Paper-based microfluidic chip for glucose measurement using optical detection with NIR technique

Kiana Kahyaei[1], Adel Pourmand[*1,2,3], Farhang Abbasi[2,4]

1. Faculty of Electrical Engineering, Sahand University of Technology, Sahand New Town, Tabriz, Iran.
2. Institute for Polymer Materials, Sahand University of Technology, Sahand New Town, Tabriz, Iran.
3. Tissue Engineering and Stem Cells Research Center, Sahand University of Technology, Sahand New Town, Tabriz, Iran.
4. Faculty of Polymer Engineering, Sahand University of Technology, Sahand New Town, Tabriz, Iran.

k_kahyaei99@sut.ac.ir; * a_pourmand@sut.ac.ir ; f.abbasi@sut.ac.ir

Abstract

This article proposes a paper-based microfluidic chip that can non-invasively measure glucose with optical detection technique using NIR. This paper chip is disposable, portable, low-cost, lightweight, and suitable for point-of-care and cost-effective tests. This paper chip is fabricated with a kind of photoresist that is used in the publishing industry called UV curable resin. This method is chip, simple, and suitable for mass production. This paper chip is used for measuring glucose non-invasively and an interface sensor is designed with an NIR technique that can measure glucose concentration between 60 to 500 mg/dl with voltage range of 630 to 730 mV.

Keywords

Paper-based microfluidic, Photolithography, Near-Inferared, Optical Detection, Interface sensor circuit.

1- Introduction

Paper-based microfluidics provides a new research field for investigating the movement and analysis of fluid on paper substrates. It has been used for health diagnosis, environmental monitoring, food safety, and quality control. Paper has attracted a lot of attention due to its many advantages such as low cost, ease of use, portability, compatibility with all kinds of chemical and biochemical materials, easy to fluid flow without external force, etc. Blood glucose detection plays an important role in the health of the patient because the glucose should be maintained in constant proportion of the body. Diabetes patients measure their glucose levels several times a day. Conventional glucose measurement is invasive which is pain full and the risk of infection is high. For solving this issue new methods are investigated to measure glucose non-invasively.

2- Proposed Work and Methodology

In this article, the proposed fabrication method used UV-curable resins as photoresists for lithography process. This fabrication method is more accurate than wax and has no extra equipment in comparison with other lithography techniques. The fabricated chip is then used to measure glucose using NIR spectroscopy. 2 NIR LED and receiver are used to measure glucose differentially. One LED and receiver pair is used for eliminating paper scattering and other pair is used for measuring glucose which is added to the paper. An interface circuit is designed with an AD620 amplifier and the final signal is sent to the microcontroller unit (Arduino uno R3). The final results show by changing glucose concentration from 62.5 to 500 mg/dl the output voltage changes between 630 to 730 mv.

3- Conclusion

In this article, a new paper-based microfluidic fabrication method is proposed. This fabrication method is simple, high-resolution, low-cost, and suitable for mass production. The fabricated chip is used for measuring glucose with NIR technique. This method is non-invasive that reduces infection risk and it can measure glucose without any interface substance. The proposed chip can be advanced to measure multi-analyte simultaneously. this chip can be used for point-of-care tests, food quality control, and water health.

4- References

1. .Li, B., et al., Portable paper-based device for quantitative colorimetric assays relying on light reflectance principle. Electrophoresis, 2014. 35(8): p. 1152-1159.

2. .Li, X. and C. Li. Research on non-invasive glucose concentration measurement by NIR transmission. in 2015 IEEE International Conference on Computer and Communications (ICCC). 2015. IEEE

3. .Jain, P., R. Maddila, and A.M. Joshi, A precise non-invasive blood glucose measurement system using NIR spectroscopy and Huber's regression model. Optical and Quantum Electronics, 2019. 51: p. 1-15.

تراشه ریزسیالاتی کاغذی برای اندازه‌گیری گلوکز با استفاده از تشخیص نوری با روش مادون‌قرمز نزدیک

کیانا کهیایی
دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی برق، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

عادل پورمند
استادیار، دانشکده مهندسی برق، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

فرهنگ عباسی
استاد، دانشکده مهندسی پلیمر، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران

چکیده
در این مقاله یک تراشه ریزسیالاتی کاغذی توسعه داده شده است که به‌صورت غیرتهاجمی و با روش تشخیص نوری، با استفاده از نور مادون‌قرمز نزدیک به تشخیص گلوکز می‌پردازد. این تراشه یک‌بار مصرف، قابل‌حمل، ارزان‌قیمت و سبک است و برای آزمایش‌های مقرون‌به‌صرفه (cost effective tests) و تشخیص بر بالین (point-of care tests) بسیار مناسب است. این تراشه ریزسیالاتی با روش حجاری نوری و با استفاده از ماده‌ی فوتورزیستی که در صنایع چاپ استفاده می‌شود؛ و به رزین قابل پخت با نور فرابنفش معروف است؛ ساخته شده است که روشی بسیار ارزان‌قیمت، ساده و دقیق بوده و برای تولید انبوه بسیار مناسب است. از تراشه ساخته شده برای تشخیص گلوکز به‌صورت غیرتهاجمی استفاده شد و حسگر نوری با استفاده از فرستنده و گیرنده مادون‌قرمز ساخته شده است که می‌تواند غلظت گلوکز را از ۶۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر را با بازه ولتاژ ۶۳۰ تا ۷۳۰ میلی ولت نشان دهد.

کلمات کلیدی
تراشه ریزسیالاتی کاغذی، حجاری نوری، مادون‌قرمز نزدیک، تشخیص نوری، مدار واسط حسگر.

