



طراحی میکروجداساز سلول‌های سرطانی همراه جریان خون با استفاده از ترکیب روش‌های جداسازی پینچ و دی‌الکتروفورسیس

علیا نوروزشمسیان^۱، آرمان محسنی^۲ و محمد مجدم^{۲*}

^۱ کارشناس ارشد، مهندسی مکانیک و انرژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

^۲ استادیار، مهندسی مکانیک و انرژی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

مقاله مستقل، تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۷؛ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۰۵/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۰۷

چکیده

جداسازی سلول‌های خون کاربرد گسترده‌ای در علم پزشکی دارد. با جداسازی این سلول‌ها، می‌توان به شناسایی خواص آن‌ها پرداخت. شناسایی خواص سلول‌های سرطانی و اثر داروهای مختلف بر آن‌ها، به روند بهبود و درمان بیماران مبتلا به سرطان کمک قابل توجهی می‌کند. در سال‌های اخیر، توسعه تجهیزات میکروسیالی برای جداسازی این سلول‌ها اهمیت قابل توجهی یافته است. جداسازی سلول‌ها روش‌های مختلفی دارد. در این پژوهش، اندازه و خواص الکتریکی سلول‌ها به‌عنوان معیارهای اصلی جداسازی در نظر گرفته شده‌اند و با ترکیب روش تقسیم‌بندی جریان پینچ به‌عنوان یک روش غیرفعال و دی‌الکتروفورسیس برپایه رسانایی الکتریکی به‌عنوان یک روش فعال، تراشه جداساز برای جداسازی سلول‌های سرطان سینه MDA-435 از گلبول‌های سفید و قرمز، طراحی شده است. این سلول‌ها دارای اختلاف اندازه بسیار کمی هستند و با توجه به تحقیقات گسترده‌ای که در جداسازی به روش جریان پینچ انجام شده است، پایین بودن دقت جداسازی ذرات هم‌اندازه یا دارای اندازه مشابه، از چالش‌های اساسی این روش محسوب می‌شود. در این پژوهش، نیروی دی-الکتروفورسیس در ناحیه پینچ، بین سلول سرطانی و گلبول سفید فاصله ایجاد می‌کند. پس از گسترش هیدرودینامیکی در ناحیه توسعه یافته، سلول سرطانی، گلبول‌های سفید و قرمز در انشعاب‌های خروجی خاص خود قابل جمع‌آوری خواهند بود. نتایج نشان می‌دهد، این روش ترکیبی به طور موثری قابلیت تفکیک سلول‌های مذکور را داراست.

کلمات کلیدی: میکروسیالی؛ جداسازی؛ سلول سرطانی؛ دی‌الکتروفورسیس؛ جریان پینچ.

Design of a Micro-Separator for Circulating Tumor Cells (CTCs) from Blood Flow Using Hybrid Pinched Flow Fractionation (PFF) and Dielectrophoresis Methods

O. Noruz Shamsian¹, A. Mohseni², M. Mojaddam^{2,*}

¹ M.Sc. Grad., Faculty of Mechanical & Energy Eng., Shahid Beheshti Univ., Tehran, Iran.

² Assist. Prof., Faculty of Mechanical & Energy Eng., Shahid Beheshti Univ., Tehran, Iran.

Abstract

Separation of blood cells has a widespread application in medical sciences. Separation of these cells helps identifying their properties. Knowing the properties of circulating tumor cell's (CTC) and the effect of different drugs on them can significantly help to develop and improve patient's treatment methods. During recent years, microfluidic devices for separation and sorting of these cells have been significantly developed. There are different methods for cell sorting. In this research, the size and the electrical properties of cells have been considered as the main criteria for cell separation and by combining pinched flow fractionation (PFF) as a passive method with dielectrophoresis as an active method, the separation of MDA-435 mammalian circulating tumor cell from white and red blood cells is investigated. These cells have small size differences where in pinched flow fractionation, incapability to separate particles of similar sizes is a major challenge. In this research, dielectrophoresis force creates a gap between circulating tumor cells and white blood cells in the pinched segment and after hydrodynamic expansion in the broadened segment, circulating tumor cells, white blood cells, and red blood cells will be collected in their specific outlet branches. Results show that this hybrid method can separate tumor cells effectively.

Keywords: Microfluidic; Cell Separation; Tumor Cell; Dielectrophoresis; Pinched Flow Fractionation.

* نویسنده مسئول؛ تلفن: ۰۲۱-۷۳۹۳۲۶۸۱؛ فکس: ۰۲۱-۷۷۳۱۱۴۴۶

آدرس پست الکترونیک: m_mojaddam@sbu.ac.ir

۱- مقدمه

شیوع گسترده سرطان، منجر به توسعه پژوهش‌های مختلف جهت شناسایی و درمان آن شده است [۱]. جداسازی سلول‌های سرطانی، از مراحل مهمی در تحقیقات زیستی به شمار می‌آید و تشخیص بیماری‌ها و کمک به درمان آن‌ها را سرعت می‌بخشد. جداسازی ذرات، شاخه‌ای از علم میکروسیال^۱ است که با صرف زمان و انرژی اندک و با استفاده از نمونه‌های بسیار کوچک، انجام می‌پذیرد. از شاخه‌های دیگر این علم می‌توان به امولوسیون‌سازی [۲] و تولید قطره [۳] در ابعاد میکرومتر اشاره نمود. روش‌های جداسازی و دسته‌بندی ذرات، به دو گروه اصلی فعال^۲ و غیرفعال^۳ تقسیم می‌شود. روش‌های فعال با بهره‌گیری از نیروهای خارجی عمل جداسازی را انجام می‌دهند. در این روش‌ها از نیروهای مختلفی مانند، نیروی گرانش، نیروی الکتریکی، نیروی حاصل از تاثیر صوت و نیروی اینرسی استفاده می‌شود. این در حالی است که روش‌های غیرفعال بدون استفاده از هرگونه نیروی خارجی و تنها با استفاده از خواص مکانیکی و ابعاد ذرات، آن‌ها را از یکدیگر جدا می‌سازند.

زمانی که نمونه‌های زیستی پیچیده‌ای مانند خون حاوی سلول‌های سرطانی بررسی می‌شود، جداسازی با استفاده از تنها یک روش اغلب کارآمد نیست. بعنوان مثال در خون یک فرد بیمار، نسبت سلول‌های سرطانی حدوداً ۱ به ۱۰۰ است که این خود، جداسازی این ذرات را با مشکل روبه‌رو می‌کند [۴]. چالش دیگر این است که معمولاً سلول‌های سرطانی در حال گردش در خون، از نظر اندازه با گلبول‌های سفید هم‌پوشانی دارند که جداسازی براساس اندازه را محدود می‌کنند.

میکروسیالی ترکیبی^۴ یک روش نوظهور است که از روش‌های فعال و غیرفعال به طور هم‌زمان بهره می‌برد و نیازهای بیشتری را برآورده می‌کند. از مزایای استفاده از این شاخه از علم میکروسیال، می‌توان به دقت بالاتر، بازده بیشتر و محدوده عملکرد وسیع‌تر اشاره نمود؛ چراکه به‌طور هم‌زمان،

از مزایای روش‌های فعال و غیرفعال بهره می‌برد. میکروسیالی ترکیبی، بسته به انتخاب روش فعال، معمولاً به چهار دسته تقسیم می‌شود [۵]:

۱- جداسازی به کمک میدان الکتریکی (دی-

الکتروفورسیس)

۲- جداسازی به کمک میدان مغناطیسی

(مگنتوفورسیس)^۵

۳- جداسازی به کمک صوت (آکوستوفورسیس)^۶

۴- جداسازی به کمک نور و لیزر (اپتوفورسیس)^۷

در این پژوهش، از روش ترکیبی جهت طراحی جداساز سلول‌های سرطانی استفاده شده است. از تقسیم‌بندی جریان پینچ به‌عنوان روش غیرفعال و از دی‌الکتروفورسیس^۸ به‌عنوان روش فعال برای جداسازی سلول‌های سرطانی MDA-435 استفاده شده است.

جداسازی به روش جریان پینچ، یکی از روش‌های غیرفعال جداسازی ذرات است که اولین بار توسط یامادا در سال ۱۳۸۳ ه.ش. پیشنهاد گردید [۶]. در این روش، دو ورودی در نظر گرفته می‌شود که ورودی اول حاوی ذرات با اندازه‌های مختلف و ورودی دوم، فاقد ذره و تنها حاوی سیال غلاف^۹ است و به طور پیوسته وارد میکروکانال می‌شوند. میکروکانال دارای یک بخش پینچ (باریک‌شده) و یک بخش توسعه یافته است. جریان غلاف با سرعت بالاتری وارد می‌شود و ذرات را در کنار یک وجه از دیواره قسمت باریک شده به صف می‌کند. چون ذرات اختلاف اندازه دارند، موقعیتشان در قسمت باریک شده نیز متفاوت است. به این ترتیب که مرکز ذره بزرگ‌تر، دورتر و مرکز ذره کوچک‌تر، نزدیک‌تر به دیواره کانال قرار می‌گیرند؛ در نتیجه ذره بزرگ‌تر، خط جریان دورتر و ذره کوچک‌تر، خط جریانی نزدیک‌تر به دیواره کانال را دنبال می‌کند و طبق اندازه‌شان به صورت عمود بر جهت جریان، توسط نیروهای هیدرودینامیکی برآ و پسا از هم جدا می‌شوند.

