

Research Article



DOI: 10.22034/ijche.2023.393441.1303



This journal is an open access journal licensed under an Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International license (CC BY-NC-ND 4.0).

Simulation, Assessment, and Improvement of a Microfluidic Chip Used for Motile-Sperms Separation

L. Dalir¹, S. Omidi¹, M. Saadatmand^{2*}, F. Heidari³

1- B. Sc. Student of Chemical Engineering, Sharif University of Technology

2- Assistant Professor of Chemical Engineering, Sharif University of Technology

3- M. Sc. Student of Chemical Engineering, Sharif University of Technology

Email: m.saadatmand@sharif.edu

Abstract

Nowadays, infertility is one of the significant concerns of the World Health Organization (WHO), contributing to a large portion of its annual expenditure. Recent studies reveal that approximately 15% of couples worldwide (more than 50 million couples) encounter infertility problems that are caused by defects in the male or female fertility factors. Although medical advancements have successfully helped a lot of couples with their infertility by assisted reproductive technologies (ART), sperm selection, a crucial stage in ART, has remained challenging. Microfluidic devices are systems that control the movement of minute amounts of fluid using channels in micrometer dimensions, which have a wide range of applications, especially in medicine. This technology can help to enhance the quality of sorted sperm and be applied to boost our knowledge of sperm behavior and effects of different sperm selection mechanisms within the ART. Here, the efficiency of a microfluidic device having an application in the separation of motile sperm was studied using computational fluid dynamics method and its two-phase-flow module. Laminar flow and Level-set modules were used in this simulation. The mentioned device has three input and three output channels, two channels for sample media and one for buffer. Furthermore, it has a main separation channel, which width becomes wider gradually from the beginning to the end. Thus, output channels have wider width. After simulation, the results were validated using the results of previous experimental and simulation works in this matter. Afterward, to increase the device's efficiency, the width of the output channel used for the buffer is being altered which prevents the wasting of the motile sperm in buffer. Simulation has shown that increasing the buffer output's width by 4 times of input fluids channel's width would cause decreasing the volume fraction of buffer in sample's outlet to 1%. Therefore, this geometry is presented as the appropriate geometry for separation of motile sperm. In further studies, it is suggested that the last device be manufactured and studied to be validated its efficiency by experiment.

Received: 16 April 2023

Accepted: 13 August 2023

Page Number: 69-80

Keywords:

Microfluidics,
Infertility,
Motile Sperm,
Simulation,
Two-Phase Flow

Please Cite this Article Using:

Dalir, L., Omidi, S., Saadatmand, M., & Heidari, F. (2024). Simulation, Assessment, and Improvement of a Microfluidic Chip Used for Motile-Sperms Separation. *Iranian Chemical Engineering Journal*, 23(134), 69-80, [In Persian].



شبیه‌سازی، ارزیابی و بهبود تراشه ریزسیالی برای جداسازی اسپرم‌های متحرک

لعیا دلیر^۱، سعید امیدی^۱، مریم سعادت‌مند^{۲*}، فرانک حیدری^۳

۱- دانشجوی کارشناسی مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف

۲- استادیار مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی شیمی، دانشگاه صنعتی شریف

پیام نگار: m.saadatmand@sharif.edu

چکیده

سامانه‌های ریزسیال، سیستم‌هایی هستند که در آن‌ها مقادیر بسیار کم سیال به وسیله کانال‌هایی در ابعاد میکرومتر کنترل می‌شود. در این پژوهش، کارکرد یک سامانه ریزسیال برای جداسازی اسپرم‌های متحرک با شبیه‌سازی به وسیله روش دینامیک سیالات محاسباتی و استفاده از ماژول جریان دوفازی، بررسی شده است. این تراشه، دارای سه کانال ورودی و سه کانال خروجی است که در این هندسه، عرض کانال اصلی در انتهای کانال نسبت به ابتدای آن افزایش یافته است. در ادامه، برای بهبود بازدهی تراشه، عرض کانال جمع‌آوری بافر تغییر داده شده است تا از هدررفت بافر حاوی اسپرم‌های متحرک جلوگیری شود و بازدهی جداسازی افزایش یابد. مشاهده شده است که با ۴ برابر کردن عرض کانال خروجی بافر نسبت به عرض کانال‌های ورودی، حجم بافر در کانال خروجی نمونه به ۱ درصد کاهش پیدا می‌کند و این طرح به عنوان طرح مناسب برای جداسازی اسپرم‌های متحرک انتخاب شده است.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۲۲

شماره صفحات: ۶۹ تا ۸۰

کلیدواژه‌ها:

ریزسیال،

ناباروری،

اسپرم‌های متحرک،

شبیه‌سازی،

جریان دوفازی

* تهران، دانشگاه صنعتی شریف، دانشکده مهندسی شیمی و نفت

استناد به مقاله:

دلیر، لعیا، امیدی، سعید، سعادت‌مند، مریم، و حیدری، فرانک. (۱۴۰۳). شبیه‌سازی، ارزیابی و بهبود تراشه ریزسیالی برای جداسازی اسپرم‌های متحرک، نشریه مهندسی شیمی ایران، ۲۳(۱۳۴)، ۶۹-۸۰.

ناباروری^۱ بیماری‌ای است که به‌عنوان ناموفق‌بودن یک زوج در رسیدن به حاملگی بالینی پس از ۱۲ ماه مقاربت منظم و محافظت‌نشده توصیف شده‌است. آمار سازمان بهداشت جهانی نشان می‌دهد که این بیماری بین ۸ تا ۱۰ درصد زوج‌های جهان را که در سنین باروری به سر می‌برند تحت تأثیر قرار داده‌است [۳-۱]. مردان به‌تنهایی عامل ۲۰ تا ۳۰ درصد ناباروری‌ها شناخته‌شده و در ۵۰ درصد موارد ناباروری سهمینند [۴]. سه روش معمول کمک باروری IVF^۲، ICSI^۳ و IUI^۴ هستند [۵-۶]. شامل جداسازی تعداد زیادی اسپرم شسته‌شده و قراردادن آن‌ها به‌طور مستقیم در رحم در زمان تخمک‌گذاری برای افزایش احتمال بارداری است [۷]. شامل بازیابی تخمک از تخمدان، باروری آن به‌کمک اسپرم در آزمایشگاه و سپس انتقال جنین به‌درون رحم است. در این روش، هر تخمک با نمونه‌ای شامل ۵۰۰۰۰ اسپرم در محیط کشت قرار داده می‌شود [۹-۸]. شگردی است که در محیط آزمایشگاه تنها یک اسپرم بالغ به سیتوپلاسم تخمک تزریق می‌شود تا تخمک بارور شود [۱۰]. قبل از این‌که نمونه اسپرم بتواند در هرکدام از روش‌های کمک بارداری استفاده شود، باید مراحل آماده‌سازی را طی کند. هدف از آماده‌سازی این است که اسپرم‌هایی با تحرک^۵ بالا، شکل نرمال و بدون دی‌ان‌ای^۶ آسیب‌دیده برای باروری تخمک جداسازی شوند. همچنین بقایای سلولی^۷ و اسپرم‌های نابالغ، کم‌تحرک و آن‌هایی که دارای شکل غیر نرمال هستند باید از نمونه جدا شوند.

