



Designing and Manufacturing of a 2-Node Acoustofluidic Microchannel

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Barani A.¹,
Mosaddegh P.^{2*},
Haghjooy Javanmard S.³,
Sepehriahnama S.⁴

How to cite this article

Barani A, Mosaddegh P, Haghjooy Javanmard S, Sepehriahnama S.
*Designing and Manufacturing of a 2-Node Acoustofluidic Microchannel.
*Modares Mechanical Engineering, 2021;21(10):651-660

¹Department of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

²Department of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

³Applied Physiology Research Center, Cardiovascular Research Institute, Isfahan University of Medical Science, Isfahan

⁴Research Fellow, Centre for Audio Acoustics and Vibration, University of Technology Sydney, Sydney, Australia

*Correspondence

Address: Department of Mechanical Engineering, Isfahan University of Technology, Esteghlal Sq., Isfahan University of Technology BLV, Isfahan, Iran, 8415683111

Phone:

Fax: -
mosaddegh@iut.ac.ir

Article History

Received: May 18, 2021

Accepted: June 20, 2021

ePublished: August 09, 2021

ABSTRACT

These days, investigation on using acoustofluidic microchannels in the separation of microparticles and cells is under consideration. Working under optimum efficiency, these microchannels should be designed and manufactured truly. In this work, a new methodology for designing and manufacturing acoustofluidic microchannels is explained. Then, a metallic microchannel with 2-nodes of pressure waves based on this method was developed. For mass production purposes, a low-cost and reliable method which is CNC micromachining is used. Also, to conduct the heat generated by the wave, this microchannel was made out of aluminum, and then the polishing technique is applied. Then, the performance of this microchannel in agglomerating human blood cells and BT-20 breast cancer cells to nodal lines was experimentally studied. The results showed that the applied design and manufacturing technique are suitable. Although some tests were performed to find temperature rise of microchannel due to damping effect, it was found that true design method and also using metals with high thermal conductivity can prevent the temperature increase to the point beyond which living cells will be hurt.

Keywords Acoustofluidics, Microfluidics, Microchannel, Acoustic Wave, Separation.

CITATION LINKS

[1] Microfluidic platform for cell isolation... [2] Iso-acoustic focusing of cells... [3] Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications. [4] Acoustic separation of circulating... [5] A single inlet two-stage acoustophoresis... [6] Cell separation using tilted-angle standing surface acoustic waves. [7] Three-dimensional continuous particle focusing... [8] Standing surface acoustic wave... [9] Surface acoustic wave actuated... [10] Microfabricated particle focusing device. [11] Acoustic focusing with engineered node locations... [12] Acoustic tweezers: patterning cells and microparticles... [13] Multi-scale patterning of microparticles... [14] Standing surface acoustic wave (SSAW)-based cell washing. [15] Forthcoming Lab on a Chip tutorial series on acoustofluidics... [16] Recent advances in application of acoustic, acousto-optic and photoacoustic methods... [17] Digital microfluidics: Techniques, their applications and advantages. [18] Microfluidic integrated acoustic waving for manipulation of cells and molecules. [19] MicroBubble activated acoustic cell sorting. [20] Non-contact acoustic cell trapping... [21] Characterization of adhesive properties of red blood... [22] Surface acoustic waves (SAW)-based biosensing for quantification... [23] Ultrasound-induced cell-cell interaction studies... [24] Sorting drops and cells with acoustics... [25] Moving-part-free microfluidic systems... [26] A microfluidic love-wave biosensing device... [27] Detection of viral bioagents using a shear... [28] A surface acoustic wave biosensor concept... [29] Effect of surface acoustic waves on the viability... [30] Ultrasonic manipulation of single cells. [31] Improved positioning and detectability... [32] A numerically efficient damping... [33] General one-dimensional treatment... [34] Layered piezoelectric resonators... [35] Ultrasonic separation of suspended particles... [36] Single half-wavelength ultrasonic particle... [37] Positioning particles within liquids... [38] Modelling in the design... [39] Modelling of layered resonators... [40] The selection of layer thicknesses to control... [41] Modelling for the robust design... [42] Numerical study of thermoviscous effects... [43] Forces acting on a small particle in an acoustical... [44] Whole-system ultrasound resonances... [45] Microparticle acoustophoresis in aluminum... [46] Modeling and optimization of acoustofluidic... [47] Forces acting on a small particle... [48] Three-dimensional numerical modeling... [49] Numerical simulation tools...

طراحی و ساخت میکروکانال آکوستوفلوییدیکی دو گره‌ای

علیرضا بارانی

دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

پیمان مصدق*

دانشکده مهندسی مکانیک، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

شقایق حق جوی جوانمرد

مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشکده

فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

شاهرخ سپهری رهنما

مرکز صوت و ارتعاش، دانشگاه فنی سیدنی، سیدنی، استرالیا

چکیده

امروزه تحقیقات در استفاده از میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی در جداسازی میکرو ذرات و سلول‌ها رو به گسترش است. برای استفاده بهینه از انرژی صوتی، این میکروکانال‌ها باید از نظر ابعادی به درستی طراحی و ساخته شود. در این مقاله نحوه طراحی و ساخت میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی شرح داده شده و در ادامه یک میکروکانال آکوستوفلوییدیکی فلزی دو گره‌ای طراحی و ساخته شده است. به منظور ارائه روشی ارزان و قابل اعتماد، این میکروکانال از جنس آلومینیوم و با ماشین فرز CNC سه محور ساخته شد. سپس به منظور بررسی عملکرد میکروکانال از نظر آکوستوفلوییدیکی، آزمایش‌هایی برای بررسی قابلیت آن در آوردن ذرات شناور در خون انسان (مانند گلبول‌های سفید و قرمز) و سلول‌های BT-20 محلول در PBS به محل گره‌های موج انجام شد و نشان داده شد که روش طراحی و ساخت بکار گرفته شده مناسب برای میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی است. همچنین از آنجا که استهلاک امواج صوتی در میکروکانال، موجب افزایش دمای سیال و آسیب به سلول‌ها می‌شود، افزایش دما در این میکروکانال بررسی و نشان داده شد که طراحی صحیح و استفاده از فلزات با ضریب انتقال حرارت بالا در ساخت میکروکانال می‌تواند از افزایش دما به مقداری که سلول‌ها آسیب ببینند جلوگیری کند.

کلیدواژه‌ها: آکوستوفلوییدیکی، میکروفلوییدیکی، میکروکانال، موج صوتی، جداسازی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۳۰

* نویسنده مسئول: mosadegh@iut.ac.ir

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر، توجه خاصی به کوچک‌سازی وسایل آزمایشگاهی به دلیل افزایش سرعت انجام آزمایش‌ها، کاهش حجم نمونه مورد آزمایش و نیز کاهش فضای فیزیکی آزمایشگاه شده است [1, 2]. ریزتراشه‌های میکروفلوییدیکی این شرایط را فراهم کرده‌اند و استفاده از این فن‌آوری که "آزمایشگاه روی تراشه" نامیده می‌شود رو به گسترش است [3]. این ریزتراشه‌ها قابلیت خود در فرآیندهای آزمایشگاهی مانند جداسازی [4-6]، دسته‌بندی [7-9]، متمرکز کردن [10, 11]، الگو دادن [12, 13] و شستن سلول‌ها [14] نشان داده‌اند. ریزتراشه‌ها با محرک‌های گوناگونی مانند محرک‌های مغناطیسی، الکتریکی، نوری، هیدرودینامیکی و صوتی کار

می‌کنند [15-18]. ریزتراشه‌هایی که از محرک صوتی برای دست‌کاری ذرات و سلول‌های شناور در میکروکانال استفاده می‌کنند ریزتراشه‌های آکوستوفلوییدیکی گفته می‌شود و به فرایندی که با استفاده از انرژی صوتی روی ذرات انجام می‌شود آکوستوفورسیس گفته می‌شود [19]. از آنجا که امواج صوتی آسیب‌زا نیستند، بنابراین فن‌آوری آکوستوفورسیس غیرتهاجمی است و به سلول‌ها و ذرات آسیب نمی‌زند [20-23]. در آکوستوفورسیس می‌توان میکروکانال‌ها را با روش‌های ساده و ارزان ساخت [24-26]. همچنین به دلیل اثرگذاری مستقیم امواج صوتی روی سلول‌ها نیازی به استفاده از افزودنی‌هایی مانند آنچه که در روش‌های مغناطیسی است نمی‌باشد. در این روش‌ها ذرات فرو مغناطیس به سلول‌ها چسبانده می‌شوند تا در میدان مغناطیسی تحت اثر نیروی مغناطیسی واکنش نشان دهند. از مزایای دیگر آکوستوفورسیس می‌توان به اتصال آسان مبدل پیزوالکتریک به میکروکانال اشاره کرد [27-30].

