

显微课堂 | 如何清晰观测液滴微流控的瞬态过程—高速显微镜观察系统

原创 领拓任飞霖

前言

液滴微流控技术简介与观测挑战



液滴微流控技术作为一种在微尺度环境下对微量流体进行精准操控的革命性技术，近年来在生物医学、化学合成和材料科学等领域展现出巨大潜力。该技术核心在于利用互不相溶的流体在微通道中生成单分散液滴，将这些液滴作为独立微反应器进行各种实验操作。液滴微流控技术凭借其**微型化优势**、**高通量特性**以及**低试剂消耗**等特点，迅速成为生命科学和化学分析领域的研究热点。

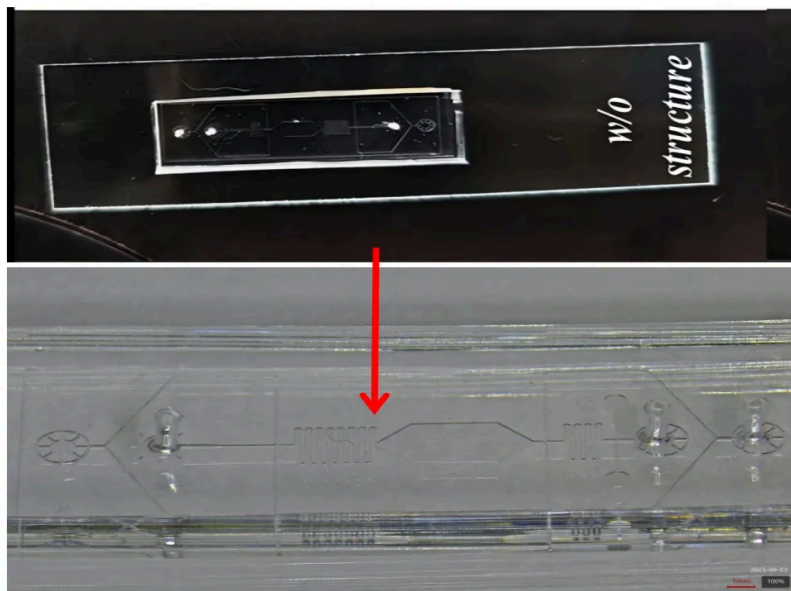


图1.1 微流控芯片外观

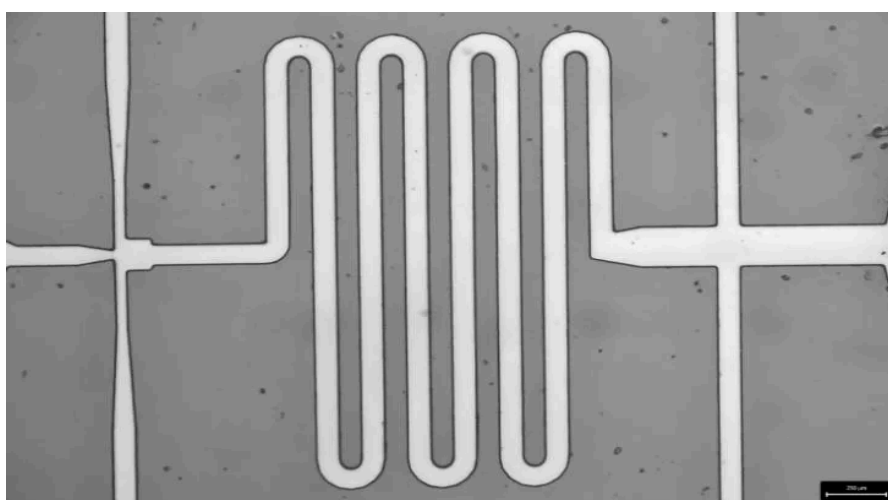


图1.2 微流控芯片孔道形貌

1. 微流控液滴观测的技术挑战

尽管液滴微流控技术优势显著，但在实际应用中，仍面临着严峻的观测挑战。这些挑战主要来源于液滴的**微尺度特性**和**高速动态过程**。具体而言：

▶ 时空分辨率挑战

在液滴微流控系统里，液滴尺寸往往仅有微米级。不仅如此，液滴的生成、运动及转化过程堪称瞬息万变。一般情况下，液滴的生成频率就能达到每秒几十到几百个，而高分选系统操作频率甚至能飙升至每秒上千次。如此**超高速的动态变化**，远远超出了常规观测设备的捕捉极限。这就使得研究人员透过观测设备，看到的不过是一连串模糊不清的影像，或是连成一片的线条，根本无法清晰地捕捉到液滴形成与运动的具体细节。



