控芯片结构尺寸

Fig. 2 Size of microfluidic chip structure

2.2 血清提取

所加工离心式微流控芯片内的功能单元提取由进样孔、通气孔、进样腔、导管、分离腔、压缩空气腔、虹吸管和血清提取腔组成,如图 3 所示。

实验中用高速相机记录全血分离过程。首先将微流控芯片固定于离心机上,然后通过进样孔将全血注满进样腔,启动离心机,对芯片内的血液施加离心驱动力;在离心力作用下,全血进入分离腔,当分离腔的全血上升到图 4(a)时,压缩空气腔的出口被血液封堵,此时压缩空气腔中的气体开始被压缩;在高速旋转的同时,分离腔中的血清从全血中被分离出来(图 4b);待分离彻底后,降低转速,压缩腔中的压缩气体所储存的压强得到释放,释放的压强驱动血清分别沿导管和虹吸管向圆心方向持续流动,当血清流至虹吸管最高点时,导管内的血清回流停止,同时虹吸管内的血清开始越过最高点流入血清提取腔(图 4c),直至压缩空气腔内血清的液面下降到压缩空气所储存的压强释放完毕,从而实现血清的提取(图 4d)。

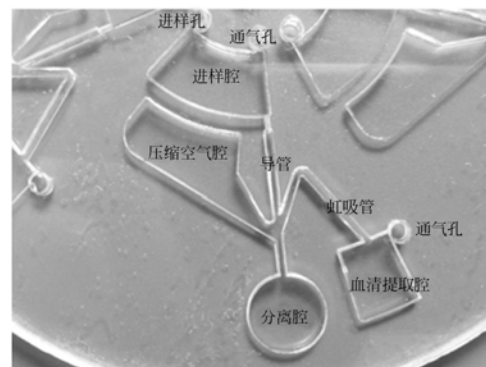
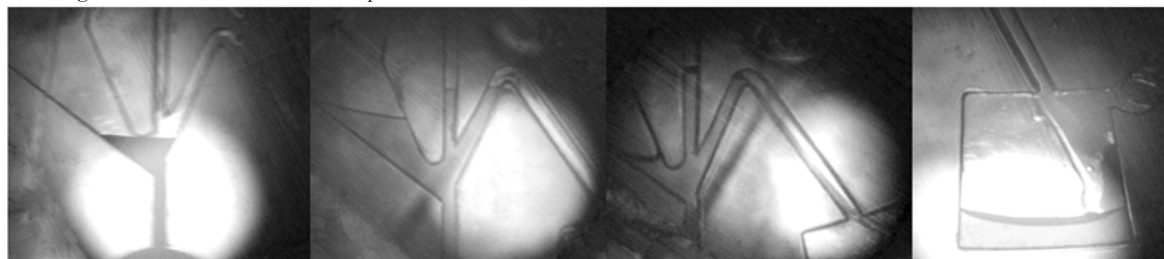


图 3 离心式微流控芯片单元结构

Fig. 3 Unit structure of centrifugal microfluidic chip



(a) 气体压缩 (b) 血清分离 (c) 血清越过虹吸管最高点 (d) 血清提取
(a) Compression of air (b) Plasma separation under high rotational speeds (c) Simultaneous priming of siphon takes place when plasma surface rises above the siphon crest (d) Plasma extraction

图 4 血清提取过程

Fig. 4 Process of plasma extraction

2.3 理论分析

压缩空气腔内压缩空气所储存的压强是驱动虹吸管和导管内血清回流的关键。因此,为了满足实验要求,设计了图 5 所示的压缩腔结构用来封堵气体。计算模型如图 5 所示,根据等温气体的热力学平衡理论,可得:

$$p_0 V_0 = p_1 V_1, \quad (1)$$

其中: p_0 、 V_0 分别为压缩空气腔未被压缩时的压强和体积, p_1 、 V_1 为离心机高速旋转时,空气压缩腔内气体的压强和体积。在高速旋转时,虹吸管中血清和导管中的血清应处于同一离心半径上。因此,压强 p_1 为:

