



逢甲大學學生報告 ePaper

微流體技術 - 碟片上的血液分離

作者：吳家慧

系級：化工三甲

學號：D9365019

開課老師：吳石乙 教授

課程名稱：化學工業程序

開課系所：化工系

開課學年：九十五學年度 第一學期



摘要

現代人因飲食習慣改變，運動量減少，心血管方面疾病為國內死亡率前三名，且居高不下，而由血液的凝血時間可檢測是否有心血管方面的疾病，以微流體技術使原本複雜耗時的醫院大型檢測儀器縮小成操作簡易攜帶方便的檢測器，病患可隨時掌控身體狀況，也使醫師用藥更準確，且即時檢測也可降低死亡率。

藉由血液的分離技術分離出心血管疾病檢測時所需要的血漿，而血液的分離技術有傳統及微流體技術兩種方法，驅動流體的方式又有各種不同方式，本文舉其中幾項最常見地驅動流體的方式。

一般血液分離的流程，開始時先注入血液，經由微結構設計分離出檢測所需的血漿。接著為微流道製作方法，其中最重要的就是流道設計，流道設計可利用各種技術，如：虹吸現象，將全血在分離槽中分離出所需的血漿，再將其傳送至檢測處檢驗，流道結構設計好後經由微影技術將微小流道蝕刻在碟片上，每步都是環環相扣且相當重要。

關鍵字：血液分離(blood separation)、微流道設計(design of microchennel)、微流體碟片(microfluidic discs)。

目 錄

頁次

摘要.....	I
一、前言.....	1
二、目的及目標.....	2
三、背景.....	4
3.1 傳統試管分離	4
3.2 利用離心力分離	4
3.3 利用過濾方式分離	5
四、微流體驅動技術.....	7
五、血液分離操作流程	8
六、微流道製作方法.....	9
七、血液分離設計.....	11
7.1 Gamara 發明之設計 (2003).....	11
7.2 IMTEK 設計之微流體結構 (17)	20
八、結語及心得.....	23
九、參考文獻.....	26

圖目錄

頁次

圖一	以離心力驅動血液分離設計〔9〕	5
圖二	過濾型血液分離設計〔10〕	6
圖三	血液分離流程	8
圖四	Lithography 製程示意圖〔15〕	10
圖五	微流體碟片〔16〕	11
圖六	注入全血〔16〕	12
圖七	啟動馬達〔16〕	13
圖八	定量〔16〕	14
圖九	改變轉速〔16〕	15
圖十	蠟閥〔16〕	16
圖十一	血液分離〔16〕	17
圖十二	血液輸送〔16〕	18
圖十三	傳送血漿〔16〕	19
圖十四	微流體結構〔17〕	20
圖十五	血液分離設計放大圖〔17〕	21

一、前言

實驗室晶片是利用微機電技術，把實驗室微小化在一個晶片上，實驗室晶片是近代生物科技的革命性發展。在 1989 年由 Manz 教授提出的微全程分析系統（micro total analysis system, μ -TAS），將實驗室複雜的分析流程整合在數公分大小的晶片上，在這微小晶片上面即可完成傳統實驗室各種儀器所做的分析流程，所以也稱為晶片上的實驗室（lab-on-a-chip），簡稱實驗室晶片，又稱為微流體晶片〔1〕。

μ -TAS 就像是小型的化學程序，主要的功能為控制、感測、反應及分析微量的流體。其中，使用的元件包括微閥、微幫浦、微流量計、微噴嘴、微流道、微混合器等，且可將以上元件整合為不同功能之微型流體系統晶片，因其微小化的優勢，使世界各國紛紛投入巨額資金及眾多跨領域人才去研發〔2〕。

二、目的及目標

隨著年齡的增加，慢性疾病(糖尿病或高血脂症等)、飲食習慣(油脂及纖維攝取種類數量)、生活習慣(菸酒、缺乏運動等)等因素，造成重要器官、組織的供血不足和血液流動性降低或形成血流障礙，這些原因容易導致許多疾病，如中風、心肌梗塞、靜脈栓塞、高血壓等[3]。其中心血管疾病更是國內十大死因之一[4]。

為了能有效預防血栓的發生，通常病患會服用抗凝血藥物[5]。就醫學報導指出[6]，大約 90%的冠狀動脈病患必須長期服用阿斯匹靈來避免血管栓塞。但若服用高劑量的阿斯匹靈，反而容易引發腦內出血，造成出血性中風，導致生命危險。因此，服用抗凝血藥物的病患，必須隨時注意血壓的控制、有無出血的情形以及定期檢測凝血因子。

服用抗凝血藥物的患者，需嚴密監測凝血時間，以便隨時作抗凝血藥物劑量的調整[6]，如同糖尿病患者需定期檢驗血糖以調整其藥劑量一樣，隨時掌控患者的凝血時間可有效降低凝血方面病患的死亡率。

然而，現今的凝血檢測大多仰賴醫院檢驗處理的大型檢測儀器，而無法達到即時檢測和普及化的目的，如偏遠山區通常就醫較不方便。所以如果能利用微流體晶片之優點，以低成本的凝血檢測系統，

即能在家自我檢測來克服上述缺點。

實驗室晶片就是利用微機電系統技術將取樣、樣品前處理、樣品分離、偵測等複雜功能整合於一微小晶片上，其優點能降低人工操作的實驗誤差、減少反應時間、快速得到檢測結果以及減少樣品的消耗〔7〕，而微流體碟片就是將目前試驗室所作的測試、篩選集中於一光碟片，其工作原理是利用離心力作為驅動微流體的動力源，再配合微結構的設計，加以控制流體的輸送與處理，微流體碟片可減少實驗室晶片中所需要的複雜組件，如微幫浦、微噴嘴等昂貴組件，更加降低成本〔8〕。