如图2.1所示，孔道中液滴在常规显微镜观测中呈现连续模糊线条

▶ 成像质量挑战

由于微流控芯片通常具有多层结构且液滴在微通道中处于连续流动状态，传统显微成像技术受**对焦深度**、**光照均匀性**和**分辨率**等因素影响，难以对这一过程进行全流程的清晰观测。难以实现全流程清晰观测。而液滴内部发生的生物或化学变化往往需要高清晰度、高对比度的图像才能进行准确分析。

面对这些技术瓶颈，倒置透射显微镜与高速相机成像系统的联用，成为液滴微流控研究中至关重要的观测方式，为科研人员洞察微流控领域的奥秘，打开了一扇关键窗口。

2. 微流控观测系统组成与工作原理

在液滴微流控研究领域，倒置透射显微镜与高速相机系统的精妙组合，构建起一个多组件高度集成的前沿技术平台。该系统能够实时捕捉并精准解析微流控芯片内发生的各种瞬态现象，赋予研究人

员前所未有的微观世界观测能力。接下来，让我们一同深入探索该系统的各个关键组成部分，揭开其背后蕴含的工作原理奥秘。

2.1 倒置透射显微镜

倒置透射显微镜是该成像系统的光学核心，其独特设计适配液滴微流控的观测需求。与常规显微镜相比，倒置透射显微镜另辟蹊径，采用了**自上而下的光路布局**。在此设计中，物镜被安置于样品的下方，而光源则从上方进行照射。

这一创新设计带来了诸多显著优势：一方面，它为微流控芯片的上方空间留出了充足的**操作区域**，方便集成微流体控制单元和注射系统；另一方面，它能够直接观测微通道内的**流体行为**，而无需复杂的样品制备流程，为实验提供了更高的效率与便捷性。