نام نویسنده مسئول: دکتر عادل پورمند
ایمیل نویسنده مسئول: a_pourmand@sut.ac.ir

تاریخ ارسال مقاله: ۱۴۰۲/۰۳/۲۰
تاریخ(های) اصلاح مقاله: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۷/۲۲

۱- مقدمه

ریزسیالات یا میکروفلوئیدیک، یک علم میان‌رشته‌ای بین رشته‌های مهندسی، فیزیک، شیمی، بیوشیمی و فناوری نانو است. ریزسیالات علم و فناوری جدیدی است که سیالات در مقیاس میکرو را به‌دقت پردازش می‌کند. در چند دهه اخیر، ریزسیالات توجهات بسیاری را به‌خود جلب کرده است، که باعث ایجاد پلتفرم‌های ریزسیالاتی جدید با کاربردهایی مختلف در زمینه‌های زیست‌فناوری و تشخیص بیماری شده است [۱, ۲].

روش‌های متداول تشخیص بیماری که در مراکز آزمایشگاهی و درمانی برای عموم بیماری‌ها استفاده می‌شود دارای، مشکلات زیادی هستند. از جمله آن‌ها می‌توان به گران بودن کل فرایند تشخیصی، دشواری تهیه و یا نگهداری نمونه‌ها، قابل حمل‌ونقل نبودن وسایل اندازه‌گیری و آزمایشگاهی، گران‌قیمت بودن تجهیزات و وسایل اشاره کرد. علاوه بر این موارد، به‌طور عموم نیاز به تکنسین متخصص و با تجربه برای کار با دستگاه‌ها، جزء مشکلات کار با دستگاه‌های مرسوم است. در سال‌های اخیر کیت‌های تشخیص سریع بیماری و تشخیص بر بالین بیمار بسیار توسعه یافته‌اند. این کیت‌ها علاوه بر ارزان‌قیمت بودن که البته یک معیار مهم در تهیه تجهیزات یا مواد مصرفی است، سبک و قابل‌حمل هستند و به فرد متخصصِ با تجربه برای استفاده از این کیت‌ها نیازی نیست. طی دو دهه گذشته علم میکروالکترونیک با ترکیب علم ریزسیالات و با استفاده از آزمایشگاه روی تراشه تلاش کرده تا پلتفرم قابل‌اعتماد و قدرتمندی برای رفع نیازهای مذکور ارائه کند [۳, ۴]. اخیراً ریزسیالات کاغذی فناوری جدیدی را ارائه کرده است که علاوه بر مزایای مورد اشاره در بالا و داشتن عملکرد ساده، نیاز به تجهیزات جانبی کمی دارد، در نتیجه توجه بسیاری را به خود جلب کرده است که برای تشخیص بر بالین بیمار و پایش محیط‌زیست بسیار پرکاربرد هستند [۵]. در سال ۲۰۰۷ میلادی ایده ساخت اولین تراشه ریزسیالات کاغذی توسط وایتساید و همکاران ارائه شد که با استفاده از ماده فوتورزیست (photoresist) SU-8 و فرایند حجاری نوری (photolithography)، موانع آب‌دوست و آب‌گریز روی کاغذ ایجاد کرده بودند[۶]. علاوه بر روش حجاری نوری، روش‌های متعددی از جمله پرینت جوهرافشان [۷]، استفاده از موم [۸] و چاپ صفحه‌ای [۹] طی سال‌های بعد ارائه شده است. در حال حاضر روش موم به دلیل سادگی و سریع بودن بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد ولی این روش به دلیل نفوذ غیریکنواخت موم در بافت کاغذ، وضوح و دقت بالایی ندارد. علاوه بر روش‌های ذکر شده، روش‌های دیگری نیز برای ساخت تراشه ریزسیالات

کاغذی استفاده می‌شود که عبارت‌اند از برش، استفاده از اسپری ضد آب، استفاده از مهر[1] و اوریگامی [۵]. نمونه ساخته‌شده و تجاری این کیت‌های ریزسیالات کاغذی، تست‌های تشخیص سریع کرونا، تست‌های بارداری و تست‌های گلوکز هستند. عمده کیت‌های تشخیص گلوکز تجاری با وارد کردن سوزن به بدن و به‌صورت تهاجمی به تشخیص گلوکز می‌پردازند که برای بیماران دیابتی که در طول روز چندین بار قند خون خود را چک می‌کنند می‌تواند بسیار دردناک باشد.

