

國立臺灣大學工學院應用力學研究所



碩士論文

Graduate Institute of Applied Mechanics

College of Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

手動風扇式血液血漿分離平臺

Blood Plasma Separation Using a Manual Handheld Fan

王星博

Hsin-Po Wang

指導教授：陳建甫 博士

Advisor: Chien-Fu Chen, Ph.D.

中華民國 108 年 8 月

August, 2019

目錄




摘要.....	ii
ABSTRACT.....	iii
圖目錄.....	iv
第 1 章 前言與文獻回顧.....	1
1.1 定點看護 (point of care)的重要性.....	1
1.2 血液檢查.....	2
1.3 血液分離的重要性與困境.....	3
1.4 微量血液的分離.....	3
1.4.1 沉降法.....	3
1.4.2 過濾法.....	5
1.4.3 微流體晶片法.....	7
1.4.4 離心法.....	8
1.5 本研究之血液分離平台.....	9
1.5.1 有關加速沉降的文獻回顧.....	9
1.5.2 本研究實驗機制.....	11
第 2 章 實驗設置.....	12
2.1 實驗材料.....	12
2.2 實驗設備.....	12
2.3 實驗使用軟體.....	12
2.4 實驗流程.....	12
2.5 旋轉半徑、水平偏擺角度、垂直偏擺角度測試.....	13
2.6 半徑角度最佳化參數之旋轉方向、垂直傾角、轉速、內徑測試.....	13
2.7 平台穩定性測試.....	14
第 3 章 結果與討論.....	15

3.1	實驗參數定義.....	15
3.2	旋轉半徑、水平偏擺角度、垂直偏擺角度測試.....	15
3.3	半徑角度最佳化參數之旋轉方向、垂直傾角、轉速、內徑測試.....	20
3.4	平台穩定性測試.....	23
第 4 章	結論.....	27
參考文獻	28



摘要



本研究開發不需電力之手動風扇式血液血漿分離平台。利用 3D 列印技術搭配齒輪機構，以手動的方式帶動平台旋轉產生離心力使血液血漿分離，並藉由流場的設計使血液血漿分離效率進一步提升。我們測試了在不同旋轉半徑 (R)、水平偏擺角度 (θ)、垂直偏擺角度 (φ) 的條件下的旋轉分離情況，並記錄血漿的產率隨著時間的變化，接著最佳化了此平台的轉速區間、幾何尺寸、旋轉方向等參數，我們亦測試了平台的穩定性，包括比較不同血液的分離產率以及純度，最後測試不同使用者在使用本平台的使用情況。結果顯示，本研究開發之平台，以一秒鐘手持曲柄轉一圈的轉速輸入即可使平台輸出 2500 rpm 以上的轉速，並在旋轉半徑 (R) 為 25 mm、水平偏擺角度 (θ) 為 60° 、垂直偏擺角度 (φ) 為 0° 、管內徑 1 mm 有最佳的分離效率，只需 150 sec 便能使分離後血液之血漿產率及純度達 40 % 以上與 99.9 % 以上，且具有良好的穩定性，適用於不同血液以及不同的使用者與不同的血液樣品量。期望未來可運用於資源匱乏區域之醫療前處理。

關鍵字：血液血漿分離、離心力、Boycott 效應、微流體系統、3D 列印

ABSTRACT



This study developed a manual handheld fan-based blood plasma separation platform without using any electricity. The 3D printing technique and gear mechanism are used to fabricate the platform to generate centrifugal force by simply turning the crank to separate blood plasma. In addition, we designed the structure with different flow fields to improve blood separation efficiency. We then tested the different radii (R), horizontal yaw angle (θ), and vertical yaw angle (φ) and recorded the change in plasma yield over time. Meanwhile, we also tested the stability of the platform, including the separation yield, purity of different blood, and operating by different users. The results show that the platform can output more than 2500 RPM by gently turning the crank, and when $R = 25$ mm, $\theta = 60^\circ$, $\varphi = 0^\circ$, and the tube inner diameter is 1 mm has the best separation efficiency. The plasma yield and purity of the separated blood can reach at least 40% and 99.9% purity in 150 seconds. It also showed good stability of the separation results from different blood samples and different users. We can expect that the platform can be further applied to blood-based disease diagnosis in resource-limited regions.

Keywords : blood plasma separation; centrifugal force; Boycott effect; microfluidic system; 3D printing

圖目錄



Figure 1 定點看護 (POC)的七大宗旨	2
Figure 2 窄管萃取血漿之實驗結果	4
Figure 3 利用高低差的微槽獲得血漿之實驗結果	5
Figure 4 慣性微流體搭配多孔薄膜血液分離方法	5
Figure 5 薄膜結合微流體晶片	6
Figure 6 利用磁力驅動擠壓薄膜獲得血漿之實驗結果	6
Figure 7 Smart Pipette	7
Figure 8 螺旋微流道結構	8
Figure 9 無電池人力紙離心機 (paperfuge)	8
Figure 10 以指尖陀螺分離血液用於生醫檢測	9
Figure 11 粒子在加速沉降過程中產生的對流現象	10
Figure 12 實驗步驟	12
Figure 13 旋轉半徑 (R)、水平偏擺角度 (θ)測試 (A) 參數定義與實驗步驟圖 (B) R =15 mm (C) R = 25 mm (D) R =35 mm (E) R =45 mm 之分離時間與產率之關係圖 (F)之血液分離照片最佳化參數測試.....	19
Figure 14 垂直偏擺角度測試 (A) 垂直偏擺角度參數定義圖 (B) R =25 mm 之不同垂直偏擺角度分離時間與產率之關係圖 (C) R =25 mm 之不同垂直角度之血液分離照片	19
Figure 15 血液因離心力方向不同而分為兩段	20
Figure 16 最佳化參數測試 (A) 最佳化參數設定 (B) 旋轉方向測試之分離時間與產率之關係圖 (C) 垂直傾角測試之分離時間與產率之	

關係圖 (D) 轉速測試之分離時間與產率之關係圖 (E) 內徑測試
之分離時間與產率之關係圖 (F) 內徑測試之血液分離照片與顯微
鏡放大圖.....22

Figure 18 平台穩定性測試 (A) 血液純度測試 (B) 不同血液測試之分
離時間與產率之關係圖 (C) 不同血液之分離前後顯微鏡照片 (D)
不同使用者測試之分 離時間與產率之關係圖 (E) 不同使用者之
時間與轉速關係圖.....25

Figure 19 1.5 mL 血液樣本測試 (A) 1.5 mL 血液樣本測試之分離時間與
產率之關係圖 (B)血液分離照片26

第1章：前言與文獻回顧



1.1 定點看護 (point of care)的重要性

在過去的幾十年中，醫療技術得到了顯著的提升 [1]，在發達國家，許多儀器與設備越來越自動化，從而提高了可靠性並縮短了操作時間，並且隨著與電子醫療紀錄設備的整合，臨床醫生可以更快地得到結果。儘管取得了這些進步，但大多數先進的診斷技術與設備較為集中，且醫療設備通常十分昂貴並且需要熟練技術人員的定期維護，造成許多開發中國家的大多數患者和臨床醫生認為成本過高而無法使用 [2]，因此，醫療資源分配不均的問題依舊存在。

為了解決這些問題，世界衛生組織定義了定點看護 (Point-of-care, POC)此醫療概念，定點看護是一種能夠即時做出診斷及治療的醫療措施，對此世界衛生組織給出了七大準則，分別為：靈敏度 (Sensitive)、價錢的可承受性 (Affordable)、專一性 (Specific)、使用方便性 (User-friendly)、健全性 (Robust)、可攜帶性 (Deliverable)、便利性 (Equipment-free) [3]，如 Figure 1 所示。根據這些準則，臨床醫生和患者能夠快速地做出正確的決策，而對於資源相對匱乏的地區 (resource-limited region)來說能有效地提供負擔較低醫療系統，並降低了醫療系統方面的差異性。

