

文章编号:1674-2869(2016)01-0052-04

微流控芯片的制备及其对糖类物质的检测

皮晓强^{1,2},王升高^{1,2*},刘星星^{1,2},张 维^{1,2},陈 睿^{1,2},崔丽佳^{1,2}

1. 武汉工程大学材料科学与工程学院,湖北 武汉 430074;

2. 湖北省等离子体化学与新材料重点实验室(武汉工程大学),湖北 武汉 430074

摘 要:利用软光刻技术,在聚二甲基硅氧烷(PDMS)上制备了微流通道,通过光刻-湿法刻蚀和磁控溅射镀膜技术制备出了集成有金属膜电极的玻璃基片,将二者经过等离子体处理,进行键合后获得了集成有电化学检测器的PDMS-玻璃微流控芯片.以市售蜂蜜为待测物质,研究了该芯片对蜂蜜中糖类物质的分离检测性能.结果表明:在分离电压为850 V,电解液为50 mmol/L氢氧化钠条件下,使用该PDMS玻璃微流控芯片成功地在3 min内实现了对葡萄糖、蔗糖和果糖的有效分离和检测.

关键词:微流控芯片;磁控溅射;电泳分离;电化学检测;糖

中图分类号:R284.1 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1674-2869.2016.01.009

Preparation of Microfluidic Chip for Sugar Detection

PI Xiaoliang^{1,2}, WANG Shengao^{1,2}, LIU Xingxing^{1,2}, ZHANG Wei^{1,2}, CHEN Rui^{1,2}, CUI Lijia^{1,2}

1.School of Materials Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China ;

2.Hubei Key Laboratory of Plasma Chemistry & Advanced Materials(Wuhan Institute of Technology),
Wuhan 430074, China

Abstract: The micro channels on the surface of Polydimethylsiloxane (PDMS) were prepared by soft lithography technology, and the glass substrate integrated with metal membrane electrode was prepared by lithography-wet etching and magnetron sputtering coating technology. After the surface oxygen plasma treatment of PDMS and glass substrate, the PDMS-glass microfluidic chip was prepared through reversible bonding. Finally, the sugar detection performance of the microfluidic chip was analyzed using the honey from a market as a testing material. The result shows that the glucose, sucrose and fructose in honey can be successfully separated and detected in 3 min at the running voltage of 850 V and 50 mmol/L sodium hydroxide solution

Keywords: microfluidic chip; magnetron sputtering; electrophoretic separation; electrochemical detection; sugar

1 引 言

微流控芯片通常被称为微型全分析系统或芯片实验室.它是一个跨学科领域,旨在通过分析化学、微机电加工、材料科学、电子学、生物学以及医学的交叉来实现分析从试样处理到检测的整体微型化、自动化、集成化和便携化.其优点在于通过芯片沟道实现自动化微流控操作,这不仅降低了珍贵的生物试剂的使用,而且使分析效率得到

了提高^[1-4].

微流控芯片(microfluidic chip)技术首次由Manz等^[5]于1900年提出,其后短短十几年内得到了快速发展.目前微流控芯片的加工过程主要包括图形设计、掩膜、光刻、刻蚀和键合等步骤.近年来报道了使用商品化SODA-LIME玻璃和硅基模具制作微流控芯片的方法,其降低了微流控芯片的成本和对设备的要求^[6-7].陈强研究组^[8]通过使用紫外光学胶键合的方法来实现了微流空芯片的

收稿日期:2016-01-04

基金项目:湖北省科技支撑计划(2015BAA093);国家自然科学基金(51272187);湖北省自然科学基金(2013CFA012)

作者简介:皮晓强,硕士研究生. E-mail: 1198475188@qq.com

*通讯作者:王升高,博士,教授. E-mail: wyysg@163.com

快速键合,降低了键合工艺对基质表面平整度的要求.