⁵ Magnetophoresis

⁶ Acoustophoresis

⁷ Optophoresis

⁸ Dielectrophoresis

⁹ Sheath Flow

¹ Microfluidic

² Active

³ Passive

⁴ Hybrid Microfluidic

است؛ همچنین هندسه آن، دارای کانال‌هایی عمود بر قسمت باریک شده است. این مدل طراحی و ساخته شد و قابلیت آن با استفاده از مخلوط ذرات به قطرهای ۳، ۶ و ۱۰ میکرومتر، نشان داده شد. بر مبنای این مدل، پیشرفت‌های چشم‌گیری در کارایی جداسازی در اثر افزایش فاصله‌ی بین ذرات در قسمت توسعه یافته و کاهش پراکندگی در موقعیت ذرات حاصل گردید [۱۰].

دی‌الکتروفورسیس یک روش جداسازی فعال با استفاده از نیروی الکتریکی است که با استفاده از میدان الکتریکی غیریکنواخت، می‌تواند ذرات را براساس خواص فیزیکی و الکتریکی از یکدیگر جدا کند. نیروی ناشی از میدان الکتریکی به عنوان ابزاری برای تأثیرگذاری بر ذرات زیستی مانند قارچ‌ها، مخمرها، اسید نوکلئیک‌ها، پروتئین‌ها و دیگر مولکول‌های زیستی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱]. در سال ۱۳۹۴ ه.ش. چانگ لم و همکاران در تحلیل عددی و بررسی آزمایشگاهی، دستگاه میکروسایالی را برای جداسازی سلول‌های مرده و زنده پیشنهاد دادند. از آنجایی که سلول‌های مرده تحت تأثیر میدان الکتریکی قرار نمی‌گیرند و نیروی دی‌الکتروفورسیس به این سلول‌ها وارد نمی‌شود، می‌توان آن‌ها را در یک میدان الکتریکی غیریکنواخت قرار داد و از سلول‌های زنده جدا ساخت [۱۲]. در سال ۱۳۹۴ ه.ش. بسکیگلیا و همکاران، میکروجداسازی برای به دام‌انداختن و خواص‌یابی سلول‌های خونی ارائه دادند. در این طراحی از آرایش الکترودهای موازی استفاده شد و سلول‌ها تحت تأثیر نیروی دی‌الکتروفورسیس مثبت قرار گرفتند. در این بررسی، قسمت موهومی ضریب کلایزیوس ماسوتی^۴ برای سلول‌های خونی به‌طور عددی محاسبه شد و با نتایج آزمایشگاهی مقایسه گردید و نشان داده شد که نتایج از تطابق خوبی برخوردارند [۱۳]. در سال ۱۳۹۵ ه.ش. در یک پژوهش عددی پارک و همکاران، سلول‌های گلبول قرمز، گلبول سفید و پلاکت‌های محلول در خون را با استفاده از ولتاژ پایین از یکدیگر جدا کرده‌اند. در بررسی آن‌ها از یک سیال واسط برای هدایت سلول‌های خونی به سمت الکترودها استفاده شده است. اثر سرعت جریان در ورودی‌های کانال، ولتاژ و فرکانس اعمال شده به الکترودها و اندازه ذرات بر کیفیت

در این روش، ذرات براساس اندازه‌شان سوار بر یک خط جریان شده و آن خط جریان را تا خروجی دنبال می‌کنند؛ در نتیجه در ناحیه گسترش یافته که فاصله بین خطوط جریان زیاد می‌شود، فاصله بین ذرات نیز افزایش می‌یابد و از یکدیگر جدا می‌شوند؛ همچنین ذرات جدا شده، می‌توانند در کانال‌ها و انشعاب‌های خروجی که در انتهای بخش باریک شده تعبیه شده‌اند، به صورت کاملاً مستقل از هم جمع‌آوری شوند. در این مدل، ذرات از خطوط جریان پیروی می‌کنند و اثری بر جریان نمی‌گذارند و از برهم‌کنش بین ذرات صرف‌نظر می‌شود [۶].

یامادا در سال ۱۳۸۳ ه.ش. در ابتدا قابلیت جداسازی میکرودهانه‌های ۱۵ و ۳۰ میکرومتری پلی‌استایرن را با این روش نشان داد [۷]. تاکاگی و همکاران در سال ۱۳۸۴ ه.ش. روشی جدید به نام تقسیم‌بندی جریان پینچ نامتقارن^۱ پیشنهاد دادند. زمانی که انشعابات خروجی متقارن و یکنواخت باشند، جریان سیال در قسمت باریک شده نیز به صورت یکنواخت توزیع می‌گردد؛ ولی در روش جریان پینچ نامتقارن، این توزیع نامتقارن است؛ در نتیجه این عدم توازن در توزیع در قسمت باریک شده، اختلاف در موقعیت ذرات نزدیک دیواره به طور موثر تشدید شده که این امر منجر به جدا شدن ذرات ریز در هندسه‌ای می‌شود که بخش باریک-شده‌ی آن ابعاد نسبتاً بزرگی دارد [۸].

در سال ۱۳۸۷ ه.ش. ویگ و کریستنسن به منظور افزایش کیفیت جدایش، یک ساختار ماری شکل^۲ به قسمت توسعه یافته افزودند و آن را تقسیم‌بندی جریان پینچ توسعه یافته^۳ نامیدند. همچنان که سیال و ذرات در بخش افزایشی، از قسمت باریک به قسمت توسعه یافته حرکت می‌کنند، در هنگام روبه‌رو شدن با این مانع ماری شکل، فاصله بین خطوط جریان دوباره تشدید می‌شود [۹].

در سال ۱۳۹۱ ه.ش. انهو و یون، مدلی جهت افزایش کارایی جریان پینچ ارائه دادند. این مدل که برگرفته از جریان پینچ نامتقارن است، دارای یک کانال تخلیه در قسمت توسعه یافته است. در این مدل، دیواره بخش باریک شده به صورت شیب‌دار و در نتیجه سطح مقطع آن به شکل متوازی‌الاضلاع

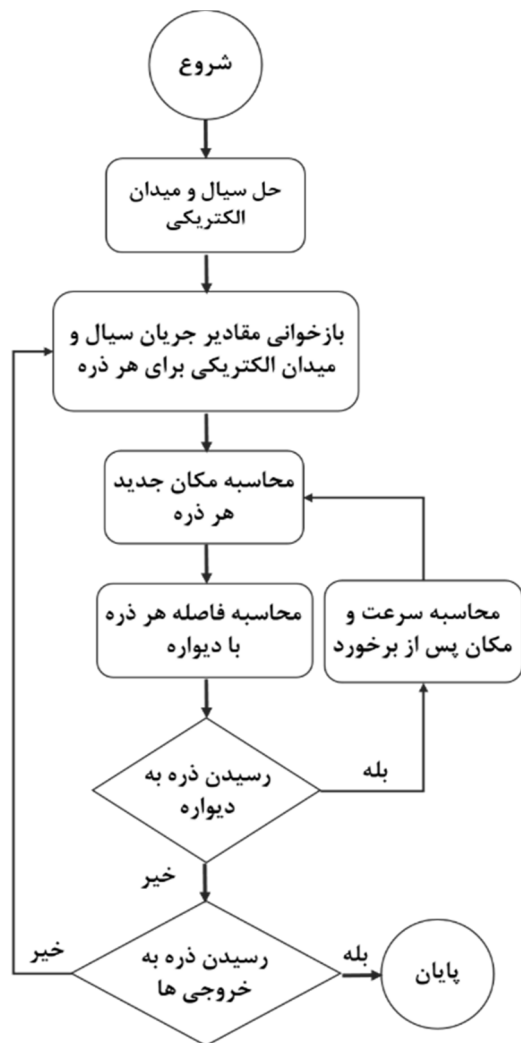
^۱ Asymmetric Pinched Flow Fractionation (AsPFF)

^۲ Snakelike Structure

^۳ Enhancement Pinched Flow Fractionation (EPFF)

^۴ Clausius Mossotti Factor

حرکت ذره از نرم افزار کامسول آورده شده و مسیر حرکت ذره در نرم افزار متلب بصورت عددی محاسبه شده است.



شکل ۱- الگوریتم حل عددی

۱-۲- معادلات حاکم

به منظور حل جریان سیال نیوتونی تراکم‌پذیر در میکروکانال از معادله ناویر-استوکس استفاده شده است.

$$\rho \left(\frac{\partial \vec{u}}{\partial t} + \vec{u} \cdot \nabla \vec{u} \right) = -\nabla P + \nabla \cdot \left[\mu \left(\nabla \vec{u} + (\nabla \vec{u})^T \right) \right] \quad (1)$$

در این رابطه \vec{u} ، P ، ρ و μ به ترتیب بیانگر سرعت سیال، فشار، چگالی و لزجت دینامیکی سیال است. از آنجایی که

جداسازی سلول‌های خونی بررسی شد. لازم به ذکر است، از نیرویی که ذرات به یکدیگر وارد می‌کنند، در تحقیق آن‌ها صرف‌نظر شده است [۱۴].

در سال ۱۳۹۵ ه.ش. ردل‌من و همکاران، 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 جریان ذرات متمرکز شود و به سمت سر الکترودها هدایت گردد [۱۵].

