

T形微流控芯片液滴成形与细胞封装的理论

胡 晟, 廖子薇, 蔡 露, 姜潇潇
(东北大学秦皇岛分校 控制工程学院, 河北 秦皇岛 066004)

摘 要: 连续相与离散相的速度取值是影响 T 形微流控芯片产生液滴的关键因素. 细胞在 T 形微流通道的液滴包裹和细胞封装成为基因测序的研究热点, 因此本文结合水平集与流体动力学方法, 分析了液滴尺寸与红细胞封装的动态输运问题. 在离散相和连续相通道宽度分别为 50 μm 和 80 μm 的 T 形微流控芯片内部, 以水和正十二烷油为目标溶液进行计算仿真. 计算结果表明水溶液初始速度 0.012 m/s, 表面张力 5 mN/m, 接触角 165° 时, 毛细数 C_a 从 0.008 增大至 0.1, 会使液滴的尺寸降低, 液滴成形频率加快. 同时, 黏滞力大于两相流表面张力会导致直径 5 μm 红细胞的封装效率变低, 使其紧贴通道墙壁作直线运动.

关 键 词: 微流控; 液滴; 细胞封装; 水平集; 流体动力学
中图分类号: TN 492; TQ 460.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-3026(2020)03-0452-05

Theory of Droplet Formation and Cell Encapsulation for T-Shaped Microfluidics Chip

HU Sheng, LIAO Zi-wei, CAI Lu, JIANG Xiao-xiao
(School of Control Engineering, Northeastern University at Qinhuangdao, Qinhuangdao 066004, China.
Corresponding author: HU Sheng, E-mail: husheng@neuq.edu.cn)

Abstract: The velocity values of the continuous phase and the discrete phase are the key factors affecting the droplets generated by the T-shaped microfluidic chip. The droplet encapsulation and encapsulation of cells in T-shaped microfluidic channels become hot topics for gene sequencing. Therefore, the dynamic transport relative to both droplet size and blood cell encapsulation is studied by combining level set method with hydrodynamics. The water and n-dodecane oil as objective is simulated in the T-shaped microfluidics, in which the width of discrete and continuous channel is 50 μm and 80 μm , respectively. The results indicate that the capillary number (C_a) from 0.008 to 0.1 can result in decreasing droplet size and increasing generation frequency when there are the initial velocity of aqueous solution 0.012 m/s, the interfacial tension 5 mN/m and contact angle 165°. Meanwhile, the encapsulated efficiency can be decreased, so that the blood cell with diameter of 5 μm moves straightway nearby the wall due to viscosity force greater than surface tension.

Key words: microfluidics; droplet; cell encapsulation; level set; hydrodynamics

微流控技术依托 MEMS (micro-electro-mechanical system) 工艺可以制备出 10 ~ 500 μm 宽度的微沟道, 用于生物细胞、蛋白质、DNA 或病毒的输运、分离、富集和提纯^[1-2]. 这种微型化的生物处理器件可极大提高精准识别和快速诊断生物样本的能力. 因此, 针对生物芯片实验室 (lab-on-a-chip) 或微全分析系统 (micrometer-scale total analysis systems, μTASs) 的现代生化检测技术由于微流控技术的发展得到了越来越多学者的广泛关注和推广. 在微流控技术多元化的研究过程中, 液滴微流控 (droplet-based microfluidics) 是其发展和创新的一个研究分支. 液滴微流控芯片可连续性地产生皮升 (pL) 到纳升 (nL) 量级的液珠, 用于单细胞培育^[3]、基因识别^[4]和药性毒理研究

等领域^[5]. 以单细胞基因测序为例, 要进行单个活体细胞的基因测序, 必须进行目标细胞和免疫磁珠的空间孤立, 防止其他细胞的特异性干扰, 阻碍基因标记物的特征提取. 因此, 液珠包裹和封装的生物细胞、蛋白质、病毒和反应物可以有效降低外界对生物样本的生化污染和信息干扰. 每个液珠作为一个微型反应容器, 为个体生物样本提供很好的研究平台. 由此可以极大提高子代细胞的基因序列识别, 减少种群中光学、电学、声学或应力等造成的宏观信息干扰, 使分子生物学更能目标化地测量单个生物的个体分化、生殖和基因突变^[6].