امواج و انرژی صوتی مورد نیاز برای دست‌کاری سلول‌ها و ذرات را می‌توان با استفاده از یک مبدل پیزوالکتریک متصل به میکروکانال تولید و به داخل کانال سیال ارسال کرد. امواج صوتی که از بدنه میکروکانال عبور می‌کنند و به درون کانال سیال وارد می‌شوند را به دلیل انتشار در همه حجم میکروکانال، امواج حجمی (BAW) (bulk acoustic wave) می‌نامند [31]. برای دستیابی به بیشینه انرژی درون کانال سیال، میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی که با امواج حجمی کار می‌کنند باید در بسامد تشدید خود تحریک شوند [32]. در این بسامد بیشینه انرژی صوتی به داخل کانال سیال وارد می‌شود و بیشینه نیروی پرتو صوتی اولیه (primary acoustic radiation force) که عامل حرکت سلول‌ها در کانال است را به سلول‌ها وارد می‌کند. بنابراین، در بسامد تشدید دست‌کاری سلول‌ها را می‌توان با کمترین اتلاف انرژی و در کمترین زمان انجام داد.

برای دستیابی به بسامدهای تشدید، نوتنی و همکاران [33, 34] مدلی ریاضی از میکروکانال مبتنی بر ماتریس انتقال ارائه دادند که در ادامه این مدل توسط گروشل و هاکس و همکاران [35, 36] بسط داده شد و به صورت تجربی مورد مطالعه قرار گرفت. گروشل یک میکروکانال آکوستوفلوییدیکی را به منظور پیدا کردن دامنه بسامدی که بهترین بازدهی جداسازی در آن اتفاق می‌افتد مورد آزمایش قرار داد [35]. او نشان داد که بازدهی بستگی به بسامد تحریک و خواص مواد داخل کانال سیال دارد. هاکس و همکاران مدل نوتنی را راستی آزمایشی کردند و نشان دادند که بیشینه انرژی در بسامدهای طبیعی مبدل بدست می‌آید [36]. هاکس و همکاران [37] همچنین این مدل را برای پیش‌بینی موقعیت گره موج در میکروکانال استفاده کردند. آن‌ها توانستند گره موج را با تغییر بسامد تحریک نسبت به دیوار کانال جابجا و به روی دیوار و وسط کانال سیال منتقل کنند. به هر حال هر بسامدی شکل مود

حجمی کار می‌کنند از یک بدنه، یک سقف شیشه‌ای و یک مبدل پیزوالکتریک ساخته می‌شوند. سیگنال‌های الکتریکی متناوب توسط یک ژنراتور تولید و از طریق یک تقویت‌کننده به توان مورد نظر رسانده می‌شوند. این سیگنال‌ها به مبدل پیزوالکتریک منتقل و باعث کرنش متناوب در پیزوالکتریک می‌شود. این حرکت مکانیکی رفت و برگشتی به بدنه و از طریق آن به کانال سیال منتقل می‌رسد. درون کانال سیال موج بین دیوارها بازتاب می‌کند و باعث ایجاد یک موج ایستای صوتی می‌شود. این موج در برخورد با ذرات شناور درون کانال ایجاد نیروی پرتو صوتی اولیه می‌کند که بسته به خواص صوتی ذرات نسبت به سیال، این نیرو به سمت گره یا شکم موج می‌باشد.

برای طراحی میکروکانال‌های آکوستوفلوئیدی ابتدا باید مود کاری میکروکانال را مشخص کرد. اگر قرار است که میکروکانال دارای یک گره در وسط باشد مود کاری میکروکانال $\lambda/2$ (طول موج است) و اگر قرار باشد که درون کانال سیال دو گره موج در نزدیکی دیوارها تشکیل شود مود کاری میکروکانال λ است. با استفاده از این تعریف می‌توان عرض کانال سیال W_f را محاسبه کرد که در یک میکروکانال تک گره برابر $\lambda/2$ و در یک میکروکانال دو گره برابر λ است. λ بستگی به سرعت صوتی در سیال C_f و بسامد f دارد. از آنجا که مبدل مورد استفاده در این تحقیق بسامد تشدیدی در حدود ۱ مگاهرتز دارد، بنابراین طول موج صوت در آب برابر است با:

$$\lambda = \frac{C_f}{f} = \frac{1496.7}{1 \times 10^6} \approx 1496.7 \mu\text{m} \quad (1)$$

در آزمایش‌های تجربی، سیال مورد استفاده خون رقیق شده انسان با محلول PBS (Phosphate Buffered Saline) است که از نظر خواص صوتی به آب نزدیک هستند. بنابراین برای طراحی میکروکانال عرض کانال سیال با استفاده از رابطه ۱ برابر ۱۴۰۰ میکرومتر در نظر گرفته شد.

گام بعدی طراحی بدنه میکروکانال می‌باشد که به دلیل خواص ارتعاشی خوب، انتقال حرارت بالا، قیمت مناسب و نیز دسترسی فراوان آلومینیوم، بدنه میکروکانال بر اساس خواص آلومینیوم 6061-T6 طراحی گردید. برای طراحی ضخامت دیوارهای کانال سیال ابتدا باید طول موج صوت درون آلومینیوم محاسبه شود که از رابطه ۲ بدست می‌آید.

$$\lambda = \frac{C_{Al}}{f} = \frac{6420}{1 \times 10^6} \approx 6420 \mu\text{m} \quad (2)$$

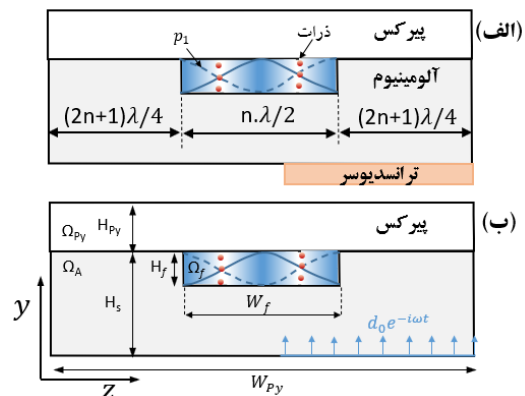
یک چهارم طول موج صوت درون آلومینیوم برابر ۱۶۰۵ میکرومتر است. برای سهولت در گیره بندی و ساخت، ضخامت هر دیوار مضرری از ۵ در نظر گرفته شد که ۸۰۲۵ میکرومتر می‌شود. با استفاده از این ابعاد و خواص مواد ارائه شده در جدول ۱ نشان داده شده است. با استفاده از مقطع میکروکانال در نرم افزار کامسول ایجاد و به جای شبیه سازی مبدل، شرط مرزی جابجایی $d_0 e^{-i\omega t}$ با دامنه $d_0 = 0.1$ نانومتر به

مخصوص خود را دارد که در آن موقعیت گره موج مشخص است که با تغییر بسامد می‌توان گره را جابجا کرد. آن‌ها همچنین نشان دادند که بهینه انرژی درون کانال موقعی بدست می‌آید که ضخامت دیوارهای کانال سیال تقریباً مضرب فردی از یک چهارم طول موج صوتی باشد (شکل ۱ الف)). در این شرایط بهترین بازتابش امواج صوتی از دیوارها رخ می‌دهد و موج فشار مرتبه اول p_1 با دامنه بزرگتری ایجاد می‌شود. پژوهش‌های بیشتری نیز بر روی میکروکانال‌های آکوستوفلوئیدی برای پیدا کردن توزیع انرژی و پیش‌بینی موقعیت گره موج انجام شده است که در مراجع [32, 38] قابل دسترسی است.