در تمامی جداسازی‌ها به روش جریان پینچ، در صورتی که اختلاف اندازه ذرات کم باشد، ذرات روی خطوط جریان نزدیک به هم قرار می‌گیرند و در خروجی نیز با فاصله اندکی از هم قرار گرفته و جداسازی با کیفیت و دقت پایینی صورت می‌گیرد. در این پژوهش با استفاده از میدان الکتریکی غیریکنواخت و اثر نیروی دی‌الکتروفورسیس، مشکلات موجود در روش پینچ برای سلول‌های با مشخصات فیزیکی یکسان مرتفع گردیده است؛ همچنین به منظور بررسی این ایده با استفاده از شبیه‌سازی عددی، طراحی برای جداسازی سلول‌های سرطانی سینه MDA-435 از گلبول‌های خون ارائه گردید که پیش از این با استفاده از طرح‌های متداول در روش تقسیم‌بندی جریان پینچ امکان جداسازی آن وجود نداشت. با استفاده از این ساختار، می‌توان ذرات را بدون نیاز به نشانگرهای زیستی^۱ جدا نمود که این امر هزینه انجام آزمون‌های تشخیصی را به شدت کاهش می‌دهد.

۲- روش

در این پژوهش به منظور شبیه‌سازی مسیر حرکت سلول‌ها، یک الگوریتم عددی مطابق با شکل ۱ توسعه داده شده است. در این روش، معادلات حاکم بر سیال و میدان الکتریکی به کمک نرم‌افزار کامسول حل گردید. در ادامه با بهره‌گیری از نرم‌افزار متلب، مقادیر مورد نیاز برای حل معادله حاکم بر

^۱ Biomarker

در رابطه (۷) v_p و u_p به ترتیب شعاع، سرعت در راستای محور x و سرعت در راستای محور y ذره است؛ همچنین v_m و u_m بیانگر سرعت سیال در راستاهای x و y است. برای محاسبه نیروی دی‌الکتروفورسیس، نیاز به محاسبه ضریب کلازیوس ماسوتی f_{CM}^* است؛ همچنین برای محاسبه این ضریب برای ذرات، محدوده فرکانس اعمالی بایستی مشخص گردد [۱۷]. نیروی دی‌الکتروفورسیس برابر است با:

$$F_{DEP} = 2 \pi r_p^3 \varepsilon_m \Re[f_{CM}^*(\omega)] \nabla |E|^2 \quad (۸)$$

در این رابطه r_p شعاع ذره، ε_m ضریب گذردهی الکتریکی سیال و E میدان الکتریکی است. ضریب کلازیوس ماسوتی $f_{CM}(\omega)$ نیز که تعیین کننده مقدار نیروی دی-الکتروفورسیس است، با رابطه (۹) تعریف می‌شود [۱۸] و [۱۹]:

$$f_{CM}(\omega) = \frac{\varepsilon_p - \varepsilon_m}{\varepsilon_p + 2\varepsilon_m} \quad (۹)$$

در میدان‌های متناوب (AC)، به دلیل افت الکتریکی حاصل از وابستگی فرکانسی، ضریب کلازیوس ماسوتی خواهد شد [۲۰]:

$$f_{CM}^*(\omega) = \frac{\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_p^* + 2\varepsilon_m^*} \quad (۱۰-الف)$$

$$\varepsilon^* = \varepsilon - i \left(\frac{\sigma}{\omega} \right) \text{ و } i = \sqrt{-1} \quad (۱۰-ب)$$

برای محاسبه ضریب کلازیوس ماسوتی، سلول‌های بیولوژیکی، سلول‌ها دارای یک لایه غشاء در نظر گرفته می‌شوند و از خواص غشاء برای محاسبه هرچه دقیق‌تر این ضریب، استفاده می‌شود. با در نظر گرفتن غشاء برای ذرات بیولوژیکی، ε_p^* که بیانگر ضریب گذردهی الکتریکی ذره است، ترکیبی از ε_{in} و ε_s خواهد شد [۲۱]:

$$f_{CM}^*(\omega) = \frac{\varepsilon_{p.eq}^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_{p.eq}^* + 2\varepsilon_m^*} \quad (۱۱)$$

$$\varepsilon_{p.eq}^* = \varepsilon_s^* \frac{\left(\frac{r}{r-d} \right)^3 + 2 \left(\frac{\varepsilon_{in}^* - \varepsilon_s^*}{\varepsilon_{in}^* + 2\varepsilon_s^*} \right)}{\left(\frac{r}{r-d} \right)^3 - \left(\frac{\varepsilon_{in}^* - \varepsilon_s^*}{\varepsilon_{in}^* + 2\varepsilon_s^*} \right)} \quad (۱۲)$$

اعداد جدول‌های ۱، ۲ و ۳ در ۰/۰۵ σ_m (رسانایی الکتریکی سیال) و $\varepsilon_m = ۷۸$ (ضریب گذردهی الکتریکی سیال)، به‌دست آمده‌اند.

عدد رینولدز جریان چه در ناحیه پینچ و چه در ناحیه توسعه‌یافته، کوچک‌تر از یک بوده $(Re = \frac{\rho v d}{\mu})$ ، ρ و v به ترتیب چگالی، سرعت و لزجت سیال و d عرض کانال است)، در نتیجه جریان سیال داخل میکروکانال خزشی بوده و می‌توان از جمله اندازه حرکت معادله ناویر-استوکس صرف‌نظر کرد؛ بنابراین معادله حاکم بر سیال برابر است با:

$$\vec{\nabla} P = \vec{\nabla} \cdot \left[\mu \left(\vec{\nabla} \vec{u} + (\vec{\nabla} \vec{u})^T \right) \right] \quad (۲)$$

به منظور حل میدان الکتریکی در دامنه حل مسئله از معادله لاپلاس استفاده شد.

$$\nabla^2 V = 0 \quad (۳)$$

$$\vec{E} = -\vec{\nabla} V \quad (۴)$$

مقادیر V و \vec{E} در روابط (۳) و (۴) به ترتیب برابر با پتانسیل و شدت میدان الکتریکی است. در این مطالعه از آنجایی که ابعاد سلول‌ها در مقایسه با طول مشخصه سیال (عرض میکروکانال) بسیار کوچک است، می‌توان از اثرات سلول‌ها بر سیال چشم‌پوشی کرد و میدان سیال و میدان الکتریکی را مستقل از سلول‌ها بدست آورد و در ادامه با استفاده از مقادیر بدست آمده از حل میدان سیال و میدان الکتریکی، مسیر حرکت ذره را محاسبه نمود.

به منظور محاسبه مسیر حرکت سلول‌ها در میکروکانال، از قانون دوم نیوتن مطابق رابطه (۵) استفاده شد. نیروهای وارد بر ذره نیز در رابطه (۶) مشخص شده‌اند.

$$\sum \vec{F} = m \vec{a} \quad (۵)$$

$$\vec{F} = \vec{F}_d + \vec{F}_{DEP} \quad (۶)$$

در این رابطه \vec{F}_d نیروی پسا و \vec{F}_{DEP} نیروی دی‌الکتروفورسیس می‌باشند. از آنجایی که عدد رینولدز سلول‌ها همواره کوچک‌تر از ۰/۰۱ است، اثر نیروی لزجت بر نیروی اینرسی غالب می‌شود. و نیروی پسا خواهد شد [۱۶]:

$$F_{d,x} = 6\pi\mu r_p (u_p - u_m) \quad (۷-الف)$$

$$F_{d,y} = 6\pi\mu r_p (v_p - v_m) \quad (۷-ب)$$

است، بنابراین سیال خزشی بر ذره غالب بوده و در نتیجه می‌توان از نیروی اینرسی ذره در هر بازه زمانی کوچک صرفنظر کرد. در این شرایط، نیروی دی‌الکتروفورسیس با نیروی پسا وارد بر ذره بایستی با هم در تعادل قرار گیرند؛ بنابراین رابطه (۵) به رابطه (۱۳) ساده می‌شود [۲۶].

$$\vec{F}_d = \vec{F}_{DEP} \quad (۱۳)$$

با برابر قراردادن نیروی دی‌الکتروفورسیس و نیروی پسا، سرعت حرکت ذره بدست می‌آید:

$$u_p = \frac{1}{3} \frac{r_p^2 \varepsilon_m \Re[f_{CM}^*(\omega)]}{\mu} \frac{\partial |E|^2}{\partial x} + u_m \quad (۱۴-الف)$$

$$v_p = \frac{1}{3} \frac{r_p^2 \varepsilon_m \Re[f_{CM}^*(\omega)]}{\mu} \frac{\partial |E|^2}{\partial y} + v_m \quad (۱۴-ب)$$

با دانستن بخش حقیقی ضریب کلایوس ماسوتی و مولفه‌های سرعت سیال و گرادیان مربع، اندازه میدان الکتریکی که از حل میدان سیال و میدان الکتریکی محاسبه می‌گردند، مولفه‌های سرعت ذره در دو راستای محور x و y قابل محاسبه است. با دانستن سرعت و مکان اولیه ذره در هر بازه زمانی، جابجایی ذره محاسبه می‌شود:

$$x_p = x_i + u_p \Delta t \quad (۱۵-الف)$$

$$y_p = y_i + v_p \Delta t \quad (۱۵-ب)$$

در این رابطه، x_i و y_i مکان اولیه ذره در راستای x و y در یک مرحله زمانی و x_p و y_p مکان ثانویه ذره در راستای x و y در مرحله زمانی بعد است. در ابتدا مقادیر مختلفی برای Δt در نظر گرفته شد، از آنجا که در $\Delta t = 1 \times 10^{-4}$ و مقادیر کوچک‌تر از آن، تغییری در خطوط جریان ذرات در خروجی مشاهده نشد، به منظور در نظر گرفتن دقت مناسب برای حل و همچنین کاهش هزینه محاسباتی، بازه‌های زمانی به صورت $\Delta t = 0.5 \times 10^{-4}$ در نظر گرفته شدند.