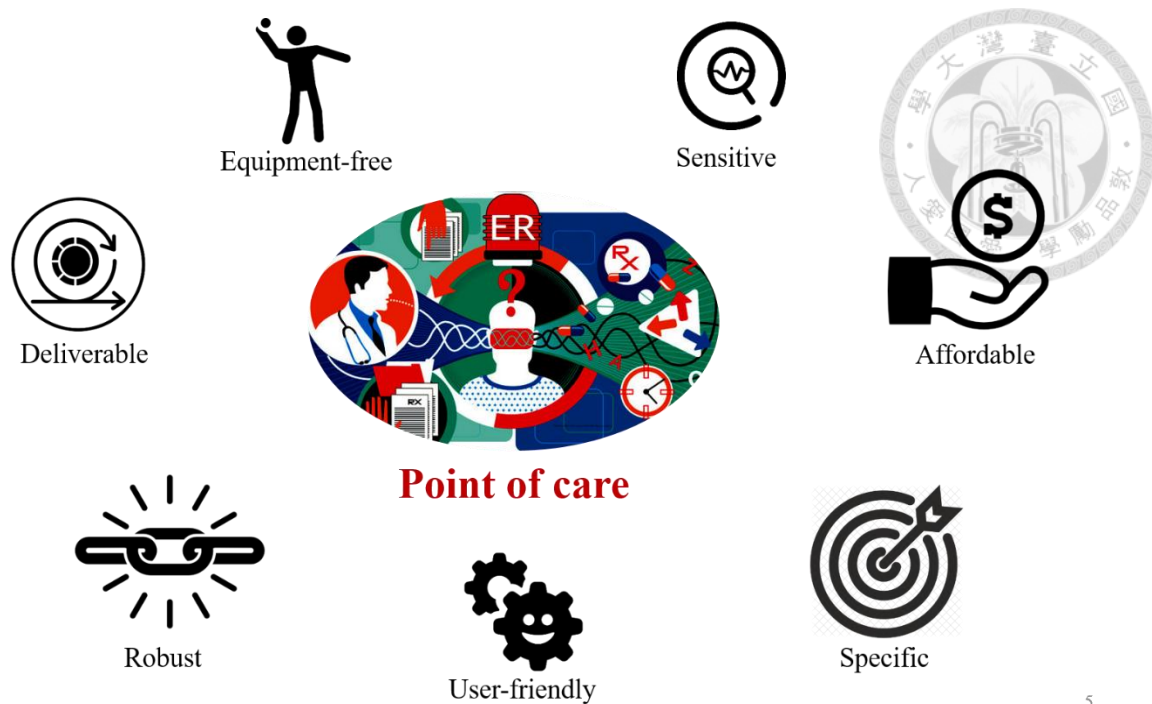


Figure 1 定點看護 (POC)的七大宗旨

1.2 血液檢查

血液 (blood) 為存在於體內的一種重要的流體組織，血液的成分相當地複雜，由血球 (blood corpuscle) 與血漿 (blood plasma) 所構成，其中血球的成分包括紅血球 (red blood cells, RBCs)、白血球 (white blood cells, WBCs) 與血小板 (platelet); 血漿的成分包括血漿蛋白 (plasma proteins)、脂蛋白 (lipoprotein) 與氧 (oxygen)、免疫球蛋白 (immunoglobulin)、激素 (hormone)、無機鹽 (inorganic salt)、酵素 (enzyme) 和多種代謝物構成，血液具有許多重要的功能，例如能夠將養分與氧氣輸送至各個器官，進而帶走不需要的代謝物，而透過不同的血液成分改變可以推斷體內的生理變化和病理變化，因此血液檢測的臨床意義十分重要 [4]。

經由血液檢測中可以掌握體內大量的資訊，尤其在疾病的前期，患者尚未出現明顯發病特徵時，可以透過血液檢測即時的診斷並給予適當的治療。血液檢測項目非常多種，現有的醫療技術能夠檢測多達 2000 種以上的項目，例如常

見的過敏反應、糖尿病、愛滋病、貧血、白血病甚至是癌症皆能在血液檢測中診斷出，因此血液測試是疾病診斷中相當重要的一環。



1.3 血液分離的重要性與困境

在進行血液檢測前，通常會將血球與血漿進行分離，避免在診斷時產生基質效應 (matrix effect)，血漿中含有豐富的生物標誌物，其中包括蛋白質 (proteins)、代謝物 (metabolite)和循環核酸 (circulating nucleic acid)。近幾年來分析血漿相關的診斷和治療方法不斷地增加，因此將全血進行血球血漿分離等血液前處理技術對於診斷有舉足輕重的地位 [5, 6]。現今絕大多數的醫療機構所使用的血球血漿分離技術為利用離心機高速旋轉來產生離心力使得比重不同的血球與血漿分離開來，然而這類的離心設備十分精密且笨重，因此對於可攜帶性 (Deliverable)以及便利性 (Equipment-free)有很大的限制，另一方面，離心機在價格上相對昂貴且必須靠電力方能驅動，這對於資源相對匱乏的區域 (resource-limited region)甚至是無法正常提供電力的地區來說，離心機顯然無法滿足其需求，對此，現階段迫切需要能夠達到方便、低成本且不需電力的血液血漿分離系統。

1.4 微量血液的分離

近年來，由於微流體系統 (microfluidics system)的相關研究及應用有大幅的提升 [7]，進而推動了血液分析的微型化，這避免了過量的抽血有效地降低患者的負擔，以下回顧了近年來在微量血液分離的技術與方法。

1.4.1 沉降法

沉降法的原理是利用血液中不同成分的密度差來進行沉降已獲得乾淨的血漿。紅血球的沉降速度約在 $0.27 \sim 3.8 \mu\text{m/s}$ 之間，這要依據患者的性別與健康

狀況而定，2012 年時 Meng Sun 等人的團隊研究出以一次性窄管採集血液病觀察不同的流量以及稀釋比例下的血漿萃取效果，結果顯示可以在約 24 分鐘完成血漿萃取且產率約為 60 % [8]，如 Figure 2 所示，但此方法須將血液進行稀釋且分離時間較為冗長。

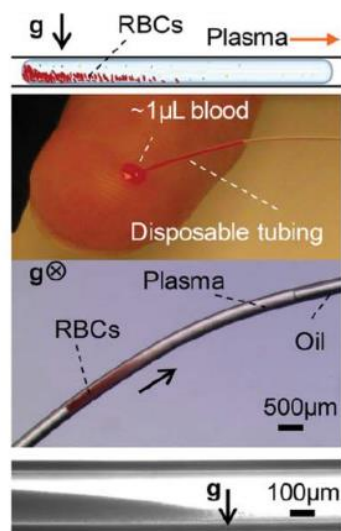


Figure 2 窄管萃取血漿之實驗結果 [8]

2011 年 Ivan K. Dimov 等人的研究團隊利用 PDMS 設計出特定幾何形狀的微流道，利用毛細力 (Capillary force) 將全血自動吸入微流道中，並利用高低差的微槽來將不需要的血球攔截在槽中 [9]，如 Figure 3 所示，但此方法需要精確的控制流體速度，否則將會產生介面不穩定性進而影響分離產率。

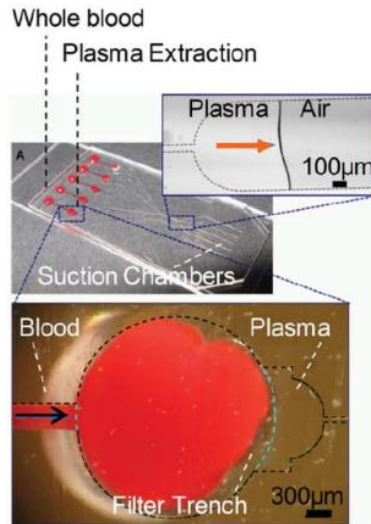


Figure 3 利用高低差的微槽獲得血漿之實驗結果 [9]

1.4.2 過濾法

過濾法為微量血液分離方法的另一種方法，過濾法的原理是基於血液中顆粒尺寸的差異並藉由控制過濾膜的孔隙做出選擇性分離。目前存在幾種微過濾器設計，它們的臨界孔徑、血液通過能力、捕獲或過濾效率各不相同。2016年時 Hisashi Shimizu 等人研究團隊利用微流體晶片結合多孔薄膜，透過 Saffman 升力將血球集中於微流道中心位置，接著利用多孔性薄膜將血漿濾出 [10]，如 Figure 4 所示。

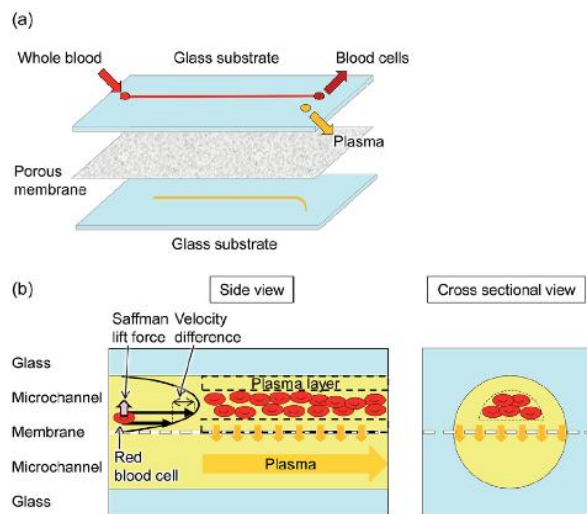


Figure 4 慣性微流體搭配多孔薄膜血液分離方法 [10]

2015 年時 Hojjat Madadi 等人研究團隊開發了將 MIMP (microchannel integrated micro-pillars) 薄膜結合微流體晶片，利用寬窄流道控制表面張力將血液自動吸入並將血球過濾 [11]，如 Figure 5 所示。

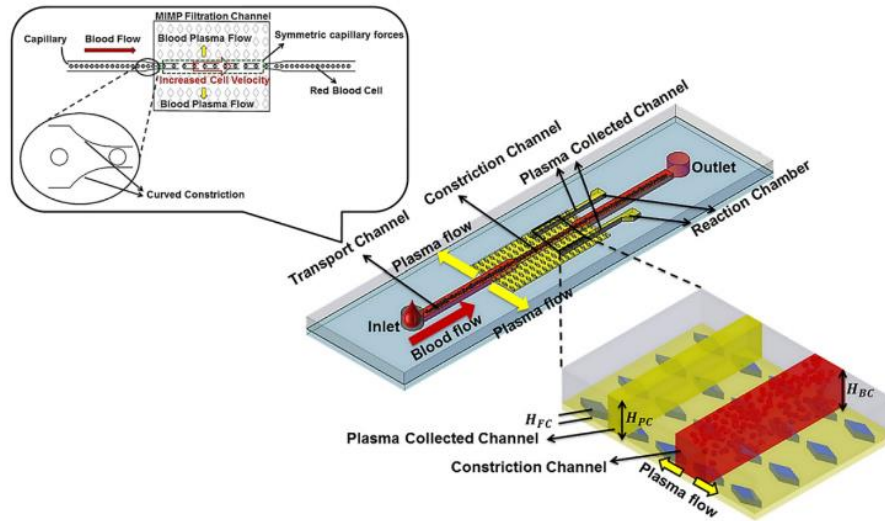


Figure 5 薄膜結合微流體晶片 [11]

2012 年 KH Chung 等人研究團隊利用永久磁鐵放在多層薄膜上並在薄膜下方以電磁鐵控制驅動力大小來擠壓薄膜將血液分離 [12]，如 Figure 6 所示，但血液中的蛋白容易在薄膜的孔隙上堆積進而堵塞影響分離效率。