三、背景

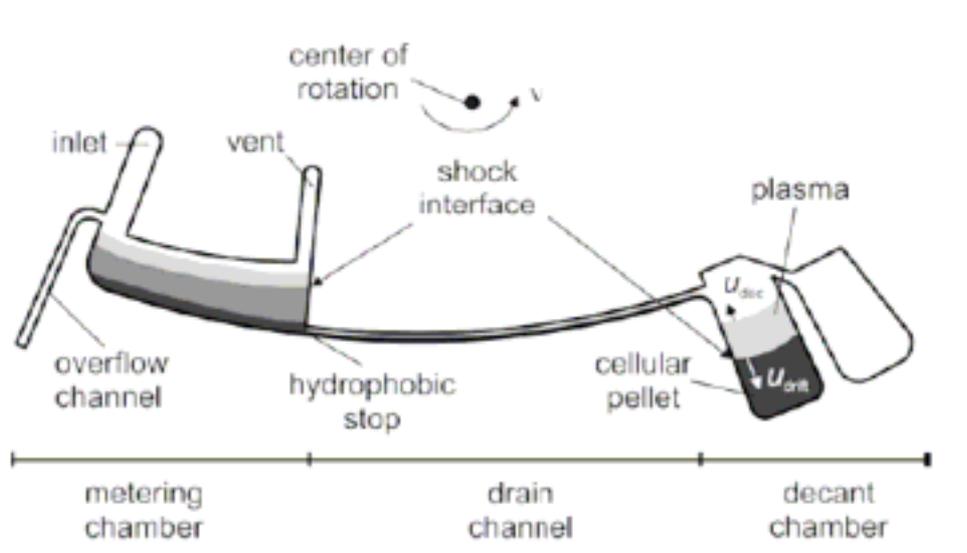
3.1 傳統試管分離

一般傳統的血液分離方法是把全血放入試管中，再用離心機把全血中比重不同的組成分離，而這其中的全血 (whole blood) 為加入抗凝劑 (anticoagulant) 之未凝固血液。全血分離後去除血球便可得血漿 (plasma) ，若將全血離心 3000 rpm ， 10 分鐘後，取上層液體部分即為缺血小板血漿 (platelet poor plasma, PPP) ；而把全血以 1500rpm 離心 5 分鐘則得血小板血漿 (platelet rich plasma, PRP) 。凝固學檢查中便是需要利用血漿 [3] ，血漿和凝血試劑反應的凝血時間長短來判斷病患是否有凝血方面的疾病。但此種方法的缺點為藥品及樣本的用量大，且檢測時間也需較長。

3.2 利用離心力分離

圖一為 Jens Ducrée 等人在 2004 年發明的設計，此設計利用離心力驅動微流體來使血液分離出血漿，全血從注入孔 (inlet) 注入後，再驅動馬達，此時多餘的液體會從 overflow channel 流出，達到定量的效果，因血漿須與試劑反應，所以需要達到定量；事先在 drain channel 上做疏水改質，使血液停留在定量槽內分離出血漿，提高轉速後，血液流入 decant chamber，因為血液中的成分比重不同，所以比重小的

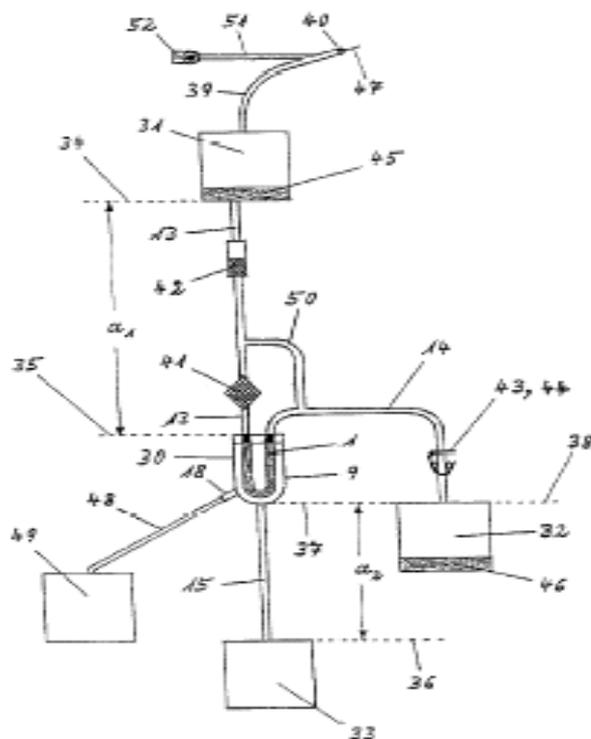
血漿在上層，此時流過來的血液會把分離後的血漿往上推，使血漿流入主要的收集槽，完成血液分離〔9〕。此種設計利用微流道及離心力來分離血液，成本較低，所需樣本量少，測驗時間也較短。



圖一 以離心力驅動血液分離設計〔9〕

3.3 利用過濾方式分離

Gerd H.Heim 等人利用過濾方式分離血液(如圖二)，將血液由注入孔(圖中 52 處)注入至 45 號的儲存槽(chamber 45)中。再由白血球過濾器(圖中 41)，白血球過濾器功能為去除全血中的白血球，剩餘的血液將會流入下方的 U 型管，在 U 型管上有許多的微小孔洞，孔洞的孔徑較紅血球球徑小，所以紅血球不會掉到 chamber 33，然後會被後面進入 U 型管的紅血球推擠到 chamber 32，此處為紅血球收集處，而血漿便從小孔洞流至 chamber 33，即血漿收集處〔10〕。



圖二 過濾型血液分離設計 [10]

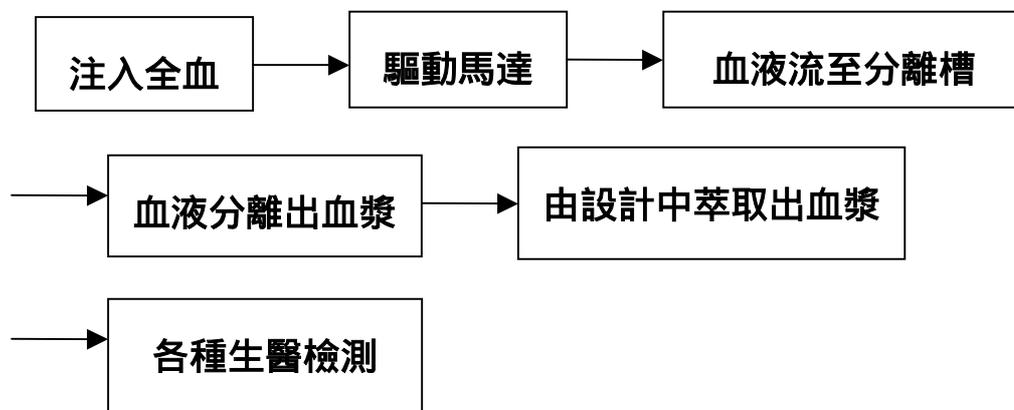
全血由上方注入孔注入後，流經白血球過濾器及過濾紅血球的 U 型管，得到最後剩下的血漿。