در این پژوهش، روش طراحی و ساخت قابل اعتماد و ارزانی برای میکروکانال‌های آکوستوفلوئیدی ارائه و یک میکروکانال آکوستوفلوئیدی دو گره‌ای طراحی و ساخته شده است. هدف از طراحی، میکروکانالی است که در بسامد تشدید مبدل به تشدید برسد و در عمل دو گره موج در نزدیکی دیوارهای کانال سیال در آن تشکیل شود. گزینه‌های موثر در بسامدهای تشدید طبیعی و شکل مودهای مربوطه جنس میکروکانال، ابعاد و شکل آن است که هر تغییری در این موارد باعث تغییر در نتیجه نهایی می‌شود. در این تحقیق، شکل و جنس میکروکانال از قبل انتخاب شده است. عرض کانال سیال نیز از معادلات انتشار موج محاسبه می‌شود و مقداری ثابت است. ارتفاع میکروکانال نیز تأثیری روی محل گره موج در راستای عرضی کانال سیال ندارد. بنابراین این مورد نیز ثابت در نظر گرفته شد. تنها گزینه موثر ضخامت دیوارهای کانال سیال است که مضرب فردی از یک چهارم طول موج در نظر گرفته می‌شود. با استفاده از ابعاد ارائه شده، عملکرد میکروکانال از نظر عددی در نرم افزار کامسول مورد مطالعه قرار گرفت و سپس برای راستی آزمایی، یک میکروکانال که با استفاده از یک دستگاه فرز CNC سه محور ساخته شده است، مورد آزمایش قرار گرفت.

۲- مدل سازی ریاضی

به طور معمول میکروکانال‌های آکوستوفلوئیدی که با امواج



شکل ۱) تصویر شماتیک از مقطع میکروکانال. (الف) ابعاد دیوار میکروکانال و (ب) شرط مرزی جابجایی جایگزین مبدل

که u و σ به ترتیب تانسور تنش و جابجایی هستند که در مدل الاستیک خطی و برای یک جامد ایزوتروپیک بین u و σ رابطه ۴ برقرار است [46]:

$$\begin{pmatrix} \sigma_{xx} \\ \sigma_{yy} \\ \sigma_{zz} \\ \sigma_{yz} \\ \sigma_{zx} \\ \sigma_{xy} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} C_{11} & C_{12} & C_{12} & 0 & 0 & 0 \\ C_{12} & C_{11} & C_{12} & 0 & 0 & 0 \\ C_{12} & C_{12} & C_{11} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & C_{44} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & C_{44} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \partial_x u_x \\ \partial_y u_y \\ \partial_z u_z \\ \partial_y u_z + \partial_z u_y \\ \partial_x u_z + \partial_z u_x \\ \partial_x u_y + \partial_y u_x \end{pmatrix} \quad (4)$$

که برای یک ماده ایزوتروپیک $C_{12} = C_{11} - 2C_{22}$. برای در نظر گرفتن استهلاک امواج درون جسم جامد می‌توان مضرب $(1 + i\Gamma_s)$ را در سمت راست رابطه ۳ ضرب کرد که Γ_s ضریب استهلاک صوت در جامدات است [32].

از آنجا که برای چسباندن سقف شیشه‌ای از چسب سیلیکون استفاده شده است و ضخامت چسب در عمل حدود ۰.۵ میکرومتر است، نمی‌توان این ضخامت نازک را به دلیل اندازه مش بسیار ریز و افزایش زیاد زمان حل مانند اجزای جامد دیگر مدل کرد. در چنین مواردی می‌توان از مدل Thin elastic layer استفاده کرد. با استفاده از این مدل اگر ضریب پواسون و مدول یانگ چسب به ترتیب برابر ν و Y باشند، ثابت فنری در راستای ضخامت k_{gl}^n و عمود بر آن k_{gl}^t برای چسب به ضخامت l_{gl} می‌شود [32]:

$$k_{gl}^n = \frac{1}{l_{gl}} \frac{Y(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)} \quad (5)$$

$$k_{gl}^t = \frac{1}{l_{gl}} \frac{Y}{2(1+\nu)} \quad (6)$$

میدان جابجایی هارمونیک در بدنه آلومینیومی باعث ایجاد یک میدان فشار مرتبه اول p_1 و یک میدان سرعت مرتبه اول v_1 هارمونیک درون سیال می‌شود که با در نظر گرفتن اختلالات مرتبه اول و با استفاده از رابطه هلمهلتز این میدان‌ها برای یک سیال غیر لزج با جرم مخصوص ρ_f ، سرعت صوت c_f و تراکم پذیری $k_f = (\rho_f c_f^2)^{-1}$ به صورت زیر مدل می‌شوند:

$$\nabla^2 p_1 = -k_f p_1 \quad (7)$$

$$v_1 = \frac{i}{\omega \rho_f} \nabla p_1 \quad (8)$$

استهلاک امواج درون سیال را نیز می‌تواند با ضرب $(1 + i\Gamma_f)$ در سمت چپ رابطه ۸ در نظر گرفته شود که Γ_f ضریب استهلاک صوت در سیالات است.

از برخورد موج فشار مرتبه اول به ذرات شناور در سیال نیروی پرتو صوتی اولیه F به وجود می‌آید که این نیرو برای ذرات با لایه مرزی لزج نازک نسبت به شعاع a و تراکم پذیری k_p و جرم مخصوص ρ_p می‌شود [47]:

$$F = -\pi a^3 \left[\frac{2}{3} k_f Re(f_0^* p_1^* \nabla p) - \rho_f Re(f_1^* v_1^* \cdot \nabla v_1) \right] \quad (9)$$

$$f_0 = 1 - \frac{k_p}{k_f} \quad \text{and} \quad f_1 = \frac{2(\rho_p - \rho_f)}{2\rho_p + \rho_f} \quad (10)$$

که ضرایب f_0 و f_1 به ترتیب ضرایب تک قطب و دو قطب (ضرایب پراش موج) هستند. علامت ستاره مزدوج مختلط است.

مرز پایینی بدنه آلومینیومی داده شد. شکل ۱(ب) این شرط مرزی را نشان می‌دهد.