$$p_1 = p_0 + \frac{1}{2} \rho \omega^2 (R_1 + R_2) (R_1 - R_2). \quad (2)$$

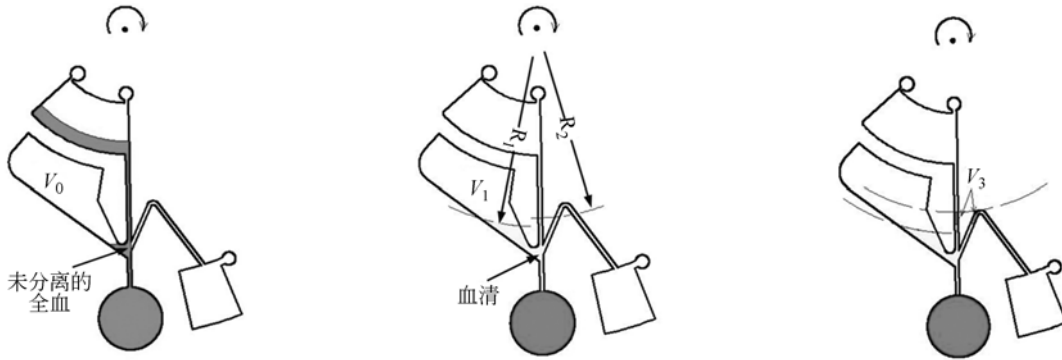
由式(1)、(2)可得:

$$\frac{p_0 \Delta V}{V_0 - \Delta V} = \frac{1}{2} \rho \omega^2 (R_1 + R_2) (R_1 - R_2), \quad (3)$$

其中: ω 为高速旋转时的角速度, $\Delta V = V_0 - V_1$ 为气体的压缩体积, R_1 、 R_2 分别为压缩后压缩空气腔和分离腔血清液面对应的离心半径。由式(3)可知,尺寸参数会对压缩体积产生影响,改变压缩体积有两种方式:

(1)在转速不变的情况下,当把整体结构向着边缘方向移动,使离心半径增大,离心力增大,压缩空气腔中的压缩体积也随之增大。

(2)改变压缩空气腔体积使之增大时,气体容易被压缩,在转速一定的情况下, $(R_1 + R_2) (R_1 - R_2)$ 变小, ΔV 增大。



(a) 压缩空气腔未被压缩时的体积 V_0
(a) Volume (V_0) of compressed air reservoir before compressing

(b) 在一定的转速下压缩空气腔的体积 V_1 , R_1 、 R_2 为压缩空气腔和分离腔血清液面的高度
(b) Volume (V_1) of compressed air reservoir under a certain rotational speed (R_1 and R_2 represent the plasma positions at compressed air reservoir and separate reservoir respectively)

(c) 压缩体积 ΔV 应大于 V_3 , 以便发生虹吸
(c) Simultaneous priming of the siphon takes place when compressed volume satisfies $\Delta V > V_3$

图 5 微流控芯片计算模型

Fig. 5 Calculation model of microfluidic chip

当转速降低时,离心力小于压缩空气所储存的压力,压缩空气所储存的压强开始释放,所释放的压强同时开始驱动虹吸管和导管内的血清回流,至虹吸管内血清到达虹吸管顶点后,压缩空气持续压强持续释放,进而驱动血清越过虹吸管顶点流入血清提取腔。在气体释放过程中,压缩气体的体积变化量等于导管内回流血清的体积、虹