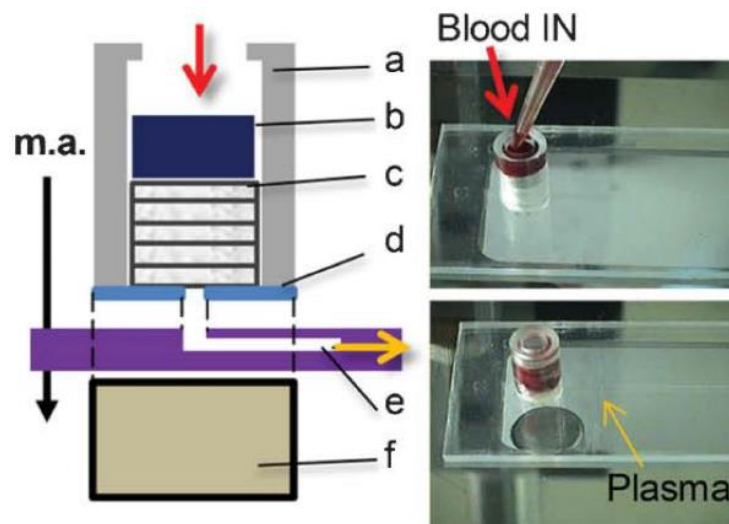


Figure 6 利用磁力驅動擠壓薄膜獲得血漿之實驗結果 [12]



1.4.3 微流體晶片法

微流體晶片法為根據不同的需求，以流體力學方法設計為流道的幾何將血球與血漿分離之方法。2016 年時 Byeongyeon Kim 等人研究團隊開發出 Smart Pipette，將市售針筒搭配 3D 列印幫浦並結合 PDMS 微流體晶片，利用微流體晶片上的微小斜槽使通過的全血進行血球血漿的篩選並流向不同的收集槽來完成血液分離 [13]，如 Figure 7 所示，但此裝置需要操作在特定的流量下，且在血漿收集的過程中，依然會夾帶一些血球，因此最終的到的血漿產率以及純度皆不高。

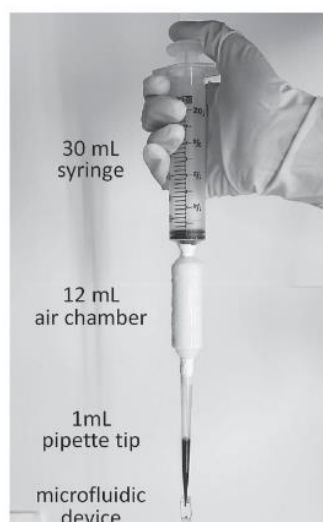


Figure 7 Smart Pipette [13]

2016 年時，Mehdi Rafeie 等人研究團隊利用螺旋微流體裝置中利用控制慣性力 (inertial force)與迪恩力 (Dean force)將血球集中在流道內側的單一平衡位置並在流道尾端分流，將血球與血漿分別收集到不同的區域 [14]，如 Figure 8 所示，但此微流體晶片需要操作在特定的流量下且需要較多的樣品來填滿流道以維持流體之連續性。

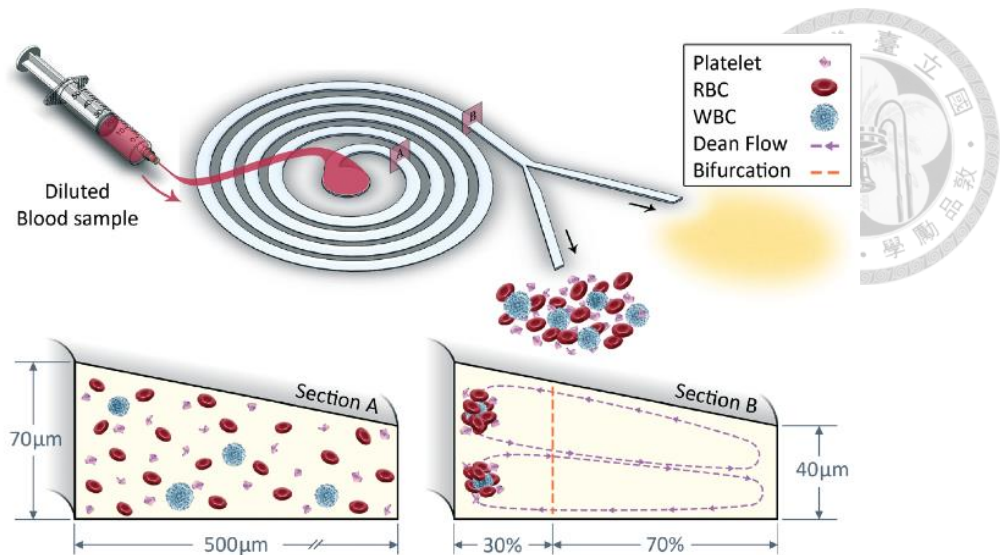


Figure 8 螺旋微流道結構 [14]

1.4.4 離心法

離心法為利用旋轉產生離心力使血液中的血球與血漿因為不同比重來將血液進行分離。2017年 M. Saad Bhamla 等人受到古代蜂鳴器玩具啟發開發出了無電池人力紙離心機 (paperfuge)，可將血液快速分離，並且成功的從血液中分離出瘧疾寄生蟲 [15]，如 Figure 9 所示，但該裝置缺乏穩定性且瞬時轉速過快易導致溶血現象產生。

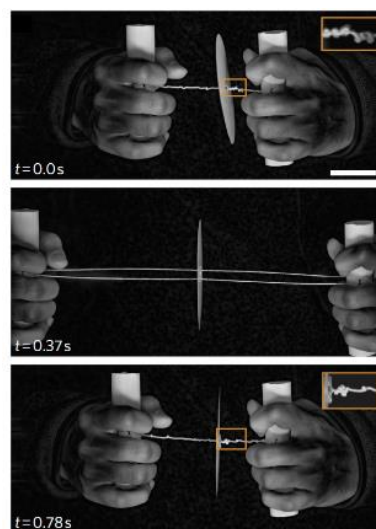


Figure 9 無電池人力紙離心機 (paperfuge) [15]

2018 年，本實驗室 Chao-Hsuan Liu 等人開發出了手動、不需電力之指尖陀螺為簡易離心平臺，能在數分鐘內完成使用採血針採血之體積的血液離心，且產率與純度分別可達 30%與 99%以上；而分離出來的血漿經過 HIV-1 p24 紙張酵素結合免疫吸附檢測 (Paper-based Enzyme-linked Immunosorbent Assay, p-ELISA)，檢測之回收率 (Recovery rate)可高達 98% [16]，如 Figure 10 所示，但此裝置需要進行多次旋轉且不同人之轉速差異性大，可能導致分離效果不一致。

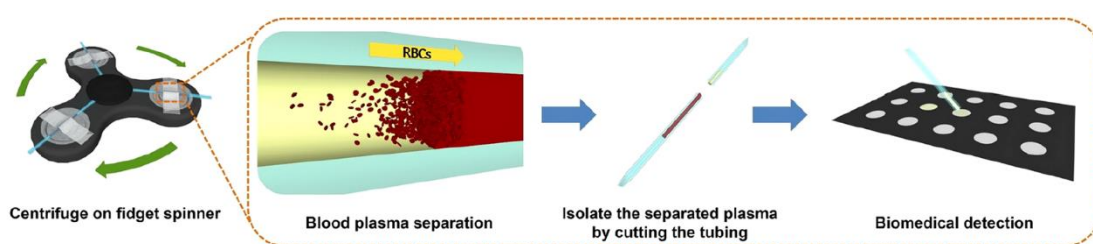


Figure 10 以指尖陀螺分離血液用於生醫檢測 [16]

1.5 本研究之血液分離平台

由先前提到的文獻可以了解目前為止血液分離的重要性以及在血液前處理遭遇的各種困境，有鑑於此，為此，本研究開發出不需電力、低成本之手動分離平台，以旋轉產離心力使血液血漿分離，並經由流場的設計進一步的增加血液血漿分離效率。

1.5.1 有關加速沉降的文獻回顧

1920 年時，Boycott 等人研究團隊發現，加入草酸鹽或纖維蛋白過後的血，放入窄管後，血球在傾斜窄管的沉降速度大於垂直窄管中 [17]。而之後在 1925 年時，Ponder 等人的研究團隊嘗試利用史托克流 (stokes flow) 以及幾何的角度解釋此現象，發現下方的沉降顆粒因為濃度梯度不同會想要佔據原本清液

層 (clear fluid layer)所在的區域而將之擠到頂部，進而使沉降速度加快。1977年時，Hill 等人的研究團隊發現粒子在具有特定形狀容器的液體中，沉降率會顯著提高，其原因為流場內部發生了全域對流 (global convection)對流，且當顆粒的體積分率約為體積的 0.05%時，對流速度達到顆粒沉降速度的 10 倍，沉降時間為無特定形狀容器的 40%，造成流場發生對流的原因為粒子動量向流體的傳遞，並利用連續介質力學方法成功地模擬了這種沉降對流。[18]，如 Figure 11 所示。

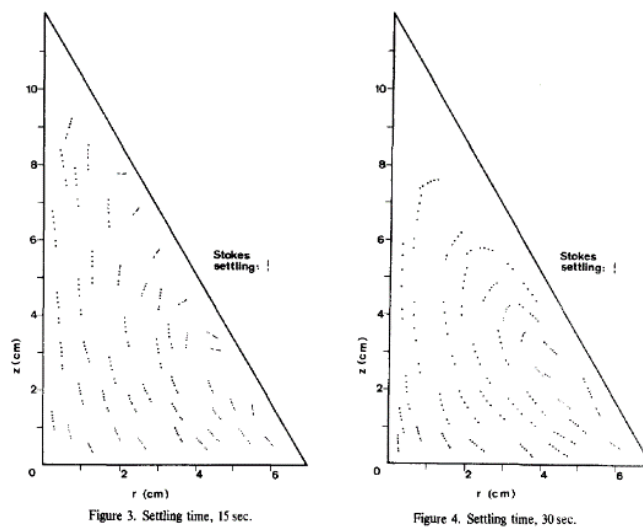


Figure 11 粒子在加速沉降過程中產生的對流現象 [18]