برای مدل کردن رفتار دینامیکی اجزای میکروکانال، رفتار یک نقطه از سیستم تحت نوسانات هارمونیک به صورت $A(r, t) = A(r)e^{-i\omega t}$ مدل می‌شود. هر میدانی مانند سرعت و یا فشار است که دارای دامنه $A(r)$ (وابسته به مکان) و یک مضرب $e^{-i\omega t}$ برای در نظر گرفتن رفتار وابسته به زمان است که ω و t به ترتیب زمان و بسامد زاویه‌ای هستند. از آنجا که روابط ارتعاشی مورد استفاده خطی و هارمونیک است، مضرب $e^{-i\omega t}$ از طرفین روابط با فاکتورگیری حذف می‌شود. با استفاده از این روش مدل‌سازی، در یک جسم جامد با جرم مخصوص ρ_s ، تعادل مکانیکی در بارگذاری‌های هارمونیک می‌شود:

$$\nabla \cdot \sigma = -\rho_s \omega^2 u \quad (3)$$

جدول ۱) ابعاد میکروکانال

مقدار (mm)	نشانه	نام
۱	HPy	ارتفاع پیرکس
۲	Hs	ارتفاع بدنه
۱/۴	Wf	عرض کانال سیال
۰/۳	Hf	ارتفاع کانال سیال
۱۷/۵	WPy	عرض بدنه

جدول ۲) خواص مواد مورد استفاده در این پژوهش

واحد	مقدار	نشانه	نام
آب			
kg/m ³	۹۹۷/۰۵	ρ_f	جرم مخصوص [42]
m/s	۱۴۹۶/۷	c_f	سرعت صوت [42]
TPa ⁻¹	۴۴۷/۷	k_f	تراکم پذیری [42]
1	۰/۰۰۴	Γ_f	ضریب استهلاک [32]
پلی‌استایرن			
kg/m ³	۱۰۵۰	ρ_p	جرم مخصوص [43]
TPa ⁻¹	۲۳۸	k_p	تراکم پذیری [43]
1	۰/۴۶۸	f_0	ضریب قطب اول [44]
1	۰/۰۳۴	f_1	ضریب قطب دوم [44]
پیرکس			
kg/m ³	۲۲۳۰	ρ_s	جرم مخصوص [44]
GPa	۶۹/۷۲	C_{11}	مدول الاستیک [44]
GPa	۲۶/۱۵	C_{44}	مدول الاستیک [44]
1	۰/۰۰۴	Γ_s	ضریب استهلاک [44]
آلومینیوم			
kg/m ³	۲۷۰۰	ρ_s	جرم مخصوص [45]
GPa	۱۰۲	C_{11}	مدول الاستیک [45]
GPa	۲۵/۹	C_{44}	مدول الاستیک [45]
1	۰/۰۰۱۳	Γ_s	ضریب استهلاک [45]

از انرژی سیال است نمودار آبی رنگ که بیانگر انرژی سیال است واضح دیده نمی‌شود. برای دیدن بهتر هر دو نمودار محور انرژی در مقیاس لگاریتمی ترسیم شد و در شکل ۲(ب) آورده شده است. در این شکل می‌توان دید که در همان بسامدهایی که قسمت جامد به حالت تشدید می‌رسد قسمت سیال نیز در حالت تشدید است. در همین بسامدها مؤلفه‌های نیروی پرتو صوتی اولیه از دیگر بسامدها بزرگ‌تر است که در شکل ۲(ج) نشان داده شده است. هر کدام از این بسامدها دارای شکل مود مخصوص به خود (نحوه توزیع فشار در کانال سیال) هستند که در شکل ۳ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود بسامد ۰/۹۳۷ و ۱/۰۵۹ مگاهرتز شکل مود مورد انتظار را ندارند. در این بسامدها تعداد خطوط گره (خطوط سفید رنگ بین ناحیه قرمز و آبی) دو عدد نیست و نیز این خطوط نسبتاً مستقیم و عمود به کف کانال نمی‌باشند. در چنین شرایطی کنترل حرکت ذرات برای جداسازی مشکل است. شکل ۳ همچنین توزیع نیروی پرتو صوتی اولیه و جهت و راستای آن را بر روی ذرات پلی‌استایرن به قطر ۱۲/۵ میکرون در زیر هر کدام از شکل مودها نشان می‌دهد. در این شکل مشاهده می‌شود که نیرو در نقاط گره و شکم موج صفر است اما جهت نیرو به سمت خطوط گره می‌باشد. همان طور که دیده می‌شود در بسامدهای ۰/۹۳۷ و ۱/۰۵۹ مگاهرتز توزیع، جهت و راستای نیرو به سمت خطوط گره نیست. همچنین طول پیکان‌های نشان‌دهنده راستا، جهت و اندازه نیرو برای این بسامدها نسبت به دیگران بسیار کوچک‌تر است.

شکل ۳ همچنین نشان می‌دهد که بسامدهای ۰/۹۲۱، ۱/۰۳۴ و ۱/۰۴۳ مگاهرتز برای جداسازی ذرات مناسب‌اند اما بسامدهای ۱/۰۳۴ و ۱/۰۴۳ مگاهرتز شکل مود بهتری دارند اگرچه نیروی پرتو صوتی در مود ۰/۹۲۱ مگاهرتز بزرگ‌تر است. همان طور که مشاهده می‌شود راستا و جهت نیرو به سمت خطوط گره است که به مفهوم حرکت دادن ذرات به سمت این گره‌ها در صورت اعمال امواج صوتی است. در این حالت ذرات در محل گره تجمع می‌کنند که در صورت داشتن یک جریان سیال عمود بر صفحه و گذاشتن خروجی‌هایی روبروی گره‌ها در انتهای کانال می‌توان ذرات را به آن خروجی‌ها هدایت کرد و جداسازی را انجام داد. جریان آرام سیال در میکروکانال‌ها موجب حفظ آرایش ذرات پس از عبور از میدان صوتی می‌شود، بنابراین ذرات جمع شده در گره در موقعیت خود تا خروج از کانال باقی می‌مانند.

۴- ساخت میکروکانال و تجهیزات آزمایش

پس از تکمیل طراحی و انجام شبیه‌سازی ساخت کانال به منظور اعتبارسنجی نتایج شبیه‌سازی انجام گردید. میکروکانال مورد استفاده در این تحقیق از جنس آلومینیوم 6061-T6 که دارای خواص صوتی مناسب (امپدانس صوتی بالا) است ساخته شده است. از آنجا که هدف، ساخت میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی

با استفاده از مرجع^[44]، متوسط مکانی مؤلفه‌های نیروی پرتو صوتی اولیه در راستای z و y می‌شود:

$$\bar{F}_z = \frac{1}{W_f H_f} \int_{\Omega_f} \frac{z}{|z|} F_z dy dz \quad (11)$$

$$\bar{F}_y = \frac{1}{W_f H_f} \int_{\Omega_f} F_y dy dz \quad (12)$$

نیروهای پرتو صوتی با چگالی انرژی صوتی درون کانال سیال رابطه مستقیم دارد و هرچه سهم بیشتری از انرژی صوتی بجای بدنه میکروکانال درون سیال متمرکز باشد هم بازدهی انرژی بیشتر است و هم دمای بدنه میکروکانال در اثر استهلاک انرژی صوتی بالا نمی‌رود. چگالی انرژی صوتی در قسمت جامد و سیال را می‌توان از روابط ۱۱ و ۱۲ بدست آورد.

$$E_s = \frac{1}{2} \rho_s \omega^2 \langle u_j u_j \rangle + \frac{1}{2} \langle \gamma_{ij} \sigma_{ij} \rangle \quad (13)$$

$$E_f = \frac{1}{2} \rho_f \langle v_j v_j \rangle + \frac{1}{2} k_f \langle p_i^2 \rangle \quad (14)$$

که عملگر (...) متوسط زمانی و $\gamma_{ij} = \frac{1}{2} (\partial_i u_j + \partial_j u_i)$ مؤلفه‌های تانسور کرنش است. انرژی صوتی ذخیره‌شده در قسمت جامد و سیال می‌شود:

$$E_s = \int_{\Omega_s} E_s dy dz, \quad E_f = \int_{\Omega_f} E_f dy dz \quad (15)$$