当前, 液滴微流控芯片结构主要分为正交型^[7]和同向型^[8]. 不相溶两相流体的黏滞系数、流速、接触角度, 以及毛细数 (capillary number, C_a) 等多维变量共同决定了液滴大小和几何均匀性. 比如: 增加连续相的液体速度, 易导致离散相液体没有足够时间在沟道伸展形成均匀球形液滴, 实验观测为喷射 (jetting) 现象. 反之, 离散相流体速度高于连续相流体, 液滴容易在两相交界面发生冻结 (squeezing) 现象. 因此在实验前期发展一种理论模型显得尤为必要. 合理的理论模型可以引导实验开展, 并且丰富实验内涵. 已经有大量学者开展了 T 形液滴微流控相关建模和仿真^[9], 得到与实验相符的理论解析集. 国内方面, 已有大量的学者参与了液滴形状的关键参数研究, 并提出了相关参数的优化结果^[10-12]. 然而在液滴形成与细胞封装的理论研究上, 鲜有学者进行相关报道. 尤其在细胞随液体流动的轨迹和运动特征方面, 缺少相关的动态仿真数据. 因此发展一种水平集与动力学结合的数值模型, 用于 T 形微流控细胞封装具有一定的研究价值.

1 理论模型

当前的液滴微流控模拟方法主要分为 VOF 法 (volume-of-fluid method)、格子玻尔兹曼法 (lattice Boltzmann method) 和水平集方法 (level set method, LS). 就前两种方法而言, VOF 法的计算精度不高, 不能平滑得到离散相液滴平均曲率边界, 容易造成表面张力误差增大^[9]. 格子玻尔兹曼方法对离散相和连续相的界面张力很难找到合理的控制参数, 用以适应液滴滑移带来的收敛问题. 由于 LS 方法满足质量守恒约束, 并且具有较好的计算精度, 因此本文选择该方法分析 T 形微流道的液滴成形和细胞封装. T 形微流控芯

片的几何结构如图 1 所示. 其中: L 和 H 分别表示连续相液体流动长度和 T 形微槽长度; W_d 和 W_c 分别表示离散相和连续相的微槽宽度; U_d 和 U_c 分别是离散相和连续相的流体速度. 两相流体的分布和流向服从 Navier-Stokes 方程, 如式(1)所示.

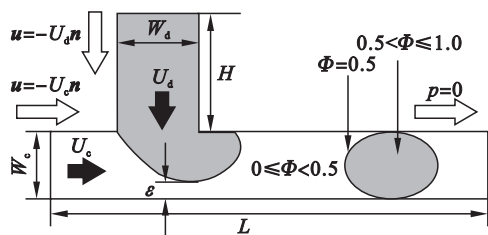


图 1 T 形微流通道的几何模型示意图
Fig. 1 Schematic of T-shaped microfluidics

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \rho \mathbf{u}}{\partial t} + \rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} &= -\nabla p + \eta \nabla^2 \mathbf{u} + \mathbf{F}_{sf}, \\ \nabla \cdot \mathbf{u} &= 0. \end{aligned} \right\} \quad (1)$$

式中: \mathbf{u} 为液体速度 (m/s); t 为时间 (s); ρ 为液体密度 (kg/m^3); η 为液体黏滞系数 ($\text{Pa} \cdot \text{s}$); p 为压强 (Pa); \mathbf{F}_{sf} 是两相流之间表面张力 (N/m^3), 其表达式如式(2)所示:

$$\mathbf{F}_{sf} = \sigma \delta \kappa \hat{\mathbf{n}}. \quad (2)$$

式中, σ , δ , κ 分别为液体之间的表面张力系数 (N/m)、两相流界面函数、两相流界面的曲率函数. 它们的函数表达式如式(3)和式(4)所示:

$$\delta = 6 |\nabla \Phi| |\Phi(\Phi - 1)|; \quad (3)$$

$$\kappa = -\nabla \cdot \hat{\mathbf{n}}|_{\Phi=0.5}. \quad (4)$$

其中, \mathbf{n} 为单位向量, 与液滴界面的法线方向一致, 其表达式如式(5)所示:

$$\hat{\mathbf{n}} = \frac{\nabla \Phi}{|\nabla \Phi|}. \quad (5)$$

式中, Φ 为相函数, 取值范围在 $[0, 1]$ 之间, 代表了两种不相溶液体的浓度变化关系, 满足式(6):

$$\frac{\partial \Phi}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \Phi = \gamma \nabla \cdot \left(\varepsilon \nabla \Phi - \frac{\Phi(1-\Phi) \nabla \Phi}{|\nabla \Phi|} \right). \quad (6)$$