روش‌های جداسازی ایده‌آل، روش‌هایی هستند که سریع و مقرون به‌صرفه باشند، بازده بالا به‌معنی جداسازی تعداد بیشتر اسپرم داشته باشند، آسیبی به اسپرم‌های جداشده نرسانند، فاکتورهای شیمیایی مضر سلول‌های مرده را از نمونه جدا و همچنین بتوانند میزان زیادی از نمونه را آماده کنند [۱۲ و ۱۱]. شناورسازی^۸ و سانتریفیوژ با گرادیان چگالی^۹، دو روش معمول جداسازی اسپرم هستند [۱۳]. به‌طور کلی، این دو روش سطح‌های متفاوتی از مشکلات را مثل رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد می‌کنند. همچنین

1. Infertility
2. In-Vitro Fertilization
3. Intracytoplasmic Sperm Injection
4. Intrauterine Insemination
5. Motility
6. DNA
7. Cellular Debris
8. Swim-Up
9. Density Gradient Centrifugation

روش شناورسازی مقدار بیشتری از اجزای غیر اسپرمی را نسبت به روش سانتریفیوژ با گرادیان چگالی باقی می‌گذارد. اگرچه روش سانتریفیوژ با گرادیان چگالی میزان بیشتری از اسپرم‌های متحرک را جدا می‌کند؛ ولی آسیب بیشتری به دی‌ان‌ای اسپرم وارد می‌کند [۱۳ و ۱۱].

روش‌های جدیدی مانند پتانسیل زتا، اتصال هیالورونیک اسید و سامانه ریزسیال^{۱۰} برای جداسازی اسپرم‌های فعال توسعه یافته‌است که از این میان، روش استفاده از سامانه ریزسیال با چالش‌های کمتری مواجه بوده‌است [۱۵ و ۱۴]. علم ریزسیال، دانش و فناوری سامانه‌هایی است که مقادیر بسیار کمی از سیال (۱۰^{-۸} تا ۱۰^{-۹} لیتر) را با استفاده از ابعادی در حد ده‌ها تا صدها میکرومتر کنترل می‌کند یا فرایندی را روی آن انجام می‌دهد [۱۶-۱۹]. دستگاه‌های ریزسیال عموماً از یکی از خواص کموتاکسی^{۱۱}، ترموتاکسی^{۱۲}، رئوتاکسی^{۱۳} یا قابلیت مهاجرت اسپرم متحرک و فعال برای جداسازی آن استفاده می‌کنند [۲۱ و ۲۰ و ۱۵ و ۱۴]. در پدیده کموتاکسی، جهت‌گیری اسپرم‌ها به‌سمت مواد شیمیایی ترشح‌شده از تخمک است. ترموتاکسی، گرایش به تغییر جهت حرکت در پاسخ به گرادیان دمایی است. رئوتاکسی، تمایل سلول یا اسپرم به جهت‌گیری حرکت خود در خلاف یا به‌سمت جریان مایع اطراف آن است [۲۰ و ۲]. در روش مهاجرت اسپرم با استفاده از جریان آرام، به‌دلیل توانایی اسپرم‌های با تحرک بالا در جابه‌جایی از خط جریان اولیه به جریان مجاور، می‌توان آن‌ها را هدایت و جدا کرد [۱۲].

روش‌های جداسازی اسپرم مانند شناورسازی و سانتریفیوژ حدود ۲ ساعت زمان احتیاج دارد، درحالی‌که با استفاده از سامانه ریزسیال، جداسازی در یک مرحله و بدون سانتریفیوژ انجام و فرایند در زمانی کمتر (حدود ۳۰ دقیقه) می‌تواند کامل شود. کاهش زمان فرایند و حذف مرحله سانتریفیوژ، باعث کاهش در معرض قرارگیری اسپرم با ترکیبات رادیکال آزاد اکسیژن شده، در نتیجه از آسیب‌رسیدن به دی‌ان‌ای اسپرم جلوگیری می‌شود [۲۲].

در اولین تحقیقات انجام‌شده برای جداسازی اسپرم‌های متحرک به‌روش ریزسیال، چو^{۱۴} و همکارانش [۱۲]. سازوکاری پیشنهاد کردند که در تراشه ریزسیال استفاده‌شده در این آزمایش، اسپرم‌های

10. Microfluidics
11. Chemotaxis
12. Thermotaxis
13. Rheotaxis
14. Cho

کم‌تحرک در امتداد خط جریان واردشده، حرکت می‌کنند و از خروجی که در امتداد آن تعبیه شده، خارج می‌شوند؛ درحالی‌که اسپرم‌های متحرک از خط جریان خود منحرف و از خروجی متفاوتی خارج می‌شوند. این سازوکار جداسازی به این دلیل امکان‌پذیر است که در کانال‌های بسیار ریز (در ابعاد میکرومتر) رژیم جریان‌ها بسیار آرام است و چندین جریان آرام می‌توانند بدون آشفتگی در کنار یکدیگر حرکت کنند.

در پژوهش دیگری با همین سازوکار و با هدف تغییر هندسه پایه برای افزایش بازده جمع‌آوری اسپرم‌های متحرک، هوانگ^۱ و همکارانش [۲۲]. تراشه دیگری پیشنهاد کردند. نکته قابل توجه در این تراشه این است که سه خروجی در طول کانال اصلی وجود دارد. وجود خروجی‌های مختلف، تشکیل جریان‌های آرام در کنار یکدیگر را کنترل می‌کند و اسپرم‌های متحرک می‌توانند از میان خط‌های جریان عبور کنند و در مخازن موجود در انتهای هر کانال خروجی جمع‌آوری شوند. در پژوهش جدیدتری از هوانگ و همکارانش [۲۳]. تراشه ریزسیالی دارای سه ورودی و سه خروجی پیشنهاد شد. در این تراشه، به جای یک ورودی برای نمونه اسپرم، دو کانال ورودی طراحی شده است و کانال میانی، ورودی مخصوص بافر است. بعد از جداسازی، اسپرم‌های متحرک در مخزنی که در انتهای کانال جداسازی تعبیه شده، جمع‌آوری می‌شوند و جریان‌های حامل اسپرم‌های مرده و اسپرم‌های کم‌تحرک از دو خروجی که در دو گوشه انتهای کانال‌های جداسازی تعبیه شده‌اند، خارج می‌شوند و به مخزن دورریز^۲ انتقال می‌یابند. هم‌چنین کانال اصلی (کانال جداسازی) طوری طراحی شده که ابتدای آن باریک (حدود ۰/۳ میلی‌متر) و در انتها پهن‌تر (حدود ۰/۶ میلی‌متر) می‌شود. این نوع طراحی باعث کم‌شدن سرعت جریان در انتهای کانال و در نتیجه بهبود و افزایش بازده^۳ جداسازی می‌شود [۱۲].

در حال حاضر استفاده از روش‌های مختلف شبیه‌سازی برای بررسی تراشه ریزسیالی مورد استفاده در جداسازی اسپرم نیز بسیار مرسوم است [۲۴]. برخی از مقالات اسپرم‌ها را به صورت گسسته در نظر گرفته و حرکت آن‌ها را نیز مدل کرده‌اند [۲۶-۲۵]. و برخی نیز سیال نمونه را به صورت یک سیال پیوسته در نظر گرفته و نحوه حرکت سیال نمونه و سیال بافر را مد نظر قرار داده‌اند [۲۷ و ۲۳ و ۲۰].