شرایط مرزی بین جامد و سیال بر اساس پیوستگی میدان سرعت و تنش در نظر گرفته شد. از آنجا که بین جامد و هوای اطراف تنشی وجود ندارد، تنش عمودی بر این مرزها صفر در نظر گرفته شد. در محل نصب مبدل پیزوالکتریک نیز شرط مرزی جابجایی اعمال گردید. رابطه ۱۶ شرایط مرزی را برای سطوح با بردار عمود n نشان می‌دهد.

$$\left. \begin{aligned} \mathbf{v} \cdot \mathbf{n} &= -i\omega \mathbf{u} \cdot \mathbf{n} \\ \boldsymbol{\sigma}_{sl} \cdot \mathbf{n} &= -p \mathbf{n} \end{aligned} \right\} \text{ (الف) ۱۶}$$

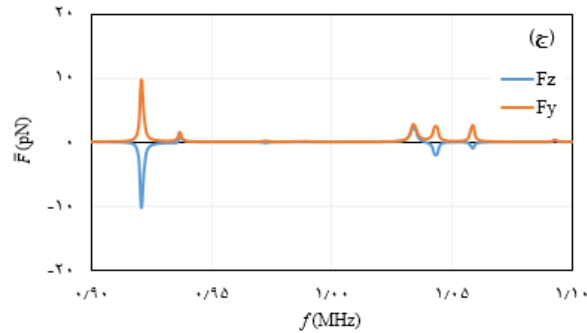
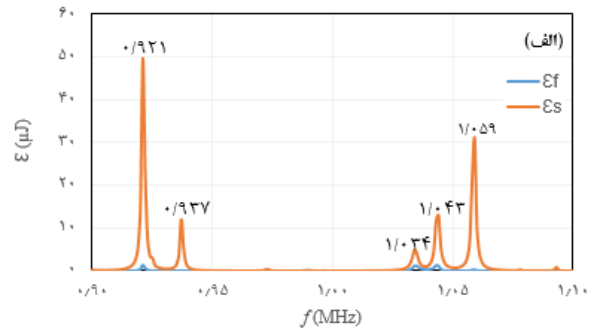
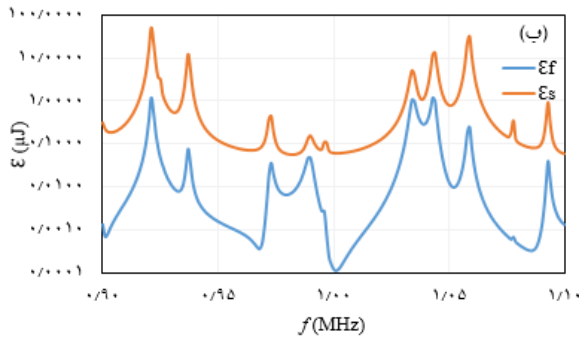
$$\boldsymbol{\sigma}_{sl} \cdot \mathbf{n} = 0 \quad \text{(ب) ۱۶}$$

$$\mathbf{u} = d_0 \mathbf{n} \quad \text{(ج) ۱۶}$$

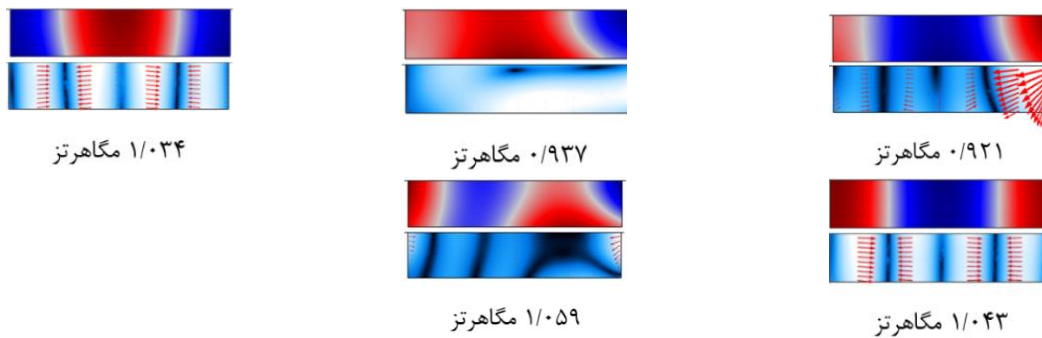
۳- تحلیل عددی

با استفاده از روابط ۱ تا ۵ و شرایط مرزی ۱۴ رفتار دینامیکی میکروکانال در نرم‌افزار کامسول شبیه‌سازی شد. در شبیه‌سازی‌ها مرکز دستگاه مختصات در وسط کانال سیال و راستای محورها همان‌گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است در نظر گرفته شد. به منظور اعتماد به نتایج شبیه‌سازی تحلیل مش با روش گفته‌شده در مرجع^[48] انجام شد. خواص مواد مورد استفاده در شبیه‌سازی در جدول ۲ نشان داده شده است. ضریب استهلاک چسب سیلیکون در بسامدهای مگاهرتز در این تحقیق ۰/۱ در نظر گرفته شده است^[49]. نتایج شبیه‌سازی انرژی صوتی در قسمت جامد و سیال در شکل ۲ نشان داده شده است.

همان طور که شکل ۲(الف) نشان می‌دهد پنج اکستریم قابل توجه در نمودار انرژی وجود دارد که هر کدام معرف یک بسامد تشدید هستند. از آنجا که انرژی در قسمت‌های جامد میکروکانال بیشتر



شکل ۲) نتایج تحلیل عددی. (الف) توزیع انرژی در قسمت جامد و سیال، (ب) نمودار نیم-لگاریتمی قسمت (الف) و (ج) تغییر مؤلفه‌های متوسط نیروی پرتو صوتی نسبت به بسامد

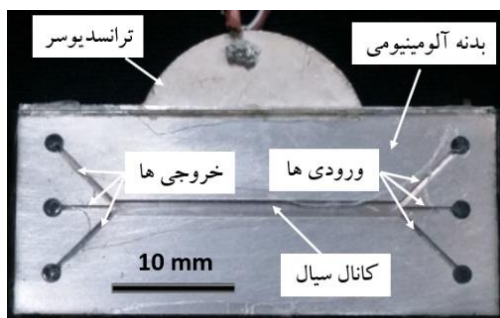


شکل ۳) تغییرات فشار مرتبه اول و جهت، اندازه و راستای نیروی پرتو صوتی اولیه در بسامدهای تشدید. فشار مرتبه اول ۱۰۰- (قرمز) تا ۱۰۰ کیلو پاسکال (آبی). نیرو از صفر (مشکی) تا ۱۰۰ پیکونیوتن (سفید)

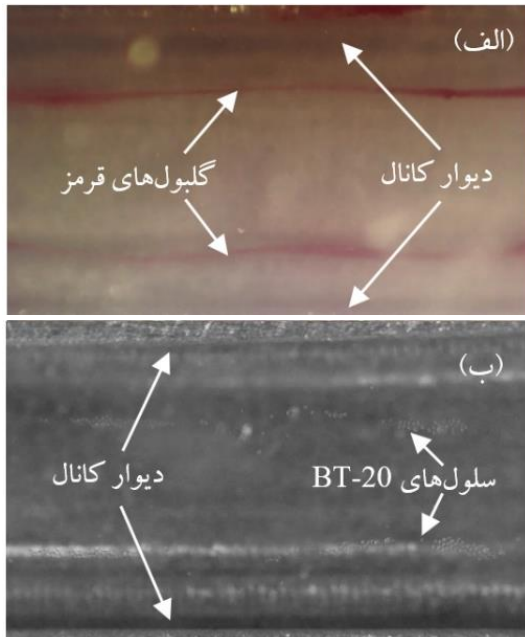
۴ میکروکانال ساخته شده به همراه ورودی‌ها و خروجی‌ها را نشان می‌دهد.