۲-۲- دامنه و شرایط مرزی مسأله

طبق رابطه (۸) مقدار نیروی دی‌الکتروفورسیس برای یک ذره، متناسب با فاصله آن ذره از الکترودهاست، زیرا نیروی اعمالی به ذرات متناسب با گرادیان میدان است و این گرادیان در فواصل و موقعیت‌های مکانی مختلف، مقدارهای متفاوتی دارد؛ در نتیجه برای این‌که به هر دسته از ذرات

جدول ۱- مشخصات گلبول قرمز [۲۲ و ۲۳]

σ_{in} (S / m)	۰/۵۲
ε_{in} (F / m ²)	۵۷
σ_s (S / m)	1×10^{-6}
ε_s (F / m ²)	۴/۴۴
r (m)	3×10^{-6}
d (m)	9×10^{-9}

جدول ۲- مشخصات گلبول سفید [۲۴]

σ_{in} (S / m)	۰/۵۶
ε_{in} (F / m ²)	۱۲۶/۸
σ_s (S / m)	0.1×10^{-6}
ε_s (F / m ²)	۱۰/۵
r (m)	6×10^{-6}
d (m)	5×10^{-9}

جدول ۳- مشخصات سلول سرطانی MDA-435 [۲۵]

σ_{in} (S / m)	۰/۵
ε_{in} (F / m ²)	۶۰
σ_s (S / m)	1×10^{-6}
ε_s (F / m ²)	۱۳/۵۵
r (m)	7.5×10^{-6}
d (m)	5×10^{-9}

در جدول‌های فوق σ_{in} رسانایی الکتریکی ذره و σ_s رسانایی الکتریکی غشاء ذره، ε_{in} ضریب گذردهی الکتریکی ذره و ε_s نیز ضریب گذردهی الکتریکی غشاء ذره است. r شعاع ذره و d ضخامت غشاء ذره است.

از آنجایی که ذرات در سیال خزشی در حال حرکت هستند و اندازه آن‌ها نسبت به طول مشخصه سیال کوچک‌تر

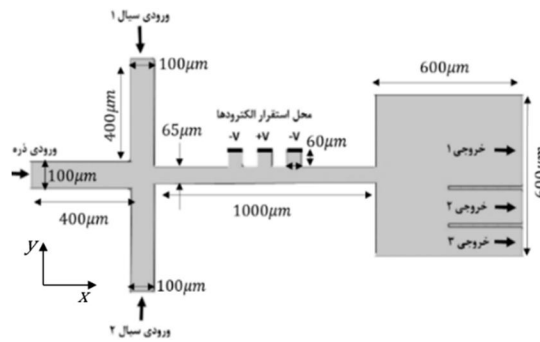
است. به دلیل متفاوت بودن خواص الکتریکی این ذرات، نیروی دی‌الکتروفورسیس وارده بر آن‌ها نیز متفاوت است. در محدوده خاصی از فرکانس، سلول سرطانی دی‌الکتروفورسیس منفی^۱ و گلبول سفید دی‌الکتروفورسیس مثبت^۲ را تجربه می‌کنند. این امر منجر به افزایش فاصله خطوط جریان حامل این ذرات شده و آن‌ها در خروجی، به راحتی از یکدیگر جدا می‌شوند. به این صورت که ذره طبق رسانایی الکتریکی و ضریب گذردهی سیال و ذره، از قوی‌ترین بخش میدان الکتریکی دور و یا به آن نزدیک می‌شود. اگر ذرات به قسمت قوی میدان جذب شوند، آن را دی‌الکتروفورسیس مثبت و اگر از قسمت قوی میدان دفع شوند، دی‌الکتروفورسیس منفی می‌نامند. در جداسازی‌های بر پایه دی‌الکتروفورسیس، تفاوت در نیروی دی‌الکتروفورسیسی است که به ذرات وارد می‌شود. این تفاوت به دلیل نحوه قطبیده شدن ذرات است [۲۷].

بعنوان نمونه در برخی از سیستم‌های طراحی شده برای جداسازی ذرات، از تفاوت در ارتفاع قرارگیری ذرات با توجه به نیروی جاذبه یا دافعه وارده به ذره، استفاده شده است. طراحی مناسب این گونه سیستم‌ها، نیازمند پیش‌بینی ارتفاع ذرات در کانال است [۲۸، ۲۹ و ۳۰].

دی‌الکتروفورسیس به دو دسته دی‌الکتروفورسیس بر پایه‌ی رسانا^۳ و دی‌الکتروفورسیس بر پایه نارسانا^۴ تقسیم می‌شود. در دی‌الکتروفورسیس بر پایه رسانا، از الکتروود برای ایجاد گرادیان میدان الکتریکی استفاده می‌شود. در حالی که در دی‌الکتروفورسیس بر پایه نارسانا، موانعی از جنس عایق در یک میدان یکنواخت، گرادیان ایجاد می‌کنند و میدان را از حالت یکنواخت خارج می‌کنند [۳۱].

تعیین دی‌الکتروفورسیس مثبت و منفی از طریق پارامتری به نام ضریب کلازیوس ماسوتی صورت می‌گیرد. این ضریب رابطه‌ای بین ضریب گذردهی سیال و ذره است. در صورتی که مقدارش مثبت باشد، ذره دی‌الکتروفورسیس مثبت و در غیر اینصورت دی‌الکتروفورسیس منفی را تجربه خواهد کرد.

نیروی ثابت و یکسانی وارد شود، باید همه ذرات آن دسته، در مختصات معینی قرار داشته باشند. به این منظور، پس از ورود ذرات مطابق شکل ۲، دو ورودی از سیال غلاف تعبیه شد تا تمامی ذرات را در وسط کانال تمرکز یابند.



شکل ۲- دامنه و شرایط مرزی مسأله

در این مطالعه، جریان سیال از ورودی ذره با نرخ $\frac{m^3}{s} \times 10^{-12} / 8$ و جریان سیال غلاف با نرخ $\frac{m^3}{s} \times 10^{-12} \times 1/5$ از ورودی‌های سیال ۱ و ۲ به صورت کاملاً توسعه‌یافته وارد می‌شوند. برای تمامی دیواره‌ها، شرط عدم لغزش در نظر گرفته شده‌است. از آنجایی که خروجی میکروکانال با فضای آزاد در ارتباط است، بنابراین شرط فشار نسبی صفر اعمال شده‌است؛ همچنین مقدار پتانسیل الکتریکی در محل استقرار الکتروودها در قسمت باریک‌شونده میکروکانال، برابر با $7/5$ ولت در نظر گرفته شده است که مطابق شکل ۲، به صورت تناوبی مثبت و منفی اعمال می‌شوند.

۲-۳- نیروی دی‌الکتروفورسیس

در این مطالعه، ابتدا با استفاده از روش پینچ به جداسازی ذرات پرداخته شد. در این روش، گلبول‌های قرمز به دلیل اختلاف قابل توجهی که از نظر اندازه با گلبول‌های سفید و سلول‌های سرطانی دارند (جدول‌های ۱، ۲ و ۳)، به راحتی جدا می‌شوند؛ ولی گلبول‌های سفید و سلول‌های سرطانی در خروجی همپوشانی داشتند و جدایش به خوبی انجام نشد، زیرا فاصله خطوط جریان برای این ذرات در ناحیه پینچ، بسیار کم است. برای افزایش این فاصله از خواص الکتریکی ذرات و نیروی دی‌الکتروفورسیس استفاده شده است. مسیر حرکت ذرات در این سیستم‌ها، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار

¹ Negative Dielectrophoresis

² Positive Dielectrophoresis

³ Electrode based Dielectrophoresis (EDEP)

⁴ Insolated based Dielectrophoresis (IDEP)

جذب شدند و سلول‌های سرطانی، دی‌الکتروفورسیس منفی را تجربه می‌کنند و از الکترودها دفع می‌شوند. این امر موجب می‌شود، فاصله بین خطوط جریان این دو نوع سلول، در ناحیه باریک شده افزایش یابد. فاصله بین خطوط جریان در ناحیه گسترش یافته، به دلیل گسترش هیدرودینامیکی، تشدید شده و افزایش می‌یابد. با این تشدید، ذرات به خوبی از یکدیگر جدا می‌شوند و هر یک در انشعاب خروجی خود، قابل جمع‌آوری خواهند بود.