四、微流體驅動技術

微流體驅動技術發展至今，已經有許多方法可以完成微流體的控制。常見流體的驅動方法，包含：機械式 (mechanically)、電力式 (electrically)〔11〕、加熱方式 (thermally)〔12〕、表面張力方式 (surface tension)、靜電式 (electrostatic)〔13〕、離心式 (centrifugal pumping)〔14〕等方式。

而微流體碟片系統所使用的微流體驅動力為離心力，只需要一個簡單的馬達並搭配微流道的幾何形狀、擺設位置、尺寸以及儲存槽，即可對微流體達到良好的控制，優點為動力運作的花費低廉，且驅動方法也不受 pH 值或離子強度等物理化學上的特性所影響〔14〕。

五、血液分離操作流程



圖三 血液分離流程

開始時，將全血由注入孔注入流道，啟動馬達，因血液是由 55% 的血漿和 45% 的固體懸浮粒（血液細胞和血小板）所組成的。所以利用血液內的比重不同，離心後就能使全血分離血漿，離心可將血液成份分離所需的時間縮短，調整離心的速度及試管位置便可獲得不同比重的血液成份，接著作後續的各種生醫檢測。

六、微流道製作方法

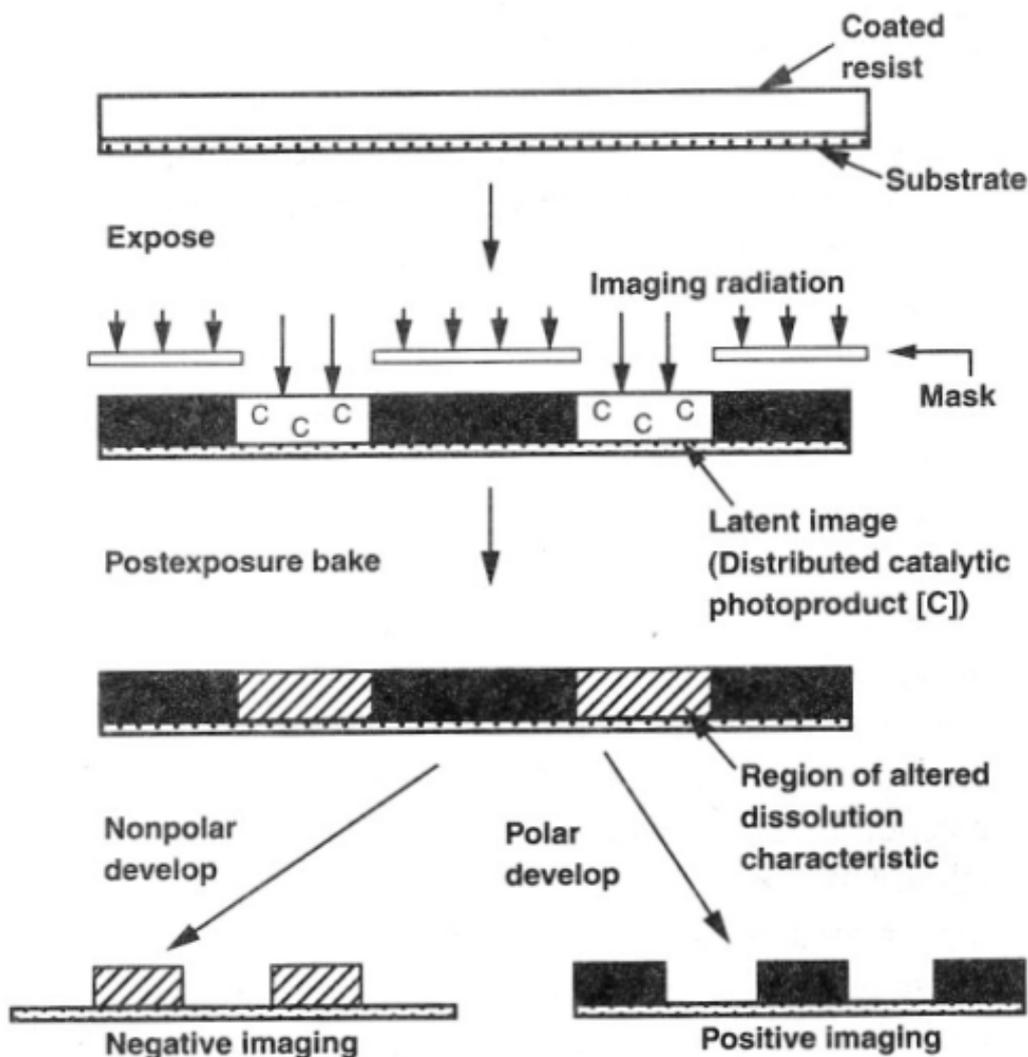
大部分在製作塑膠材質的微流體裝置時，使用的技術是半導體製程製技術、高分子加工技術或微機械加工技術，其中微流體技術中最為常見的為光微影術（lithography），作法為將事先設計好的微流道結構形狀，完整且精確地複製到碟片上。首先需將設計好的圖形製成光罩（photo mask），利用光學成像的原理，將圖形投影至碟片上。由於光源發出的光，只有經過光罩透明區域的部分可以繼續通過透鏡，而呈像在碟片表面。

碟片表面需事先經過清潔處理，接著再塗抹上類似底片功能的感光化學物質，稱為光阻劑（photo resist）。通過光罩及透鏡的光線會與光阻劑產生反應，通常稱此步驟為曝光。

曝光後需再經顯影（development）步驟，做法是以化學方式處理曝和未曝光的光阻劑，即可將光罩上的圖形完整地轉移到碟片上，然後接其他的製程。因此在光微影技術中，光罩、光阻劑、光阻塗佈顯影設備、對準曝光系統等，皆是在不同的製程中，可以視需要選擇使用不同的光阻劑，以移除或保留選定的圖形，類似雕刻中的陰刻或陽刻技巧。