در این پژوهش، با هدف بهبود بازدهی تراشه هوانگ و همکارانش [۲۳] و مرجع قراردادن هندسه آن (که از آن به‌عنوان هندسه مبنا یاد شده است)، ابعاد کانال‌ها را تغییر داده و با استفاده از شبیه‌سازی جریان سیال‌ها اطلاعات مفیدی به دست آمده است. در این راستا، برای جلوگیری از هدررفت بافر حاوی اسپرم‌های متحرک از کانال‌های خروجی نمونه، پهنای کانال خروجی بافر افزایش یافته تا حرکت سیال بافر و بازدهی تراشه بررسی شود. شکل (۱) هندسه مبنا و حرکت سیال‌ها را نشان می‌دهد. مطابق شکل (۱)، اسپرم‌های دارای تحرک کم به مسیر خود در کانال سیال نمونه ادامه داده و اسپرم‌های دارای تحرک بالا از مسیر اولیه به سمت کانال سیال بافر حرکت کرده‌اند.

۲. مواد و روش

در این بخش، روش و جزئیات مربوط به شبیه‌سازی به بحث گذاشته شده است.

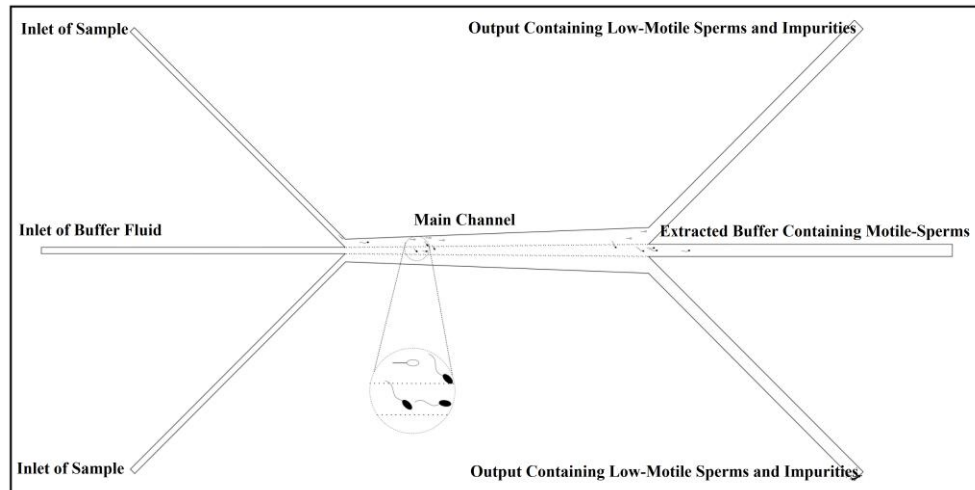
همان‌گونه که در مقدمه دیده شد، تراشه‌های رایج مورد بررسی در عملیات جداسازی براساس تحرک اسپرم، عمدتاً دارای یک کانال اصلی جداسازی و دو یا سه ورودی و خروجی هستند. در این پژوهش، هندسه‌های مورد نظر با نرم‌افزار^۴ (اتوکید نسخه ۶۴ بیتی ۲۰۲۱) با اندازه‌های مشخص طراحی و برای شبیه‌سازی استفاده شده‌اند.

برای شبیه‌سازی از روش دینامیک سیالات محاسباتی و نرم‌افزار کامسول ۵/۵ (نسخه ۶۴ بیتی) استفاده شده است. شبیه‌سازی به صورت دوبعدی و وابسته به زمان^۵ انجام شده است.

از آن‌جاکه جریان سیال در تراشه، جریان آرام و ارتفاع تراشه کوتاه در نظر گرفته شده است (حدود ۵۰ میکرومتر) تا اسپرم فضای زیادی برای حرکت در راستای عمودی نداشته باشد، شبیه‌سازی دوبعدی انجام شده است. در این روش، با استفاده از ماژول^۶ مربوط به جریان آرام، نحوه حرکت سیال در کانال‌ها بررسی شده است. در این مسئله شبیه‌سازی، به دلیل این‌که دو سیال متفاوت در کنار هم جاری می‌شوند، برای بررسی نحوه حرکت در مرز مشترک و یا مخلوط‌شدن این دو سیال، از ماژول جریان دوفازی^۷ و روش سطح معین^۸

1. Huang
2. Waste
3. Efficiency

4. AutoCAD
5. Time Dependent
6. Module
7. Two-Phase Flow
8. Level-Set



شکل ۱. طرحواره هندسه پایه با مشخص کردن ورودی‌ها و خروجی‌ها. تعدادی از اسپرم‌ها به‌عنوان نمونه در کانال اصلی مشخص شده‌اند. بخشی از طرحواره حرکت اسپرم‌ها در شکل بزرگ‌نمایی شده‌است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اسپرم‌های کم‌متحرک و آلودگی‌ها در مسیر خود باقی می‌مانند و به مسیر خود در سیال ادامه می‌دهند؛ اما اسپرم‌های متحرک به سمت میانه کانال اصلی و درون سیال بافر متمایل می‌شوند و حرکت می‌کنند.

Figure 1. Schematic of the basic geometry by specifying the inputs and outputs. A few sperm and their movement have been identified as samples in the main channel. Low-motile sperm and impurities remain on their path and continue their path in the fluid, but the mobile sperm are inclined towards the middle of the main channel and into the buffer fluid.

نام‌گذاری شده و مقادیر دقیق این مشخصه‌ها، در جدول (۱) پیداست. در این جدول طرح مبنا به هندسه مبنا و طرح ۱ تا ۴ به هندسه‌های مختلفی با تغییر ابعاد کانال بافر اشاره دارد.

بهره برده شده‌است. لازم به ذکر است که در کاربرد تجربی این سامانه، ابتدا کل تراشه با جریان بافر پر می‌شود و سپس جریان‌های ورودی از راه پمپ برقرار می‌شود. بنابراین در این سامانه، نیروی موپینگی مؤثر نیست.