برای ایجاد امواج صوتی از یک ژنراتور MEGATEK مدل MFG-2120 استفاده شد که جریان متناوب برق شهر را با بسامد ۵۰ هرتز به سیگنال‌های الکتریکی با شکل سینوسی و بسامد مگاهرتز تبدیل می‌کند. از آنجا که سیگنال‌های خروجی ژنراتور توان پایینی دارند و نمی‌توانند ارتعاشات در مبدل و میکروکانال ایجاد کنند، از یک

با روشی ارزان و قابل اعتماد و نیز قابل تولید انبوه می‌باشد، روش ماشین‌کاری برای ساخت میکروکانال مورد مطالعه، استفاده شد. با یک فرز CNC سه محور شیار کانال سیال و سه ورودی و سه خروجی میکروکانال و محیط اطراف بدنه ماشین‌کاری شد. از آنجا که در این تحقیق هدف بررسی قابلیت میکروکانال طراحی و ساخته شده در گردآوردن ذرات در دو گره موج می‌باشد، از سیال ساکن و بدون جریان در آزمایش‌ها استفاده شد، بنابراین یک ورودی و یک خروجی میکروکانال برای تزریق و خروج سیال باز و بقیه مسدود شدند. پس از ساخت بدنه، سقف شیشه‌ای میکروکانال با چسب سیلیکون و مبدل پیزوالکتریک (Ferromer Pz26) با چسب اپوکسی به بدنه متصل شدند. برای آزمایش‌ها از یک میکروسکوپ نوری با نام Leica DM IL LED Fluo استفاده شد که از نوع معکوس است. بنابراین برای دیدن ذرات درون میکروکانال که کف آن از آلومینیوم است و شفاف نیست، یک لامپ LED به عنوان منبع نور در مجموعه آزمایش نصب شد. شکل



شکل ۴) میکروکانال ساخته شده



شکل ۶ نتایج آزمایش. (الف) به خط کردن ذرات موجود در خون انسان در دو گرّه موج و (ب) جمع آوری سلول‌های سرطان سینه BT-20 در دو گرّه موج

بیشتری نسبت به ذرات کوچک‌تر می‌گیرند. این امر موجب فاصله گرفتن ذرات بزرگ‌تر از ذرات کوچک‌تر و انجام جداسازی می‌شود. اما این جداسازی در یک بازه زمانی کوچک صورت می‌گیرد که اگر جریان سیال نیز به آزمایش اضافه شود می‌توان ذرات را پس از جداسازی با استفاده از جریان از میدان صوتی بیرون برد و در ادامه فاصله بین ذرات را بدلیل وجود جریان آرام در سیال حفظ کرد و از خروجی‌های مشخص شده در انتهای کانال جدا کرد. اما اگر جریانی در سیال نباشد و مدت زمان بیشتری امواج صوتی اعمال شوند همه ذرات چه با سرعت زیاد و چه کم در نهایت به محل گرّه می‌رسند. بنابراین در شکل ۶ (الف) تنها گلبول‌های قرمز در محل گرّه تجمع نکرده‌اند. ذرات دیگر مانند گلبول‌های سفید که بزرگ‌تر از گلبول‌های قرمزند نیز حضور دارند اما قابل مشاهده نیستند.

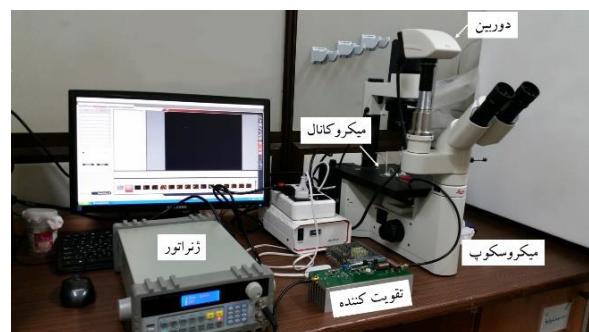
شکل ۶ نشان می‌دهد که اگرچه روش ماشین‌کاری نسبت به لیتوگرافی که روشی هزینه‌بر و مرسوم در ساخت میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی است خطاهایی دارد اما میکروکانال ساخته شده عملکرد خوبی در جمع کردن ذرات در محل گرّه‌ها دارد. این موضوع در تولید انبوه اهمیت بیشتری دارد. به این مفهوم که روش ماشین‌کاری قابلیت تولید انبوه را دارد و با استفاده از آن می‌توان میکروکانال‌هایی بسیار ارزان‌تر از روش لیتوگرافی اما با عملکردی مشابه ساخت. یکی دیگر از موارد قابل توجه شکل گرّه موج است که هرچه خطی‌تر باشد بهتر است. شکل ۶ نشان می‌دهد که خطوط گرّه نسبتاً خطی است اگرچه سطوح دیوارها کیفیت سطحی مانند آنچه در لیتوگرافی بدست می‌آید ندارند. کیفیت سطح در انحراف موج صوتی از حالت صفحه‌ای موثر است که می‌تواند گرّه را از شکل خطی به شکل موجی تغییر دهد که اگر دامنه شکل موج گرّه زیاد

تقویت‌کننده که در دانشگاه صنعتی اصفهان طراحی و ساخته شد و در خروجی ژنراتور قرار دارد برای افزایش توان این سیگنال‌ها استفاده گردید. پس از تقویت سیگنال‌ها، خروجی تقویت‌کننده به مبدل پیزوالکتریک متصل شد که سیگنال‌های خروجی آن موجب ایجاد کرنش متناوب در مبدل و نیز در میکروکانال می‌شود. شکل ۵ مجموعه آزمایش را نشان می‌دهد.

آزمایش‌ها روی خون ۳۰ در صد رقیق شده انسان با محلول PBS و سلول‌های سرطان سینه BT-20 محلول در PBS انجام شد. در آزمایش‌های مربوط به کانال‌های میکروفلوییدیکی به دلیل ابعاد میکرونی ذرات، احتمال چسبندگی ذرات به سطوح میکروکانال زیاد است که برای جلوگیری از این مسئله به سیال ماده‌ای که چسبندگی را کاهش می‌دهد اضافه می‌کنند که در این تحقیق از ۴ درصد وزنی ماده پلورائیک (Pluronic) F-127 استفاده شد.

۵- نتایج آزمایش

پس از ساخت میکروکانال به منظور بررسی عملکرد آن در آوردن میکروذرات در محل گرّه‌ها از آزمایش‌هایی بر روی سلول‌های محلول در خون انسان و سلول‌های سرطان سینه BT-20 استفاده گردید. آزمایش با سیال ساکن و بدون جریان و برای بازه بسامد ۱/۱-۰/۹ مگاهرتز انجام شد که در بسامد ۱/۰۵ مگاهرتز ذرات با بیشترین سرعت به محل گرّه حرکت کردند. شکل ۶ نتایج این آزمایش‌ها را نشان می‌دهد. به دلیل ساده‌سازی مدل شبیه‌سازی و نیز به دلیل ساخت میکروکانال با روش ماشین‌کاری خطاهایی در ابعاد و نیز در چسباندن سقف به بدنه آلومینیومی وجود دارد که موجب اختلاف بین بسامدهای بدست آمده از شبیه‌سازی و آزمایش می‌شود. همچنین آثار ابزار فرز در کف کانال موجب بازتاب ضعیف نور لامپ LED می‌شود و این مسئله کیفیت تصاویر را پایین آورده است اما سلول‌ها قابل دیدن هستند. همان طور که مشاهده می‌شود گلبول‌های قرمز و سلول‌های BT-20 پس از اعمال انرژی صوتی در دو گرّه‌ی پیش‌بینی شده در شبیه‌سازی تجمع کرده‌اند که نشان از کار آرایی روش شبیه‌سازی و ساخت مورد استفاده در این تحقیق دارد. توجه شود که در رابطه ۹ نیروی پرتو صوتی اولیه به شعاع ذرات وابسته است به این مفهوم که ذرات با شعاع بزرگ‌تر نیروی بزرگ‌تری را حس می‌کنند و در نتیجه شتاب



شکل ۵ مجموعه آزمایشگاهی برای انجام آزمون‌های تجربی

که ضریب انتقال حرارت نسبتاً بالایی دارد می‌تواند به کنترل دما و جلوگیری از آسیب به سلول‌های زنده کمک کند.