تشخیص گلوکز نقش مهمی را در سلامت بیمار ایفا می‌کند و سطح گلوکز در بدن باید در یک بازه ویژه‌ای باقی بماند [۱۰]. تنظیم سطح گلوکز خون وابسته به تعادل مواد پایین‌آورنده گلوکز مثل انسولین و موادی مانند گلوکاگون (Glucagon) و آدرنالین است که سطح گلوکز را بالا می‌آورد [۱۱]. دیابت شیرین یک وضعیت جدی پزشکی است که می‌تواند باعث کوری، چاقی مفرط، حمله قلبی، نارسایی کلیه و سکته مغزی شود. این بیماری کشنده بر توانایی بدن انسان در استفاده و تولید انسولین، که یک هورمون مهم برای تولید گلوکز در خون است، تأثیر می‌گذارد [۱۲, ۱۳]. به‌طورکلی دو نوع بیمار دیابتی وجود دارد: دیابت نوع یک، این دیابت ناشی از تولید کم انسولین است، درحالی‌که دیابت نوع دو، ناشی از ضعف بدن در پاسخ به انسولین است که در اصطلاح پزشکی مقاوم به انسولین نامیده می‌شود. این شرایط اجازه واردشدن قند به بدن را نمی‌دهد و باعث بالا رفتن قند در خون و ادرار می‌شود [۱۲]. با توجه به گزارش سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۰۰ میلادی، ۱۷۷ میلیون نفر از دیابت رنج می‌برند و این رقم در سال ۲۰۲۵ میلادی به ۳۰۰ میلیون نفر می‌رسد [۱۴]. در حال حاضر گلوکز با روش‌های تهاجمی و با واردشدن لَنسِت[2] به نوک انگشت و برداشتن حجم کمی خون تشخیص داده می‌شود که استفاده از این روش در تعداد دفعات بالا دردناک بوده و احتمال رخ دادن عفونت آن بسیار بالاست [۱۵]. در حال حاضر روش‌های غیر تهاجمی بسیاری به‌دلیل درد کمتر، خطر عفونت کمتر و هزینه کمتر موردمطالعه قرار گرفته‌اند. از جمله‌ی روش‌های غیر تهاجمی باید به طیف‌سنجی رامان [۱۶]، رنگ‌سنجی [۱۷] و تشخیص نوری [۱۹] اشاره کرد. در بین موارد اشاره شده تشخیص نوری ارزان‌تر و به تجهیزات کمتری نیاز دارد. تشخیص نوری می‌تواند با استفاده از نور مادون‌قرمز نزدیک یا ترکیب رنگ‌سنجی و تشخیص نوری باشد. گلوکز به دلیل پیوندهای C-H و O-H در محدوده مادون‌قرمز نزدیک (NIR) جذب نور دارد [۱۸]. مبنای تشخیص نوری قانون بیر-لمبرت[3] (مطابق با رابطه ۱) است.

$$I_{out} = I_{in} 10^{-\varepsilon c z} \quad (۱)$$

که در این رابطه، I_{out} نور خروجی، I_{in} نور ورودی، z طول مسیر نوری، c غلظت محلول، ε ضریب تضعیف مولی را نشان می‌دهد. مطابق با این رابطه، نور ورودی در یک محیط جذب‌شده و به‌صورت تضعیف‌شده به خروجی می‌رسد. نور عبوری از محلول گلوکز مطابق با غلظت گلوکز جذب متفاوتی دارد که هر چقدر غلظت گلوکز بیشتر باشد، جذب نور بیشتر می‌شود.

در سال ۲۰۱۲ میلادی روشی بکار گرفته شده است، که فرستنده و گیرنده مادون‌قرمز نزدیک با طول‌موج ۹۴۰ نانومتر در دو طرف انگشت قرار گرفته و با استفاده از مدار واسط الکتریکی غلظت گلوکز را اندازه‌گیری کرده است [۱۵]. از ایرادهای این روش باید به تأثیرگذاری، چربی و رنگ پوست در صحت نتایج اشاره کرد. همچنین در سال ۲۰۱۵ میلادی با استفاده از فرستنده و گیرنده مادون‌قرمز با طول‌موج ۱۳۱۰ نانومتر به تشخیص غلظت گلوکز برای تمام سیال‌های بدن پرداخته‌اند[۱۲]. تجهیزات استفاده شده در این تحقیق بسیار بزرگ هستند در واقع سیال درون کووت[4] ریخته شده و با گیرنده و فرستنده‌ای که در دو طرف آن قرار می‌گیرد به اندازه‌گیری گلوکز پرداخته می‌شود، از معایب این روش این است که برای تشخیص بر بالین بیمار مناسب نیست.

علاوه بر نور مادون‌قرمز از ترکیب روش رنگ‌سنجی و تشخیص نوری نیز می‌توان استفاده کرد. در سال ۲۰۱۴ میلادی تراشه کاغذی ساخته شده و از ماده گلوکز اکسیداز[5] بارگذاری‌شده روی تراشه کاغذی برای تشخیص گلوکز استفاده کرده‌اند. در این روش با اضافه شدن گلوکز به سطح کاغذ، تغییر رنگی مشاهده می‌شود؛ هر چقدر گلوکز بیشتر باشد، تغییر رنگ هم بیشتر می‌شود. در دو طرف تراشه کاغذی، فرستنده و گیرنده نوری تعبیه شده است که هر چقدر شدت رنگ بیشتر باشد، نور دریافتی توسط گیرنده کمتر می‌شود [۵]. از معایب این روش این است که از ماده واسطی برای تشخیص گلوکز استفاده شده که این موضوع می‌تواند هزینه ساخت تراشه را بیشتر کند.

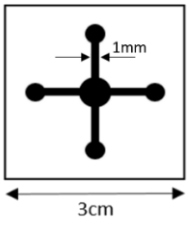
برای حل معایب اشاره شده، در این مقاله برای اولین بار تراشه ریزسیالاتی کاغذی ارائه شده است که می‌تواند با استفاده از روش مادون‌قرمز نزدیک و بدون استفاده از ماده واسط به تشخیص گلوکز بپردازد. برای ساخت تراشه ریزسیالاتی کاغذی، روش حجاری نوری با استفاده از ماده رزین قابل‌پخت با نور فرابنفش، که در صنایع چاپ و برای چاپ برجسته روی کاغذهای تبلیغاتی استفاده می‌شود، پیشنهاد شده است. این ماده نسبت به SU-8 2050 ارزان‌تر است و فرایند ساخت تراشه را مقرون‌به‌صرفه کرده است. در نهایت از تراشه ساخته شده برای تشخیص گلوکز با استفاده از روش مادون‌قرمز نزدیک استفاده شد. بدین‌صورت که محلول گلوکز روی تراشه‌ای از جنس کاغذ ریخته می‌شود، سپس تراشه بین فرستنده و گیرنده مادون‌قرمز قرار می‌گیرد تا غلظت آن گزارش شود. تراشه‌های کاغذی یک‌بار مصرف هستند و هزینه ساخت پایینی دارند، سبک و قابل‌حمل هستند و به همین دلیل برای تشخیص در محل و بر بالین بیمار قابل‌استفاده می‌باشند.