1978 年時，Andreas 等人嘗試以流體動力學的方法對此過程進行描述，發現角度的傾斜導致血漿因為浮力的關係沿著壁面往上跑，並且由於要符合連續方程式，原來的地方會有新的懸浮液補足，而因為此流場的顆粒雷諾數(Particle Reynolds Number, Re_p)很小，使清液層一旦離開了全血的區域後便無法再進入，因此清液層與懸浮液之交介面會為了防止清液層再次進入懸浮液而移動 [19]。



1.5.2 本研究實驗機制

本研究開發出不需電力、低成本之手動分離平台，利用旋轉產生的離心力將血球血漿分離，並嘗試利用 Boycott effect 的流體動力學機制 [17]概念，進一步提高血液分離的效率，不同的是，Boycott effect 的加速沉降機制是以重力作為加速沉降的驅動力，而本研究試著以離心力作為加速沉降的驅動力，預期在相同的離心力下提高血液血漿分離之速度 [18]，接著搭配 3D 列印技術與齒輪機構設計使系統效率提升進而使用者在現場即可快速完成血液分離，本平台的研究如所示。

第2章：實驗設置



2.1 實驗材料

手動風扇式血液血漿分離平臺 (自製)、離心機 (自製)、塑膠管 (旗友膠業)、透明膠帶、剪刀、防風打火機、電工鉗 (金興發生活百貨)、血液樣本 (臺灣大學保健中心協助提供)。

2.2 實驗設備

EDTA 紫頭採血管 (k2e 5.4 mg,3mL, bd, NJ)、3D 列印機 (UP!,Box+, Tiertime, China)、閃頻儀 (DT2234B, Lutron, Taiwan)、微量移液器 (apura 826 autoclavable 0.5-10 μ L XS, socorex, Swiss)、附錶式游標卡尺 (505-732 150mm / 0.01mm, Mitutoyo, Japan)、智慧型手機 (iphone 6 64 G, apple, CA)、螢光顯微鏡 (ix73, olympus, Japan)、附針注射針筒 (2.5mL With Needle, Terumo, Japan)。

2.3 實驗使用軟體

ImageJ、sigma plot、excel

2.4 實驗流程

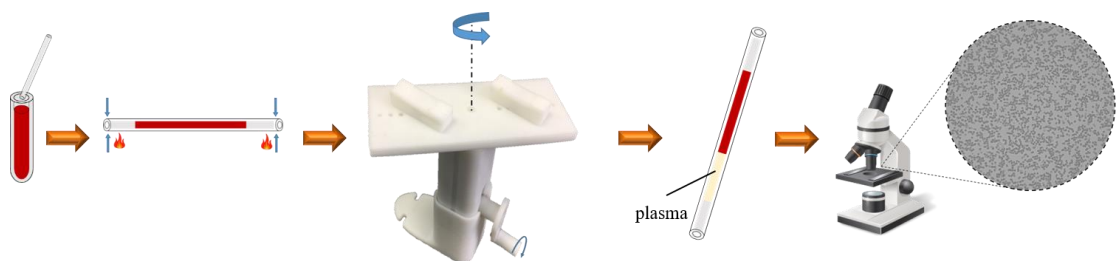
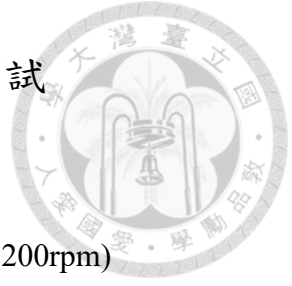


Figure 12 實驗步驟



2.5 旋轉半徑、水平偏擺角度、垂直偏擺角度測試

1. 於台大保健中心抽出 3 mL 血液至紫頭管後放入 4 °C 冰箱
2. 利用閃頻儀 (photo tachometer)將離心機固定於指定轉速 (2200rpm)
3. 利用剪刀將特定內徑塑膠管 (d=1 mm)裁剪 25 mm 長後以 70 %乙醇 (ethanol)消毒
4. 以微量移液器抽出特定體積 (10 μ L)後將全血注入塑膠管內中央位置
5. 以防風打火機將塑膠管兩端燒至融溶狀態後以電工鉗將管兩端壓平封死
6. 將裝有全血塑膠管以雙面膠帶固定於分離平台之上
7. 將分離平台固定於離心機上的特定旋轉半徑 (R)與水平偏擺角度 (θ)
8. 開啟離心機將全血進行分離 30 sec
9. 時間到時待離心機完全停止後利用 iphone 6 拍照
10. 利用游標卡尺測量血漿長度
11. 重複 11~13 共 10 次
12. 改變不同旋轉半徑以及角度重複 4~21
13. 將結果以 sigma plot 繪製成圖

2.6 半徑角度最佳化參數之旋轉方向、垂直傾角、轉

速、內徑測試

1. 於台大保健中心抽出 3 mL 血液至紫頭管後放入 4 °C 冰箱
2. 利用閃頻儀 (Photo tachometer)將離心機固定於特定轉速
3. 利用剪刀將特定內徑塑膠管裁剪 25 mm 長後以 70 %乙醇 (ethanol)消毒
4. 以微量移液器抽出特定體積 (10 μ L)將全血後注入塑膠管內中央位置
5. 以防風打火機將塑膠管兩端燒至融溶狀態後以電工鉗將管兩端壓平封死

6. 將裝有全血塑膠管以雙面膠帶固定於分離平台之上
7. 將分離平台固定於離心機上的最佳化旋轉半徑 ($R = 25 \text{ mm}$)與水平偏擺角度 ($\theta = 30^\circ$)
8. 利用離心機將全血 (逆時針)進行分離 30 sec
9. 時間到時待離心機完全停止後利用 iphone 6 拍照
10. 利用游標卡尺測量血漿長度
11. 重複 11~13 共 10 次
12. 改變手動分離平台之垂直偏擺角度 (φ)重複 4~21
13. 將結果以 sigma plot 繪製成圖
14. 改變離心機之轉速 (ω)重複 4~21
15. 將結果以 sigma plot 繪製成圖
16. 改變塑膠軟管之管徑 (d)重複 4~21
17. 將結果以 sigma plot 繪製成圖



2.7 平台穩定性測試

1. 於台大保健中心抽出 3 mL 血液至紫頭管後放入 4°C 冰箱
2. 利用剪刀將特定內徑塑膠管裁剪 25 mm 長後以 70 %乙醇 (ethanol)消毒
3. 以微量移液器抽出 $10 \mu\text{L}$ 全血後注入塑膠管內中央位置
4. 以防風打火機將塑膠管兩端燒至融溶狀態後以電工鉗將管兩端壓平封死
5. 將裝有全血塑膠管以雙面膠帶固定於手動風扇式血液血漿分離平臺之上
6. 將分離平台固定於離心機上的最佳化參數 ($R = 25 \text{ mm}, \theta = 30^\circ$)
7. 利用手動分離平台將全血(逆時針)進行分離 30 sec
8. 時間到時待離心機完全停止後利用 iphone 6 拍照
9. 利用游標卡尺測量血漿長度
10. 重複 11~13 共 10 次

第3章：結果與討論



3.1 實驗參數定義

在血液檢測時，需要純度較高的血漿避免在分析時產生基質效應 (matrix effect)，本研究中將定義血漿的純度以及產率兩參數，以作為分離平台的效能依據，首先，將血漿的純度定義為：

$$\text{血漿純度 (purity)} = \left(1 - \frac{\text{血漿萃取物中之紅血球個數}}{\text{全血萃取物中之紅血球個數}} \right) \times 100\%$$

而為了方便計算，我們將假設全血萃取物以及血漿萃取物中的紅血球是均勻分布於流場之中，故可將上式簡化為：

$$\text{血漿純度 (purity)} = \left(1 - \frac{\text{血漿影像中之紅血球個數}}{\text{全血影像中之紅血球個數}} \right) \times 100\%$$

接著我們將血漿產率的定義我們定義為：

$$\text{血漿產率 (yield)} = \frac{\text{血漿體積}}{\text{全血體積}} \times 100\%$$

而在本研究中，盛裝血液的容器皆為等截面積，在計算時可忽略截面積的變化，故可將上式簡化為：

$$\text{血漿產率 (yield)} = \frac{\text{血漿長度}}{\text{全血長度}} \times 100\%$$

3.2 旋轉半徑、水平偏擺角度、垂直偏擺角度測試

1920 年時 Boycott 等人發現，加入草酸鹽或纖維蛋白過後的血，放入窄管後，血球在傾斜窄管的沉降速度大於垂直窄管中，此加速沉降之現象稱為 Boycott effect [23]，而本研究即是透過此概念，猜想是否能將此加速沉降的現象運用於離心分離血液。

為了證明此猜想，首先設定血液在管中的中心點至分離平台圓心為旋轉半徑 R ，並設血液與平台的水平偏擺角度為 θ ，如 Figure 13 (A) 所示，之後設血液與平台的垂直偏擺角度為 φ ，接著將平台轉速固定於 2200 rpm，透過不同的旋轉半徑 ($R = 15 \text{ mm}$ 、 25 mm 、 35 mm 、 45 mm)、水平偏擺角度 ($\theta = 0^\circ$ 、 15° 、 30° 、 45° 、 60° 、 75°)、垂直偏擺角度 ($\varphi = 0^\circ$ 、 15° 、 30° 、 45° 、 60° 、 75°)，觀察產率對時間的變化。