式中, γ 和 ε 分别为网格重置参数 (m/s) 和界面厚度控制参数 (m). 两相流密度与时间、流速的函数关系, 如式(7)所示:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0. \quad (7)$$

根据式(8), 流体的密度和黏滞系数可与势函数 Φ 联立, 求解方程(1), (6)和(7)即可获得不同时间和位置对应的流体浓度变化.

$$\left. \begin{aligned} \rho &= \rho_0 + (\rho_1 - \rho_0) \Phi, \\ \eta &= \eta_0 + (\eta_1 - \eta_0) \Phi. \end{aligned} \right\} \quad (8)$$

如图 1 所示, 在 Φ 等于 0.5 时, 其闭合曲线为离散相液滴与连续相流体的交界面. 因此通过

闭合曲线积分(如式(9)所示)可得到相应液滴的有效尺寸 $d(\text{m})$,

$$d=2\left(\frac{3}{4\pi}\int_{\Omega}\Phi|_{\Phi>0.5}\text{d}\Omega\right)^{1/3}.$$

(9)

在两相流中,毛细数 C_a 反映了表面张力对液体流动的影响.它与黏性力和表面张力的比值有关,如式(10)所示:

$$C_a=\eta_c U_c/\sigma.$$

(10)

不失一般性,本文设定的两相流流体中,连续相势函数 $\Phi=0$,离散相势函数 $\Phi=1$.此外液滴的形状还与表面所受应力有关,具体为流体与湿壁剪切摩擦 F_{fr} 有关($F_{\text{fr}}=-\eta u/\beta$), β 为滑移长度(m),与离散网格的具体尺寸有关.当液滴在微槽移动过程中,连续相、离散相与湿壁三相交点处所作的液-液界面的切线与固体交界面之间的夹角称为接触角 $\theta(\text{rad})$,如图 2 所示.求解上述方程可得相关液滴的形成.

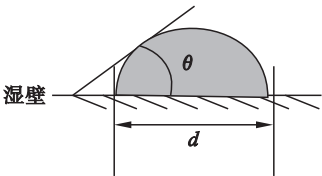


图 2 液滴接触湿壁示意图

Fig. 2 Schematic of droplet on wetted wall

本文主要以红细胞为封装的目标粒子,其受力满足 Stokes 应力,如式(11)所示:

$$\boldsymbol{F}_s=m_p(\boldsymbol{u}-\boldsymbol{v})/\tau_p.$$

(11)

式中: m_p 和 \boldsymbol{v} 分别为细胞质量和运动速度; τ_p 等于 $\rho_p d_p^2/18\eta(\rho_p$ 和 d_p 分别为细胞密度和直径).细胞与墙壁保持弹性碰撞,满足能量守恒.同时细胞密度接近培养溶液密度,并且尺寸为微米量级.因此忽略相关重力、浮力和布朗运动力等因素干扰,能节约计算时间,提高仿真效率.

2 水平集仿真与结果

根据上述理论模型的简要说明,本文将油/水(O/W)两相流作为仿真目标,其中连续相为正十二烷(n-dodecane oil),离散相为水溶液(water).它们的基本物理量如表 1 所示.为更好研究毛细数的影响,离散相水的流速 $U_d=0.012\text{ m/s}$,且为常数.因此主要改变连续相油的流速,其初始数值为 $U_c=0.037\text{ m/s}$.因此毛细数 C_a 等于 0.01 ; W_d 和 W_c 分别为 $50\text{ }\mu\text{m}$ 和 $80\text{ }\mu\text{m}$; L 和 H 分别为 $700\text{ }\mu\text{m}$ 和 $100\text{ }\mu\text{m}$.油水相的表面张力 σ 为 5.0 mN/m ,且接触角 θ 为 165° .仿真平台采用

COMSOL 有限元软件,其提供的 Laminar Two Phase Flow, Level Set (tpf) 和 Particle Tracing for Fluid Flow (fpt) 可以很好地进行物理耦合,实现上述偏微分方程的动态计算.求解结果如图 3 所示.