۲-روش پیشنهادی ساخت تراشه

در این مقاله، روش ساخت تراشه ریزسیالاتی با استفاده از روش حجاری نوری، با هدف ساخت میکروکانال‌های عبور نمونه حاوی گلوکز از کاغذ و به هدف تشخیص بر بالین موردمطالعه قرار گرفته است. در ادامه به نحوه ساخت ماسک و تراشه کاغذی پرداخته شده است.

۲-۱-ساخت ماسک برای فرایند حجاری نوری

در مرحله اول فرایند حجاری، به ماسک با الگوی دلخواه کانال نیاز است. برای ساخت ماسک، الگوی کانال‌ها با ابعاد و طرح دلخواه در نرم‌افزار CorelDraw یا PowerPoint طراحی شده و با استفاده از پرینتر Image setter بر روی ورق Image setter چاپ می‌شود. ازآنجایی‌که فوتورزیست مورداستفاده‌ی این تحقیق، از نوع منفی بوده الگوی کانال مطابق شکل۱ به‌صورت تیره طراحی شده و بقیه نقاط شفاف باقی مانده است. به دلیل عدم ضرورت ابعاد میکرومتری در میکروسیالات کاغذی، ابعاد کانال در حدود میلی‌متر طراحی شده و dpi دستگاه چاپگر روی ۳۰۰ تنظیم شده است.



شکل۱: ماسک طراحی‌شده برای فرایند حجاری نوری

[1] Mold
[2] Lancet
[3] Beer-Lambert
[4] Cuvvet
[5] Glucose oxidase

۲-۲-ساخت تراشه ریزسیالاتی کاغذی

برای ساخت تراشه از روش حجاری نوری (Photolithography) استفاده شده است که نیاز به استفاده از ماده فوتورزیست SU8-2050 است ولی این ماده در ایران بسیار گران است و به راحتی در دسترس نیست. برای رفع این مشکل، برای اولین بار از رزین قابل‌پخت با نور فرابنفش (شرکت More Cure، ترکیه)، که در چاپخانه‌ها و چاپ برجسته کارت‌های تبلیغاتی استفاده می‌شود، برای فرایند حجاری نوری و به عنوان جایگزین فوتورزیست SU8-2050 بکار گرفته شده است. برای ساخت تراشه ریزسیالاتی کاغذی از کاغذ فیلتر ۶۰ گرم (شرکت Filterlab، اسپانیا) استفاده شده است. این کاغذ در ابعاد A3 در بازار موجود است و از نظر اقتصادی برای ساخت تراشه مقرون‌به‌صرفه می‌باشد. در مرحله اول ساخت تراشه، یک سمت کاغذ با استفاده از ورق لایه‌بندی (lamination) (شکل۲-الف) و با روش پرس‌حرارتی (توسط دستگاه Office Bright)(شکل۲-ب) لایه‌بندی (laminate) می‌شود. بدین منظور ابتدا ورق روی کاغذ قرار داده شده و به آرامی داخل دستگاه (دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد) قرار داده می‌شود تا توسط دستگاه لایه‌بندی کننده، کاغذ به ورق مخصوص لایه‌بندی پیوند داده شود. در مرحله بعد، کاغذ درون فوتورزیست به مدت سه دقیقه غوطه‌ور شده تا فوتورزیست به‌طور کامل جذب کاغذ شود. برای توزیع یکنواخت فوتورزیست در سطح زیربنا[6]، کاغذ توسط دستگاه پوشش‌دهی دورانی[7] در سرعت ۱۲۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱ ثانیه (بصورت تابع پله‌ی یک ثانیه‌ای) لایه‌نشانی می‌شود. در این مرحله لازم است تا کاغذ به مدت ۱۰ دقیقه درون کوره (در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد) قرار بگیرد تا سطح رویی آن کمی خشک شود که به آن، مرحله پیش‌پخت می‌گویند. سپس ماسک ساخته‌شده به آرامی روی زیربنا قرار داده می‌شود بطوریکه هیچ حبابی بین کاغذ و ماسک تشکیل نشود. در مرحله بعد، کاغذ تحت تابش نور فرابنفش با طول‌موج ۳۷۰ نانومتر به مدت ۱ دقیقه قرار می‌گیرد. پس از فرایند نوردهی، لازم است تا نقاط پلیمریزه (polimerized) نشده‌ی فوتورزیست، شسته شود. به همین منظور تراشه‌ها درون اتانول قرار داده شده تا پس از ۱ دقیقه به مرور الگوی کانال ظاهر شود. سپس تراشه‌ها با آب مقطر آبکشی شده تا اتانول یا فوتورزیست درون آن باقی نماند. شکل ۳، مراحل ساخت تراشه پیشنهادی را نشان می‌دهد. شکل ۴ نیز نمایی از تراشه نهایی ساخته شده برای دو حالت بدون سیال در کانال (شکل ۴-الف) و با سیال (شکل۴-ب) در کانال‌ها را نشان می‌دهد. چنانچه ملاحظه می‌گردد سیال بدون نشتی در کانال حرکت کرده است.