此光微影技術廣泛應用在微流體的微流道結構上，將微流道的微結構設計雕刻在碟片上，可以將流道做到相當細小，優點是在同一片碟片上可以有許多設計，同時操作，即可大量減少反應時間。

下圖為微影製程之示意圖：

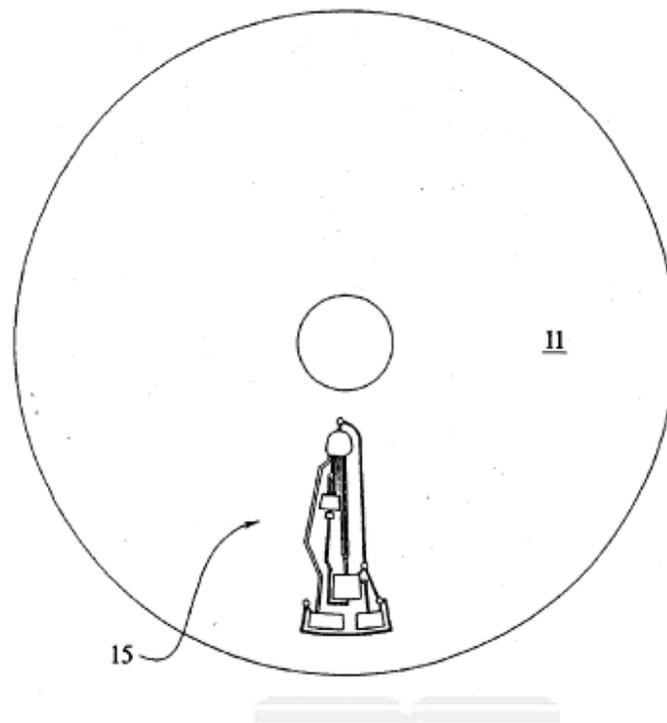


圖四 Lithography 製程示意圖 (15)

七、血液分離設計

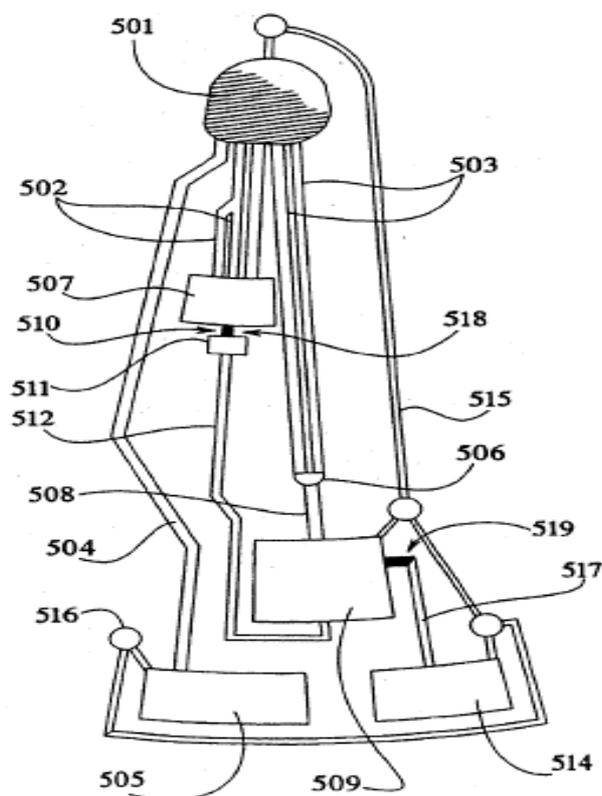
以下介紹兩種微流體碟片上利用不同的微流道結構，達到血液分離的設計。

7.1 Gamara 發明之設計 (2003)



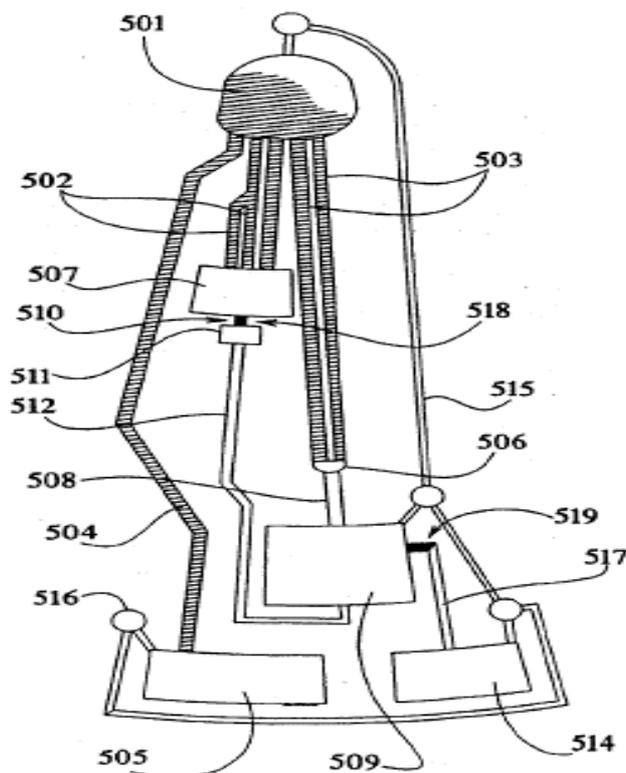
圖五 微流體碟片 (16)