تشکر و قدردانی: نویسندگان این مورد را بیان نکردند.

تأییدیه اخلاقی: این مقاله از پروژه دکترای علیرضا بارانی با عنوان توسعه و ساخت یک تجهیز فراصوتی برای جداسازی در میکروکانال استخراج شده است.

تعارض منافع: هیچ تعارض منافی بین عوامل مشارکت‌کننده وجود ندارد.

سهم نویسندگان: نویسندگان این مورد را بیان نکردند.

منابع مالی: هزینه‌های این پژوهش از منابع دانشگاه صنعتی اصفهان و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تأمین شده است.

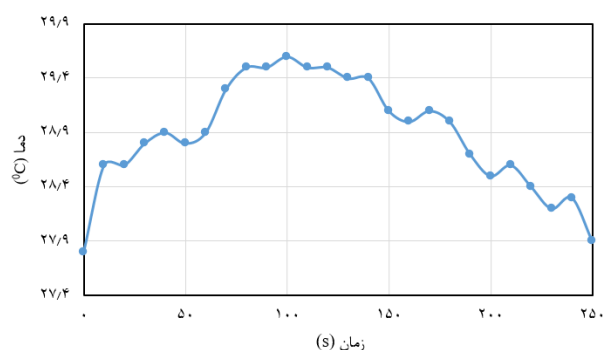
منابع

- 1- Yousuff CM, Ho ET, Hussain K I, Hamid NH. Microfluidic platform for cell isolation and manipulation based on cell properties. *Micromachines*. 2017;8(1):15.
- 2- Augustsson P, Karlsen JT, Su HW, Bruus H, Voldman J. Iso-acoustic focusing of cells for size-insensitive acousto-mechanical phenotyping. *Nature communications*. 2016;7(1):1-9.
- 3- Haeberle S, Zengerle R. Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications. *Lab on a Chip*. 2007;7(9):1094-110.
- 4- Li P, Mao Z, Peng Z, Zhou L, Chen Y, Huang PH, Truica CI, Drabick JJ, El-Deiry WS, Dao M, Suresh S. Acoustic separation of circulating tumor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2015;112(16):4970-5.
- 5- Antfolk M, Antfolk C, Lilja H, Laurell T, Augustsson P. A single inlet two-stage acoustophoresis chip enabling tumor cell enrichment from white blood cells. *Lab on a chip*. 2015;15(9):2102-9.
- 6- Ding X, Peng Z, Lin SC, Geri M, Li S, Li P, Chen Y, Dao M, Suresh S, Huang TJ. Cell separation using tilted-angle standing surface acoustic waves. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(36):12992-7.
- 7- Shi J, Yazdi S, Lin SC, Ding X, Chiang IK, Sharp K, Huang TJ. Three-dimensional continuous particle focusing in a microfluidic channel via standing surface acoustic waves (SSAW). *Lab on a Chip*. 2011;11(14):2319-24.
- 8- Ding X, Lin SC, Lapsley MI, Li S, Guo X, Chan CY, Chiang IK, Wang L, McCoy JP, Huang TJ. Standing surface acoustic wave (SSAW) based multichannel cell sorting. *Lab on a Chip*. 2012;12(21):4228-31.
- 9- Franke T, Braunmüller S, Schmid L, Wixforth A, Weitz DA. Surface acoustic wave actuated cell sorting (SAWACS). *Lab on a Chip*. 2010;10(6):789-94.
- 10- Ravula SK, Arrington CL, Sigman JK, Branch DW, Brener I, Clem PG, James CD, Hill M, Boltryk RJ, inventors; Sandia Corp, assignee. Microfabricated particle focusing device. United States patent US 8,425,749. 2013.

باشد ممکن است ذرات در انتهای کانال از خروجی دیگری به اشتباه خارج شوند و بازدهی جداسازی را کاهش دهند. افزایش دمای میکروکانال‌های آکوستوفلوییدیکی باید در آزمایش‌ها در نظر گرفته شود زیرا در اثر استهلاک امواج صوتی دما افزایش می‌یابد. در میکروکانال‌های ساخته شده از ویفر سیلیکونی و یا شیشه‌ای برای کنترل دما یک صفحه آلومینیومی در زیر میکروکانال نصب می‌کنند که گرمای میکروکانال را به درون خود جذب می‌کند. اما در این تحقیق خود بدنه میکروکانال از آلومینیوم ساخته شده است که به دلیل انتقال حرارت خوب این فلز انتظار می‌رفت که دما افزایش زیادی نداشته باشد. برای بررسی این موضوع در آزمایش‌هایی دمای میکروکانال برای یک بازه ۲۵۰ ثانیه‌ای با استفاده از یک دماسنج لیزری اندازه‌گیری شد. به این صورت که انرژی صوتی برای ۱۲۰ ثانیه اول به میکروکانال اعمال شد سپس خاموش گردید. خطای اندازه‌گیری برای سه بار آزمایش برای همه داده‌ها در بازه ± 1 درجه سانتی‌گراد قرار دارد که متوسط آن‌ها در شکل ۷ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود دما از ۲۷/۸ درجه سانتی‌گراد در ابتدا تا ۲۹/۵ درجه سانتی‌گراد در ثانیه ۸۰ افزایش می‌یابد سپس تا ثانیه ۱۲۰ تقریباً ثابت می‌ماند و پس از قطع انرژی صوتی کاهش می‌یابد. افزایش حدود ۲ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد که بدنه آلومینیومی در کنترل دما موثر است و سلول‌های مورد آزمایش با این میکروکانال در اثر افزایش دما آسیب نمی‌بینند.

۶- نتیجه

در این تحقیق روش طراحی و ساخت یک میکروکانال آکوستوفلوییدیکی دو گره‌ای شرح داده شد. نشان داده شد که با استفاده از آلومینیوم و روش ماشین‌کاری می‌توان میکروکانال‌هایی با عملکرد مناسب در حرکت دادن ذرات به سمت گره و نیز مناسب برای جداسازی ذرات ساخت. نتایج تجربی ثابت کرد که اگرچه در ساخت با استفاده از روش ماشین‌کاری خطا نسبت به روش لیتوگرافی بیشتر است اما میکروکانال ساخته شده در آزمایش‌ها نتایجی نزدیک به نتایج پیش‌بینی شده در تحلیل عددی نشان داد. همچنین نشان داده شد که استفاده از آلومینیوم