為了確認是否可以將 Boycott effect 的加速沉降概念運用於離心血液分離，由於在文獻回顧中我們知道，相關的研究是以重力作為整個沉降流場的驅動力來源，故本研究試著把離心力作為流場的驅動力，並依據機構所需要的設計找出最佳分離半徑與偏擺角度。

Figure 13 為不同旋轉半徑以及水平偏擺角度的分離結果之時間對產率關係圖，分別為(A) $R=15 \text{ mm}$ (B) $R=25 \text{ mm}$ (D) $R=35 \text{ mm}$ (E) $R=45 \text{ mm}$ ，而每張圖依據不同顏色來區分不同偏擺角度 (紅 = 0° 、綠 = 15° 、黃 = 30° 、紫 = 45° 、粉紅 = 60° 、藍 = 75°) 的分離結果。由 Figure 13 結果數據我們可以很清楚的看出，在固定的旋轉半徑以及轉速的情況下，同一時間的血液分離產率會隨著角度的改變產生不同的變化，此實驗結果驗證了前述之猜想，證明 Boycott effect 不僅發生於重力沉降，亦會在離心分離中得到相似的加速沉降的趨勢 [23]。而為了使系統在擁有高產率的情況底下同時體積方便攜帶，故選擇旋轉半徑 $R = 25 \text{ mm}$ 、偏擺角度 $\theta = 60^\circ$ 作為此實驗的最佳化參數。接著我們想進一步了解，在同樣的旋轉半徑下，改變垂直偏擺角度對於分離的影響，與改變水平偏擺角度有何差別，固設定旋轉半徑為 25 mm 的情況下，在不改變水平偏擺角度的情況下 ($\theta = 0^\circ$)，觀察改變垂直偏擺角度對分離結果的影響，Figure 14 (A) 為垂直偏擺角度參數定義圖，Figure 14 (B) 為 $R = 25 \text{ mm}$ 、 $\theta = 0^\circ$ 之不同垂直角度分離時間與產率之關係 Figure 14 (C) 為 $R = 25 \text{ mm}$ 、 $\theta = 0^\circ$ 之不同垂直角度之血液分離照片。比對 Figure 13 (B) 與 Figure 14 (C) 的實驗結果可以看出，在固定旋轉半

徑的情況下 ($R = 25 \text{ mm}$)，僅改變水平偏擺角度或僅改變垂偏擺角度對於分離效率皆有提升的效果，且在同樣旋轉半徑下不同方向同樣偏擺角度，在產率的變化上是相似的，例如： $\theta = 30^\circ$ 與 $\varphi = 30^\circ$ ，而根據文獻研究顯示，在水平或是垂直偏擺角度為 15° 時能夠產生最大的全域對流，但是由於血球在介面上造成的剪應力作用也較強，這種剪應力作用導致介面形成克耳文-亥姆霍茲不穩定性 (Kelvin - Helmholtz instability)，進而使整體分離效果的提升較小；而相對來說，當偏擺角度變大時，雖然對流變小，但介面上的剪應力作用下降更多，使得介面上的不穩定性降低，導致整體分離效果提升 [19]。最後補充說明一點，在水平或是垂直偏擺角度的選擇上並沒有加入角度為 90° 作為本研究的實驗參數，原因是因為在此角度的實驗過程中，會因血液受到的離心力方向的不同，而導致除血管內的血液因此而被分為兩截，如 Figure 15 所示。

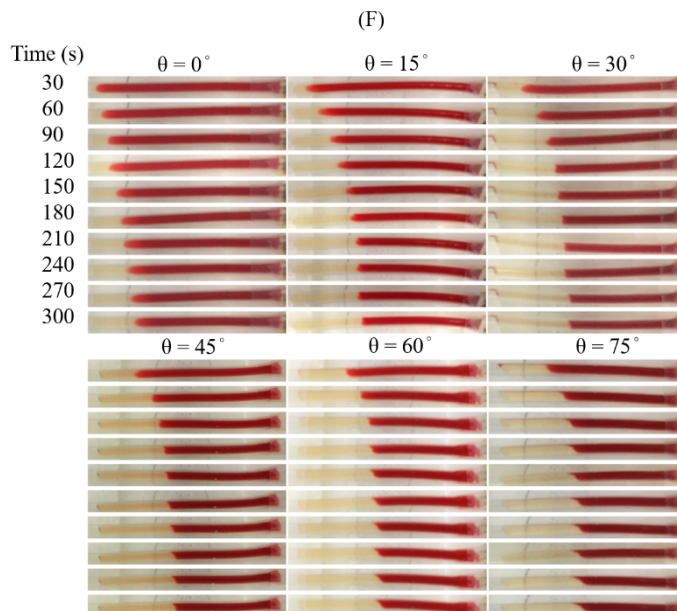
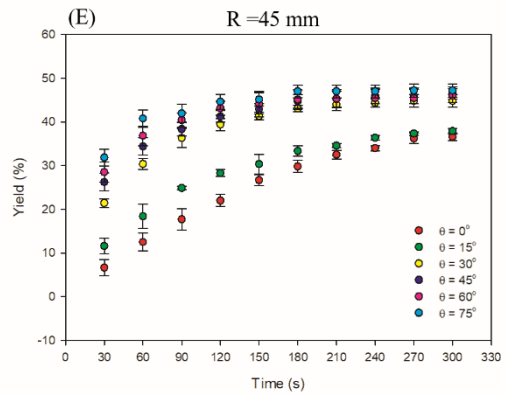
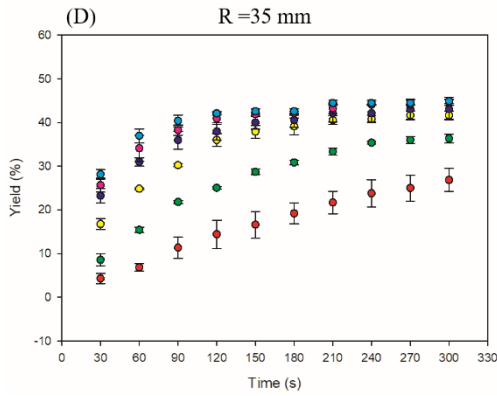
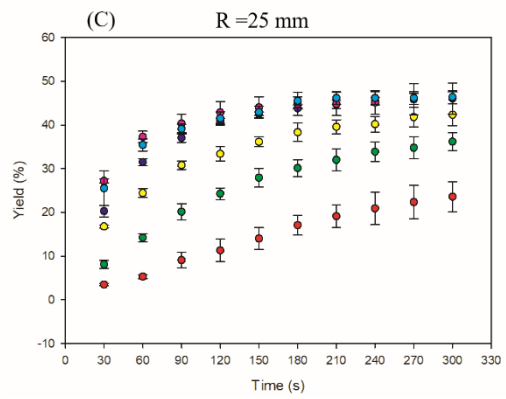
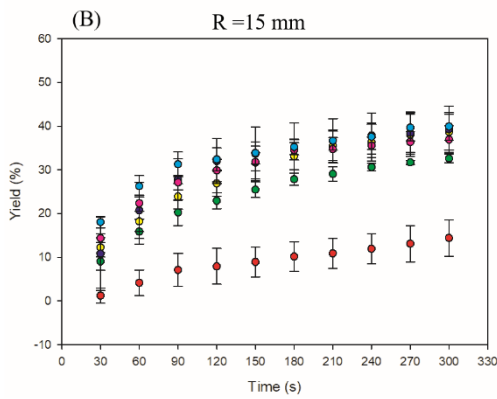
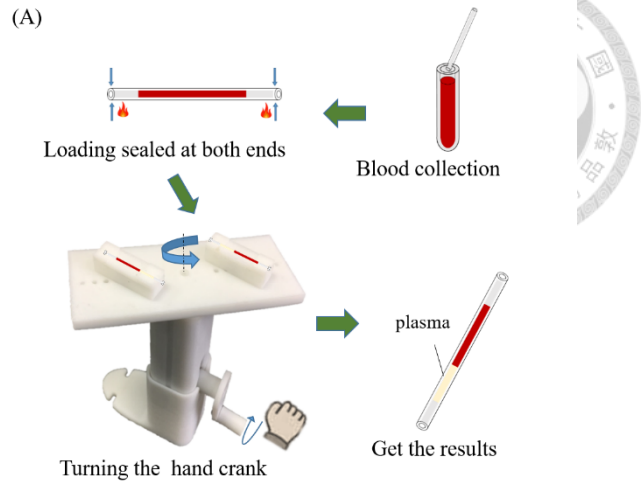
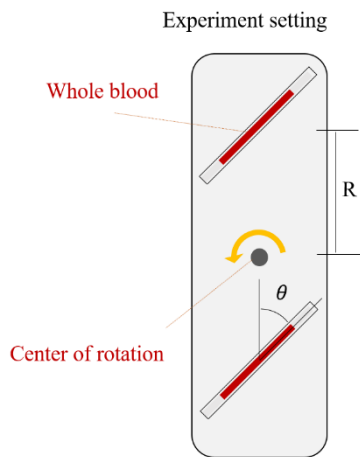


Figure 13 旋轉半徑 (R)、水平偏擺角度 (θ) 測試 (A) 參數定義與實驗步驟圖 (B) R=15 mm (C) R=25 mm (D) R=35 mm (E) R=45 mm 之分離時間與產率之關係圖 (F) 之血液分離照片最佳化參數測試