图3.1 光路示意图来自徕卡显微系统

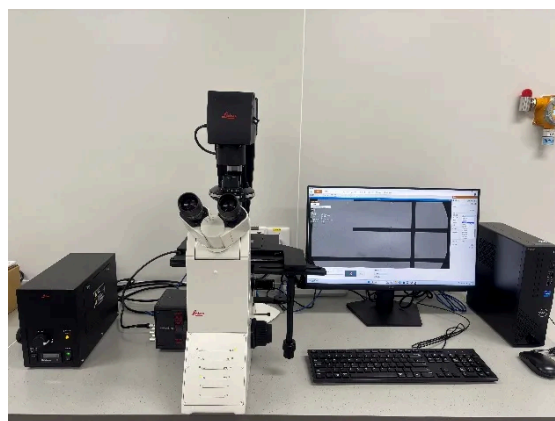


图3.2 该系统倒置显微镜型号为徕卡DMi8 C

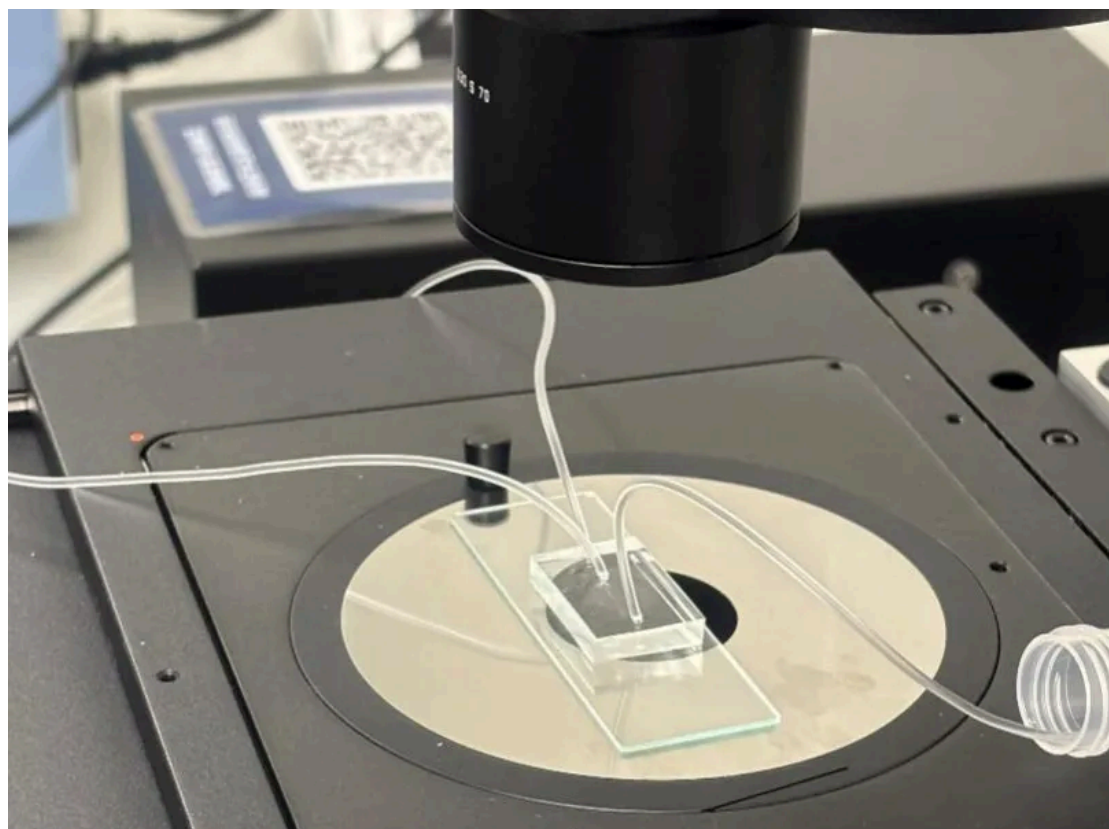


图3.3 实际测试样品放置

如图3.3所示，倒置式观察为芯片的上方空间留出了充足的操作区域，同时能直接测微通道内的液滴流体行为。

2.2 高速相机系统

高速相机是捕捉液滴动态过程的关键组件，其性能直接决定了系统能否有效记录微流控中的瞬态现象。应用于液滴微流控领域的高速相机，往往具备一系列独特的技术特性，具体如下：

高帧率采集能力：液滴微流控过程中的动态变化往往发生在毫秒甚至微秒级别的时间内发生，因此要求相机必须具备极高的帧率。以高端高速摄像机为例，其帧率表现极为卓越，最高可达212500 帧 / 秒。在 1024 x 1024 的分辨率下，依然能保持 4000 帧 / 秒的拍摄速度，精准捕捉液滴的瞬态图像，不错过任何细节。