圖五為一微流體碟片，中央為圓心，碟片上為一血液分離的微流體結構設計。



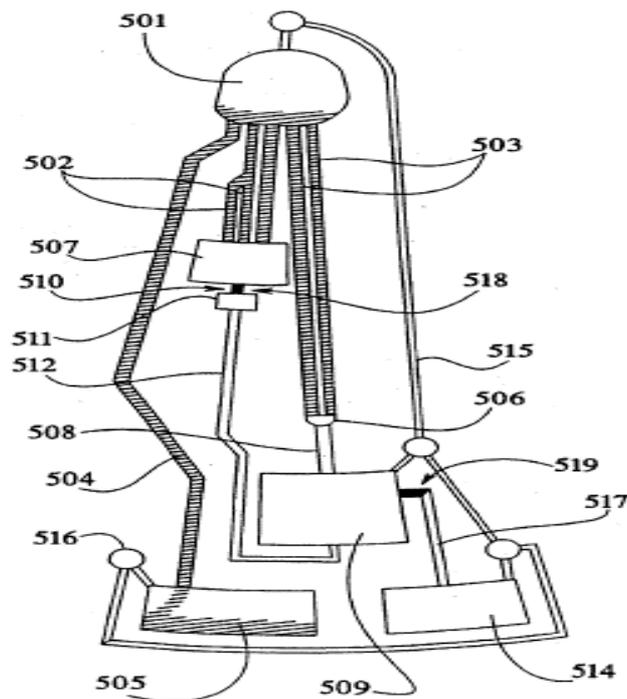
圖六 注入全血 (16)

圖六為由注入孔將全血注入至 501(注入槽)。



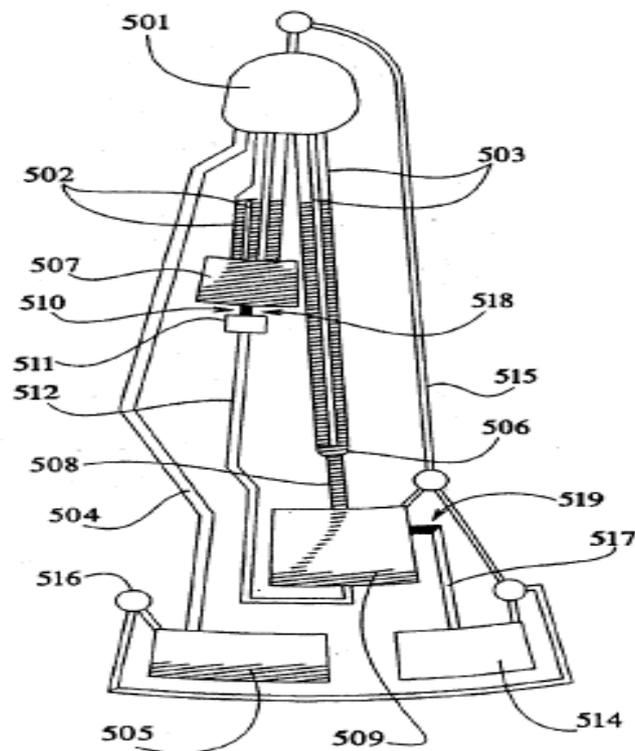
圖七 啟動馬達 (16)

圖七為開始啟動馬達，馬達旋轉產生離心力，使血液因離心力往外流。



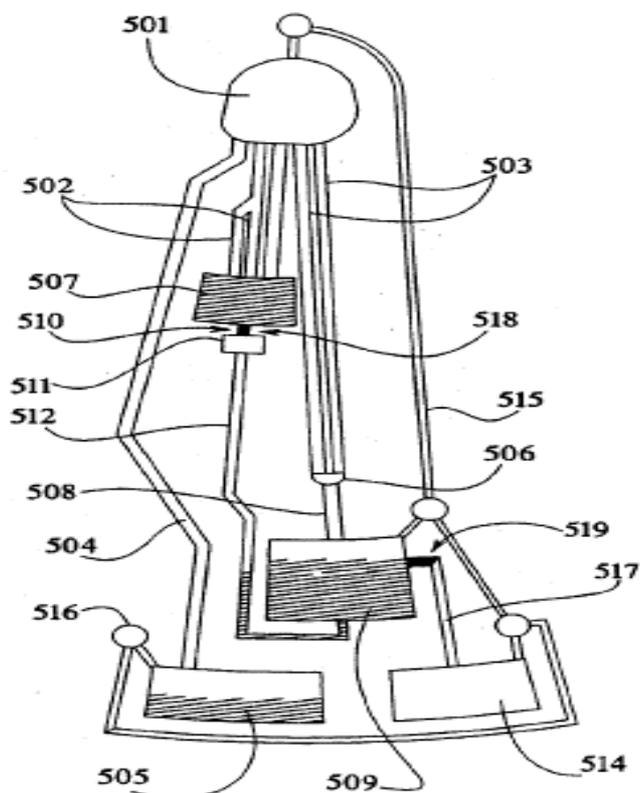
圖八 定量 (16)

如圖八，多餘的血液將流至編號 505 的儲存槽 (overflow chamber)，達到定量的效果；而編號 502 及 507 為事先作親水及疏水改質之流道。



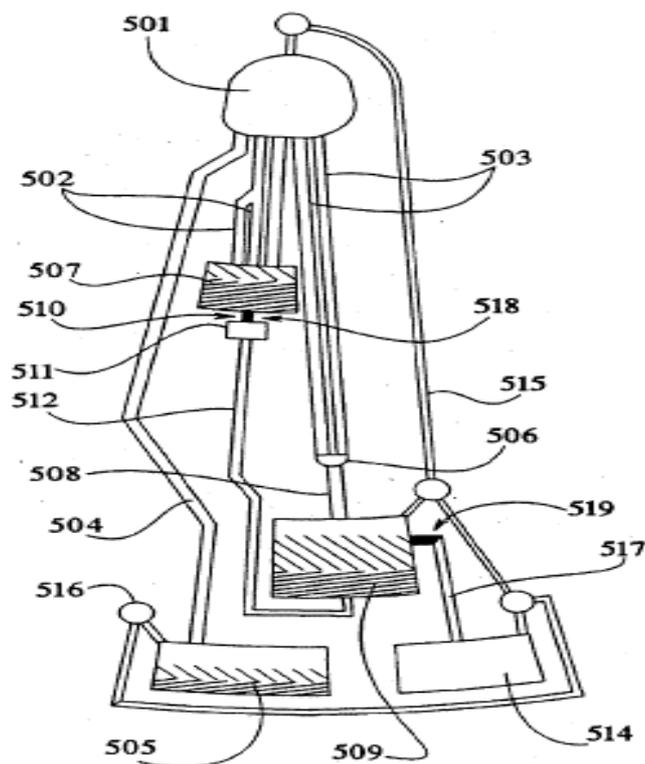
圖九 改變轉速 (16)