۲-۲ معادلات و متغیرهای مربوطه

معادله سرعت برای یک سیال نیوتنی تراکم‌ناپذیر^۱ را می‌توان با معادله نویراستوکس^۲ نشان داد. رابطه (۱) معادله نویراستوکس را در تراشه‌های ریزسیالی نشان می‌دهد:

$$\frac{\partial u}{\partial t} + (u \cdot \nabla)u = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \nu \nabla^2 u + f \quad (1)$$

$$\nabla \cdot u = 0$$

در این رابطه، u سرعت سیال، ρ چگالی، P فشار، ν گرانروی سینماتیک^۳ و f نیروی خارجی است [۲۸]. چنان‌که ذکر شد، در این شبیه‌سازی از ماژول جریان آرام دوفازی استفاده شده‌است. روش مورد استفاده، سطح معین بوده‌است. روش سطح معین روشی برای ردیابی نحوه حرکت صفحه یا مرز بین دو سیال است [۲۸]. این روش

۱-۲ هندسه

ابتدا شبیه‌سازی بر روی هندسه مبنا انجام شده و نتایج به‌دست‌آمده با نتایج حاصل از پژوهش مذکور مقایسه شده‌است تا شبیه‌سازی انجام‌شده اعتبارسنجی شود (هندسه موردنظر در شکل (۱) نشان داده شده‌است). پس از آن، با تغییر این هندسه سعی شده تا بازده نهایی جداسازی بهبود یابد؛ بدین صورت که عرض خروجی بافر با نسبت‌های ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ نسبت به عرض کانال ورودی تغییر داده شده‌است (درحالی‌که عرض هر دو کانال‌های خروجی نمونه ۲ برابر عرض کانال‌های ورودی هستند و تغییری نکرده‌اند). واضح است که با افزایش عرض یکی از کانال‌های خروجی، عرض انتهای کانال اصلی جداسازی نیز افزایش پیدا می‌کند. عرض تمام کانال‌های ورودی نیز همان مقدار ۱۰۰ میکرومتر باقی مانده‌است. شکل (۲) هندسه مبنا را که تغییرات روی آن انجام شده‌است، نشان می‌دهد. همچنین در این شکل، عرض قسمت‌های مختلف هندسه

1. Incompressible Fluid
 2. Navier-Stokes
 3. Kinematic Viscosity

با یک شبکه^۱ ثابت محاسبات را انجام می‌دهد و برای مسائلی که بتوان دامنه محاسباتی را به دو دامنه مجزا تقسیم کرد و یک مرز بین آن‌ها در نظر گرفت، کاربردی است. این مرز با مشخصه سطح معین، با φ مشخص می‌شود، به‌صورتی که یکی از دامنه‌ها دارای $\varphi = 0$ و دیگری دارای $\varphi = 1$ است که این مقدار در مرز دو دامنه از صفر به یک تغییر می‌کند. معادله (۲) برای بررسی حرکت مرز بین دامنه‌ها با سرعت u حل می‌شود:

$$\frac{\partial \varphi}{\partial t} + u \cdot \nabla \varphi = \gamma \nabla \cdot (\varepsilon \nabla \varphi - \varphi(1-\varphi) \frac{\nabla \varphi}{|\nabla \varphi|}) \quad (2)$$

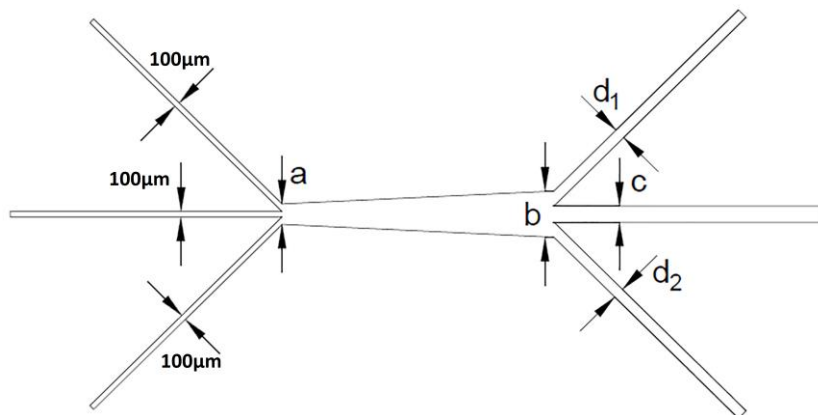
سمت چپ معادله، حرکت صحیح مرز را نشان می‌دهد، درحالی‌که سمت راست معادله برای پایا ماندن عددی معادله است. مشخصه نشان‌دهنده ضخامت این صفحه یا خط مرزی است که در ماژول مربوطه به‌صورت پیش‌فرض برابر نصف مقدار بزرگ‌ترین اندازه شبکه است. مشخصه γ (متر بر ثانیه) مقدار پایاسازی تابع φ را در معادله سطح معین نشان می‌دهد. این مقدار در صورتی که بیش از حد کم باشد، باعث می‌شود که ضخامت مرز دامنه‌ها ثابت نماند و نوسان کند و اگر زیاد از حد بزرگ باشد، این مرز به‌طور اشتباه حرکت می‌کند، در نتیجه برای هر مسئله باید آن را تنظیم کرد. مقدار بهینه آن برابر بزرگ‌ترین اندازه سرعت است [۲۸].

۲-۳ مقادیر مشخصه‌ها و شرایط مرزی

باتوجه به مشخصه‌های پیشنهادی هوانگ و همکارانش [۲۱]، شرط مرزی ورودی جریان به کانال‌ها سرعت است که برای اعمال سرعت مورد نظر از پمپ استفاده می‌شود. سرعت ورودی سیال نمونه برابر ۱۰۰ میکرومتر بر ثانیه و سرعت ورودی سیال بافر برابر ۸۰۰ میکرومتر بر ثانیه در نظر گرفته شده‌است. شرط مرزی در خروجی کانال‌ها فشار نسبی صفر و در دیواره‌ها شرط عدم لغزش^۲ است. هم‌چنین چگالی سیال نمونه و بافر هر دو برابر ۹۹۷ کیلوگرم بر متر مکعب است. گرانروی سیال نمونه برابر ۰/۰۱۰۵ پاسکال ثانیه و برای سیال بافر برابر ۰/۰۱ پاسکال ثانیه است.

۲-۴ بررسی عدم وابستگی به شبکه

پس از تنظیم مشخصه‌های مربوط به ابعاد کانال‌ها (a,b,c,d₁,d₂) که در شکل (۲) مشخص شده‌اند، ابتدا عدم وابستگی به شبکه و گام زمانی بررسی شده که شبکه مناسب در اندازه finer و گام زمانی ۰/۷ ثانیه به‌دست آمده‌است. شبیه‌سازی تا زمان رسیدن به حالت پایا (۱۲۰ ثانیه) انجام شده‌است. با تغییر اندازه شبکه در شبیه‌سازی، نتایج مربوط به سرعت در یک برش عرضی در کانال اصلی جداسازی مقایسه و بررسی شده‌است تا بهترین اندازه شبکه برای این شبیه‌سازی پیدا شود، به‌طوری‌که نتیجه شبیه‌سازی به‌اندازه شبکه وابسته نباشد.



شکل ۲. هندسه مبنا برای تغییر ابعاد کانال اصلی و کانال خروجی بافر برای بررسی بازدهی. عرض ابتدای و انتهای کانال اصلی جداسازی و هم‌چنین عرض کانال‌های خروجی روی شکل نام‌گذاری شده‌اند. مقادیر این عرض‌ها در جدول (۱) مشاهده می‌شود.

Figure 2. The main geometry to change the dimensions of the main channel and buffer output channel to check efficiency. The width of the channels are shown by the alphabetic symbols and their values are demonstrated in the Table 1.

جدول ۱. مقدار مشخصه‌های مربوطه هندسه‌هایی که با تغییر ابعاد آن سعی در بهبود بازدهی شده‌است. شماره طرح، اشاره به انواع هندسه‌هایی دارد که تغییر داده و شبیه‌سازی شده‌اند. تمامی اندازه‌ها در واحد میکرومتر هستند.

Table 1. The amount of variables (parameters) which changing them affects efficiency. The design number refers to the various types of geometries that were simulated.