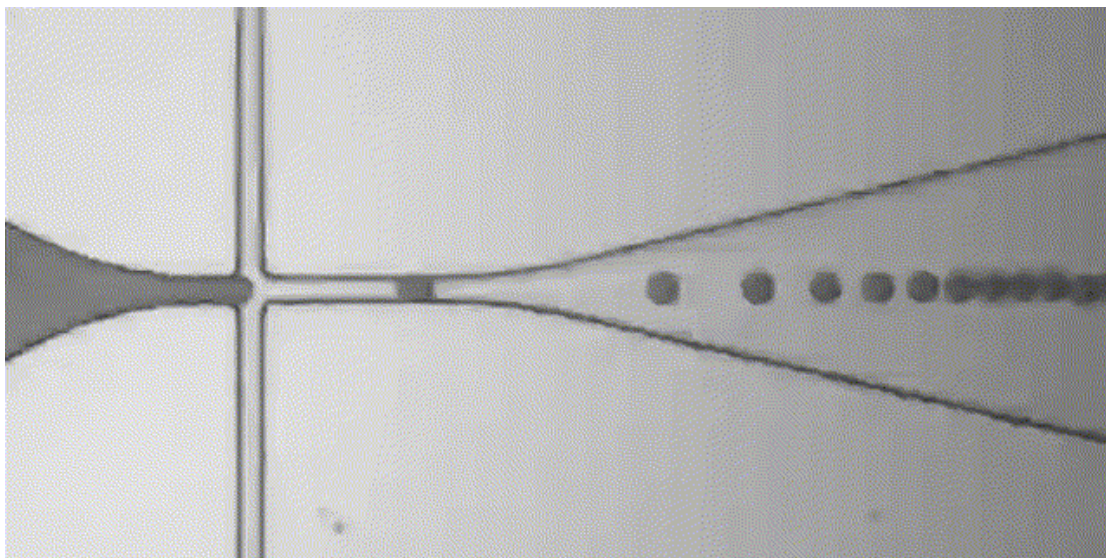


图4.1 实际测试效果，放大倍数100X，拍摄帧率2000fps

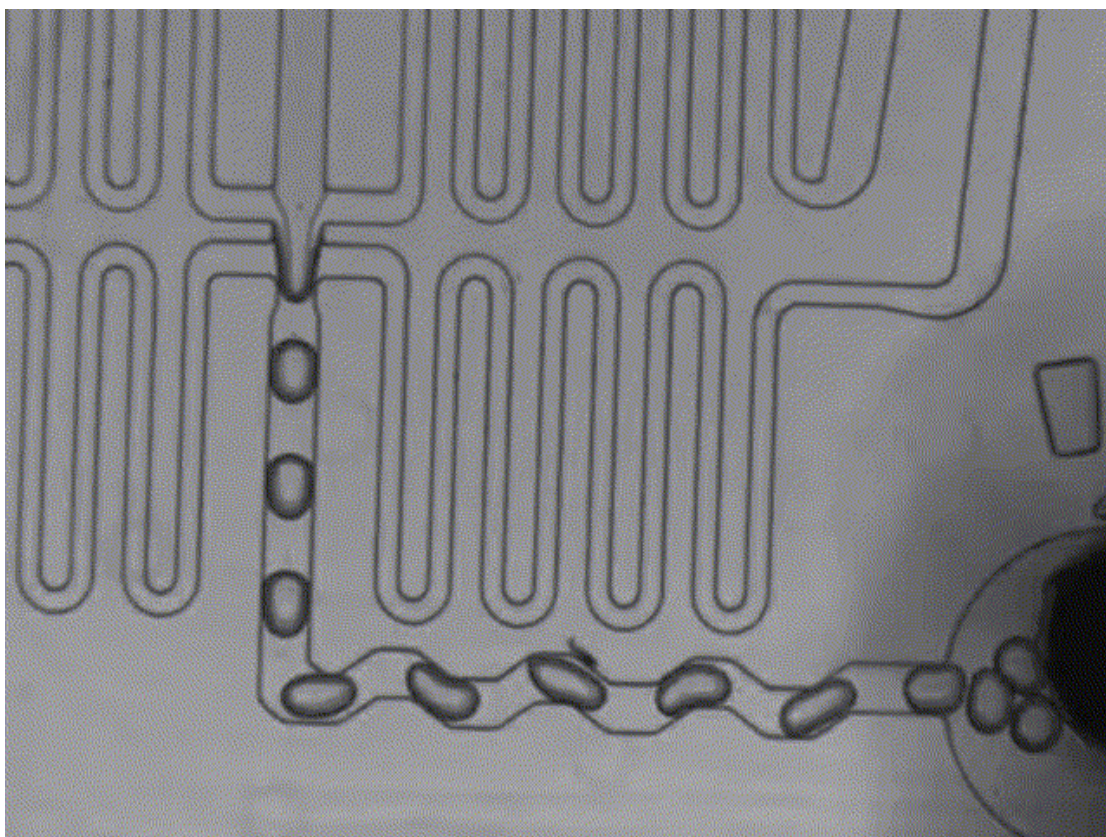


图4.2 实际测试效果，放大倍数100X，拍摄帧率4000fps

2.3 其他关键组件

完整的液滴微流控观测系统除了核心组件外，还包括多个关键辅助组件，它们共同保障系统稳定运行并扩展其应用范围：

- **精密流体控制模块：**包括压力泵和流控仪，用于精确控制微流控芯片中各相流体的流速和压力。



图5.1 分体式注射泵界面

- **信号同步与控制单元：**负责协调整个系统中各个组件的工作时序。在单细胞分离系统中，信号控制模块接收来自图像处理模块的触发信号，精确控制压电致动器冲击打印室上的柔性薄膜，实现单细胞液滴的按需喷射。