吸管内血清回流体积与血清提取腔内被提取血清体积之和。因此,为保证血清提取功能的有效性,应满足:

$$p_1 > p_0 + \frac{1}{2} \rho \omega_1^2 (R_1 + R_2) (R_1 - R_2), \quad (4)$$

$$\Delta V > V_3, \quad (5)$$

其中: ω_1 为离心机低转速旋转时的角速度, V_3 为

图 5(c)中所示导管内回流血清的体积和虹吸管
内血清回流体积之和。

在血清的提取过程,血细胞在通道内所受的
力为离心力和斯托克斯黏拽力,大小分别为:^[10]

$$F_c = V_p (\rho_b - \rho_l) \omega^2 r, \quad (6)$$

$$F_s = 6\pi\eta R_p u_d, \quad (7)$$

其中: ω 为离心力场角速度,体积为 V_p 血细胞的
径向距离为 r , ρ_b 为血细胞的密度, ρ_l 为血清的密
度, η 为黏性系数, R_p 为血细胞半径, u_d 为血胞速
度。由以上两式联立得出血细胞的沉淀速率:

$$u_d = \frac{\rho_b V_p}{6\pi\eta R_p} \left(1 - \frac{\rho_l}{\rho_b}\right) \omega^2 r. \quad (8)$$

可以看出,分离时间与角速度的平方成反比。
对于定量的全血来说,沉淀速率越大,分离所需时间
越短,适当地提高转速可以减少分离血清的时间。

根据以上分析,角速度是影响压缩体积 ΔV 、
导管和虹吸管内血清液面离心半径的关键因素,
且角速度越大,压缩体积越大,转速降低时提取血
清的体积越大。因此,需要根据对血清提取体积
的需求,确定离心机转速。

所使用的血细胞密度为 $1.090 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$,
血清的密度为 $1.026 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$,血细胞取平均
直径为 $7.2 \text{ }\mu\text{m}$ 。 p_0 为标准大气压 $101\,300 \text{ N/}$
 m^2 ,密度 ρ 近似取 $1\,000 \text{ kg/m}^3$, V_0 为 118.47
 mm^3 。根据, $\omega = 2\pi n/60$,可得出相应转速下的角
速度值,由式(3)可计算出不同转速下的被压缩
量,计算值如表 1 所示。

表 1 不同转速下计算的压缩体积

Tab. 1 Compressed volumes at different rotation speeds

转速/ $r \cdot \text{min}^{-1}$	被压缩量/ μL
3 000	7.65
3 500	8.26
4 000	8.64
4 500	8.95
5 000	9.21

3 结果与讨论

实验结果和理论分析表明:压缩体积是血清
提取的关键。因此,测试了不同转速下压缩体积
的变化,如图 6 所示。图 6 表明在压缩空气腔体
积一定的前提下,转速越大,气体越容易被压缩,

能驱动血清回流的量也就越多。

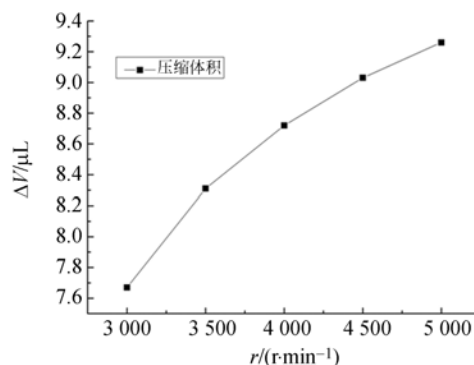


图 6 转速对压缩体积的影响

Fig. 6 Effect of rotational speed on compressed volume

在已有的离心式微流控芯片研究中^[1],采用
基于毛细的虹吸管提取血液分离所得的血清,当
芯片处于高速旋转时,液体的液面要低于虹吸管
最高点,虹吸管起到阀机制的作用;当转速降低或
停止转动时,在微通道表面足够亲水的情况下,毛
细力克服离心力,驱动液体流过虹吸管最高点,直
至虹吸发生。上述过程中,虹吸管内的毛细需要
对其表面进行化学或物理处理,这样就会增大芯
片制作的工艺复杂性^[11],而且表面处理的不稳定
性会导致芯片的功能可靠性和长期稳定性差^[12]。
而基于压缩空气的泵送作用,通过在血液分离腔
上连接压缩空气腔,实现了高转速下血液的分离
和对压缩空气腔内气体的封堵与压缩,并通过转
速降低导致的压缩空气腔内所储存气体压强的释
放对血清的泵送作用,实现了离心式微流控芯片
上血清的定量提取,避免了芯片的表面处理,保证
了芯片功能的长期稳定性和可靠性。