本文通过光刻-湿法刻蚀和磁控溅射镀膜技术制备出了集成有金属电极的载玻片,通过软光刻技术制备出了具有沟道的PDMS盖片,将两者用氧等离子体处理后键合,获得了集成有电化学检测器的PDMS-玻璃微流控芯片,并利用其对蜂蜜中的糖类物质进行了分离检测.

2 实验部分

2.1 实验试剂与设备

实验试剂主要包括:氢氧化钠(分析纯,天津市化学试剂三厂),蜂蜜,溶液配制成0.1 mol/L储备液,使用时再稀释至所需浓度,所有溶液以3次蒸馏水配制,使用前利用0.22 μm的醋酸纤维素酯微孔滤膜过滤.其中NaOH溶液要每2 h更换一次.正性光刻胶(RZJ-304,苏州瑞红),负性光刻胶(RFJ-220,苏州瑞红),硝酸银(分析纯,中国人民解放军第九五零九工厂),三氯化铁(分析纯,天津市化学试剂三厂)等.

实验设备主要包括:电化学工作站为CHI660B(上海辰华),高压电源(天津恒博),微波等离子体化学气相沉积装置(实验自制),磁控溅射镀膜机(JCP-200,北京中科科仪有限公司),紫外光刻机(URE-2000/17,中国科学院光电技术研究所),真空干燥箱(DZF-6020,上海精宏实验设备有限公司),超声波清洗机(AS3120, AUTOSCIENCE),自制屏蔽箱等.

2.2 微流控芯片的设计

实验采用的集成电化学检测器的设计如图1所示. a为分离高压负极引线即分离高压的接地端,两引线接地端,两引线间距180 μm,高压负极宽150 μm. b为工作电极,宽为30 μm. c为辅助电极. d为参比电极,与工作电极距离为20 μm. b、c和d共同构成了微流控芯片集成电化学检测器.

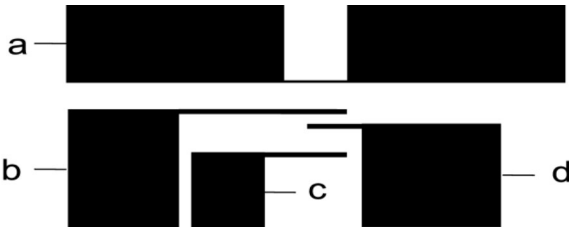


图1 三电极系统及高压负极布置示意图 (a) 高压负极 (b) 工作电极 (c) 辅助电极 (d) 参比电极

Fig. 1 Sketch map of three electrodes system and high voltage cathode (a) High voltage cathode; (b) Work electrode; (c) Counter electrode; (d) Reference electrode

该电化学检测器的分离高压负极布置于工作电极之前,通过两个电极引线从沟道两侧同时引出,两电极引线之间的距离为180 μm,使得分离高压负极还未到达检测电极即最大限度地从地线分离流走,隔离效果优于单根引线,有效地减少了分离高压对检测信号的干扰.同时,三电极系统布置于沟道内,工作电极与分离高压负极之间的距离为30 μm,与布置于液池内相比,可减小样品扩散,防止区带展宽.工作电极设计尺寸为20 μm,电极尺寸的减少,可提高传质速度和分辨率,降低响应时间,提高电极的灵敏度.工作电极与参比电极之间的距离为20 μm,小于沟道的宽度25 μm,有效地降低了背底噪音.

实验中十字沟道的设计如图2所示.其中C为样品池,B为样品废液池,D为缓冲液废液池. BC段为进样沟道,AD段为分离沟道,其中ED段为有效分离长度.实验中考虑到最大程度地减少分离高压对电极检测信号的影响,通过降低沟道宽度和增加沟道的有效分离长度的方法进一步达到去耦的目的.因此实验设计的有效分离长度为65 mm,沟道宽度为25 μm.同时,实验中设计的进样沟道宽度为50 μm,与双T型沟道相比,可以减少进样时间,但达到相同的进样效果.