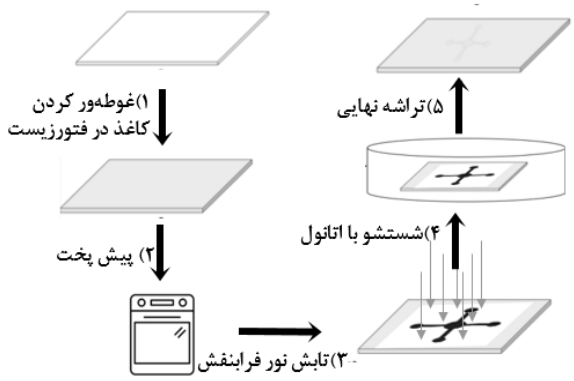
۳-تست تراشه ریزسیالاتی کاغذی

به منظور تست تراشه ساخته شده، ۱۰ میکرو لیتر رنگ خوراکی رقیق شده با آب مقطر(۱۰:۱ V/V) (شکل۵-الف) با استفاده از نمونه‌بردار (sampler) روی تراشه گذاشته شده است. عکس‌های میکروسکوپی (شکل۵-ب) نشان می‌دهد که سیال بدون نشتی در طول کانال حرکت کرده است.

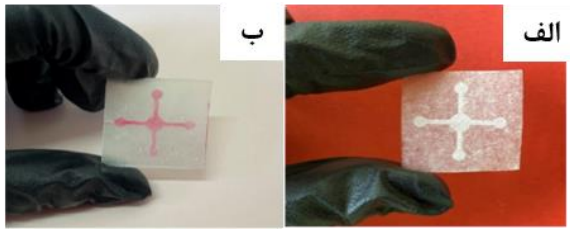
۴-آماده‌سازی غلظت‌های مختلف محلول گلوکز

برای تست حسگر نیاز به نمونه‌هایی با غلظت‌های مختلف گلوکز است. برای این کار می‌توان از نمونه‌های ادرار انسانی استفاده کرد ولی برای تعیین غلظت گلوکز آن‌ها فقط نوار تست‌هایی در دسترس است که غلظت را به‌صورت طیف و با یک تغییر رنگ نشان می‌دهد که برای نتایج حسگر دقیق و قابل استناد نیست. به‌همین دلیل می‌توان از محلول شکر در آب یا گلوکز در آب به‌عنوان نمونه استفاده کرد. به‌همین منظور برای ارزیابی حسگر از محلول‌هایی با غلظت‌های ۶۲٫۵ ، ۱۲۵، ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر استفاده شده است که نحوه‌ی آماده‌سازی نمونه‌ها بسیار مهم و با استفاده از روش آماده‌سازی نمونه‌های الایزا[8] بوده است، بدین‌صورت که از غلظت زیاد ۵۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر شروع کرده و ۵۰۰ میلی‌گرم گلوکز خالص (شرکت Merck) در آب دیونیزه حل شده تا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول بدست آید. برای تهیه بقیه‌ی محلول‌ها، محلول ۵۰۰ میلی‌گرم را از نظر حجمی نصف کرده و بقیه آن با آب دیونیزه (dinoized water) جایگزین شده است تا اینکه محلول با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بدست آید. غلظت‌های دیگر ۱۲۵ و ۶۲٫۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نیز، مطابق همین روش درست می‌شوند. این موضوع در شکل۶ نشان داده شده است. برای اطمینان از غلظت محلول‌های تهیه شده، تمامی محلول‌ها با دستگاه گلوکزسنج تجاری تست شده‌اند و روند منطقی بین غلظت‌های مختلف وجود دارد.

شکل ۲: الف) ورق لایه‌بندی استفاده‌شده در این تحقیق. ب) دستگاه لایه‌بندی کننده استفاده شده برای لایه‌بندی کردن زیربنای کاغذی.

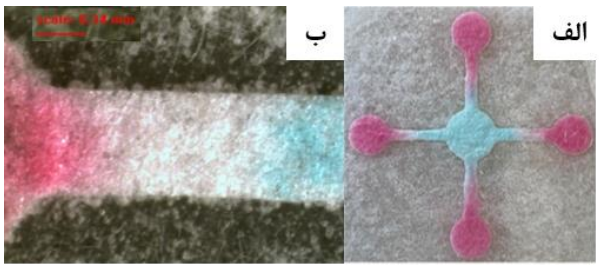


شکل۳: مراحل ساخت تراشه پیشنهادی.

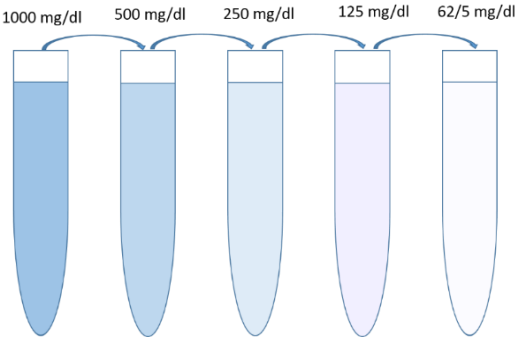


شکل ۴: الف)تراشه نهایی ساخته‌شده بدون سیال در کانال. ب) تراشه نهایی ساخته‌شده با سیال در کانال.