شماره طرح	مقدار مشخصه‌ها	a μm	b μm	c μm	$d_1 \& d_2$ μm
طرح مبنا		383	766	200	200
1		383	816	250	200
2		383	866	300	200
3		383	916	350	200
4		383	966	400	200

کانال‌های خروجی بالا و پایین، که مربوط به سیال نمونه است، خارج می‌شود. اگرچه حجم عمده بافر همراه با اسپرم‌های متحرکی که از سیال نمونه وارد سیال بافر شده‌اند، از خروجی مورد نظر خود خارج و جمع‌آوری شده‌ست؛ ولی مقداری از بافر که حاوی مقدار چشم‌گیری از اسپرم‌های متحرک است (به دلیل همجواری با سیال نمونه در کانال اصلی) از خروجی‌های مربوط به نمونه خارج می‌شود و قابل استفاده نیست. بنابراین اگرچه در ضمن حرکت سیال نمونه و بافر در کنار هم در کانال اصلی، اسپرم‌های متحرک فرصت یافتند که از سیال نمونه وارد سیال بافر شوند، ولی به دلیل خروج مقداری از بافر از کانال‌های خروجی نمونه، مقداری از این اسپرم‌های متحرک از دست می‌روند. شکل (۵) [۲۳] که نتیجه تجربی حاصل از جداسازی اسپرم به وسیله تراشه مذکور را نشان می‌دهد، گواهی بر جداسازی اسپرم‌های متحرک از کانال خروجی بافر (دایره قرمز در شکل (۵-a)) و همچنین خروج مقداری از بافر حاوی اسپرم‌های متحرک از کانال‌های خروجی نمونه و هدررفت مقداری از اسپرم‌های متحرک است (دایره‌های آبی در شکل (۵-a)). بیضی‌های زرد رنگ در شکل (۵-b)، اسپرم‌های کم‌تحرک در جریان نمونه را نشان می‌دهد که به بخش بافر نزدیک نمی‌شوند و در کناره‌های خارجی کانال اصلی باقی می‌مانند و به همراه جریان نمونه خارج می‌شوند. بنابراین با توجه به شباهت نتیجه شبیه‌سازی انجام شده در این پژوهش، شکل (۴) (جزء حجمی سیال بافر و سیال نمونه در کانال اصلی و کانال‌های خروجی) با شکل (۵) (توزیع اسپرم‌های متحرک و اسپرم‌های کم‌تحرک در سیال بافر و نمونه)، شبیه‌سازی پژوهش حاضر نیز معتبر است.

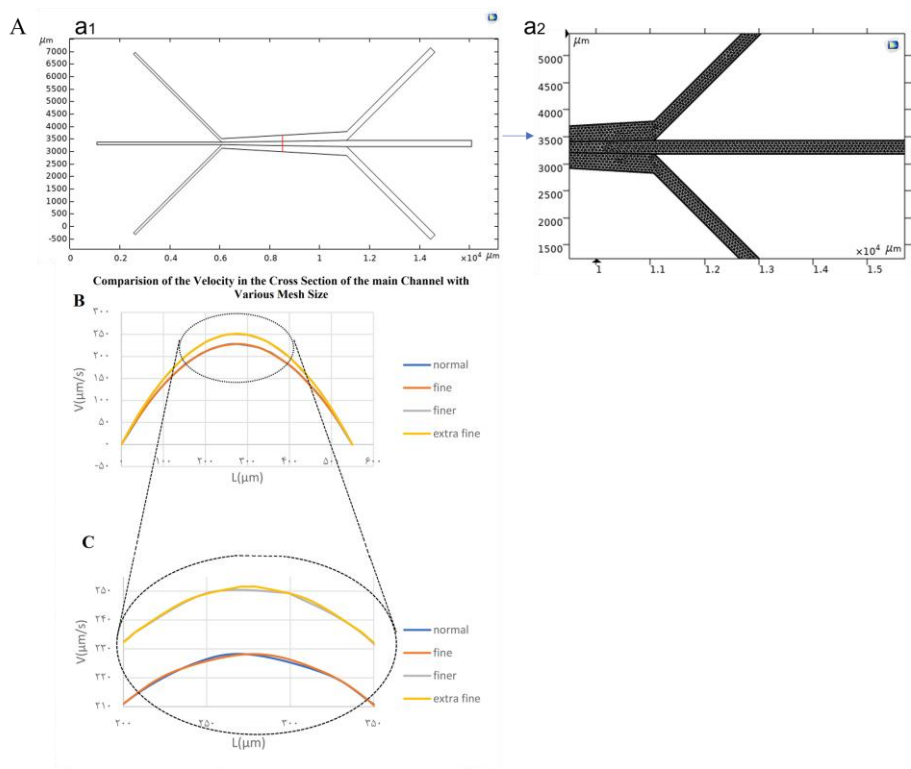
شکل (۳-a2) این برش عرضی را نشان می‌دهد و شکل (۳-a2) تصویری از شبکه‌بندی طرح را نشان می‌دهد. در شکل (۳-b) و (۳-c) توزیع سرعت در برش عرضی مربوطه در شبکه‌بندی‌های مختلف مشاهده می‌شود. همان‌طور که مشخص است، شبکه با اندازه finer مناسب‌ترین حالت برای این شبیه‌سازی است؛ چراکه شبکه‌های بزرگ‌تر از آن نتیجه متفاوتی دارند و شبکه کوچکتر از آن نتیجه یکسانی با شبکه finer دارد، در نتیجه نیازی به استفاده از شبکه ریزتر نیست و صرفاً بار محاسباتی کار افزایش می‌یابد.

۳. یافته‌ها و بحث

در این بخش، نتایج مربوط به شبیه‌سازی آورده و بحث شده‌است. همچنین شرایط سیال از لحاظ مخلوط‌شدن و خروج از کانال مشخص نیز بررسی شده‌است.

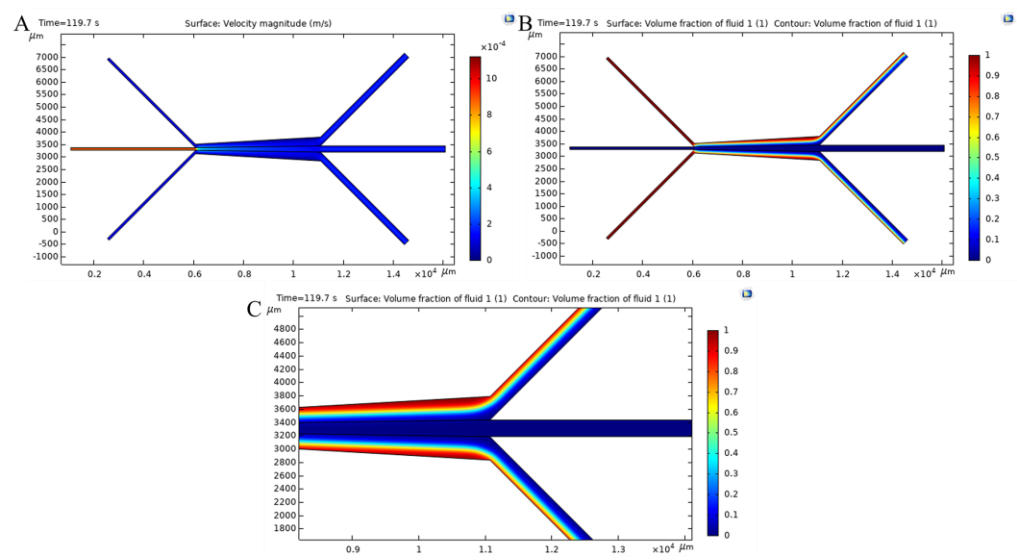
۳-۱ اعتبارسنجی نتایج شبیه‌سازی این پژوهش