如圖九，達到定量後，此時提高轉速，使血液突破已改質的編號 502 和 507 流道，進入分離槽。



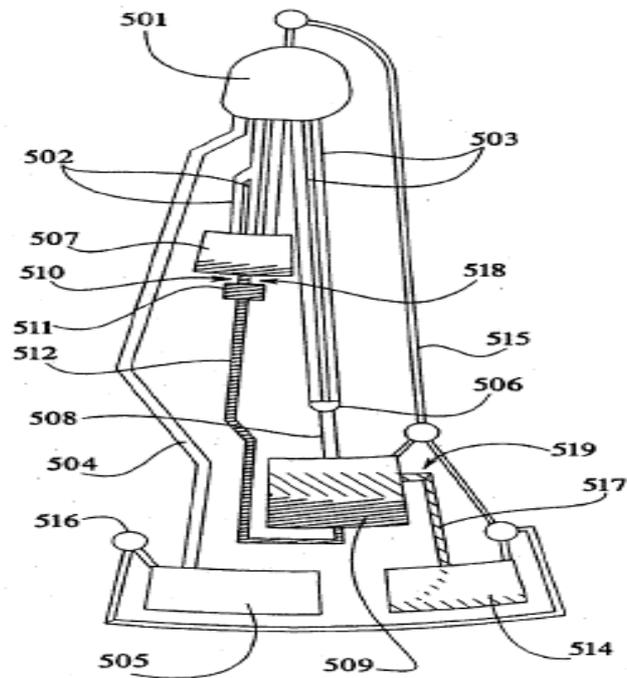
圖十 蠟閥 (16)

如圖十，在編號 510 及 519 處有設計好的蠟閥，蠟閥的功能為阻止流體流動，使血液停留在分離槽(編號 507 及 509)。



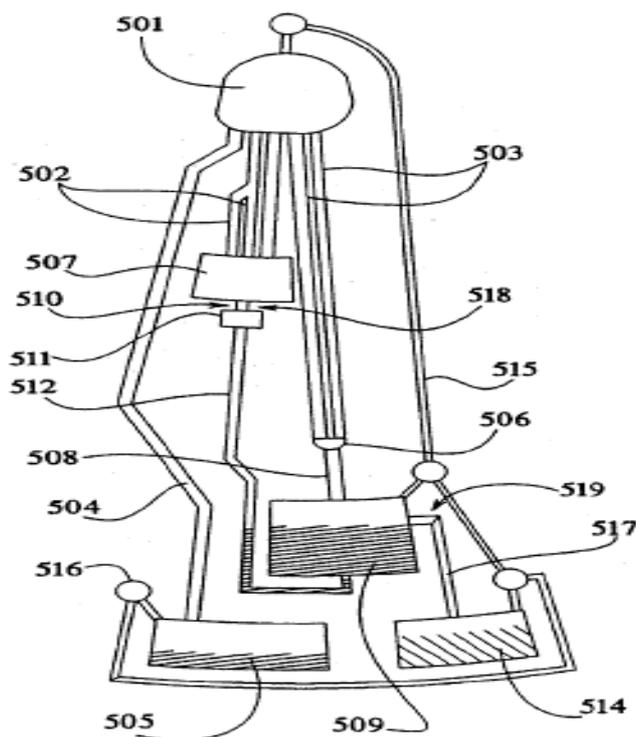
圖十一 血液分離 (16)

如圖十一，當全血流至分離槽後，再加快轉速，使血液在分離槽中快速分離出凝血檢測所需的血漿。



圖十二 血液輸送 (16)

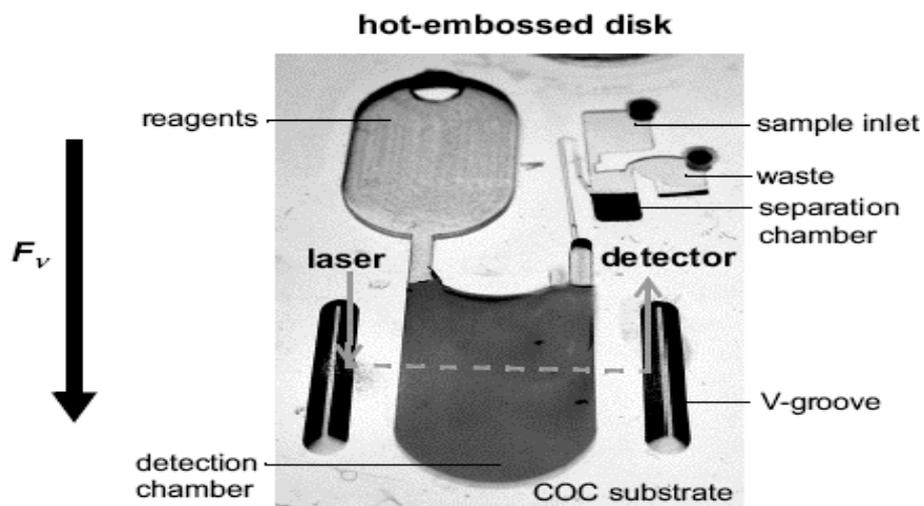
如圖十二，全血分離血漿後，此時再打入雷射光將編號 510 及 519 處的蠟閥加熱使其熔化，編號 507 內分離好的血液因離心力會留至編號 509 的分離槽。



圖十三 傳送血漿 (16)