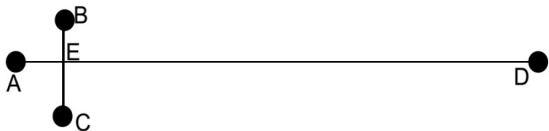


图2 十字沟道示意图

B为样品废液池;C为样品池;D为缓冲液池;AD为分离沟道;BC为进样沟道;ED为有效分离长度

Fig. 2 Sketch map of the cross channel

B Sample waste pool; C Sample pool; D Buffer solution pool;

AD Separated channel; BC Sample injection channel;

ED The length of effective separation

2.3 微流控芯片的制备

利用磁控溅射镀膜机在清洗后的玻璃基片表面镀上钛膜,再镀金膜(钛膜180 nm,金膜25 nm),然后在其表面匀上RZJ-304正性光刻胶.以具有所需图形的铬版玻璃作为掩膜版,通过显影、湿法刻蚀及除胶后即制备出分离高压负极和三电极系统.图3即为集成电化学检测器的制备工艺流程.将参比电极在0.01 mol/L AgNO₃溶液中进行电镀,然后在0.1 mol/L的FeCl₃溶液中浸泡2 min后制得Ag/AgCl类参比电极.

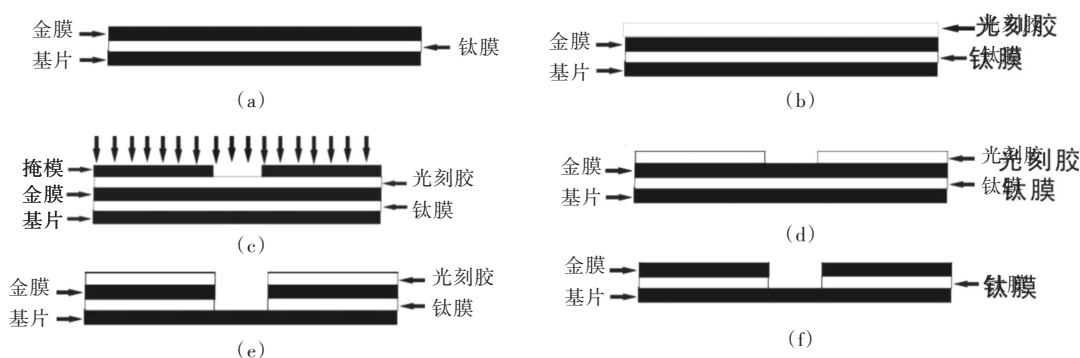


图3 电极的加工制作工艺流程

(a) 镀钛膜和金膜; (b) 涂光刻胶; (c) 光照; (d) 显影; (e) 湿法刻蚀除金膜和钛膜; (f) 除光刻胶
 Fig. 3 Electrode processing and production (a) Titanium and gold film plating; (b) Resist coating; (c) Illumination; (d) Image develop; (e) Wet etching for removing titanium and gold film and ; (f) Remove photoresist

PDMS沟道的制备采用了软光刻技术. 通过预聚体 Sylgard184 及固化剂按质量比 10:1 均匀混合并去除气泡后, 于 75 °C 固化 2 h 后浇注于负胶制作的阳模上, 过程如图 4 所示, 固化即可得到如图 4 所示的沟道的 PDMS 盖片. 采用氧等离子体对

PDMS 盖片和玻璃基片正反两面进行改性处理后, 在显微镜下进行 PDMS 盖片和玻璃基片的对准操作, 实现 PDMS 和玻璃的键合, 即得到了集成有电化学检测器的 PDMS-玻璃微流控芯片, 照片如图 5 所示.