表 1 两相流的物理参数

Table 1 Parameters of two-phase fluids

流体	$\rho/(\text{kg}\cdot\text{m}^{-3})$	黏滞系数 $\eta/(\text{mPa}\cdot\text{s})$
水	1 000	1
正十二烷	750	1.34

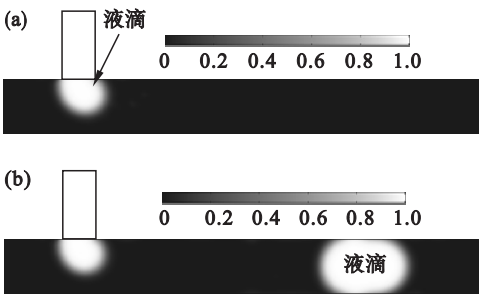


图 3 $U_d=0.012\text{ m/s}$, $U_c=0.037\text{ m/s}$ 液滴形成的仿真结果

Fig. 3 Simulation results of droplet formation ($U_d=0.012\text{ m/s}$, $U_c=0.037\text{ m/s}$)

(a)— $t=4.7\text{ ms}$; (b)— $t=36.66\text{ ms}$.

对 T 形微流控通道而言,液滴成形主要与离散相和连续相的流体运动速度有关.改变连续相的流体速度 U_c ,研究不同 C_a 数值对液滴大小的影响,如图 4 所示.

随着毛细数 C_a 逐渐增大,固定时间内,T 形微流控通道产生液滴的频率逐渐变高.在 $0\sim30\text{ ms}$ 时间内, C_a 等于 0.008 或 0.01 时仅产生一个液滴,但是 C_a 为 $0.04, 0.08$ 和 0.1 时分别产生 $4, 7$ 和 9 个液滴,该仿真结果也与文献[9, 11–12]一致.通过上述的液滴形态和流体分布进行红细胞封装的理论研究,本文仿真的红细胞 ρ_p 和 d_p 分别为 $1\,050\text{ kg/m}^3$ 和 $5\text{ }\mu\text{m}$.忽略细胞运动对流体速度场的影响,根据式(11),结合牛顿经典应力公式,即可得到红细胞运动轨迹,如图 5 所示.

红细胞在微流通道内首先受鞘流作用,使其保持在中线位置随流体运动.图 5 的红细胞自上向下运动到两相流的交界面,受流体黏滞力作用,被封装在了液滴内部,跟随液滴向输出通道方向流动.本文根据上述的 C_a 数值进一步将细胞动力模型与流体运动模块相互耦合,在 30 ms 时间内得到了不同连续相流速场内部的细胞的运动轨迹如图 6 所示.该结果暗示液滴直径越大,相应封装细胞的能力越强,细胞在液滴内部也存在一定的抖动.反之,较小的液滴尺寸,高的输出频率使得

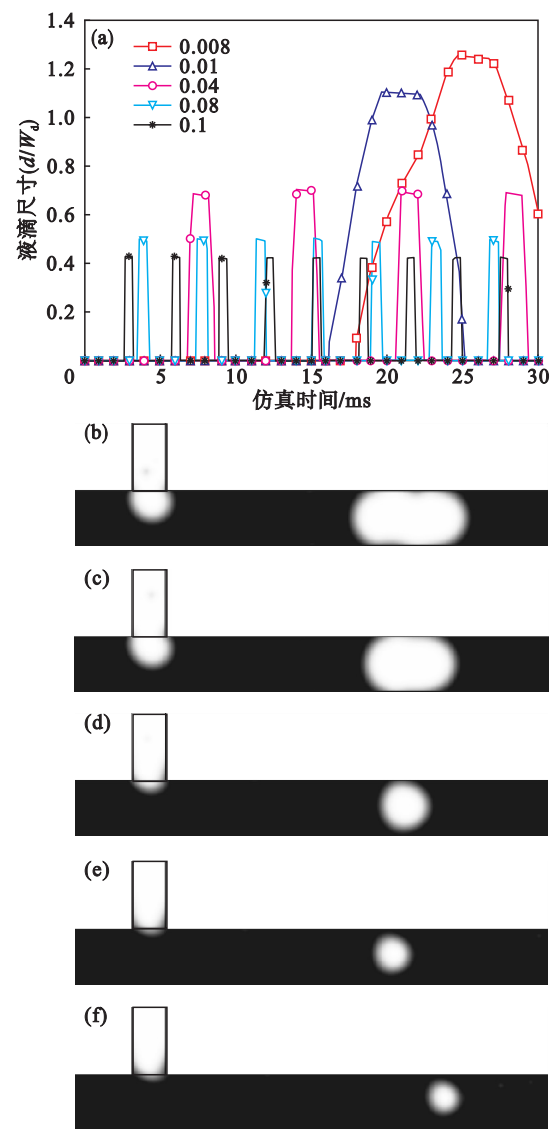


图 4 不同 C_a 参数的 T 形微流控仿真
Fig. 4 Simulation of T-shaped microfluidics relative to different C_a value