در شکل (۴) نتایج مربوط به سرعت و جزء حجمی سیال در شبیه‌سازی هندسه مبنا نشان داده شده‌است. سیال قرمز رنگ سیال نمونه است و سیال آبی رنگ سیال بافر است. تغییر رنگ نشان‌دهنده تغییر جزء حجمی هاست (رنگ قرمز نشان‌دهنده سیال نمونه و رنگ آبی بیانگر سیال بافر است). مطابق شکل (۴-a)، بیشینه سرعت سیال در کانال اصلی حدود ۲۵۰ میکرومتر بر ثانیه است که با مقاله مرجع [۲۳] همخوانی دارد. با مشاهده شکل (۴-c) و (۴-c) دیده می‌شود که پس از رسیدن به حالت پایا (۱۲۰ ثانیه)، سیال بافر از مسیر خروجی خود خارج می‌شود. همچنین قسمتی از بافر از



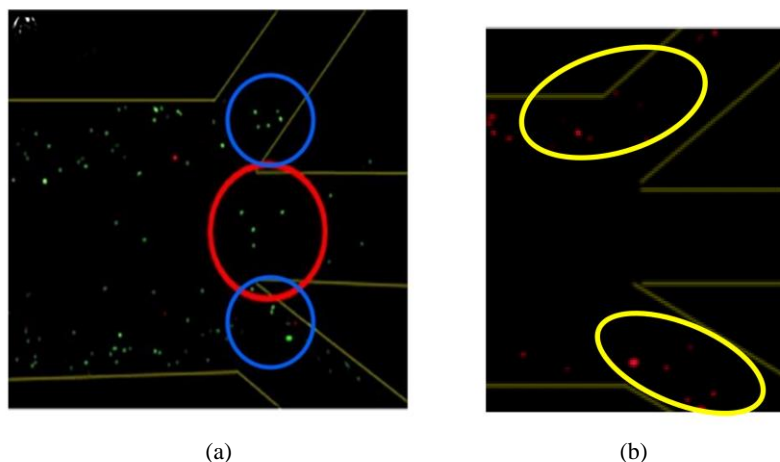
شکل ۳. مقایسه سرعت سیال در کانال اصلی جداسازی در یک برش عرضی وسط این کانال در شبکه‌های مختلف. (a1) برش عرضی (که با رنگ قرمز مشخص شده است) وسط کانال اصلی جداسازی. (a2) تصویری از شبکه‌بندی (b) مقایسه در بازه کامل عرضی. (c) مقایسه در بازه بزرگ‌نمایی شده نزدیک به میانه کانال اصلی که با دایره‌های خط‌چین مکان بزرگ‌نمایی شده مشخص شده است. تعداد شبکه‌ها بدین صورت است: normal: ۱۱۱۵۶، fine: ۱۱۴۲۳، finer: ۱۵۹۸۷ و extra fine: ۲۳۳۸۸

Figure 3. Comparison of the fluid velocity in the cross-section of main separation channel with various mesh size. (a1,a2) A cross-section (red line) in the middle of main channel. (b) Comparison in the full cross-section. (c) Comparison in the magnified area near the middle of the main channel, which is marked by the dashed circles of the magnified location. The number of meshes is as follows: 11156: normal, 11423: fine, 15987: finer and 23388: extra fine.



شکل ۴. شبیه‌سازی تراشه هندسه مینا. (a) توزیع سرعت در تراشه. (b) توزیع جزء حجمی در تراشه. (c) توزیع جزء حجمی در انتهای کانال اصلی

Figure 4. Simulation of the main geometry. (a) Surface velocity magnitude in chip. (b) Surface volume fraction of fluid in chip. (c) Surface volume fraction of fluid at the end of the main channel.



شکل ۵. تصاویر ثبت‌شده از نتایج تجربی در انتهای کانال جداسازی (نقاط سبز رنگ اسپرم‌های متحرک و نقاط قرمز رنگ اسپرم‌های کم‌متحرک را نشان می‌دهند). (a) دایره قرمز کانال خروج بافر را نشان می‌دهد که حاوی اسپرم‌های متحرک است. دایره‌های آبی، خروج و هدر رفت بافر حاوی اسپرم‌های متحرک را از کانال‌های نمونه نشان می‌دهد. (b) بیضی‌های زرد رنگ، اسپرم‌های کم‌متحرک در جریان نمونه را نشان می‌دهد که به بخش بافر نزدیک نمی‌شوند و در کناره‌های خارجی کانال اصلی باقی می‌مانند و به همراه جریان نمونه خارج می‌شوند.

Figure 5. Recorded images of the experimental results at the end of the separation channel (green dots show motile sperm and red dots show low-motile sperm). (a) Red circle shows the buffer outlet which includes motile sperm. Blue circles show the buffer including motile sperm that exit from sample outlets. (b) Yellow ovals show low-motile sperm in sample flow which could not close to buffer section and are near to the channel walls and go out with sample.

در نتیجه، افزایش عرض کانال خروجی بافر نسبت به عرض کانال ورودی در حالی که عرض کانال‌های خروجی نمونه ۲ برابر عرض کانال ورودی هستند، بسیار مطلوب است و باعث هدر رفت مقدار بسیار اندکی از بافر حاوی اسپرم‌های متحرک می‌شود. از طرفی با چند برابر شدن کانال خروجی بافر، عرض کانال اصلی نیز در انتها بزرگ شده است و در نتیجه سرعت سیال‌ها در کانال اصلی کند شده و مدت زمان کافی برای حرکت در کنار هم سیال نمونه و بافر و مهاجرت اسپرم‌های متحرک از سیال نمونه به سیال بافر فراهم بوده است. لازم به ذکر است که افزایش بیش از ۴ برابر نیز مطلوب است و باعث خروج سیال نمونه از کانال بافر می‌شود که باعث ورود اسپرم‌های کم‌متحرک به بافر می‌شود. در این صورت بافر خروجی فقط حاوی اسپرم‌های متحرک نیست و مقداری اسپرم کم‌متحرک نیز به همراه خواهد داشت که بازده تراشه را بسیار پایین می‌آورد. بنابراین براساس نتایج به دست آمده از شبیه‌سازی انجام شده در این پژوهش، طرح‌های ۳ و ۴ مناسب هستند. البته با توجه به محدودیت‌های شبیه‌سازی، برای انتخاب دقیق هندسه مناسب باید هر دو هندسه پیشنهادی ساخته شود و سامانه به صورت تجربی نیز ارزیابی و هندسه بهینه انتخاب شود.

۳-۲ بهبود بازدهی سامانه جداسازی

در ادامه با توجه به این که مقداری از بافر از کناره‌های مسیر مربوط به سیال نمونه جریان می‌یابد و خارج می‌شود، پهنای کانال وسط از کانال‌های خروجی که مربوط به خروج بافر است، افزایش یافته (طرح‌های ۱ تا ۴ طبق جدول (۱)) تا مقدار بافری که از کناره‌ها و خروجی نمونه هدر می‌رود، جمع‌آوری شود.