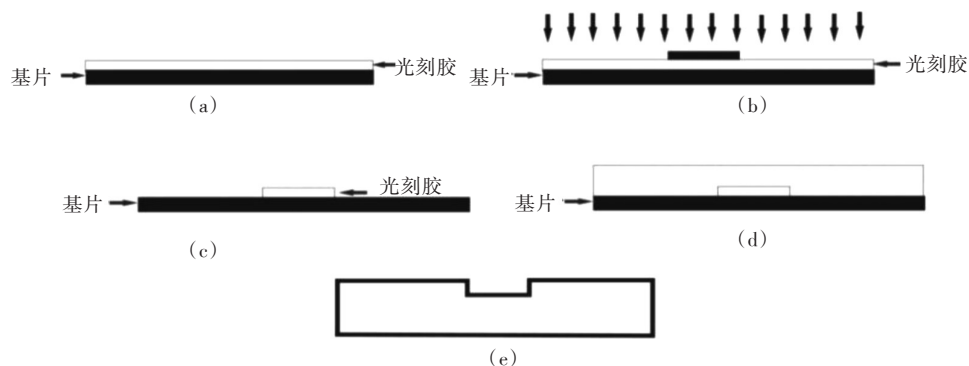


图4 PDMS沟道制作工艺流程

(a) 涂光刻胶; (b) 光照; (c) 显影; (d) 浇注PDMS单体; (e) 制得具有沟道的PDMS盖片

Fig. 4 Fabrication of PDMS channel

(a) Resist coating; (b) Illumination; (c) Image develop; (d) Pouting PDMS monomer and (e) PDMS cover plate with channel

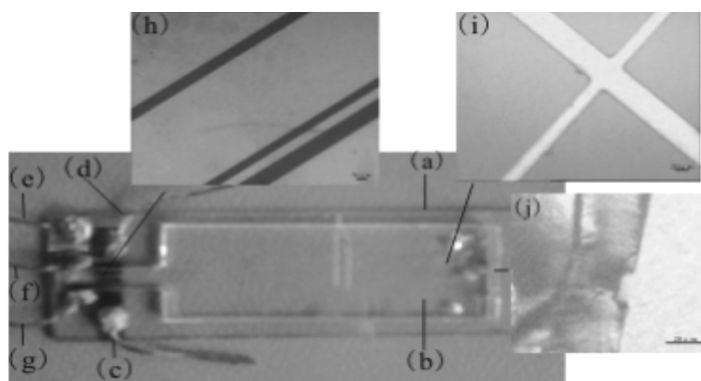


图5 集成有电化学检测器的PDMS微流控芯片实物照片 (a)玻璃基片; (b) 加工有十字沟道的PDMS盖片; (c)、(d)分离高压负极电极引线; (e) 工作电极引线; (f) 对电极引线; (g) 参比电极引线; (h) 电极的局部放大 CCD 照片; (i) PDMS 盖片的局部放大照片; (j) PDMS 沟道的剖面图

Fig. 5 PDMS microfluidic chip integrated with electrochemical detector (a) Glass substrate; (b) PDMS cover plate with cross channel; (c) and (d) Negative leading wire for separating high voltage; (e) Leading wire of the work electrode; (f) Leading wire of counter electrode; (g) Leading wire of reference electrode; (h) CCD partial enlargement photo of electrode; (i) Partial enlargement photo of PDMS cover plate and (j) Cross-section drawn of PDMS channel

2.4 糖类物质的检测

图6为金电极作为工作电极的电泳分离图. 实验条件均以850 V作为分离高压,进样时间5 s,以50 mmol/L NaOH作为缓冲溶液,以0.01 g蜂蜜稀释200倍后的溶液作为检测物. 从图中可以看出PDMS-玻璃微流控芯片能够在3 min内成功地从蜂蜜中分离检测出葡萄糖、蔗糖和果糖.