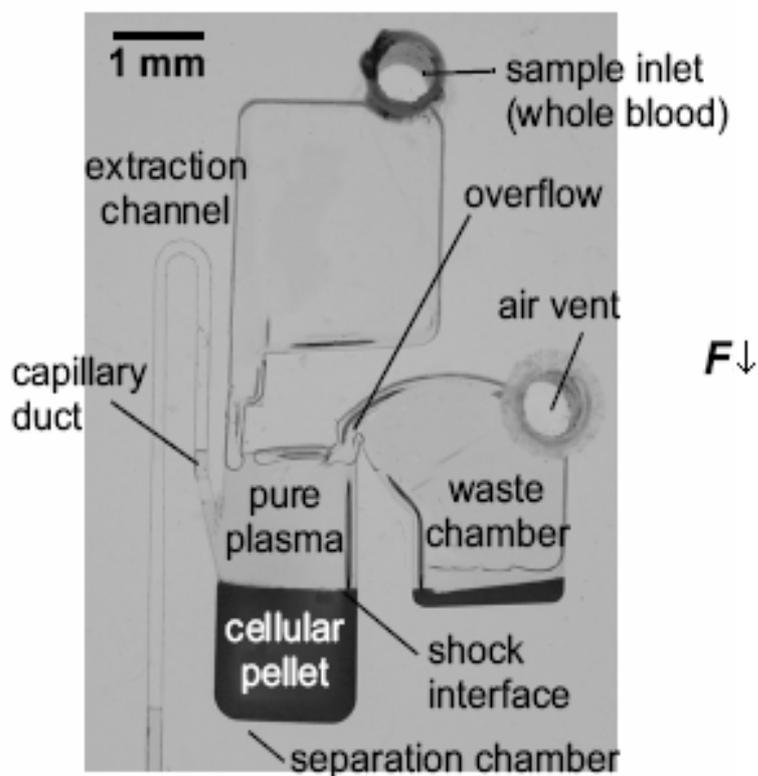
如圖十三，編號 507 中的血液往下流至 519 後，會把血液往上推，而比重小的血漿會在上層，再溢流至編號 514 的血漿儲存槽。完成微流體碟片上的血液分離。

7.2 IMTEK 設計之微流體結構 (17)



圖十四 微流體結構 (17)

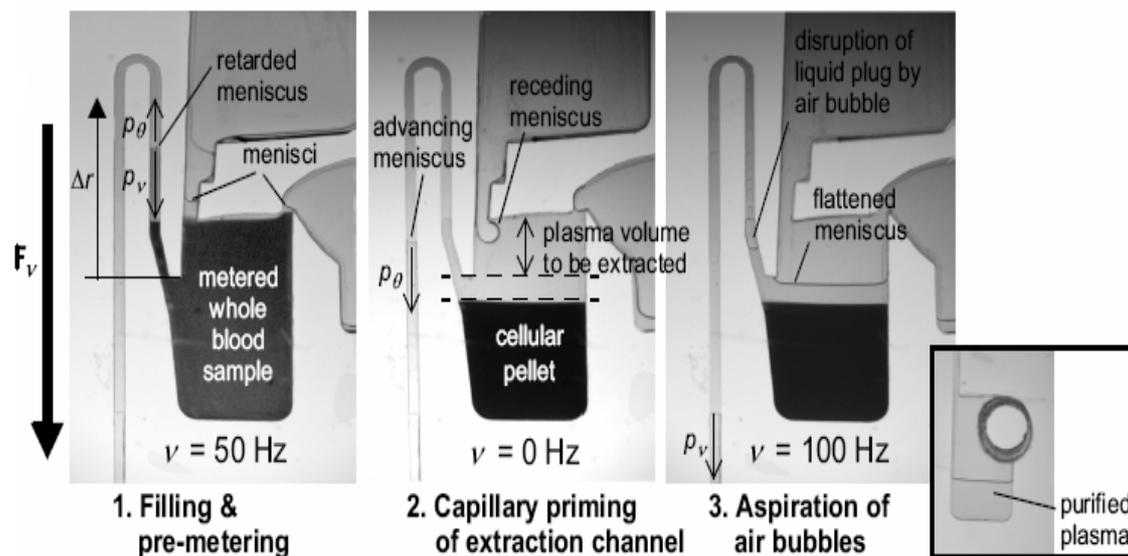
如圖十四，右上方為樣品注入孔 (sample inlet)，經由微結構而分離出血漿，再將分離後的血漿傳送至中央較大的檢測槽與藥劑作化學反應，此設計特別的地方在於檢測槽的讀取方式，由發出的雷射光打至 V 型溝槽 (V-groove) 反射後，經過檢測槽，再從另一端的 V 型溝槽反射至接收處，以接收的訊號強度得知檢測結果。



圖十五 血液分離設計放大圖 (17)

(F 為離心力方向)

如圖十五，此為圖十三中右上方的微流體結構放大圖，全血由注入孔 (sample inlet) 注入後，流至分離槽 (separation chamber) 分離出血漿，再由萃取管 (extraction channel) 將血漿傳送至檢測槽。



圖十六 血液分離流程圖 (17)

如圖十六：

1. 全血由注入孔注入後，以離心力使全血流至分離槽，接著作定量，多餘的血液會流至右邊 overflow chamber。
2. 為了使全血快速分離，提高馬達的轉速，將血漿分離後，再停止旋轉，此時分離出的上層血漿會因為毛細管現象經由萃取管吸上去，流至檢測槽。
3. 上層血漿流至檢測槽後，分離槽內的液面下降，待液面下降至有氣泡阻塞時，血漿即傳送完畢，此時啟動馬達將萃取管中之血漿傳至檢測槽。

八、結語及心得

健康與環境議題和人類的生活息息相關，在科技化的現代，人們更加注重自己的身體健康狀況，透過檢體的蒐集與一連串的生化分析，我們得以控制疾病的發展。近年來國際間屢次爆發致命的重大傳染病，如禽流感與狂牛症疫情，使各國的居民人心惶惶，再加上恐怖攻擊中所散布的炭疽病，這些事件使得「即時檢測」的需求受到居安思危的各界重視。然而傳統的生化檢驗，受測檢體須由專業人員透過繁複的操作步驟，及各種檢測時所需的儀器，才能獲得結果，不僅耗費人力物力，也受限於龐大的檢驗設備。

微流體裝置及製程對未來醫學研究、化學和製藥產業相當地重要。微流體裝置是一種極微小的分析整合裝置，在這微小的裝置中具有識別、分析，並能純化細胞、生物分子、毒素和其他材料，此種微小裝置比一般標準檢測工具還要快速、敏感、有效率。