شکل (۶)، جزء حجمی جریان‌ها را در انتهای کانال اصلی برای طرح‌های مختلف (طرح‌های ۱ تا ۴ طبق جدول (۱)) مقایسه می‌کند. با دقت در نتیجه‌های به دست آمده، تغییر عرض کانال خروجی بافر و بزرگ‌تر کردن آن (با ثابت نگه داشتن عرض کانال‌های خروجی نمونه) می‌تواند بسیار مؤثر باشد و بهبود قابل توجهی نسبت به تراشه پیشنهادی هوانگ و همکارانش [۲۰] (شکل (۴-c)) داشته باشد. هرچه کانال خروجی بافر عریض‌تر شود، خروج بافر از کانال‌های خروجی نمونه کمتر می‌شود. این موضوع را می‌توان با بیان درصد حجم اشغال شده بافر در کانال مربوط به خروجی نمونه روشن‌تر کرد؛ بدین صورت که این مقدار در شکل ((۶-a): ۳۹/۵٪، شکل ((۶-b): ۱۵٪، شکل ((۶-c): ۴/۵٪ و شکل ((۶-d): ۱٪ است.

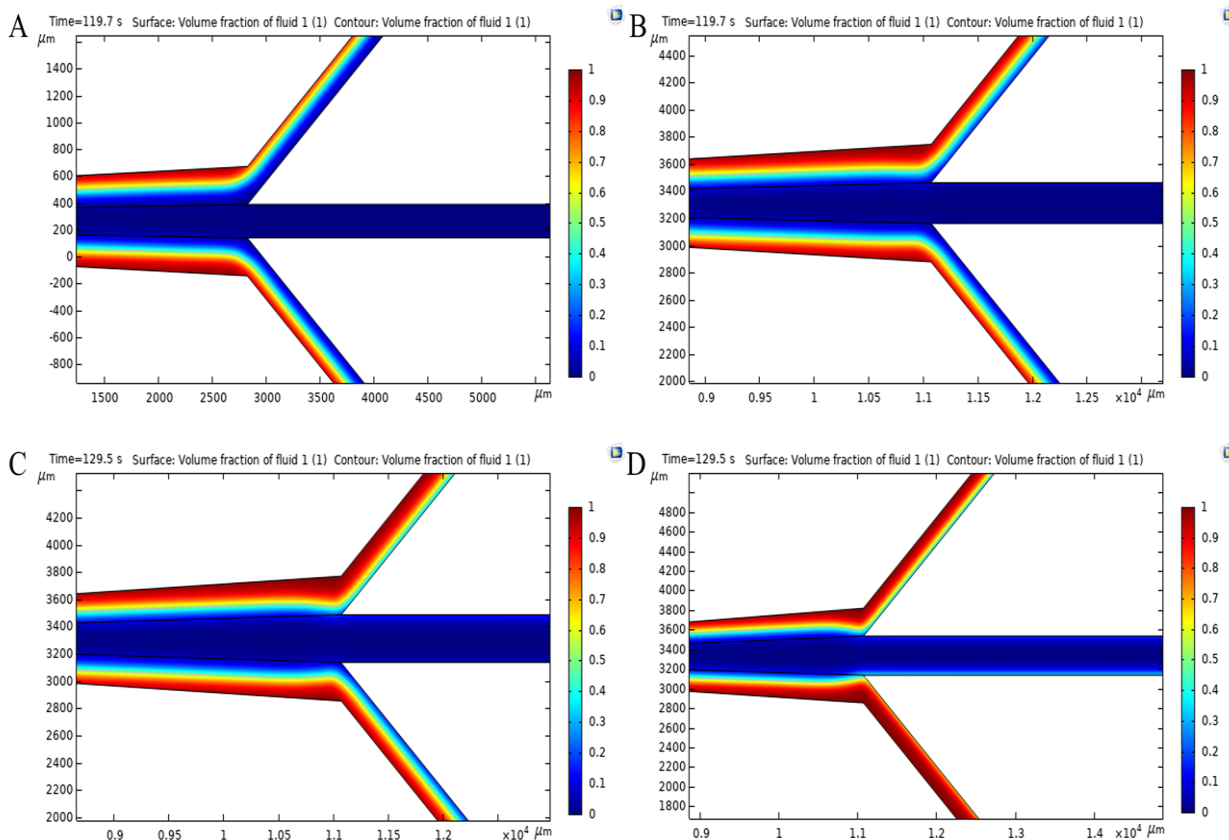
۴. نتیجه‌گیری

این پژوهش باهدف شبیه‌سازی یک تراشه ریزسیال برای جداسازی اسپرم‌های متحرک با روش دینامیک سیالات محاسباتی انجام شده‌است؛ ابتدا برای اعتبارسنجی نتایج، شبیه‌سازی با هندسه دارای سه کانال ورودی و سه کانال خروجی مقاله هوانگ و همکاران انجام شد. در این طرح اولیه، مقدار چشم‌گیری از بافر حاوی اسپرم‌های متحرک به‌همراه نمونه خارج شد که غیر قابل استفاده هستند. سپس، به‌منظور بهبود جداسازی و جلوگیری از هدررفتن بافر که حاوی اسپرم‌های متحرک است، ابعاد کانال خروجی بافر به‌اندازه‌های گوناگون افزایش یافته و مقایسه و بررسی شده‌اند تا طرح بهینه‌ای نسبت به طرح اولیه به‌دست‌آید. طبق نتایج مشاهده‌شده، با چند برابر کردن عرض کانال خروجی بافر نسبت به عرض کانال‌های ورودی (به‌همین ترتیب بزرگ کردن انتهای کانال اصلی نسبت به ابتدای کانال اصلی و ازطرفی ثابت نگه‌داشتن عرض کانال‌های

خروجی نمونه)، مقدار خروج بافر از کانال‌های خروجی نمونه بسیار کم می‌شود و در صورت ۴ برابر کردن عرض کانال خروجی بافر نسبت به کانال ورودی، درصد هدررفت بافر از کانال‌های نمونه حدود ۱ درصد خواهد بود.

فهرست علائم و اختصارات

Phrase	Abbreviation
Pressure	p
Kinematic Viscosity	ν
External Force	f
Thickness	ε
<i>In Vitro</i> Fertilization	IVF
Intracytoplasmic Sperm injection	ICSI
Intrauterine Insemination	IUI
Fluid Velocity	u
Density	ρ



شکل ۶. توزیع جزء حجمی سیال در طرح‌های پیشنهادی (طبق اطلاعات جدول (۱)). (a) طرح ۱ (b) طرح ۲ (c) طرح ۳ (d) طرح ۴.

Figure 6. Surface volume fraction of fluid in proposed geometries according to the information in Table 1. (a)) Design 1. (b) Design 2. (c) Design 3. (d) Design 4.