- (a)—不同 C_a 的液滴尺寸和产生频率；
(b)— $t = 25.69$ ms, $C_a = 0.008$ ；
(c)— $t = 21$ ms, $C_a = 0.01$ ；
(d)— $t = 28.36$ ms, $C_a = 0.04$ ；
(e)— $t = 27$ ms, $C_a = 0.08$ ；
(f)— $t = 27.84$ ms, $C_a = 0.1$ 。

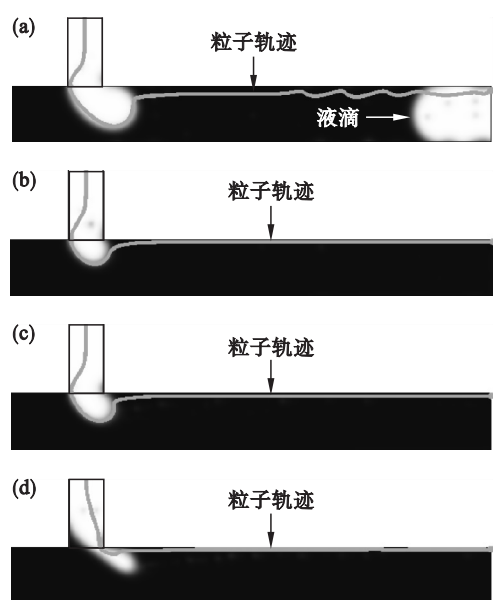


图 6 $t = 30$ ms 时不同 C_a 的红细胞轨迹模拟
Fig. 6 Simulated trajectories of blood cell for different C_a value at 30 ms

- (a)— $C_a = 0.008$ ；(b)— $C_a = 0.04$ ；
(c)— $C_a = 0.08$ ；(d)— $C_a = 0.1$ 。

细胞的包裹能力相对较弱,细胞极易从离散相进入连续相中单独运动. 细胞在进入两相流交界面位置时,由于黏滞力大于界面张力,容易驱使细胞贴近微槽边缘移动,由此降低了细胞封装效率. 低的 C_a 数值虽然能够保证细胞的自动封装,但其频率较低. 单个细胞与细胞之间需要保持足够距离,否则单个液滴将会封装多个细胞. 倘若开展细胞内的信使 RNA 测序实验,多个细胞与单个编码磁珠配对容易造成基因误码率增大. 因此, C_a 数值与细胞间距对于封装的研究是一个多参量优化问题. 除此之外,液滴的接触角、细胞与墙壁非弹性碰撞都需要进一步的研究学习. 通过对细胞或粒子进行荧光染色,实验观测可采用高速 CCD 摄像机连续抓拍液滴内部的微粒,掌握其相应的运动轨迹.

3 结 论

1) 利用水平集方法仿真 T 形微流控通道的液滴成形和尺寸参数,结果表明:离散相速度固定在 0.012 m/s 时,毛细数 C_a 越大,连续相速度越大会使液滴尺寸越小,输出频率越高.

2) 通过 Stokes 动力学模型耦合水平集方法,得到红细胞在两相流的运动轨迹. 毛细数 C_a 越大,黏滞力越大,细胞越容易紧贴墙壁呈直线运动. 但是封装效率迅速降低. 若黏滞系数过小,细

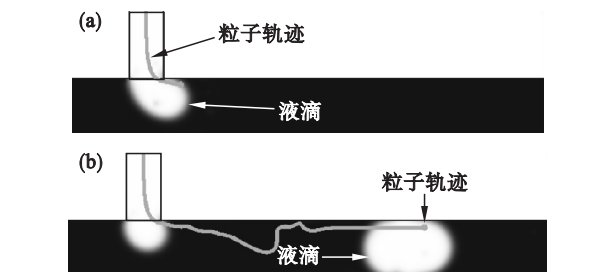


图 5 红细胞在 T 形微流控通道的运动轨迹 ($C_a = 0.01$)
Fig. 5 Simulated trajectory of blood cell motion in T-shaped microfluidic channels ($C_a = 0.01$)

- (a)— $t = 7$ ms；(b)— $t = 20$ ms。

胞容易在液滴内部发生抖动,影响细胞与液滴的同步输运,该问题需要多目标优化共同实现.

参考文献:

[1] Fernandes A C, Gernaey K V, Kruhne U. Connecting worlds—a view on microfluidics for a wider application [J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36 (4) : 1341 – 1366.