[6] Substrate
[7] Spin-coater
[8] ELISA preparation sample



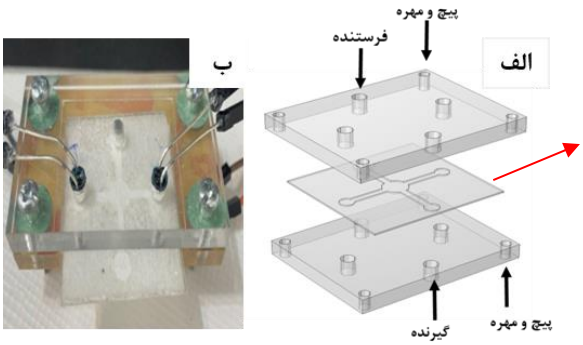
شکل۵: الف)حرکت سیال بدون نشتی در تراشه. ب)تراشه ساخته‌شده زیر میکروسکوپ



شکل۶: آماده‌سازی نمونه‌ها به روش آماده‌سازی نمونه‌های الایزا

۵-طراحی حسگر برای تشخیص گلوکز

در ابتدا حسگر نیاز به پلتفرمی دارد که کاغذ، بین فرستنده و گیرنده قرار گیرد و نتایج قرائت شود. مطابق با شکل ۷، با استفاده از ورق‌های پلکسی و برش لیزری اسلات (slot) زیر ساخته شده است. ضخامت پلکسی‌ها طوری انتخاب شده‌اند که فرستنده و گیرنده کاملاً داخل سوراخ تعبیه‌شده قرار بگیرد. در غیر اینصورت فاصله بین دو جفت فرستنده و گیرنده متفاوت می‌شود که باعث خطا در نتایج حسگر می‌شود.



شکل ۷: الف) نمای انفجاری اسلات ساخته‌شده. ب) نمایی از قرارگیری تراشه کاغذی ساخته شده در اسلات.

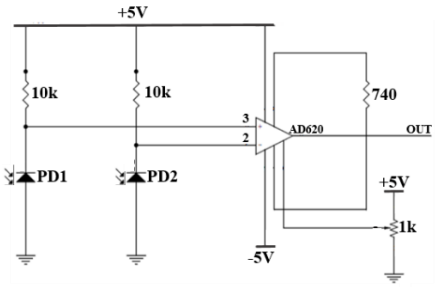
برای طراحی حسگر از تقویت‌کننده AD620 استفاده شده است که به‌صورت دیفرانسیلی تقویت را انجام می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۸ مشخص است از دو جفت فرستنده و گیرنده در ورودی تقویت‌کننده استفاده شده است که یکی از گیرنده‌ها کاغذی که به هیچ ماده‌ای آغشته نشده را می‌خواند و دیگری کاغذی که به گلوکز آغشته شده را می‌خواند و که اختلاف این دو در خروجی تقویت می‌شود و به‌صورت ولتاژ ظاهر می‌شود. برای خواندن عدد ولتاژ، خروجی تقویت‌کننده به واحد میکروکنترلر (Arduino uno-R3) داده می‌شود.

در تقویت‌کننده AD620 دو ورودی وجود دارد که یکی از ورودی‌ها گلوکز را تشخیص می‌دهد و دیگری کاغذ را حس می‌کند که در خروجی اختلاف آن ظاهر می‌شود. این کار به این علت انجام می‌شود که کاغذ به دلیل متخلخل بودن نور را پراکنده می‌کند. درواقع، وقتی نور به سطح کاغذ برخورد می‌کند به دو محیط هوا و فیبر کاغذ برخورد کرده که ضریب شکست متفاوت دارند و نور پراکنده می‌شود که همین موضوع باعث عدم وجود روند منطقی بین غلظت‌های مختلف گلوکز و عدد ولتاژ بدست آمده می‌شود. به همین دلیل حسگر به‌صورت دیفرانسیلی طراحی شده تا اثر پراکندگی نور توسط کاغذ از بین برده شود. طیف جذب کاغذ در شکل ۹ نشان می‌دهد که کاغذ در تمام طول‌موج‌ها، مخصوصاً محدوده مادون‌قرمز نزدیک رفتار یکسانی داشته و در هیچ طول‌موجی جذب ندارد.

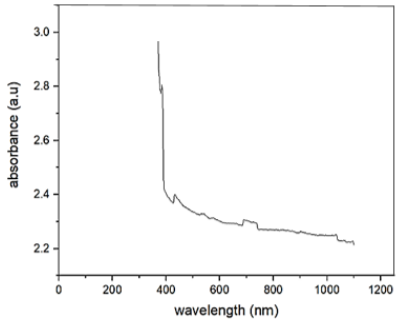
در شکل ۱۰، تجهیزات آزمایشگاهی استفاده‌شده و مدار طراحی‌شده، نشان داده شده است. مطابق شکل ۱۰-ب مدار طوری طراحی شده است که روی واحد میکروکنترلر قرار گیرد. قبل از اندازه‌گیری غلظت گلوکز، آفست (offset) اولیه مدار با پتانسیومتر متصل به پایه ۵ تقویت‌کننده صفر می‌شود سپس نتایج هر کدام از غلظت‌ها با استفاده از میکروکنترلر خوانده می‌شود، که در بخش ۶ مورد بررسی قرار گرفته‌اند.