- [1] Agarwal, A., & Selvam, M. K. P. (2018). Advanced Sperm Processing/Selection Techniques. In *A Clinician's Guide to Sperm DNA and Chromatin Damage* (pp. 529–543). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-71815-6_28
- [2] Ahmadvkhani, N., Hosseini, M., Saadatmand, M., & Abbaspourrad, A. (2022). The influence of the female reproductive tract and sperm features on the design of microfluidic sperm-sorting devices. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 39(1), 19–36. <https://doi.org/10.1007/s10815-021-02377-w>
- [3] Ahmadvkhani, N., Saadatmand, M., Kazemnejad, S., & Abdekhodaie, M. (2023). Qualified sperm selection based on the rheotaxis and thigmotaxis in a microfluidic system. *Biomedical Engineering Letters*. <https://doi.org/10.1007/s13534-023-00294-8>
- [4] Begum, M. R. (1970). Assisted Reproductive Technology: Techniques and Limitations. *Journal of Bangladesh College of Physicians and Surgeons*, 26(3), 135–141. <https://doi.org/10.3329/jbcps.v26i3.4197>
- [5] Cellai, I., Benvenuti, S., Luciani, P., Galli, A., Ceni, E., Simi, L., Baglioni, S., Muratori, M., Ottanelli, B., Serio, M., Thiele, C. J., & Peri, A. (2006). Antineoplastic effects of rosiglitazone and PPAR γ transactivation in neuroblastoma cells. *British Journal of Cancer*, 95(7), 879–888. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603344>
- [6] Chinnasamy, T., Kingsley, J. L., Inci, F., Turek, P. J., Rosen, M. P., Behr, B., Tüzel, E., & Demirci, U. (2018). Guidance and Self-Sorting of Active Swimmers: 3D Periodic Arrays Increase Persistence Length of Human Sperm Selecting for the Fittest. *Advanced Science*, 5(2), 1700531. <https://doi.org/10.1002/advs.201700531>
- [7] Cho, B. S., Schuster, T. G., Zhu, X., Chang, D., Smith, G. D., & Takayama, S. (2003). Passively Driven Integrated Microfluidic System for Separation of Motile Sperm. *Analytical Chemistry*, 75(7), 1671–1675. <https://doi.org/10.1021/ac020579e>
- [8] Entezari, B., Kazemeini, M., & Karami, M. (In Persian), (2019). An Investigation on Appropriate Procedure for Micro-Reactor Fabrication & Simulation. *Iranian Chemical Engineering*, 17(99), 20–29.
- [9] Gorji, S., & JafariNasr, M. R. (2022). Modelling and Simulation of Blood Flow in Human Vessels Using CFD Analysis. *Iranian Chemical Engineering*, 21(124), 57–70, In Persian.
- [10] Gubert, P. G., Pudwell, J., Van Vugt, D., Reid, R. L., & Velez, M. P. (2019). Number of motile spermatozoa inseminated and pregnancy outcomes in intrauterine insemination. *Fertility Research and Practice*, 5(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s40738-019-0062-z>
- [11] Heydari, A., Zabetian Targhi, M., Halvaei, I., & Nosrati, R. (2023). A novel microfluidic device with parallel channels for sperm separation using spermatozoa intrinsic behaviors. *Scientific Reports*, 13(1), 1185. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28315-7>
- [12] Huang, H.-Y., Huang, P.-W., & Yao, D.-J. (2017). Enhanced efficiency of sorting sperm motility utilizing a microfluidic chip. *Microsystem Technologies*, 23(2), 305–312. <https://doi.org/10.1007/s00542-015-2495-6>
- [13] Huang, H.-Y., Lu, C.-Y., Wang, I.-W., & Yao, D.-J. (2020). Motility-driven Sperm-sorting Microfluidic Chip with Little Cell Damage for Oligozoospermia Patients. *Sensors and Materials*, 32(8), 2585. <https://doi.org/10.18494/SAM.2020.2643>
- [14] Huang, H. (2014). Motile Human Sperm Sorting by an Integrated Microfluidic System. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*, 05(03). <https://doi.org/10.4172/2157-7439.1000199>
- [15] Iketubosin, F. (2018). In vitro fertilization embryo transfer processes and pathway: A review from practice perspective. *Tropical Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 35(3), 227. https://doi.org/10.4103/TJOG.TJOG_83_18
- [16] Kashaninejad, N., Shiddiky, M. J. A., & Nguyen, N. (2018). Advances in Microfluidics-Based Assisted Reproductive Technology: From Sperm Sorter to Reproductive System-on-a-Chip. *Advanced Biosystems*, 2(3), 1700197. <https://doi.org/10.1002/adbi.201700197>
- [17] Khalighi, S., & Saadatmand, M. (In Persian), (2022). Review of Using Microfluidics Technology for Fabrication of Cardiovascular Engineered Bioscaffolds. *Iranian Chemical Engineering*, 21(121), 66–84.
- [18] Leung, E. T. Y., Lee, C.-L., Tian, X., Lam, K. K. W., Li, R. H. W., Ng, E. H. Y., Yeung, W. S. B., & Chiu, P. C. N. (2022). Simulating nature in sperm selection for assisted reproduction. *Nature Reviews Urology*, 19(1), 16–36. <https://doi.org/10.1038/s41585-021-00530-9>
- [19] Natali, I. (2011). Sperm preparation techniques for artificial insemination-comparison of sperm washing, swim up, and density gradient centrifugation methods. In *Artificial Insemination in Farm Animals* (pp. 115–122). IntechOpen London, UK.
- [20] Retrieved from <https://www.comsol.com/forum/thread/attachment/37361/The-level-set-methodfrom-MEMS-Module-5198.pdf>

- [21] Omori, T., & Ishikawa, T. (In Persian), (2019). Swimming of Spermatozoa in a Maxwell Fluid. *Micromachines*, 10(2), 78. <https://doi.org/10.3390/mi10020078>
- [22] Raji, F., & Rahbar Kelishami, R. (2020). A Review of DNA Purification Methods: Microfluidics Systems. *Iranian Chemical Engineering*, 19(11), 55–80, In Persian.
- [23] Sharma, R., & Agarwal, A. (2020). Sperm Processing and Selection. In *Male Infertility* (pp. 647–659). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-32300-4_52
- [24] Taketoshi, N., Omori, T., & Ishikawa, T. (2020). Elasto-hydrodynamic interaction of two swimming spermatozoa. *Physics of Fluids*, 32(10), 101901. <https://doi.org/10.1063/5.0022107>
- [25] Vander Borgh, M., & Wyns, C. (2018). Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012>
- [26] Whitesides, G. M. (2006). The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 442(7101), 368–373. <https://doi.org/10.1038/nature05058>
- [27] Zheng, D., Zeng, L., Yang, R., Lian, Y., Zhu, Y.-M., Liang, X., Tang, L., Wang, H., Cao, Y., Hao, G., Liu, J., Zhao, J., Wang, R., Mol, B. W., Li, R., Huang, H.-F., & Qiao, J. (2019). Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) versus conventional in vitro fertilisation (IVF) in couples with non-severe male infertility (NSMI-ICSI): protocol for a multicentre randomised controlled trial. *BMJ Open*, 9(9), e030366. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-030366>
- [28] Zhou, Z., Kang, Y., Xu, Z., & Xue, P. (2019). Development and prospects of microfluidic platforms for sperm inspection. *Analytical Methods*, 11(36), 4547–4560. <https://doi.org/10.1039/C9AY01641D>