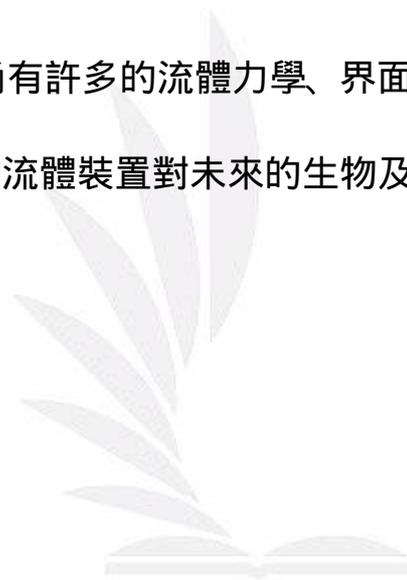
依據 BCC 公司微流體技術報告 Microfluidics Technology，估計 2003 年全球微流體系統晶片及裝置市場有 9.5 億元，該產業產品商品化的成長快速，預估將以年成長率 15.5 % 至 2008 年攀登達 19.5 億美元〔17〕，由此可知微流體技術扮演著相當重要的角色。

然而由微流道與微閥件所控制的微流體系統中，尚有許多問題。如透過機械式幫浦所提供的高壓，微量的檢體以連續流動的方式在密閉的微流道中流動時，在操作上常會形成無效空間（dead volume），這問題會浪費一部分寶貴的檢體，甚至降低檢測的靈敏度。若為更精密的控制微閥件，不僅在設計與製作上都相當複雜，也需要再外接電源供應器以提供動力源，這項限制成為系統微小化的最大瓶頸。因此各國的研究人員都積極地尋找更有效的微流體操作方式，希望能有助於整體系統的積體化。

因微晶片中微閥件和其他微小組件的製作成本皆不低，進而發展出微流體碟片，碟片生化檢測技術具有自動化、快速平行、微量檢體、價廉等優點。配合國內的光電產業，朝向自動化檢測儀器及個人生理檢測系統為一非常適合國內發展的方向。因此，體外檢驗試劑市場朝向 POC（point of care）發展，避免與國外知名大廠的大型自動化機具競爭，著重在少量多樣化的檢測平台將是相當適合國內發展的領域。

微流體碟片這種新穎的分析平臺，除了可比微流體晶片大幅減少檢體的用量，降低分析成本外，也縮短了檢測所需的反應時間，為大量且即時性的生化檢測需求提供了一個解決方案。

在微流體碟片中，大部分的流體輸送仰賴微流道，由於其尺寸在微米（ 10^{-6}m ）範圍，流體在通道內受到表面力（surface force）及剪切力（shear stress）的影響較大，所以流體在微流道中的流動會與一般尺寸流場有所不同；除此之外，大部分的生物流體（biofluid）為非勻相流體，以血液為例，血液中包括血漿、紅血球、各種白血球以及血小板，由於這些成份的密度及顆粒大小的不同，在微流道中高表面力及剪切力可能會對其流動及分佈造成巨大的影響，雖然微流體結構用途廣大，但在微觀下尚有許多的流體力學、界面性質等問題須待研究人員研發出來，研發微流體裝置對未來的生物及醫學技術將有很大的幫助。



九、參考文獻

- [1] 伍秀菁、汪若文、林美吟，*微機電系統技術與應用*，第六章，
417 頁，國科會精儀中心，新竹市，民國 92 年
- [2] <http://www.itrc.org.tw/Publication/Newsletter/no55/p14.php>
(2006/12/26)
- [3] 何敏夫，*血液學*，臺北市，合記圖書發行，西元 2002 年 10 月
三版
- [4] 行政院衛生署，台灣地區 92 年度死因統計結果摘要，
<http://www.doh.gov.tw/statistic/data/死因摘要/92年/92.htm>
(2006/12/26)
- [5] World Health Organization , *WHO Expert Committee on Biological
Standardization, Forty-eighth report. WHO technical report series
889 , Section 7 The use of calibrated thromboplastins in clinical
practice.*
- [6] <http://www.commonhealth.tw/New-Med/doc/Anticoag.htm>
(2006/12/26) 林貞岑，康健雜誌 31 期
- [7] http://www.nsc.gov.tw/_newfiles/head.asp?add_year=2003&tid=52
(2006/12/24)
- [8] <http://doit.moea.gov.tw/news/newscontent.asp?IdxID=16&ListID=0510>
(2006/12/25)
- [9] J. Ducrée, R. Zengerle and T. Brenner, “Continuous Centrifugal

Separation of Whole Blood on a Disk." 8th International conference on Minaturized Systems for Chemistry and Life Sciences : 566-568, 2004.

[10] US2002/0183678, "Filter arrangement for the separation of blood into plasma and cellular components and device for application thereof on the donor."

[11] S. C. Jacobson, R. Hergenroder, A.W. Moore, and J.M. Ramsey, "Precolumn Reactions with Electrophoretic Analysis Integrated on a Microchip," *Analytical Chemistry*, vol. 66, pp. 4127-4132, 1994.

[12] T. S. Sammarco, and M.A. Burns, "Hermocapillary Pumping of Discrete Drops in Microfabricated Analysis Devices," *American Institute for Chemical Engineers*, vol. 45, pp. 350-366, 1999.

[13] M. Washizu, "Lectrostatic Actuation of Liquid Droplet for Microreactor Application," *IEEE Transactions on Industry*, vol. 34, 1998.

[14] D. C. Duffy, H. L. Gillis, J. Lin, N. F. Sheppard, and G. J. Kellogg, "Microfabricated Centrifugal Microfluidic Systems: Characterization and Multiple Enzymatic Assays," *Anal.Chem.*, vol. 71, pp. 4669-4678, 1999.

[15] M. J. Madou, *Fundamentals of MICROFABRICATION*, Boca Raton, Fla. : CRC Press, 1997.

[16] K. Gregory, S. G. Kieffer-Higgins, B. L. Carvalho, G. A. Davis, J. P. Willis, T. Minior, L. L. Chapman, M. Kob, S. D. Oeltjen,

S. Ommert and A. Mian, “Devices and Methods for Using Centripetal Acceleration to Drive Fluid Movement on a Microfluidics.” 2004.

- { 17 } J. Steigert, TB. M. Grumann, L. Riegger, R. Zengerle, and J. Ducreé, “Design and Fabrication of a Centrifugally Driven Microfluidic Disk for Fully Integrated Metabolic Assay on Whole Blood.” MEMS: 418-421, 2006.
- { 18 } <http://cdnet.stic.gov.tw/techroom/market/nano/nano004.htm>
(2006/12/17)