[2] Sun Y X, Haglund T A, Rogers A J, et al. Microfluidics technologies for blood-based cancer liquid biopsies [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2018, 1012 : 10 – 29.

[3] Kaminski T S, Garstecki P. Controlled droplet microfluidic systems for multistep chemical and biological assays [J]. *Chemical Society Reviews*, 2017, 46 (20) : 6210 – 6226.

[4] Olzmann J A, Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets [J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2019, 20 (3) : 137 – 155.

[5] Shang L R, Cheng Y, Zhao Y J. Emerging droplet microfluidics [J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117 (12) : 7964 – 8040.

[6] Macosko E Z, Basu A, Satija R, et al. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets [J]. *Cell*, 2015, 161 (5) : 1202 – 1214.

[7] Effati E, Pourabbas B. New portable microchannel molding system based on micro-wire molding, droplet formation

studies in circular cross-section microchannel [J]. *Materials Today Communications*, 2018, 16 : 119 – 123.

[8] Nie Z H, Seo M S, Xu S Q, et al. Emulsification in a microfluidic flow-focusing device: effect of the viscosities of the liquids [J]. *Microfluidics and Nanofluidics*, 2008, 5 (5) : 585 – 594.

[9] Bashir S, Rees J M, Zimmerman W B. Simulations of microfluidic droplet formation using the two-phase level set method [J]. *Chemical Engineering Science*, 2011, 66 (20) : 4733 – 4741.

[10] 金小礼, 雷作胜, 郭加宏, 等. T 型槽微流液滴形成的数值模拟研究 [J]. *水动力学研究与进展 A 辑*, 2010, 25 (5) : 694 – 702.
(Jin Xiao-li, Lei Zuo-sheng, Guo Jia-hong, et al. Numerical simulation of micro-liquid droplet formation in T-shape channel [J]. *Chinese Journal of Hydrodynamics*, 2010, 25 (5) : 694 – 702.)

[11] Yan Y, Guo D, Wen S Z. Numerical simulation of junction point pressure during droplet formation in a microfluidic T-junction [J]. *Chemical Engineering Science*, 2012, 84 : 591 – 601.

[12] Han W B, Chen X Y. Numerical simulation of the droplet formation in a T-junction microchannel by a level-set method [J]. *Australian Journal of Chemistry*, 2018, 71 (12) : 957 – 964.

(上接第 429 页)

[5] Desai C S. Cyclic testing and modeling of interfaces [J]. *Journal of Geotechnical Engineering*, 1985, 111 (6) : 793 – 815.

[6] Evgin E, Fakharian K. Effect of stress paths on the behavior of sand-steel interfaces [J]. *Canadian Geotechnical Journal*, 1996, 33 (6) : 853 – 865.

[7] Fakharian K, Evign E. Elasto-plastic modelling of stress-path-dependent behaviour of interfaces [J]. *International Journal for Numerical and Analytical Methods in Geomechanics*, 2000, 24 (2) : 183 – 199.

[8] Fakharian K, Evign E. A comprehensive experimental study of sand-steel interface subjected to various monotonic and cyclic stress paths [C] // The Twelfth International Offshore and Polar Engineering Conference. Kitakyushu, 2002 : 775 – 784.

[9] Rechenmacher A L, Finno R J. Digital image correlation to

evaluate shear banding in dilative sands [J]. *Geotechnical Testing Journal*, 2004, 27 (1) : 13 – 22.

[10] Wolf H, Konig D, Triantafyllidis T. Experimental investigation of shear band patterns in granular material [J]. *Journal of Structural Geology*, 2003, 25 (8) : 1229 – 1240.

[11] 夏红春, 周国庆. 土 – 结构接触面剪切力学特性及其影响因素试验 [J]. *中国矿业大学学报*, 2010, 39 (6) : 831 – 836.
(Xia Hong-chun, Zhou Guo-qing. Tests on shear mechanical properties of soil-structure interface and its influencing factors [J]. *Journal of China University of Mining and Technology*, 2010, 39 (6) : 831 – 836.)

[12] 陆勇, 周国庆. 粗粒土与结构接触面作用机理及本构规律分类 [J]. *工业建筑*, 2012, 42 (sup 1) : 468 – 471.
(Lu Yong, Zhou Guo-qing. The mechanism and constitutive law of the interface between coarse grained soil and structure [J]. *Industrial Architecture*, 2012, 42 (sup 1) : 468 – 471.)