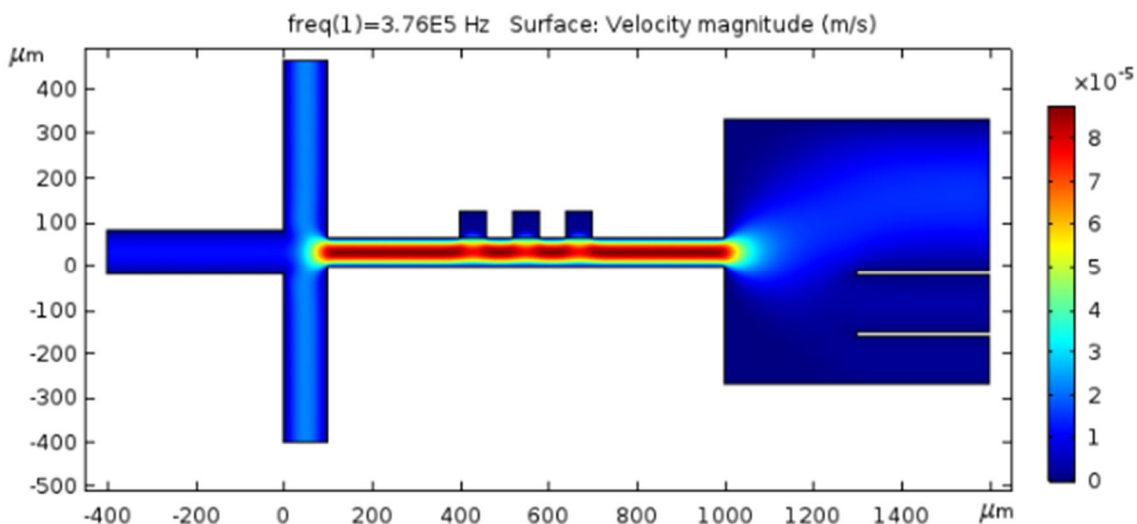
۳- نتایج

در این شبیه‌سازی، جریان ذرات با نرخ $\frac{m^2}{s} \times 10^{-12} \times 0.8$ و جریان سیال غلاف از بالا و پایین با نرخ $\frac{m^2}{s} \times 10^{-12} \times 1.5$ ، وارد می‌شوند و ذرات را در مرکز میکروکانال متمرکز می‌کنند. پروفیل‌های اندازه سرعت، سرعت در راستای محور x و سرعت در راستای محور y ، به ترتیب در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ قابل مشاهده است. طبق شکل‌های ۳ و ۴، بیش‌ترین سرعت در ناحیه پینچ رخ می‌دهد و به محض ورود به ناحیه توسعه‌یافته، سرعت کاهش می‌یابد. در شکل ۵، در نزدیکی محل قرارگیری الکترودها و ورود به ناحیه توسعه‌یافته، سرعت در راستای محور y قابل مشاهده است؛ در نتیجه تمامی مشاهدات در شکل‌های ۳، ۴ و ۵، حاکی از حل صحیح میدان سیال می‌باشند.

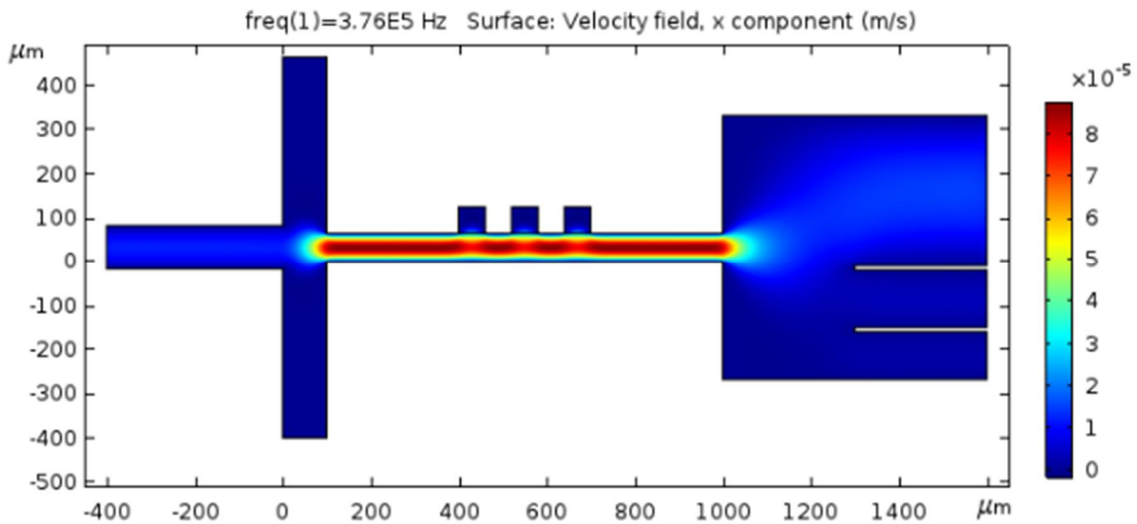
زمانی که مقدار ضریب گذردهی و رسانایی الکتریکی محیط خیلی بیشتر از ضریب گذردهی و رسانایی الکتریکی ذره باشد، مقدار قسمت صحیح ضریب کلایوس ماسوتی به $0.5-$ و زمانی که ضریب گذردهی و رسانایی الکتریکی ذره بسیار بیشتر از ضریب گذردهی و رسانایی محیط باشد، مقدار قسمت صحیح ضریب کلایوس ماسوتی در حالت‌های حدی خود به یک میل می‌کند.

این ذرات، نسبت به ذرات جامد و همگن ساختار پیچیده‌تری دارند که برای تحلیل و بیان بهتر نیروی دی‌الکتروفورسیس به محاسبه این عوامل نیاز است. روش متداول دستیابی به مدلی نظری برای این ذرات بیولوژیکی، استفاده از مدل چندلایه‌ای هم‌مرکز است. در این روش برای ذرات زیستی غشاء در نظر گرفته می‌شود که غشا نیز خواص الکتریکی خاص خود را دارد [۳۲]. در این شبیه‌سازی نیز برای ذرات غشا در نظر گرفته شده است. ابتدا نمودار کلایوس ماسوتی برای هر یک از این ذرات رسم شده است سپس با نمودارهای موجود در مقالات، از اعتبار آن‌ها اطمینان حاصل گردید. در نهایت با انطباق نمودارهای کلایوس ماسوتی برای سه ذره، فرکانسی که طی آن گلبول سفید جذب و سلول‌های سرطانی دفع می‌شوند، مشخص گردید.

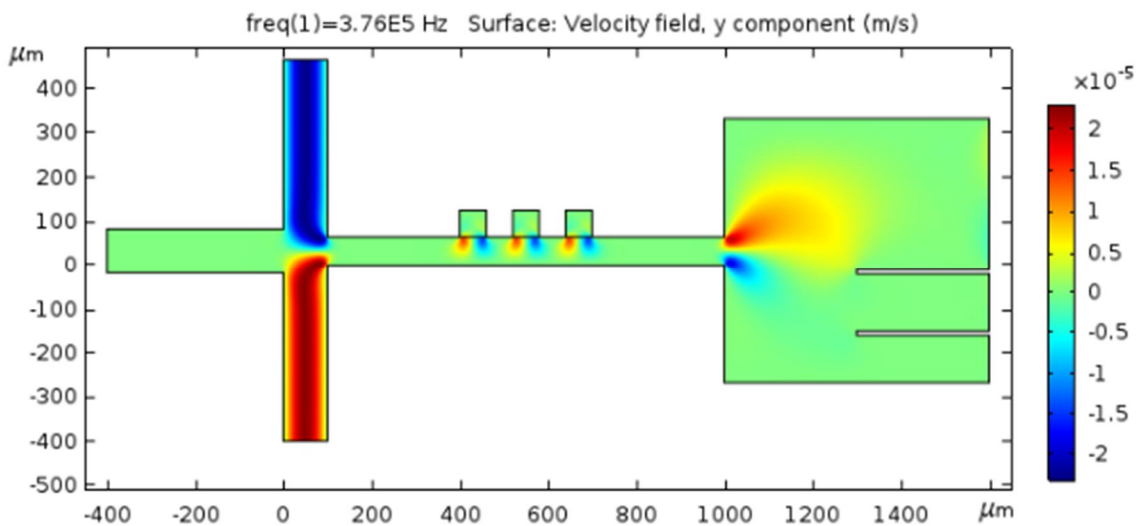
با اعمال فرکانس مد نظر، گلبول‌های سفید دی‌الکتروفورسیس مثبت را تجربه کرده و به سمت الکترودها



شکل ۳- مقدار سرعت در میکروکانال



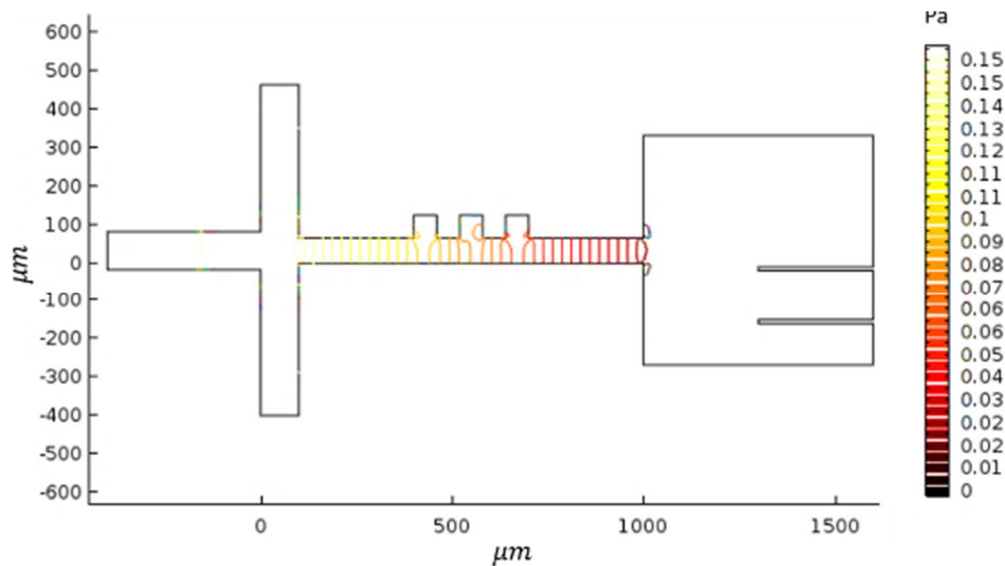
شکل ۴- سرعت در راستای محور x .