2.4 系统工作流程

倒置透射显微镜与高速相机系统相结合，应用于液滴微流控研究时，其典型工作流程涵盖以下几个至关重要的步骤：

1. **图像捕获：**在压力泵作用下，细胞悬液或反应混合物从微通道入口输送到出口，高速摄像机搭载倒置显微镜，对焦微通道中间观测平面，以高帧速捕获细胞或液滴的灰度图像。
2. **图像处理：**系统实时对捕获图像进行背景提取、高斯去噪、阈值分割等处理，识别并定位目标（如细胞或液滴）的二维位置。
3. **决策与触发：**基于图像分析结果，系统发送触发信号至控制模块，触发执行机构（如压电致动器、分选电极等）进行相应操作。
4. **数据记录与分析：**全过程图像数据被同步记录，用于后续的定量分析和过程回溯，为理解液滴动力学行为提供实验依据。

通过上述流程，系统实现了从观测到控制的闭环操作，使液滴微流控研究从被动观察迈向主动操控的新阶段。

3. 技术挑战与解决方案

尽管倒置透射显微镜搭配高速相机系统在液滴微流控研究中表现出强大能力，但在实际应用中仍面临多项技术挑战。理解这些挑战并采取相应对策，对于优化实验设计、提高研究质量至关重要。

▶ 分辨率与帧速的平衡

液滴微流控观测中的一个核心矛盾是**空间分辨率**与**时间分辨率**之间的平衡关系。高空间分辨率需要相机在高像素条件下工作，而这通常会限制最大帧速率；反之，追求高时间分辨率（帧速）则往往需要降低图像分辨率或缩小感兴趣区域。

解决这一矛盾需要根据具体研究目标优化相机设置。例如，在研究液滴内部细胞细微结构时，应优先考虑空间分辨率，确保图像清晰度；而在分析液滴生成或融合的快速动力学过程时，则应优先保证时间分辨率。高速相机在不同分辨率下支持不同帧率：1024×1024分辨率下达4000fps，而将分辨率降至384×384时，帧率可提升至21600fps。

此外，还可以通过**区域兴趣（ROI）采集**、**像素合并**等技术，在有限带宽下实现更优化的分辨率-帧速组合。这些技术使研究人员能够根据实验需求灵活调整采集参数，捕捉最关键的数据信息。

4. 未来发展趋势

随着液滴微流控技术在生物医学、化学合成和材料科学等领域的深入应用，倒置透射显微镜搭配高速相机系统也在不断演进，展现出明显的发展趋势。这些趋势将进一步提升系统的性能，拓展应用边界。

▶ 多模态成像融合

未来液滴微流控观测系统将更加注重**多模态成像能力**的整合，即在同一个平台上实现明场、荧光、相差等多种观测方式。这种融合使研究人员能够同时获取液滴形态和内部反应的多种信息，提供更全面的实验数据。

倒置荧光显微系统已经支持荧光检测定制，为多模态成像提供了可能。荧光成像能力特别重要，因为它允许研究人员通过荧光标记特异性追踪液滴内部分子过程，如基因表达、蛋白质定位和代谢活动。结合明场观测的形态信息，可以构建更完整的液滴内反应动力学模型。

结语

倒置透射显微镜搭配高速相机系统为液滴微流控研究提供了强大的技术平台，使科研人员能够深入探索微观世界的动态过程。这一技术组合不仅解决了液滴微流控研究中的观测挑战，还极大地促进了单细胞分析、三维细胞培养、高通量筛选等多个领域的发展。

随着多模态成像、人工智能、仪器自动化和更高时空分辨率等技术的不断进步，**倒置透射显微镜与高速相机的结合将在未来生命科学研究、药物开发和材料合成中发挥更加重要的作用。**这一技术平台的持续演进，将不断拓展我们对微观流体世界的认知边界，为科学研究和工业应用创造新的可能性。

液滴微流控技术本身作为多学科交叉的前沿领域，其进一步发展也离不开光学成像技术的支持。两者相辅相成，共同推动着科学技术向更微观、更高效、更精准的方向迈进。

相关产品



DMI8 倒置显微镜



Mateo TL 数字透射光显微镜