在分离全血时,由于离心力的作用,分离腔和
虹吸管中的血液液面处于同一离心半径。在血液
未分离前,必须保证血液不能达到虹吸管的顶点;
待血液彻底分离后,降低转速,被压缩的气体驱动
血清流过虹吸管顶点,进而实现血清的提取。该
操作过程中,虹吸管顶点的离心半径是决定虹吸
管能否有效地起到阀机制作用的关键,对于这一
问题,在不同的转速下测试了虹吸管内液面的离
心半径,如图 7 所示。图 7 表明,转速越大,虹吸
管内液面的离心半径越大,虹吸管的阀作用越可
靠。其原因在于转速越大,压缩空气腔内的压缩
体积越大。

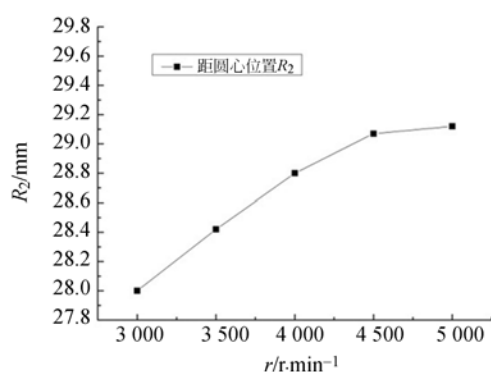


图 7 转速对全血在虹吸管中位置的影响

Fig. 7 Effect of rotational speed on blood position at siphon

全血分离过程中,为了保证血清的纯度,应防止血细胞和分离的血清发生二次混合,原因在于离心机的降速会导致血细胞通过两种途径回流到血清中:一是由于血细胞和血清存在浓度差,血细胞通过界面扩散进入血清;二是高速旋转时,在离心力下血细胞被压缩,产生变形,具有弹性势能^[13],转速降低时弹性势能得到释放,血细胞与血清的分离界面受到扰动,而使血细胞与血清再次混合。针对这一问题,血液分离结构采用圆形腔上连接微通道,同时于微通道一侧连接压缩空气腔,以通过微通道内血细胞与血清液面小幅度晃动,减弱再次混合,从而保证血清的纯度。

参考文献:

- [1] AMASIA M, MADOU M. Large-volume centrifugal microfluidic device for blood plasma separation [J]. *Bioanalysis*, 2010, 2(10): 1701-1710.
- [2] TIMOTHY A. CROWLEY, VINCENT P. Isolation of plasma from whole blood using planar microfilters for lab-on-a-chip applications [J]. *Lab on a Chip*, 2005, 5: 922-929.
- [3] BLATTERT C, JURISCHKA R, TAHHAN I, et al.. Microfluidic Blood/Plasma Separation Unit Based on Microchannel Bend Structures [C]. *Proceedings of the 3th conference on microtechnologies in medicine and biology*, Hawaii, IEEE, 2005: 38-41.
- [4] SUNG Y, AKIF U, JEFFREY D, et al.. A microfluidic device for continuous, real time blood plasma separation [J]. *Lab on a Chip*, 2006, 6:

4 结 论

本文基于压缩空气所储存的压强释放时产生泵送作用进行血清的提取,有效地克服了聚合物离心式微流控芯片的表面处理及额外的驱动部件,进而保证了芯片结构的集成度和功能的可靠性与长期稳定性。理论分析表明:高速旋转时转速越高,空气压缩腔内气体的压缩体积越大,所储存压强越大,进而低速释放时,对虹吸管内液体的驱动作用越大;压缩空气腔内压强释放时,转速越低,压强释放越充分。从实验结果得出:转速在 $3\,000\sim 5\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 内,压缩体积随转速增加而变大,其中在 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下,压缩量为 $8.7\text{ }\mu\text{L}$,血液在虹吸管中液面的高度距圆心为 28.8 mm ,虹吸管有效起到阀机制的作用,抑制了全血通过虹吸管进入收集腔。

通过 CO_2 激光加工工艺,以 PMMA 材质的离心式微流控芯片上基于压缩空气辅助作用的全血分离和血清提取实验和实验结果的理论分析,验证了虹吸管阀机制及压缩空气辅助作用下的液体提取机制。所论述的压缩空气辅助作用的血清提取方法,可扩展应用于离心式微流控芯片上液体类生物样本的提取与定量操作,从而为促进离心式微流控芯片进一步向制作工艺简便、长期稳定性好且成本低的方向发展提供了有效途径。

871-880.

- [5] STEIGER J, BRENNER M, GRUMANN M, et al.. Integrated siphon-based metering and sedimentation of whole blood on a hydrophilic lab-on-a-disk [J]. *Biomedical Microdevices*, 2007, 9: 675-679.
- [6] ROBER G, LIVIU C, MARC M. Pneumatic pumping in centrifugal microfluidic platforms [J]. *Microfluid Nanofluid*, 2010, 9: 541-549.
- [7] SIEGRIST J, GORKIN R, BASTIEN M, et al.. Validation of a centrifugal microfluidic sample lysis and homogenization platform for nucleic acid extraction with clinical samples [J]. *Lab on a Chip*, 2010, 10, 363-371.
- [8] 邓永波, 张平, 杜新, 等. 亲/疏水性不同壁面组成微通道的深宽比与通道内液体的自发毛细流动 [J]. *光学精密工程* 2010, 18(7): 1562-1567.
- DENG Y B, ZHANG P, DU X, et al.. Aspect ratio

- for microchannels with nonuniform surface properties and spontaneous capillary[J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(7):1562-1567. (in Chinese)
- [9] 杜新,张平,刘永顺,等. 基于 PDMS 和玻璃材料的毛细管被动阀临界压力分析[J]. 光学精密工程, 2011, 19(8):1852-1858.
- DU X, ZHANG P, LIU Y S, *et al.*. Burst pressure of capillary burst valve based on glass and PDMS [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2011, 19(8):1852-1858. (in Chinese)
- [10] STEFAN H, THILO B, ROLAND Z, *et al.*. Centrifugal extraction of plasma from whole blood on a rotating disk [J]. *Lab on a Chip*, 2006, 6: 776-781.
- [11] ROBER B, NUNO R, JOAO G F, *et al.*. Plasma extraction by centrifugo-pneumatically induced gating of flow[J]. *Journal of Micromechanics and Miroengineering*, 2013, 23:035035.
- [12] KITSARA M, DUCREE J. Integration of functional materials and surface modification for polymeric microfluidic systems [J]. *Journal of Micromechanics and Miroengineering*, 2013, 23:033001.
- [13] LI T J, ZHANG L M, KAR M L, *et al.*. Out-of-plane microvalves for whole blood separation on lab-on-a-CD [J]. *Journal of Micromechanics and Miroengineering*, 2010, 20:105024.

作者简介:



范建华(1988—),男,吉林九台人,博士研究生,2011 年于长春理工大学获得学士学位,主要研究方向为微流控芯片的设计与制造。E-mail: jianhua_fan@163.com

导师简介:



吴一辉(1965—)女,吉林长春人,研究员,博士生导师,1991,1996 年于中科院长春光机所分别获得硕士、博士学位,主要从事集成微光机电系统方面的研究。E-mail: yihuiwu@ciomp.ac.cn

(版权所有 未经许可 不得转载)