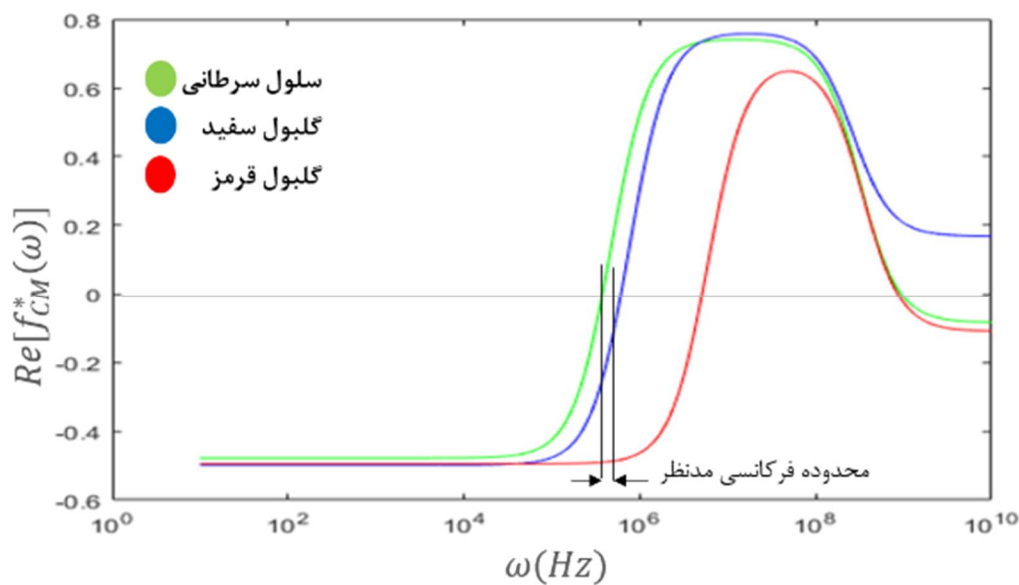
شکل ۵- سرعت در راستای محور y .

شکل ۶، توزیع فشار در میکروکانال را نشان می‌دهد. ملاحظه می‌گردد، در راستای y تغییرات فشار وجود ندارد، تغییرات فشار تنها در راستای محور x صورت گرفته است و افت فشار در طول مسیر سیال در میکروکانال در ناحیه باریک شده قابل مشاهده است. با استفاده از روابط (۱۱) و (۱۲) و با جایگذاری اعداد جدول‌های ۱، ۲ و ۳ در این روابط، ضریب کلایزیوس ماسوتی، به ترتیب برای گلبول قرمز، گلبول سفید و سلول سرطانی در فرکانس‌های مختلف، محاسبه و ترسیم شد. نمودار بخش حقیقی ضریب کلایزیوس ماسوتی بر حسب فرکانس، در شکل ۷، قابل مشاهده است. فرکانس اعمالی به ذرات به سه دسته عمده α (محدوده فرکانسی زیر کیلوهرتز)، β (محدوده فرکانسی کیلوهرتز تا مگاهرتز) و γ (محدوده فرکانسی مگاهرتز تا گیگاهرتز) تقسیم می‌شوند [۳۳]. فرکانسی می‌بایست اعمال گردد که در آن گلبول سفید و قرمز دفع (دچار دی‌الکتروفورسیس منفی شوند) و سلول سرطانی جذب شود (دچار دی‌الکتروفورسیس مثبت شود). طبق نمودار بدست آمده، این پدیده در محدوده

شکل ۶، توزیع فشار در میکروکانال را نشان می‌دهد. ملاحظه می‌گردد، در راستای y تغییرات فشار وجود ندارد، تغییرات فشار تنها در راستای محور x صورت گرفته است و افت فشار در طول مسیر سیال در میکروکانال در ناحیه باریک شده قابل مشاهده است. با استفاده از روابط (۱۱) و (۱۲) و با جایگذاری اعداد جدول‌های ۱، ۲ و ۳ در این روابط، ضریب کلایزیوس ماسوتی، به ترتیب برای گلبول قرمز، گلبول سفید و سلول سرطانی در فرکانس‌های مختلف، محاسبه و ترسیم شد. نمودار بخش



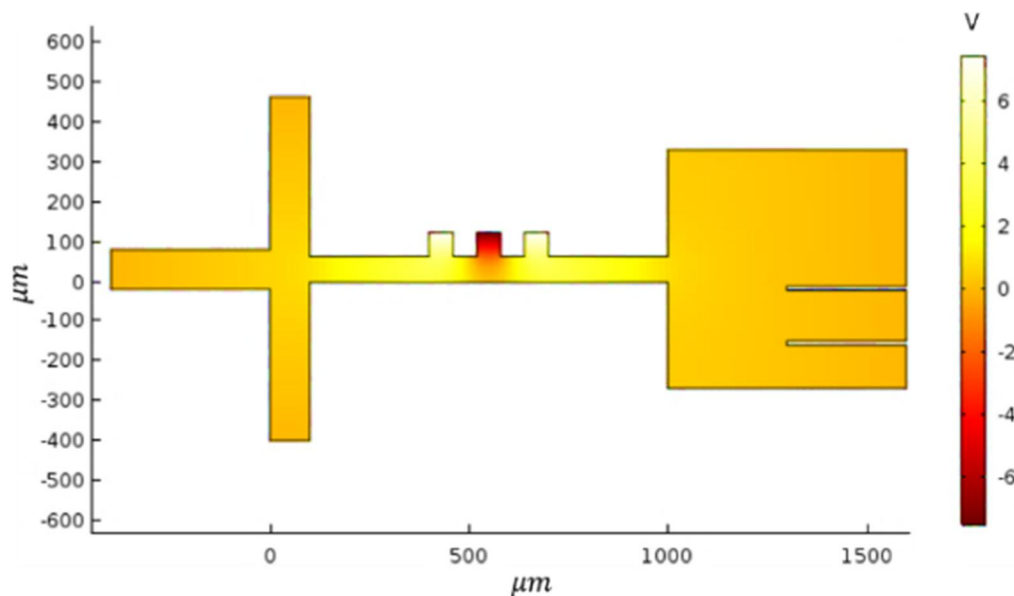
شکل ۶- توزیع فشار در میکروجداساز



شکل ۷- نمودار بخش حقیقی ضریب کلازیوس ماسوتی بر حسب فرکانس، برای گلبول‌های سفید و قرمز و سلول سرطانی

همچون به دام افتادن ذره، برخورد ذره با الکتروود و در مواردی موجب آلودگی و تخریب سلول می‌شود، در نتیجه فرکانس مطلوب‌تر، فرکانسی نزدیک به ۳۷۰ کیلوهرتز است. با اعمال ولتاژ ۷/۵- به الکتروود میانی و ۷/۵+ به الکتروودهای کناری در فرکانس ۳۷۶ کیلوهرتز، جداسازی ذرات بررسی گردید. توزیع پتانسیل الکتریکی با اختلاف ولتاژ ۱۵ ولت، در شکل ۸ نشان‌داده شده است.

فرکانسی ۳۷۰ کیلوهرتز تا ۶۰۰ کیلوهرتز رخ می‌دهد. هرچه فرکانس به عدد ۶۰۰ کیلوهرتز نزدیک‌تر شود، نیروی دافعه وارد به گلبول سفید و قرمز کم‌تر و نیروی جاذبه وارد به سلول سرطانی قوی‌تر می‌شود. از طرفی هرچه فرکانس به عدد ۳۷۰ کیلوهرتز نزدیک‌تر شود، نیروی دافعه وارد به گلبول سفید و قرمز بیشتر و نیروی جاذبه وارد به سلول سرطانی کم‌تر می‌شود. نیروی جاذبه قوی، منجر به مشکلاتی



شکل ۸- توزیع پتانسیل الکتریکی در سراسر میکروکانال

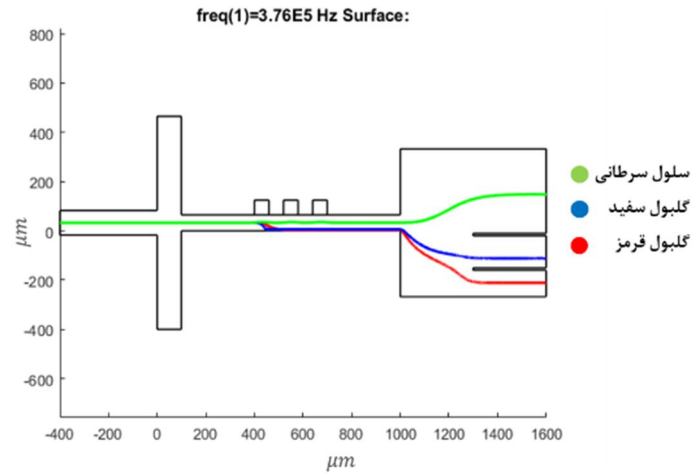
ورودی با نسبت‌های مختلفی اعمال گردید. برای حالتی که نسبت یک ورودی، دو برابر ورودی دیگر باشد، نتایج در سه حالت مختلف ارائه شده است. این حالت‌ها، شامل حالت‌هایی است که ذرات از وسط کانال و یا نزدیک به دیواره‌ها وارد شوند. با توجه به نتایج، این میکروجداساز نسبت به تغییرات نرخ ورودی جریان غلاف، حساسیت قابل صرف‌نظر دارد و ذرات تنها با اندکی اختلاف نسبت به حالتی که نرخ ورودی‌ها یکسان باشد، در انشعابات خروجی وارد و جمع‌آوری می‌شوند (شکل ۱۰-۱۵).

