

电泳芯片无接触电导检测器的理论研究

李霞, 温志渝, 温中泉

(重庆大学光电工程学院, 重庆 400044)

摘要: 目前电泳芯片大多数采用的是光学检测的方法, 这为电泳芯片的微型化、一体化集成带来了一定的难度。为此, 设计了一种新的电泳芯片高频无接触电导检测器, 并对这种新型的检测器进行了理论研究和分析, 建立了高频电导检测器等效电路模型, 对高频电导检测器的结构进行了设计, 综合考虑区带展宽等因素, 确定了检测器的结构尺寸。该检测器具有应用范围广、结构简单、易于一体化集成的特点。

关键词: 毛细管电泳; 微型机电系统; 无接触电导检测

中图分类号: O658 文献标识码: A 文章编号: 1000-8713(2004)05-0469-03

Theoretical Study of Contactless Conductivity Detector for Electrophoresis Chip

LI Xia, WEN Zhiyu, WEN Zhongquan

(College of Opto-Electronic Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Currently most electrophoresis chips use optical detection methods, which brings some difficulties in micromation and integration of electrophoresis chips. In order to solve this problem, a new high-frequency contactless conductivity detector for electrophoresis chip is designed. At the same time, theoretical study and analysis of this new detector are carried out, based on the construction of an equivalent circuit mode of high-frequency conductivity detector and the design of the structure. With the consideration of many factors including band broadening, the dimensions of the structure were designed and optimized. In summary, the detector has many advantages such as wide application range, simple structure and easy integration.

Key words: capillary electrophoresis; micro electromechanical system; contactless conductivity detection

毛细管电泳(CE)是20世纪90年代以来最重要的分离分析手段之一, 以其快速、高效、微量、易自动化等突出优点^[1]在生命科学、生物医学、食品卫生、法检、化学分析等领域有着极其广泛的应用。然而, 传统的毛细管电泳分析仪已不能满足目前对分析仪器提出的微型化、集成化、价格低廉、性能稳定可靠、使用方便等一系列更高的要求。随着微型机电系统(MEMS, micro electromechanical system)技术的发展, 人们提出了“芯片上的实验室(lab on the chip)”的思想^[2], 促进了毛细管电泳仪向小型化、集成化、一体化、自动化方向发展, 使电泳芯片的研究成为世界各国关注的热点。

检测方法是研制一体化集成的电泳芯片的关键技术之一, 它的优劣直接影响检测对象的检测灵敏度和线性范围。目前, 电泳芯片中的主要检测方法

有光学检测、电化学检测、质谱检测等。光学检测中又可分为激光诱导荧光法、紫外吸收检测等; 电化学检测可分为电位分析检测、电导率检测、安培分析检测等^[3], 其中电导率检测作为一种通用型的检测方法, 可检测的物质范围广, 检测器结构简单, 易于一体化集成, 在电泳芯片的研制中有着重要的作用。因此, 本文通过分析电导检测的工作原理, 推导了检测的电导表达式, 讨论了影响检测电压的相关因素, 为电泳芯片的一体化设计提供了一定的理论基础。

1 高频电导检测器的原理及理论分析

虽然用于CE中的电导检测器的研究时间不是很长, 然而已有很大进展, 根据检测器与毛细管的位置, 一般分为3种: 在柱型(on column)、柱端型(end column)和离柱型(off column)^[4]。其基本

原理是基于离子的电特性。通常的电导检测器是将两个金属电极置于电解质溶液中,当电压施加在检测电极上时,在电场的驱动下,阴离子和阳离子分别向正、负电极运动,从而产生电流。该电流的大小与溶液的电导率成正比,电导率与粒子的浓度、粒子电荷、温度等有关,由此通过对电导率的检测,可以检测到溶液的浓度。但是由于检测电极与溶液相接触(故称为接触式电极),分离电压对其就有较明显的干扰,且易被污染。

为了减小分离电压的影响,人们又研制了一种无接触型检测器,它是利用电感或电容耦合的方式,将线圈或电极置于溶液容器外壁^[5],避免电极与溶液接触,最初这种探测器主要用于色谱和等速电泳中。这种检测器造价低,安装方便,不需对检测池进行冲洗。

我们采用在检测电极上直接镀上绝缘层的方法,将检测电极与溶液隔离。此时,接触式电极所产生的双电层效应便转化为电容效应,绝缘层就等效于绝缘层物质形成的电容和双电层效应所形成的电容的串联。由于双电层电容远大于绝缘层形成的电容,所以双电层电容对检测器的影响将大大减小^[6]。其结构示意图如图 1 所示。