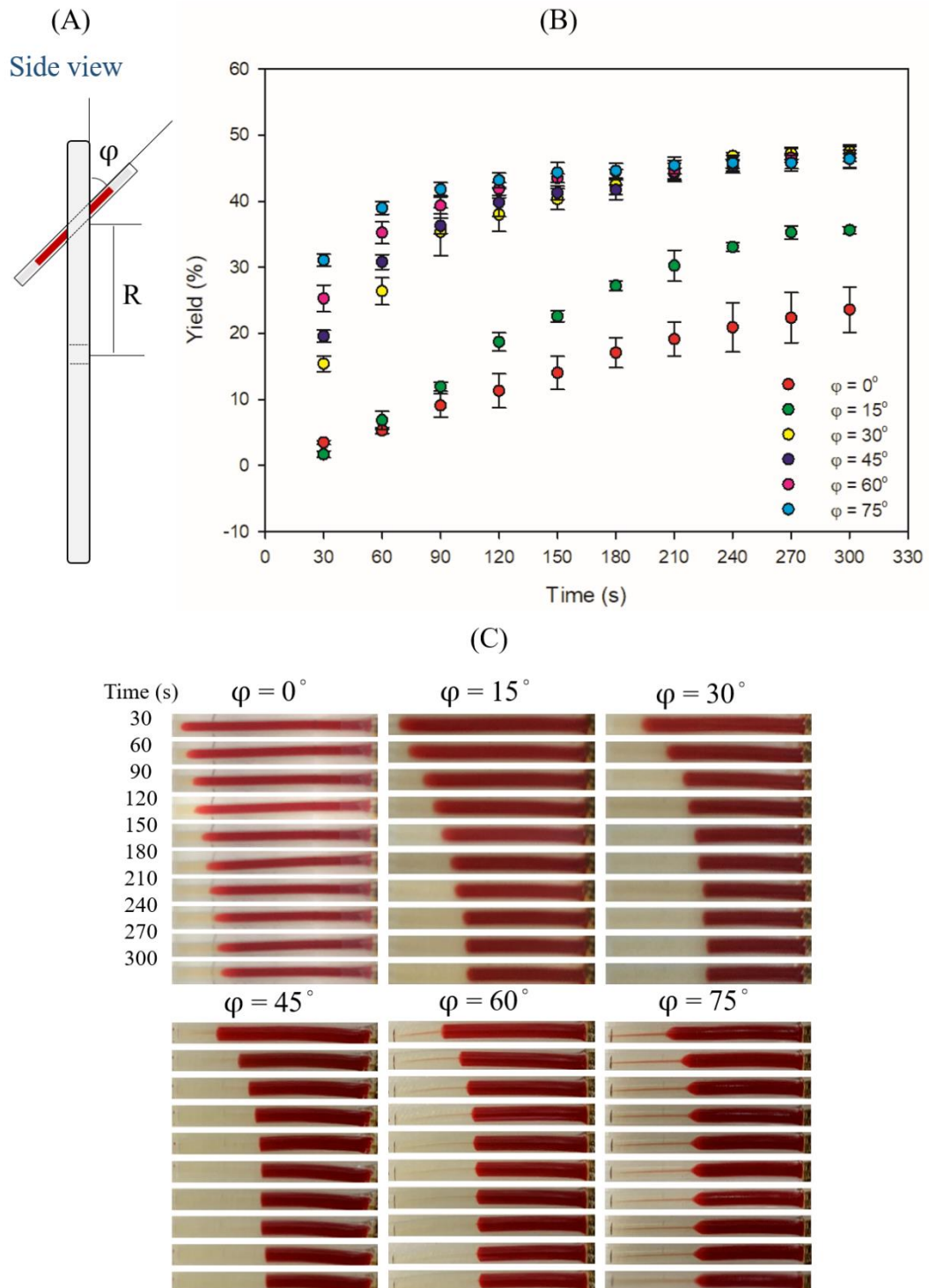


Figure 14 垂直偏擺角度測試 (A) 垂直偏擺角度參數定義圖 (B) R=25 mm 之不同垂直偏擺角度分離時間與產率之關係圖 (C) R=25 mm 之不同垂直角度之血液分離照片



Figure 15 血液因離心力方向不同而分為兩段



3.3 半徑角度最佳化參數之旋轉方向、垂直傾角、轉

速、內徑測試

在測試完不同的旋轉半徑 (R)、水平偏擺角度 (θ)、垂直偏擺角度 (φ)之時間對於產率的變化關係後，本研究考慮平台的最小化以及產率的最大化以符合 POC 的宗旨，以旋轉半徑 (R)為 25 mm、水平偏擺角度 (θ)為 60° 作為 R、 θ 測試之最佳化參數，而決定了此參數之後，接著便要以這個參數進行平台各種條件的最佳化。

首先，為了測試旋轉方向對分離結果所產生的影響，本研究針對不同的旋轉方向進行實驗，並且分別記錄了順、逆時針旋轉時，在不同時間的產率變化。接著，由於平台是採取水平旋轉的方式來進行分離，故為了測試垂直傾角對分離結果所產生的影響，將平台以不同的垂直傾角 ($\varphi = 0^\circ$ 、 15° 、 30° 、 45° 、 60° 、 75°) 進行旋轉實驗，並記錄不同時間的產率變化。又因本平台最終希望以不需電力的方式，以手動旋轉的方式進行分離，然而在旋轉半徑固定的條件下須產生超過 1000 rpm 的轉速方能將血液分離，因此本研究的做法是設計一齒輪機構，以增大齒比的設計來實現將手動旋轉的轉速放大成能夠進行血液分離，本研究測試了不同轉速 ($\omega = 1000$ rpm、1500 rpm、2000 rpm、2500 rpm、3000 rpm)的實驗，並記錄不同時間的產率變化，以找出最合適的轉速區間做為齒比設計的參考。最後，本研究想要探討不同幾何條件對於分離結果的影響，因此將血液注入不同內徑 ($d = 1$ mm、1.3 mm、1.8 mm)的塑膠軟管中進行血液分離的實驗，並記錄不同時間的產率變化。

Figure 16 為最佳化參數測試的實驗結果，Figure 16 (A)為根據旋轉半徑、水平偏擺角度、垂直偏擺角度測試所挑選出的最佳化參數示意圖。Figure 16 (B)

分別為順、逆時針旋轉對於分離結果的比較，由實驗結果可以看出，旋轉的方向對於分離結果的差異很小，因此本平台並無使用者慣用手或是旋轉方向的限制。Figure 16 (C) 分別為不同的垂直傾角對於分離結果的比較，從實驗結果可以看出，改變垂直傾角對分離的結果並無太大的差異，因此選擇了垂直角度 (φ) 為 0° 作為最佳化的結果。Figure 16 (D) 分別為不同的轉速對於分離結果的比較以及齒輪機構示意圖，由實驗結果可以明顯的看出，在轉速為 2500 rpm 到 3000 rpm 的區間，分離產率的標準差相對較小，故將此做為本平台的最佳化轉速區間，接著利用齒輪機構的方式，以 37.91 的齒比增加平台的轉速，讓使用者能以一秒鐘手持曲柄轉一圈的轉速輸入即可使平台輸出 2500 rpm 以上的轉速。Figure 16 (E) 分別為不同的內徑對於分離結果的比較以及(F) 血液分離照片，由實驗結果以及血液的實際照片可以看出，在內徑為 1 mm 時的分離效果最佳，因此將內徑 (d)1 mm 作為最佳化之參數。

測試完最佳化參數之後，依據這些參數建構一手動血液血漿分離平臺，利用手動風扇的概念以 solid works 繪圖軟體與 FDM (Fused Deposition Modeling) 3D 列印技術製出手動風扇式血液血漿分離平臺，如 Figure 17 所示。