۲- نتایج و مقایسه

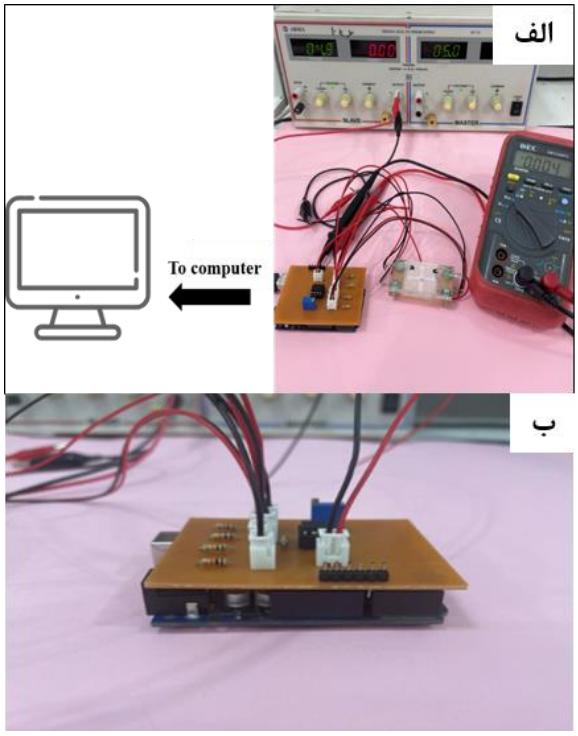
برای اندازه‌گیری غلظت‌های مختلف گلوکز، در ابتدا ۳ میکرولیتر محلول گلوکز با غلظت مشخص روی یکی از نقاط تشخیص کاغذ ریخته و ۳۰ ثانیه صبر می‌شود تا گلوکز کاملاً جذب کاغذ شود سپس کاغذ وارد اسلات شده و بین فرستنده و گیرنده قرار می‌گیرد. هر سه ثانیه یک‌بار به مدت یک دقیقه عدد ولتاژ خوانده شده و میانگین کل اطلاعات که حدود ۲۰ خوانش است، برای هر غلظت محاسبه شده است. هدف از این کار این است که خطای ناشی از اثر تبخیر محلول روی کاغذ، نویز نور و نویز اتصالات الکتریکی کاهش یابد. این فرایند برای غلظت‌های مختلف ۴ بار تکرار شده (نمودار شکل۱۱-الف) تا تکرارپذیری حسگر پیشنهادی، نشان داده شود. همان‌طور که در نمودار شکل ۱۱-الف مشخص است با هر بار زیاد شدن غلظت گلوکز، جذب نوری بالاتر و عدد ولتاژ خوانده شده بیشتر شده است که با قانون بیر-لمبرت مطابقت دارد. شکل ۱۱-ب نشان می‌دهد که حسگر در غلظت ۱۲۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر کمترین خطا را داشته و در غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بیشترین خطا را داشته است. این خطا می‌تواند به دلیل مواردی چون تغییر آفست اولیه مدار و یا درست قرار نگرفتن نقطه تشخیص تراشه کاغذی بین فرستنده و گیرنده نوری باشد.



شکل۸: مدار دیفرانسیلی طراحی‌شده.



شکل ۹: طیف جذب کاغذ فیلتر ۶۰ گرم از طول‌موج ۳۸۰ تا ۱۱۰۰ نانومتر.

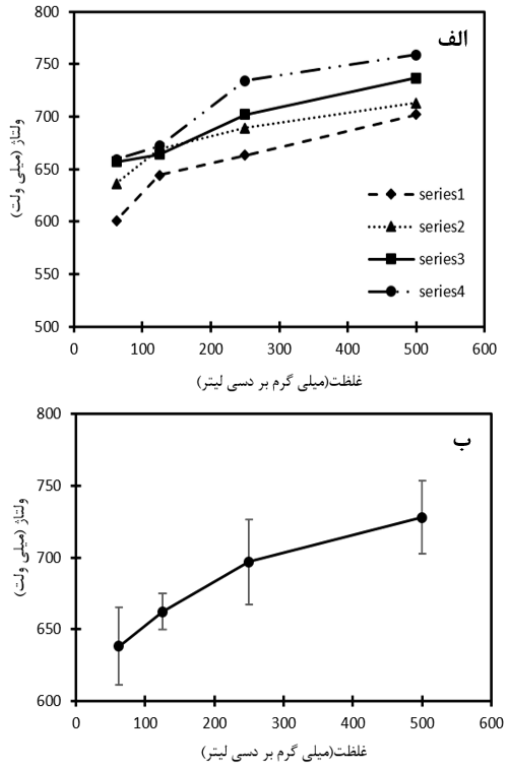


شکل ۱۰: الف) تجهیزات آزمایشگاهی. ب) برد طراحی‌شده که کاملاً روی واحد میکروکنترلر قرار گرفته است.

حسگر پیشنهادی در مقایسه با حسگرهای تهاجمی (مانند الکتروشیمیایی)، به‌صورت غیرتهاجمی گلوکز را اندازه‌گیری می‌کند که خطر ابتلا به عفونت را کاهش داده است. همچنین حسگرهای تهاجمی هزینه ساخت بالایی دارند و استفاده از روش تشخیص نوری باعث کاهش هزینه‌ها می‌شود. در مقایسه با انواع روش‌های غیرتهاجمی نظیر آزمایش طیف‌سنجی رامان، برای ساخت حسگر پیشنهادی در این مقاله، از تجهیزات پیچیده و گران‌قیمتی استفاده نشده است و حسگر نهایی ابعاد بسیار کوچکی دارد که قابل‌حمل و قابل‌استفاده بر بالین بیمار می‌باشد. در مقایسه با روش رنگ‌سنجی نیز، از دقت بالاتر و پایداری بیشتری برخوردار است زیرا استفاده از ماده واسط می‌تواند تاریخ‌مصرف تراشه کاغذی را کم کند. ازآنجایی‌که در روش پیشنهادی مقاله حاضر، از هیچ ماده واسطی استفاده نشده است پایداری تراشه کاغذی بیشتر شده و مدت زمان بیشتری قابل‌استفاده است. همچنین عدم استفاده از ماده واسط هزینه نهایی تراشه هزینه نهایی تراشه را پایین می‌آورد و فرایند ساخت آن را آسان می‌کند. که این موارد اشاره شده از مزایای حسگر پیشنهادی هستند. از معایب حسگر پیشنهادی باید به بازه محدود تغییرات در خروجی اشاره کرد.