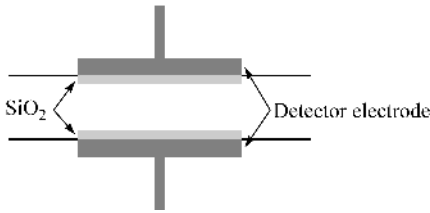


图 1 高频电导检测器的结构示意图

Fig.1 The structure of the high-frequency conductivity detector

根据电导检测器的有关理论,我们可以得到高频电导检测器的等效电路模型,见图 2。其中, C_i 是以绝缘层 SiO_2 为介质的电容, C_b 是以缓冲液为介质而形成的电容, R 表示电泳芯片管道中溶液形成的电阻,即当分离物质还没到达检测器时可以用缓冲液所形成的电阻 R_b 表示,当分离物质经过检测器时可以用分离物质为介质形成的电阻 R_s 表示。由于双电层电容远大于绝缘层形成的电容,所以双

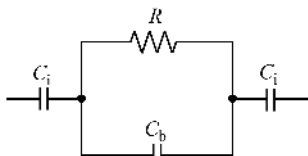


图 2 检测器的电路模型

Fig.2 The circuit model of the detector

电层电容对检测器的影响将大大减小,我们可以忽略掉双电层电容。

设极板长为 l_{det} ,宽为 w ,间距为 h , SiO_2 绝缘层厚为 d_p ,真空介电常数为 ϵ_0 ,绝缘层和缓冲液的相对介电常数分别为 ϵ_r 和 ϵ_b ,分离物质和缓冲液的摩尔电导率分别为 k_s 和 k_b ,据此,有:当分离物质未到达检测器时

$$C_i = \frac{\epsilon_r \times \epsilon_0 \times l_{det} \times w}{d_p}$$

$$C_b = \frac{\epsilon_b \times \epsilon_0 \times l_{det} \times w}{h}$$

$$R_b = \frac{1}{k_b} \times \frac{h}{l_{det} \times w}$$

$$G_b = \frac{1}{R_b} = k_b \times \frac{l_{det} \times w}{h}$$

由图 2 和以上公式可得到等效电路电抗为:

$$z = \frac{2}{j\omega C_i} + \frac{R_b \cdot \frac{1}{j\omega C_b}}{R_b + \frac{1}{j\omega C_b}} \times \frac{1 + j\omega C_b R_b + j\omega R_b C_i/2}{(1 + j\omega C_b R_b)j\omega C_i/2}$$

当分离物质流经检测器时

$$R_s = \frac{1}{k_s} \times \frac{h}{l_{det} \times w}$$

$$G_s = \frac{1}{R_s} = k_s \times \frac{l_{det} \times w}{h}$$

在等效电路电抗的计算公式中用 R_s 替代 R_b ,便得到了当分离物质流经检测器时的等效电抗。故当物质流过检测器时的电导差为

$$\Delta G = G_s - G_b = (k_s - k_b) \times \frac{l_{det} \times w}{h}$$

对于具体的物质分离时, k_s 、 k_b 为一定值,则 ΔG 正比于 l_{det} 和 w ,反比于 h ;也就是说, ΔG 随着 l_{det} 和 w 的增大而增大,随着 h 的增大而减小。

2 高频电导检测器的设计

在电泳芯片中,电导检测器一般将两个相对的指示电极与分离通道的末端一体化集成在一起,通过记录分离区带所引起的电导随时间的变化得到电泳的分离谱图,从而完成检测过程。检测器虽不会影响到分离过程和样品组分的迁移,但却会使区带展宽。严重的加宽可能会使已分离的区带重新混合。因此,在设计检测器时必须考虑它对区带展宽所带来的影响。根据电导检测器的模型可知,检测器的设计主要是确定检测电极的尺寸。

(1)检测电极之间的距离及检测电极的宽度设计:为了避免死体积,所设计的检测电极之间的距离一般与分离沟道的宽度相同。在检测电极距离一定

的情况下,检测电极的面积越大,检测器的灵敏度越高。而检测电极的面积主要由检测电极的长度和宽度决定。检测电极长度过大会导致响应信号加宽,从而影响电泳效率。因此,需要通过检测响应信号加宽对效率的影响来确定检测电极的长度。然后在检测电极的长度一定的情况下,根据分离沟道的设计和工艺条件确定电极宽度。因此,我们下面主要是对检测电极的长度参数进行设计。

(2)检测电极的长度设计:在进行检测电极长度的设计时,主要是从分离效率和检测信号的大小来考虑。由高频电导检测器的等效电路模型可知,在电迁移过程中各种组分带不仅由于它们的迁移速度不同而被分离,而且也由于一系列分散因素(如扩散等)的作用而不断地被增宽。若在毛细管电泳中不考虑影响较小的因素,电泳芯片中区带方差 σ^2 可表示为:

$$\sigma^2 = \sigma_{\text{dif}}^2 + \sigma_{\text{inj}}^2 + \sigma_{\text{det}}^2$$