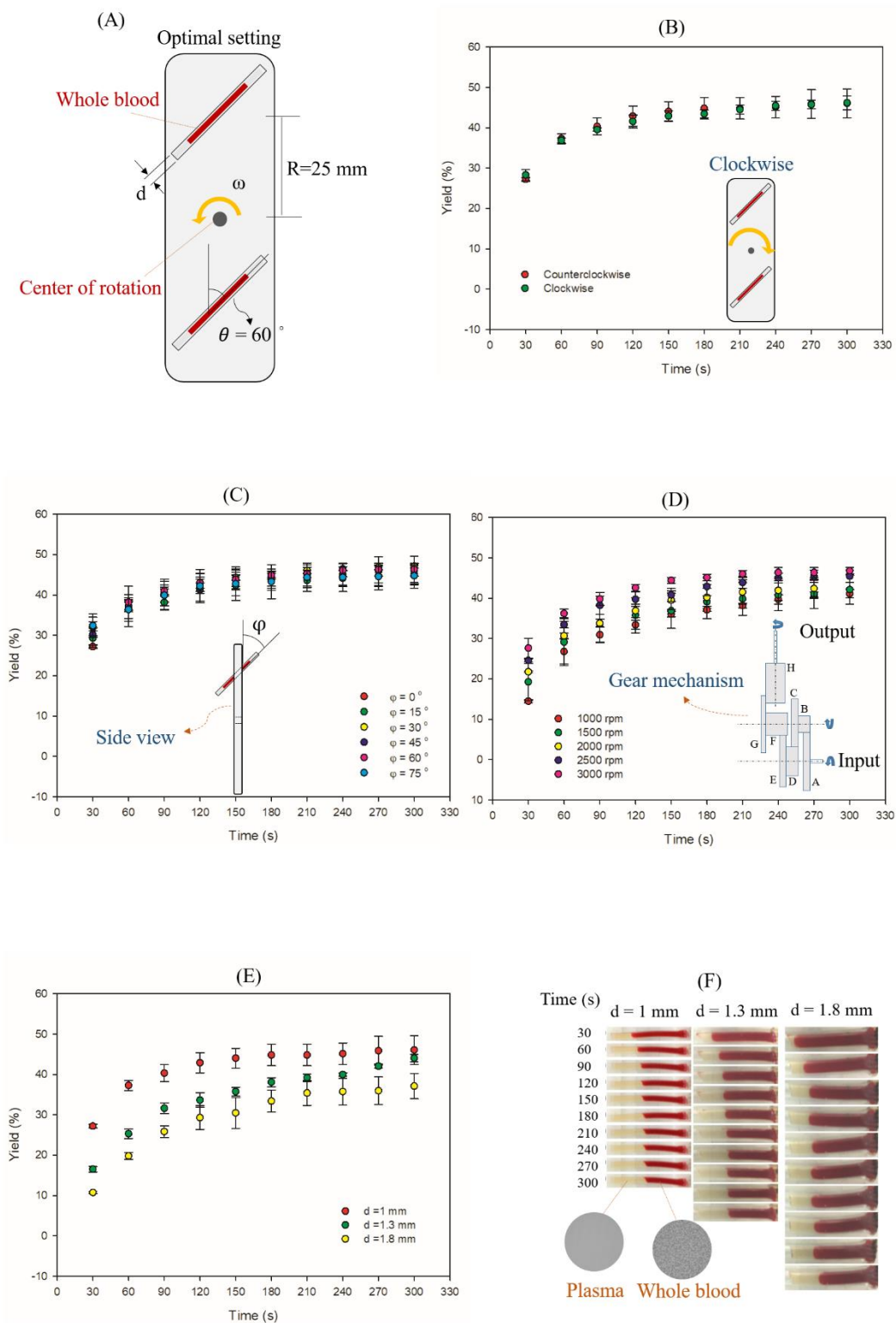


Figure 16 最佳化參數測試 (A) 最佳化參數設定 (B) 旋轉方向測試之分離時間與產率之關係圖 (C) 垂直傾角測試之分離時間與產率之關係圖 (D) 轉速測試之分離時間與產率之關係圖 (E) 內徑測試之分離時間與產率之關係圖 (F) 內徑測試之血液分離照片與顯微鏡放大圖

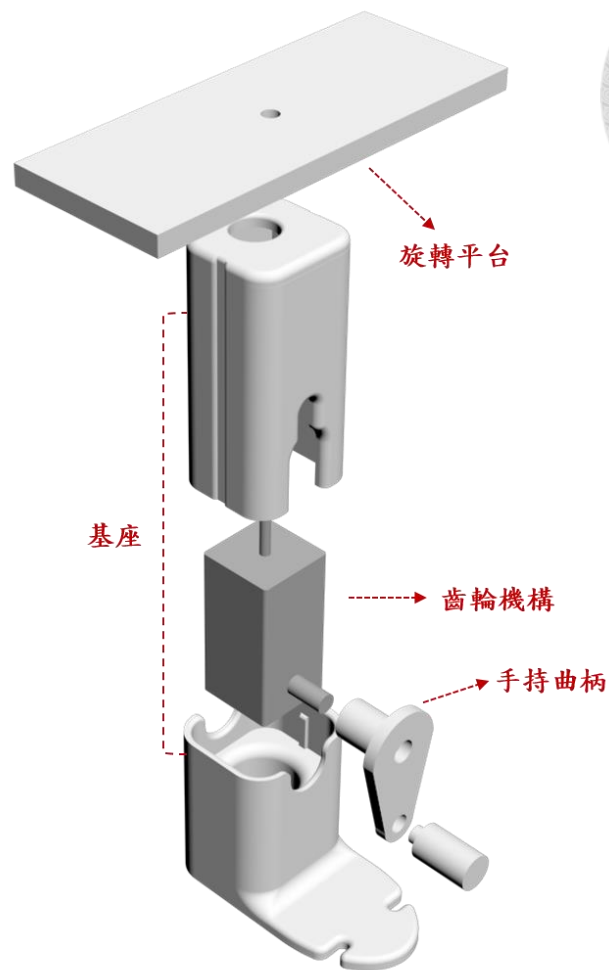


Figure 17 手動風扇式血液血漿分離平臺機構爆炸圖

3.4 平台穩定性測試

根據最佳化測試的實驗結果，以 FDM 3D 列印技術設計出不需電力之手動分離平台後，需要針對平台進行穩定性實驗，確保即使平台在不同的使用者手上使用，都能夠有良好的一致性。

血液的成分非常複雜，在不同的生理狀態下，血液的密度 (density)、黏滯細數 (viscosity)、血溶比 (hematocrit) 等等參數皆有所不同，因此本研究收集三個不同人的血液 (HCT = 45.3 %、47.9 %、48.3 %) 作為分離平台的樣本，並

記錄不同時間的產率變化，測試不同血液對於分離效果的影響，並利用顯微鏡觀察不同血液樣本在分離前與分離後微觀影像的差異。又本平台的旋轉並非仰賴電力，僅依靠使用者的手做為能量來源，故需考慮在不同使用者使用的情況下，仍舊能維持穩定的分離結果，因此本研究針對了三個不同使用者進行測試，並記錄不同使用者在使用的過程中不同時間下的平台轉速以及產率變化。最後由於不同種類的血液檢測所需要的血液量並不相同，而前述實驗的血液量皆屬於微升尺度，因此本平台針對體積為 1.5 mL 的血液樣本進行分離，並記錄不同時間下的產率變化。

Figure 18 為平台穩定性測試的實驗結果，Figure 18 (A)為將分離好的血液送到顯微鏡觀察的實驗步驟示意圖。Figure 18 (B)分別為不同人的血液對於分離結果的比較。Figure 18 (C)分別為不同人血液之分離前後的顯微鏡照片。由 Figure 18 (B)的實驗結果可以看出，不同的血液經本平台分離後的結果具有良好的的一致性，且由 Figure 18 (C)可以看出不同的血液皆可分離出純度達 99.9 % 的血漿。下圖 Figure 18 (D)分別為不同人使用本平台對於分離結果的比較以及分離前後顯微鏡照片。下圖 Figure 18 (E) 為不同人使用本平台之時間對轉速關係圖。由 Figure 18 (D)之實驗結果可以看出，使用過本平台的 user A 以及從未使用過本平台的 user B、user C 所分離出來的結果並無太大的差異，而從 Figure 18 (E)的實驗結果來看，最高轉速由大而小依序是 user A、user C、user B，並皆能在整個過程中保持在接近最高轉速。而 Figure 19 為大體積測試之實驗結果，由 Figure 19 (A)可以看出，將血液樣本體積加大至 1.5 mL 的分離結果與微量體積的分離結果相比，在 150 秒以前的產率較小，但在 150 秒之後仍舊而分離出產率 40 % 以上的血漿，證明了本平台可同時適用於分離不同體積的血液樣本，而由 Figure 19 (B)血液分離照片可以看出，由於偏擺角度的關係，有些許的紅血球會殘留在壁面上，但這並不影響血漿的品質。

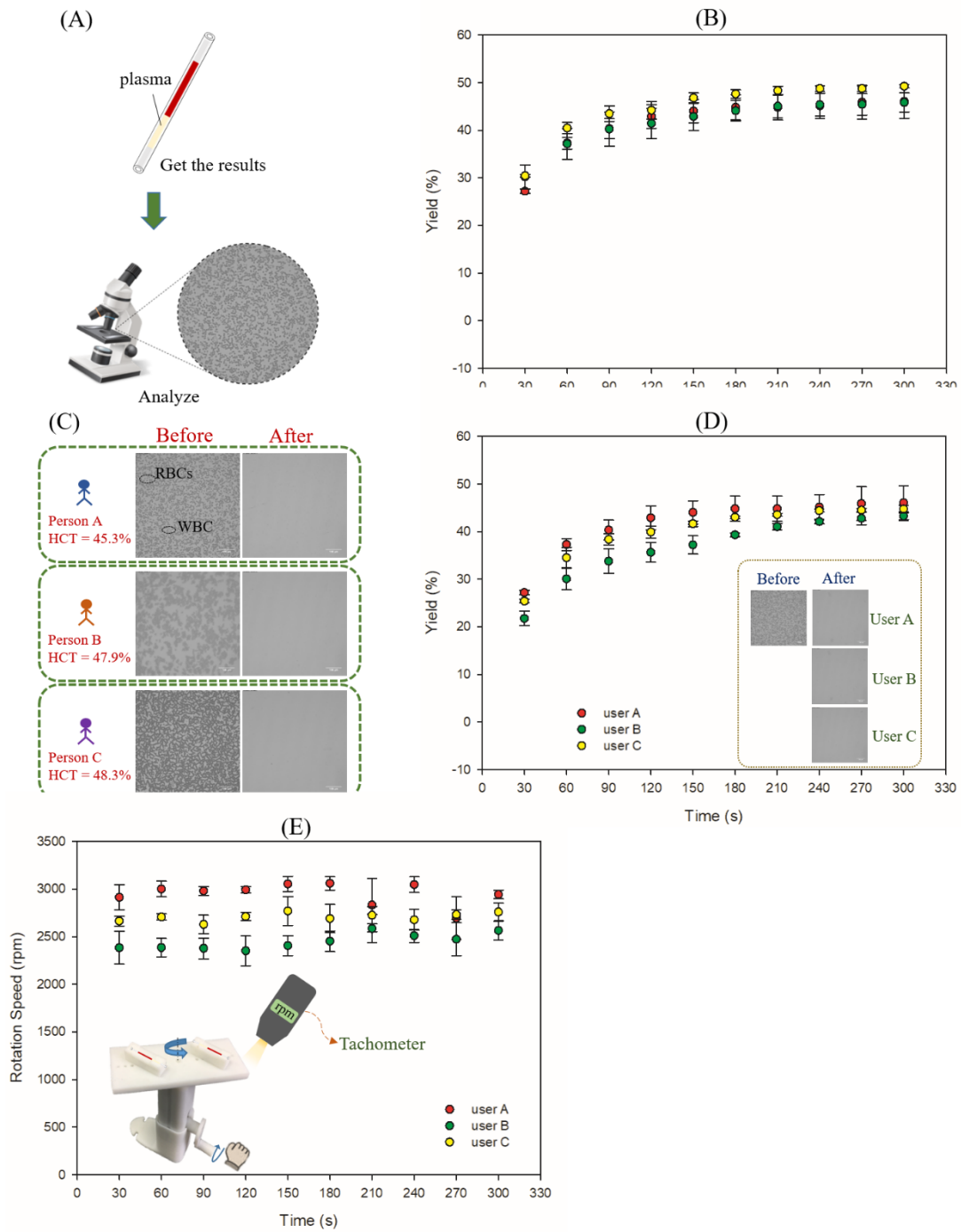


Figure 18 平台穩定性測試 (A) 血液純度測試 (B) 不同血液測試之分離時間與產率之關係圖 (C) 不同血液之分離前後顯微鏡照片 (D) 不同使用者測試之分離時間與產率之關係圖 (E) 不同使用者之時間與轉速關係圖