۷-جمع‌بندی

در این مقاله، برای اولین بار روش ساخت تراشه ریزسیالاتی کاغذی با استفاده از یک رزین قابل پخت با نور فرابنفش به روش حجاری نوری پیشنهاد شده است، که روشی بسیار ارزان‌قیمت و ساده است و برای تولید انبوه مناسب است. از تراشه ساخته شده برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز استفاده شد و برای اولین بار غلظت گلوکز بدون هیچ‌گونه ماده واسطی و فقط با اضافه شدن به کاغذ و با استفاده از نور مادون‌قرمز نزدیک اندازه‌گیری شد. تراشه ساخته شده قابلیت ارتقا داشته و می‌تواند برای تشخیص هم‌زمان چند پارامتر مهم در ماده بیولوژیکی استفاده شود. تراشه پیشنهادی، پتانسیل استفاده برای تشخیص بربالین، تشخیص سلامت مواد غذایی، کیفیت آب و... را دارد.



شکل۱۱: الف) نتایج چهارسری تست گلوکز. ب) میانگین چهارسری تست گلوکز.

مراجع

[۱] ه.ولادی، ن.طالب‌زاده، م. راد ملکشاهی، ارائه روشی نوین برای ساخت یک ریز مخلوطگر الکترواسمیتی با الکترودهایی در دو سمت برای کاربردهای زیست-فناوری،مجله مهندسی برق تبریز، جلد ۴۶ ، ۲۰۱۴، صفحات ۲۶۵-۲۵۵

[۲] ع. پورمند، ع. موسوی شائق، ح. بدری، ا.نجفی اقدم، پیاده‌سازی و مشخصه‌یابی یک ریزشیر کواک با استفاده از مواد گرمانرم برای کاربردهای آزمایشگاه روی تراشه، مجله مهندسی برق تبریز، جلد ۴۸ ، ۲۰۱۸، صفحات ۱۴۱۶- ۱۴۱۲

[3] Martinez, A.W., et al., Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices. 2010, ACS Publications.

[4] Mao, X. and T.J. Huang, Microfluidic diagnostics for the developing world. Lab on a Chip, 2012. 12(8): p. 1412-1416.

[5] Li, B., et al., Portable paper‐based device for quantitative colorimetric assays relying on light reflectance principle. Electrophoresis, 2014. 35(8): p. 1152-1159.

[6] Martinez, A.W., et al., Patterned paper as a platform for inexpensive, low‐volume, portable bioassays. Angewandte Chemie, 2007. 119(8): p. 1340-1342.

[7] Abe, K., et al., Inkjet-printed paperfluidic immuno-chemical sensing device. Analytical and bioanalytical chemistry, 2010. 398: p. 885-893.

[8] Dungchai, W., O. Chailapakul, and C.S. Henry, A low-cost, simple, and rapid fabrication method for paper-based microfluidics using wax screen-printing. Analyst, 2011. 136(1): p. 77-82.

[9] Nie, Z., et al., Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices. Lab on a Chip, 2010. 10(4): p. 477-483.

[10] Alkire, R.C., D.M. Kolb, and J. Lipkowski, Advances in Electrochemical Science and Engineering: Bioelectrochemistry. 2011: Wiley-VCH.

[11] Ionescu, M. and S. Doctorala. Measuring and detecting blood glucose by methods non-invasive. in 2018 10th International

Conference on Electronics, Computers and Artificial Intelligence (ECAI). 2018. IEEE.

[12] .Li, X. and C. Li. Research on non-invasive glucose concentration measurement by NIR transmission. in 2015 IEEE International Conference on Computer and Communications (ICCC). 2015. IEEE.

[13] Nakamachi, E. Development of automatic operated blood sampling system for portable type Self-Monitoring Blood Glucose device. in 2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology. 2010. IEEE.

[14] Ashok, V., A. Nirmalkumar, and N. Jeyashanthi, A novel method for blood glucose measurement by noninvasive technique using laser. International Journal of Biomedical and Biological Engineering, 2011. 5(3): p. 113-119.

[15] Anas, M., et al. Non-invasive blood glucose measurement. in 2012 IEEE-EMBS Conference on Biomedical Engineering and Sciences. 2012. IEEE.

[16] De Pretto, L.R., et al., Optical coherence tomography for blood glucose monitoring in vitro through spatial and temporal approaches. Journal of biomedical optics, 2016. 21(8): p. 086007-086007.

[17] Dungchai, W., O. Chailapakul, and C.S. Henry, Use of multiple colorimetric indicators for paper-based microfluidic devices. Analytica chimica acta, 2010. 674(2): p. 227-233.

[18] Jain, P., R. Maddila, and A.M. Joshi, A precise non-invasive blood glucose measurement system using NIR spectroscopy and Huber's regression model. Optical and Quantum Electronics, 2019. 51: p. 1-15.

[19] Fathpour, R., Pourmand, A., Design and Fabrication of an Optical Sensor for Glucose Measurement in a Microfluidic Chip. in The 4th Iranian International Conference on Microelectronics (ICM2021), 2022