۴- جمع‌بندی

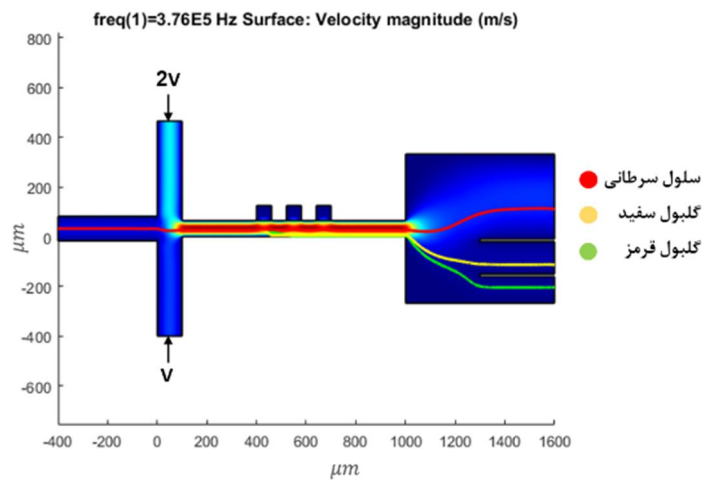
در این پژوهش، جداسازی سلول‌های سرطانی MDA-435 و گلبول‌های سفید و قرمز با استفاده از ترکیب روش‌های پینچ دی‌الکتروفورسیس انجام شد. اگرچه هر یک از این روش‌ها به تنهایی قابلیت جداسازی ذرات را دارند، اما با محدودیت‌هایی نیز مواجه‌اند. علاوه بر اینکه روش پینچ یک روش جداسازی بر اساس اندازه ذرات است و قادر به جداسازی ذراتی که دارای اندازه مشابه‌اند نمی‌باشد، در روش‌های فعال مانند، دی‌الکتروفورسیس مشکلاتی مانند پایین بودن سرعت ورودی وجود دارد. در پژوهش حاضر، دی‌الکتروفورسیس با استفاده از تفاوتی که در خواص ذرات وجود دارد، به جداسازی

با استفاده از فرکانس ۳۷۶ کیلوهرتز و اختلاف ولتاژ ۱۵ ولت، جداسازی ذرات طبق شکل ۹ رخ می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، ایجاد اختلاف در موقعیت قرارگیری گلبول سفید و سلول سرطانی، در ناحیه‌ی باریک شده، در جداسازی این ذرات از یکدیگر بسیار موثر است. گلبول سفید و قرمز دی‌الکتروفورسیس منفی را تجربه می‌کنند و به سمت دیواره پایین دفع می‌شوند، سلول سرطانی MDA-435، دی‌الکتروفورسیس مثبت اندکی را تجربه می‌کند و تقریباً در وسط کانال به مسیر خود ادامه می‌دهد. این اختلاف موقعیت در ناحیه توسعه‌یافته تشدید می‌شود و سلول سرطانی و گلبول سفید با فاصله‌ی قابل توجهی از یکدیگر تفکیک می‌شوند. با ایجاد انشعاب‌های خروجی، هر یک از ذرات در خروجی مربوط به خود قابل جمع‌آوری خواهند بود.

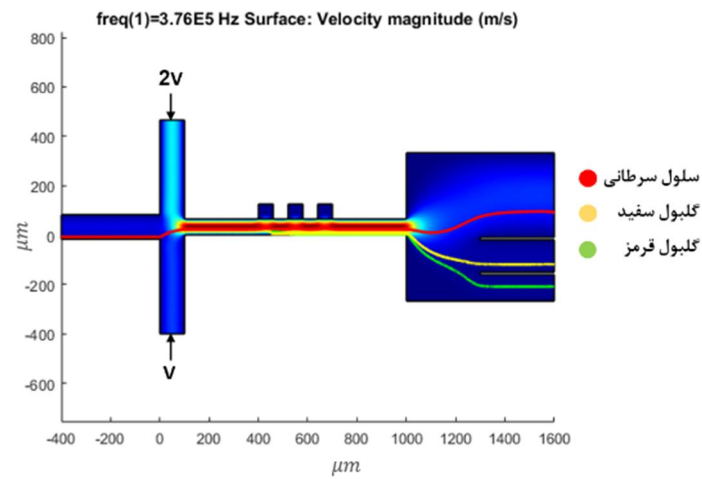
با توجه به اینکه از دو جریان غلاف، با سرعت‌های برابر برای متمرکز نمودن ذرات در یک مسیر مشخص استفاده شد، این سوال مطرح می‌شود که اگر در عمل این دو جریان با اختلافی اندک نسبت به یکدیگر وارد شوند، همچنان این میکروجداساز قادر به جداسازی این ذرات خواهد بود یا خیر. برای پاسخ به این سوال، با ایجاد اختلاف در سرعت ورودی این دو جریان میزان حساسیت این میکروجداساز نسبت به جریان‌های سیال غلاف مورد بررسی قرار گرفت. سرعت‌های



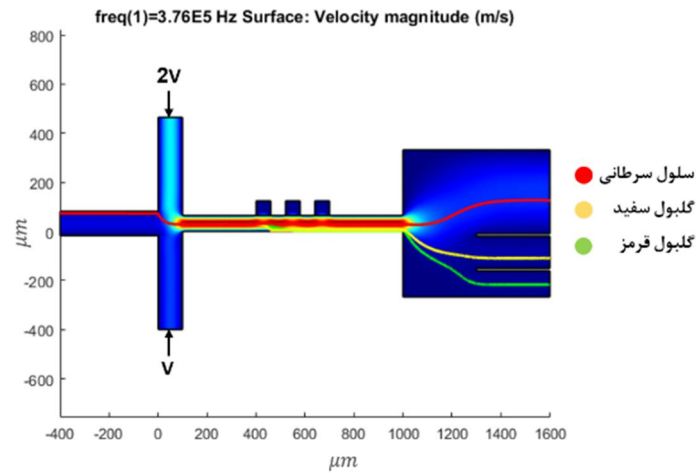
شکل ۹- تفکیک ذرات در انشعاب‌های خروجی



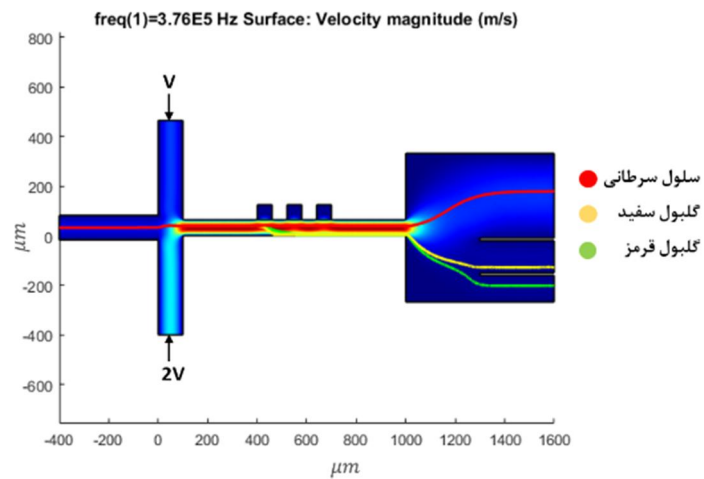
شکل ۱۰- سرعت ورودی بالا دو برابر ورودی پایین و ورود ذرات از وسط کانال



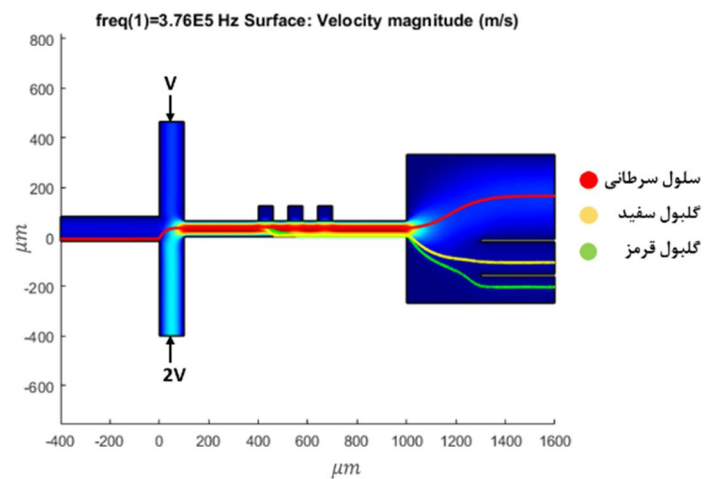
شکل ۱۱- سرعت ورودی بالا دو برابر ورودی پایین و ورود ذرات از کنار دیواره پایین