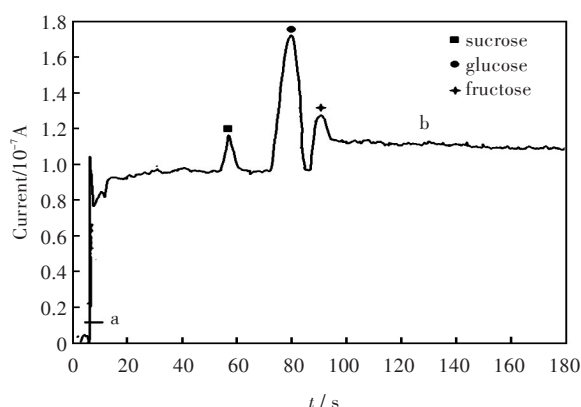


图6 金电极作为工作电极的电泳分离图

(a) 进样阶段;(b) 分离阶段

Fig. 6 Electrophoretic separation diagram of gold electrode as work electrode

(a) Stage of sample injection; (b) Stage of sample separation

3 结 语

本实验采用了软光刻技术,在PDMS上制备了微流通道,通过光刻-湿法刻蚀和磁控溅射镀膜技术制备出了集成有金属膜电极的玻璃基片,将二者经过等离子体处理后,进行键合获得了集成有电化学检测器的PDMS-玻璃微流控芯片. 该芯片制作简单,成本低,能够有效的应用于糖类物质的分析和检测.

参考文献:

[1] 霍丹群,刘振,侯长军,等. 微流控芯片光学检测技术在细胞研究中的应用与进展[J]. 分析化学, 2010(9): 1357-1365.
HUO D Q, LIU Z, HOU C J, et al. Recent advance on optical detection method and techniques for cell-based microfluidic systems [J]. Chinese journal of analytical

chemistry, 2010(9): 1357-1365.

- [2] 马亮波,徐溢,梁静,等. 微流控芯片电泳电导检测分离分析尿蛋白[J]. 分析化学, 2011(8): 1123-1128.
MA L B, XU Y, LIANG J, et al. Separation and detection of urinary protein by microfluidic chip integrated contactless conductivity detector[J]. Chinese journal of analytical chemistry, 2011(8): 1123-1128.
- [3] 于冰,任玉敏,丛海林,等. 微流控芯片电泳的研究进展[J]. 分析测试学报, 2011, 30: 1067-1073.
YU B, REN Y M, CONG H L, et al. Research progress of electrophoresis on microfluidic chips [J]. Journal of instrumental analysis, 2011, 30: 1067-1073.
- [4] 方艳夕,朱金坤,时维静,等. 白头翁中糖类组分的毛细管电泳-安培检测研究[J]. 中成药, 2013, 35: 1504-1508.
FANG Y X, ZHU J K, SHI W J, et al. Saccharides in pulsatillae radix by capillary electrophoresis-amperometric detection [J]. Chinese patent medicine, 2013, 35: 1504-1508.
- [5] MANZ A, GRABER N, WIDMER H M. Miniaturized total chemical analysis systems: a novel concept for chemical sensing [J]. Sensors and actuators B: chemical, 1990(1): 244-248.
- [6] 张峰,张宏毅,周勇亮,等. 湿法腐蚀硅制作PDMS微流控芯片[J]. 机械工程学报, 2006, 41(11): 194-198.
ZHANG F, ZHANG H Y, ZHOU Y L, et al. Fabrication of PDMS microfluidic chip by wet etching silicon [J]. Chinese journal of mechanical engineering, 2006, 41(11): 194-198.
- [7] 罗怡,娄志峰,褚德南,等. 玻璃微流控芯片的制作[J]. 纳米技术与精密工程, 2004, 2(1): 20-23.
LUO Y, LOU Z F, CHU D N, et al. Fabrication of glass microfluidic chip [J]. Nanotechnology and precision engineering, 2004, 2(1): 20-23.
- [8] 陈强,李刚,潘爱平,等. 玻璃微流控芯片廉价快速制作方法的研究[J]. 化学学报, 2007, 65(17): 1863-1868.
CHEN Q, LI G, PAN A P, et al. Study on low-cost and fast fabrication method of glass microfluidic chips [J]. Acta chimica sinica, 2007, 65(17): 1863-1868.

本文编辑:龚晓宁