شکل ۷) تغییرات دما نسبت به زمان در داخل میکروکانال

- 25- Luo JK, Fu YQ, Li Y, Du XY, Flewitt AJ, Walton AJ, Milne WI. Moving-part-free microfluidic systems for lab-on-a-chip. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2009;19(5):054001.
- 26- Zhang F, Li S, Cao K, Wang P, Su Y, Zhu X, Wan Y. A microfluidic love-wave biosensing device for PSA detection based on an aptamer beacon probe. *Sensors*. 2015;15(6):13839-50.
- 27- Bisoffi M, Hjelle B, Brown DC, Branch DW, Edwards TL, Brozik SM, Bondu-Hawkins VS, Larson RS. Detection of viral bioagents using a shear horizontal surface acoustic wave biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*. 2008;23(9):1397-403.
- 28- Länge K, Bender F, Voigt A, Gao H, Rapp M. A surface acoustic wave biosensor concept with low flow cell volumes for label-free detection. *Analytical chemistry*. 2003;75(20):5561-6.
- 29- Li H, Friend J, Yeo L, Dasvarma A, Traianedes K. Effect of surface acoustic waves on the viability, proliferation and differentiation of primary osteoblast-like cells. *Biomicrofluidics*. 2009;3(3):034102.
- 30- Wiklund M, Önfelt B. Ultrasonic manipulation of single cells. In *Single-Cell Analysis*. Humana Press. 2012:177-196.
- 31- Ohlin M, Fornell A, Bruus H, Tenje M. Improved positioning and detectability of microparticles in droplet microfluidics using two-dimensional acoustophoresis. *Journal of Micromechanics and Microengineering*. 2017;27(8):084002.
- 32- Hahn P, Dual J. A numerically efficient damping model for acoustic resonances in microfluidic cavities. *Physics of Fluids*. 2015;27(6):062005.
- 33- Nowotny H, Benes E. General one-dimensional treatment of the layered piezoelectric resonator with two electrodes. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 1987;82(2):513-21.
- 34- Nowotny H, Benes E, Schmid M. Layered piezoelectric resonators with an arbitrary number of electrodes (general one-dimensional treatment). *The Journal of the Acoustical Society of America*. 1991;90(3):1238-45.
- 35- Gröschl M. Ultrasonic separation of suspended particles-Part I: Fundamentals. *Acta Acustica united with Acustica*. 1998;84(3):432-47.
- 36- Hawkes JJ, Coakley WT, Gröschl M, Benes E, Armstrong S, Tasker PJ, Nowotny H. Single half-wavelength ultrasonic particle filter: Predictions of the transfer matrix multilayer resonator model and experimental filtration results. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2002;111(3):1259-66.
- 37- Hawkes Jeremy J, Martin G, Ewald B, Helmut N, Terence CW. Positioning particles within liquids using ultrasound force fields.
- 38- Hill M, Wood RJ. Modelling in the design of a flow-through ultrasonic separator. *Ultrasonics*. 2000;38(1-8):662-5.
- 39- Hill M, Shen Y, Hawkes JJ. Modelling of layered resonators for ultrasonic separation. *Ultrasonics*. 2002;40(1-8):385-92.
- 40- Hill M. The selection of layer thicknesses to control acoustic radiation force profiles in layered resonators. *The Journal of the Acoustical Society of America*. 2003;114(5):2654-61.
- 11- Fong EJ, Johnston AC, Notton T, Jung SY, Rose KA, Weinberger LS, Shusteff M. Acoustic focusing with engineered node locations for high-performance microfluidic particle separation. *Analyst*. 2014;139(5):1192-200.
- 12- Shi J, Ahmed D, Mao X, Lin SC, Lawit A, Huang TJ. Acoustic tweezers: patterning cells and microparticles using standing surface acoustic waves (SSAW). *Lab on a Chip*. 2009;9(20):2890-5.
- 13- Zhang J, Meng L, Cai F, Zheng H, Courtney CR. Multi-scale patterning of microparticles using a combination of surface acoustic waves and ultrasonic bulk waves. *Applied Physics Letters*. 2014;104(22):224103.
- 14- Li S, Ding X, Mao Z, Chen Y, Nama N, Guo F, Li P, Wang L, Cameron CE, Huang TJ. Standing surface acoustic wave (SSAW)-based cell washing. *Lab on a Chip*. 2015;15(1):331-8.
- 15- Bruus H, Dual J, Hawkes J, Hill M, Laurell T, Nilsson J, Radel S, Sadhal S, Wiklund M. Forthcoming Lab on a Chip tutorial series on acoustofluidics: Acoustofluidics—exploiting ultrasonic standing wave forces and acoustic streaming in microfluidic systems for cell and particle manipulation. *Lab on a Chip*. 2011;11(21):3579-80.
- 16- Chivukula VS, Shur MS, Čiplys D. Recent advances in application of acoustic, acousto-optic and photoacoustic methods in biology and medicine. *physica status solidi (a)*. 2007;204(10):3209-36.
- 17- Sukhatme S, Agarwal A. Digital microfluidics: Techniques, their applications and advantages. *J Bioengineer & Biomedical Sci S*. 2012;8:2.
- 18- Barani A, Paktinat H, Janmaleki M, Mohammadi A, Mosaddegh P, Fadaei-Tehrani A, Sanati-Nezhad A. Microfluidic integrated acoustic waving for manipulation of cells and molecules. *Biosensors and Bioelectronics*. 2016;85:714-25.
- 19- Faridi MA, Ramachandraiah H, Iranmanesh I, Grishenkov D, Wiklund M, Russom AJ. MicroBubble activated acoustic cell sorting. *Biomedical microdevices*. 2017;19(2):23.
- 20- Hammarström B, Evander M, Barbeau H, Bruzelius M, Larsson J, Laurell T, Nilsson J. Non-contact acoustic cell trapping in disposable glass capillaries. *Lab on a Chip*. 2010;10(17):2251-7.
- 21- Sivanantha N, Ma C, Collins DJ, Sesen M, Brenker J, Coppel RL, Neild A, Alan T. Characterization of adhesive properties of red blood cells using surface acoustic wave induced flows for rapid diagnostics. *Applied Physics Letters*. 2014;105(10):103704.
- 22- Wang T, Green R, Nair RR, Howell M, Mohapatra S, Guldiken R, Mohapatra SS. Surface acoustic waves (SAW)-based biosensing for quantification of cell growth in 2D and 3D cultures. *Sensors*. 2015;15(12):32045-55.
- 23- Wiklund M, Christakou AE, Ohlin M, Iranmanesh I, Frisk T, Vanherberghen B, Önfelt B. Ultrasound-induced cell-cell interaction studies in a multi-well microplate. *Micromachines*. 2014;5(1):27-49.
- 24- Schmid L, Weitz DA, Franke T. Sorting drops and cells with acoustics: acoustic microfluidic fluorescence-activated cell sorter. *Lab on a Chip*. 2014;14(19):3710-8.

- 41- Hill M, Townsend RJ, Harris NR. Modelling for the robust design of layered resonators for ultrasonic particle manipulation. *Ultrasonics*. 2008;48(6-7):521-8.
- 42- Muller PB, Bruus H. Numerical study of thermoviscous effects in ultrasound-induced acoustic streaming in microchannels. *Physical Review E*. 2014;90(4):043016.
- 43- Karlsen JT, Bruus H. Forces acting on a small particle in an acoustical field in a thermoviscous fluid. *Physical Review E*. 2015;92(4):043010.
- 44- Moiseyenko RP, Bruus H. Whole-system ultrasound resonances as the basis for acoustophoresis in all-polymer microfluidic devices. *Physical Review Applied*. 2019;11(1):014014.
- 45- Bodé WN, Jiang L, Laurell T, Bruus H. Microparticle acoustophoresis in aluminum-based acoustofluidic devices with PDMS covers. *Micromachines*. 2020;11(3):292.
- 46- Hahn P, Schwab O, Dual J. Modeling and optimization of acoustofluidic micro-devices. *Lab on a Chip*. 2014;14(20):3937-48.
- 47- Settnes M, Bruus H. Forces acting on a small particle in an acoustical field in a viscous fluid. *Physical Review E*. 2012;85(1):016327.
- 48- Ley MW, Bruus H. Three-dimensional numerical modeling of acoustic trapping in glass capillaries. *Physical Review Applied*. 2017;8(2):024020.
- 49- Hahn P. Numerical simulation tools for the design and the analysis of acoustofluidic devices (Doctoral dissertation, ETH Zurich).