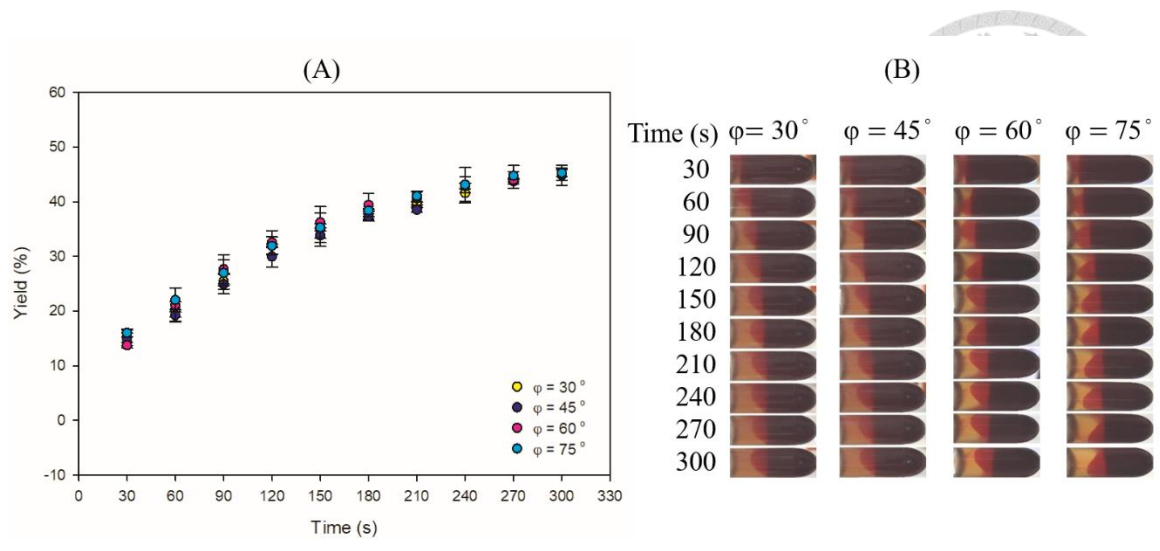



Figure 19 1.5 mL 血液樣本測試 (A) 1.5 mL 血液樣本測試之分離時間與產率之關係圖 (B)血液分離照片

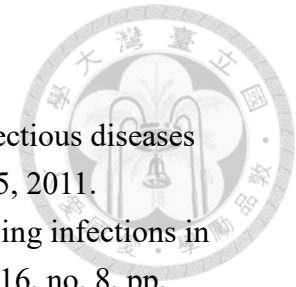
第4章：結論



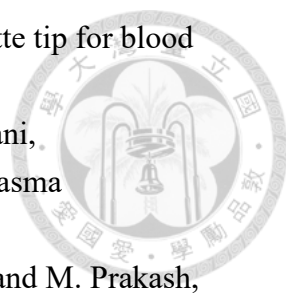
本研究成功開發出不需電力，並結合離心旋轉、齒輪齒比設計、Boycott effect 的力學機制、3D 列印製造技術之低成本手動分離平台，並探討其平台之分離參數與分離效能，包括偏擺角度轉速幾何尺寸等等，亦以不同的血液以及使用者探討了本平台的穩定性，證明此平台具備了價錢的可承受性 (Affordable)、使用方便性 (User-friendly)、可攜帶性(Deliverable)、便利性 (Equipment-free)等特性，其平台之最佳化結果顯示，在旋轉半徑 (R)為 25 mm、水平偏擺角度 (θ)為 60° 、垂直偏擺角度 (φ)為 0° 、內徑 (d)為 1mm 便能使分離後血液之血漿產率及純度達 46 %與 99.9 %以上，此外本平台具有相當好的穩定性，分離的結果並不會隨著不同的血液參數而造成差距很大的結果，而即使是初次使用本平台的使用者，亦能不須練習立即的分離出相似的結果，表示此平台並不需要經過練習即可自行完成分離，不存在熟練度之間的差距，並且，本平台進一步證明了適用於分離不同體積量的血液樣本，成功地實現了使用方便性 (User-friendly) [3]。

本研究主要為針對平台本身的各種參數對於分離產率結果的探討，但皆只針對血液一種流體，爾後可以將之拓展，探討本平台在不同流體的分離。另一方面，亦能利用此平台的，將本平台與生醫相關檢測結合，進而創造更佳方便的裝置。

參考文獻



- [1] C. D. Chin *et al.*, "Microfluidics-based diagnostics of infectious diseases in the developing world," *Nature medicine*, vol. 17, no. 8, p. 1015, 2011.
- [2] R. Peeling and D. Mabey, "Point-of-care tests for diagnosing infections in the developing world," *Clinical microbiology and infection*, vol. 16, no. 8, pp. 1062-1069, 2010.
- [3] N. P. Pai, C. Vadnais, C. Denking, N. Engel, and M. Pai, "Point-of-care testing for infectious diseases: diversity, complexity, and barriers in low-and middle-income countries," *PLoS medicine*, vol. 9, no. 9, p. e1001306, 2012.
- [4] M. Kersaudy-Kerhoas and E. Sollier, "Micro-scale blood plasma separation: from acoustophoresis to egg-beaters," *Lab on a Chip*, vol. 13, no. 17, pp. 3323-3346, 2013.
- [5] N. Psychogios *et al.*, "The human serum metabolome," *PloS one*, vol. 6, no. 2, p. e16957, 2011.
- [6] J. Wagner, "Free DNA—new potential analyte in clinical laboratory diagnostics?," *Biochemia medica: Biochemia medica*, vol. 22, no. 1, pp. 24-38, 2012.
- [7] D. I. Walsh III, D. S. Kong, S. K. Murthy, and P. A. Carr, "Enabling microfluidics: from clean rooms to makerspaces," *Trends in biotechnology*, vol. 35, no. 5, pp. 383-392, 2017.
- [8] M. Sun, Z. S. Khan, and S. A. Vanapalli, "Blood plasma separation in a long two-phase plug flowing through disposable tubing," *Lab on a Chip*, vol. 12, no. 24, pp. 5225-5230, 2012.
- [9] I. K. Dimov, L. Basabe-Desmonts, J. L. Garcia-Cordero, B. M. Ross, A. J. Ricco, and L. P. Lee, "Stand-alone self-powered integrated microfluidic blood analysis system (SIMBAS)," *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 5, pp. 845-850, 2011.
- [10] H. Shimizu, M. Kumagai, E. Mori, K. Mawatari, and T. Kitamori, "Whole blood analysis using microfluidic plasma separation and enzyme-linked immunosorbent assay devices," *Analytical Methods*, vol. 8, no. 42, pp. 7597-7602, 2016.
- [11] S. Tripathi, Y. B. V. Kumar, A. Prabhakar, S. S. Joshi, and A. Agrawal, "Passive blood plasma separation at the microscale: a review of design principles and microdevices," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 25, no. 8, p. 083001, 2015.
- [12] K. H. Chung *et al.*, "Magnetically-actuated blood filter unit attachable to pre-made biochips," *Lab on a Chip*, vol. 12, no. 18, pp. 3272-3276, 2012.

- 
- [13] B. Kim and S. Choi, "Smart pipette and microfluidic pipette tip for blood plasma separation," *Small*, vol. 12, no. 2, pp. 190-197, 2016.
- [14] M. Rafeie, J. Zhang, M. Asadnia, W. Li, and M. E. Warkiani, "Multiplexing slanted spiral microchannels for ultra-fast blood plasma separation," *Lab on a Chip*, vol. 16, no. 15, pp. 2791-2802, 2016.
- [15] M. S. Bhamla, B. Benson, C. Chai, G. Katsikis, A. Johri, and M. Prakash, "Hand-powered ultralow-cost paper centrifuge," *Nature Biomedical Engineering*, vol. 1, no. 1, p. 0009, 2017.
- [16] C.-H. Liu *et al.*, "Blood Plasma Separation Using a Fidget-Spinner," *Analytical chemistry*, vol. 91, no. 2, pp. 1247-1253, 2018.
- [17] A. Boycott, "Sedimentation of blood corpuscles," *Nature*, vol. 104, no. 2621, p. 532, 1920.
- [18] W. D. Hill, R. Rothfus, and K. Li, "Boundary-enhanced sedimentation due to settling convection," *International Journal of Multiphase Flow*, vol. 3, no. 6, pp. 561-583, 1977.
- [19] A. Acrivos and E. Herbolzheimer, "Enhanced sedimentation in settling tanks with inclined walls," *Journal of fluid mechanics*, vol. 92, no. 3, pp. 435-457, 1979.