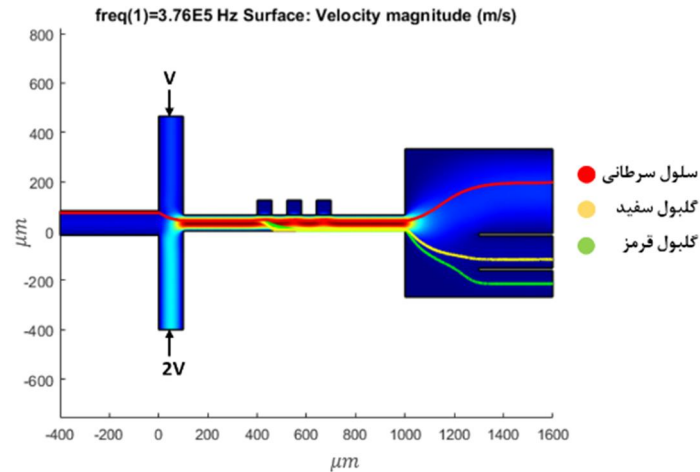
شکل ۱۲- سرعت ورودی بالا دو برابر ورودی پایین و ورود ذرات از کنار دیواره بالا



شکل ۱۳- سرعت ورودی پایین دو برابر ورودی بالا و ورود ذرات از وسط کانال



شکل ۱۴- سرعت ورودی پایین دو برابر ورودی بالا و ورود ذرات از کنار دیواره پایین



شکل ۱۵- سرعت ورودی پایین دو برابر ورودی بالا و ورود ذرات از کنار دیواره بالا

لزجت دینامیکی، $\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	μ
فرکانس زاویه‌ای، Hz	ω
رسانایی الکتریکی ویژه، Sm^{-1}	σ
نیروی پسا	زیر نویس‌ها
دی‌الکتروفورسیس	d
معادل	DEP
هسته	eq
سیال حامل ذره	in
اولیه	m
ذره	i
غشاء	p
راستای محور x	s
راستای محور y	x
	y

۶- مراجع

[۱] غفاری ع، نظری م، خزائی م و بهمنی ب (۱۳۹۳) تغییر در دینامیک یک سیستم با استفاده از ورودی‌های زمان محدود: کاربرد در درمان و مدلسازی

آن‌ها کمک می‌کند و تقسیم‌بندی جریان پینچ نیز با استفاده از اختلاف اندازه‌ای که بین ذرات وجود دارد، آن‌ها را از یکدیگر جدا می‌کند و در نهایت فاصله بین ذرات را تشدید می‌کند تا این ذرات کاملاً از هم تفکیک شوند که این امر بدون استفاده از روش پینچ ممکن نبود. با ترکیب این دو روش سعی در برطرف کردن مشکلات و ضعف‌های هریک از آن‌ها صورت گرفت.

۵- علایم

d	ضخامت غشاء، m
E	میدان الکتریکی، Vm^{-1}
F	نیرو، N
r	شعاع، m
t	زمان، s
u	سرعت در راستای محور x ، ms^{-1}
v	سرعت در راستای محور y ، ms^{-1}
x	مولفه‌ی مختصات شکل ۲، m
y	مولفه‌ی مختصات شکل ۲، m

علایم یونانی

ε	ضریب گذردهی الکتریکی، Fm^{-2}
---------------	--

- microorganism from whole blood samples. *Sens Actuators B Chem* 212: 335-343.
- [14] Ali H, Park CW (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
- [15] Hadady H, Redelman D, Hiibel SR, Geiger EJ (2016) Continuous-flow sorting of microalgae cells based on lipid content by high frequency dielectrophoresis. *AIMS Biophys* 3(3): 398-414.
- [16] Shafiee H, Caldwell JL, Sano MB, Davalos RV (2009) Contactless dielectrophoresis: a new technique for cell manipulation. *Biomed Microdevices* 11(5): 997.
- [17] Hyun KA, Jung HI (2013) Microfluidic devices for the isolation of circulating rare cells: A focus on affinity based, dielectrophoresis, and hydrophoresis. *Electrophoresis* 34(7): 1028-1041.
- [18] Pethig R (2010) Dielectrophoresis: Status of the theory, technology, and applications. *Biomicrofluidics* 4(2): 022811.
- [19] Hughes MP (2002) Strategies for dielectrophoretic separation in laboratory on a chip systems. *Electrophoresis* 23(16): 2569-2582.
- [20] Alazzam A, Mathew B, Alhammadi F (2017) Novel microfluidic device for the continuous separation of cancer cells using dielectrophoresis. *J Sep Sci* 40(5): 1193-1200.
- [21] Jubery TZ, Srivastava SK, Dutta P (2014) Dielectrophoretic separation of bioparticles in microdevices: A review. *Electrophoresis* 35(5): 691-713.
- [22] Yang J, Huang Y, Wang XB, Becker FF, Gascoyne PR (1999) Cell separation on microfabricated electrodes using dielectrophoretic/gravitational field-flow fractionation. *Anal Chem* 71(5): 911-918.
- [23] Liqun W, Lin-Yue L, Kian-Meng L (2012) Dielectrophoretic capture voltage spectrum for measurement of dielectric properties and separation of cancer cells. *Biomicrofluidics* 6(1): 014113.
- [24] Yang J, Huang Y, Wang X, Wang XB, Becker FF, Gascoyne PR (1999) Dielectric properties of human leukocyte subpopulations determined by electrorotation as a cell separation criterion. *Biophys J* 76(6): 3307-3314.
- [25] Piacentini N, Mernier G, Tornay R, Renaud P (2011) Separation of platelets from other blood cells in continuous-flow by dielectrophoresis field-flow-fractionation. *Biomicrofluidics* 5(3): 034122.
- [26] Kralj JG, Lis MT, Schmidt MA, Jensen KF (2006) Continuous dielectrophoretic size-based particle sorting. *Anal Chem* 78(14): 5019-5025.
- سرطان. *مجله علمی پژوهشی مکانیک سازه‌ها و سازه‌ها* ۴(۱): ۷۹-۹۱
- [۲] دستورانی ه جهان‌نما م، اسلامی مجد ع (۱۳۹۵) مطالعه عددی فرآیند امولوسیون‌سازی در دستگاه میکروسیال متقاطع. *مجله علمی پژوهشی مکانیک سازه‌ها و سازه‌ها* ۶(۱): ۲۷۳-۲۸۴
- [۳] نیازی س، مجیدی س، مجدم م (۱۳۹۷) شبیه‌سازی عددی تولید قطره در میکروکانال با هندسه متمرکز کننده. بیست و ششمین همایش سالانه بین‌المللی انجمن مهندسان مکانیک ایران.
- [4] Hyun KA, Jung HI (2014) Advances and critical concerns with the microfluidic enrichments of circulating tumor cells. *Lab Chip* 14(1): 45-56.
- [5] Yan S, Zhang J, Yuan D, Li W (2017) Hybrid microfluidics combined with active and passive approaches for continuous cell separation. *Electrophoresis* 38(2): 238-249.
- [6] Vig AL (2010) Pinched flow fractionation-technology and application (Doctoral Dissertation, Ph. D. Thesis, Department of Micro-and Nanotechnology Technical University of Denmark).
- [7] Yamada M, Nakashima M, Seki M (2004) Pinched flow fractionation: continuous size separation of particles utilizing a laminar flow profile in a pinched microchannel. *Anal Chem* 76(18): 5465-5471.
- [8] Takagi J, Yamada M, Yasuda M, Seki M (2005) Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches. *Lab Chip* 5(7): 778-784.
- [9] Vig AL, Kristensen A (2008) Separation enhancement in pinched flow fractionation. *Appl Phys Lett* 93(20): 203507.
- [10] Nho HW, Yoon TH (2013) Enhanced separation of colloidal particles in an AsPFF device with a tilted sidewall and vertical focusing channels (t-AsPFF-v). *Lab Chip* 13(5): 773-776.
- [11] Çetin B, Li D (2011) Dielectrophoresis in microfluidics technology. *Electrophoresis* 32(18): 2410-2427.
- [12] Lam YC, Ling SH, Chan WY, Chian KS (2015) Dielectrophoretic cell motion model over periodic microelectrodes with unit-cell approach. *Microfluidics Nanofluidics* 18(5-6): 873-885.
- [13] Bisceglia E, Cubizolles M, Trainito CI, Berthier J, Pudda C, François O, Le Pioufle B (2015) A generic and label free method based on dielectrophoresis for the continuous separation of

- reference to field-flow fractionation. *J Phys D Appl Phys* 30(17): 2470.
- [31] Jubery TZ, Srivastava SK, Dutta P (2014) Dielectrophoretic separation of bioparticles in microdevices: A review. *Electrophoresis* 35(5): 691-713.
- [32] Park S, Zhang Y, Wang TH, Yang S (2011) Continuous dielectrophoretic bacterial separation and concentration from physiological media of high conductivity. *Lab Chip* 11(17): 2893-2900.
- [33] Schwan HP (1957) Electrical properties of tissue and cell suspensions. *Adv Biol Med Phys* 5: 147-209.
- [27] Pethig R, Markx GH (1997) Applications of dielectrophoresis in biotechnology. *Trends Biotechnol* 15(10): 426-432.
- [28] Demierre N, Braschler T, Linderholm P, Seger U, Van Lintel H, Renaud P (2007) Characterization and optimization of liquid electrodes for lateral dielectrophoresis. *Lab Chip* 7(3): 355-365.
- [29] Mernier G, Piacentini N, Braschler T, Demierre N, Renaud P (2010) Continuous-flow electrical lysis device with integrated control by dielectrophoretic cell sorting. *Lab Chip* 10(16): 2077-2082.
- [30] Markx GH, Pethig R, Rousselet J (1997) The dielectrophoretic levitation of latex beads, with