σ_{dif}^2 、 σ_{inj}^2 、 σ_{det}^2 分别是由扩散、进样和检测所引起的区带展宽,可分别由下式^[7]表示:

$$\sigma_{\text{dif}}^2 = 2Dt_r, \quad \sigma_{\text{inj}}^2 = \frac{l_{\text{inj}}^2}{12}, \quad \sigma_{\text{det}}^2 = \frac{l_{\text{det}}^2}{12} \quad (1)$$

其中 D 为分离组分的扩散系数, t_r 为分离组分的分离时间, l_{inj} 和 l_{det} 分别为样品塞长度和检测池长度。如果 l_{inj} 和 l_{det} 所引起的区带展宽超过扩散引起的区带展宽,则分离效率和分离度都将受到损失。所以,理想的情况是 l_{inj} 和 l_{det} 均小于 $(2Dt_r)^{1/2}$ 。

目前在毛细管电泳理论中通常仍沿用色谱中的塔板高度 H ($H = \sigma^2/L$ (L 为进样口到检测器的距离))作为指标来讨论谱峰的展宽,进而衡量整个系统性能的优劣^[8]。一般来说,电泳峰近似呈高斯型,当峰宽增加5%时不会导致电泳效率的明显降低,即有以下条件成立^[9]:

$$(W_{\text{bl}} - W_{\text{col}})/W_{\text{col}} \leq 5\%$$

式中, W_{bl} 是峰的基线宽度, W_{col} 是峰底宽度。考虑正态分布,有:

$$W_{\text{bl}} = 4\sigma_{\text{bl}}, \quad W_{\text{col}} = 4\sigma$$

于是: $\sigma_{\text{bl}} \leq (1.05\sigma)^2 = 1.1025\sigma^2$

这意味着,非分离加宽方差的贡献比率不得大于 $0.1025\sigma^2$ 。如果将非分离加宽方差的一半分配给进样,而另一半分配给检测,则有:

$$\sigma_{\text{det}}^2 \leq 0.1025\sigma^2/2 = 0.05125\sigma^2$$

由公式(1),若检测电极的长度(L_{cell})引起的方差(σ_{cell}^2)占总检测方差的2/3,则有^[7]:

$$\sigma_{\text{cell}}^2 = \frac{2}{3} \times \frac{0.1025}{2} \sigma^2 = \frac{0.1025}{3} \sigma^2 \quad (2)$$

$$L_{\text{cell max}} \leq \sqrt{12 \times \frac{0.1025}{3} HL} \approx 0.64 \sqrt{HL} \quad (3)$$

根据式(3),可对检测电极长度的限制和要求进行讨论。假设电泳芯片分离的有效长度大约为1 cm,如果希望得到 $H \leq 10 \mu\text{m}$ (即 $N \geq 1 \times 10^5$)的分离效率,可得到检测电极的长度应小于 $202 \mu\text{m}$ 。

根据以上对毛细管电泳检测池尺寸对检测电导带来的影响的讨论,结合电泳芯片的电泳效率分析,可对电泳芯片的检测电极长度对效率的影响进行讨论,以确定检测电极长度。根据分离效率 N 的计算公式($N = 1/H = L^2/\sigma^2$)可知,随着检测电极长度的增加,总区带方差 σ^2 将会增大,从而使 N 降低。

综合以上分析,可将检测电极长度设计为 $200 \mu\text{m}$ 。

3 结论

本文所设计的无接触电导检测器具有普通电导检测器的一般优点,即对各种荷电成分均有响应;由于采用高频无接触电导检测的办法,又克服了普通电导检测器的缺点,将检测电极与溶液隔离,避免了电极污染的问题。

参考文献:

- [1] Yu Weile, Ou Qingyu. New Technology of Capillary Gas Chromatography and Separation Analysis. Beijing: Science Press(俞惟乐,欧庆瑜.毛细管气相色谱和分离分析新技术.北京:科学出版社),1999. 265
- [2] Harrison D J, Manz A, Fan Z, Ludi H, Widmer H M. Anal Chem, 1992, 64: 1926
- [3] Chen Jifeng, Jin Qinghui, Zhao Jianlong, Xu Yuansen. Chemical World(陈继锋,金庆辉,赵建龙,徐元森.化学世界),2002,(2):94
- [4] Yuan Zhuobin, Xiong Hui, Zhang Shusheng. Journal of the Graduate School of the Chinese Academy of Sciences(袁卓斌,熊辉,张书胜.中国科学院研究生院学报),1999,16(2):126
- [5] Fracassi da Silva J A, Guzman N, do Lago C L. J Chromatogr A, 2002, 942: 249
- [6] Laugere F, Lubking G W, Berthold A, Bastemeijer J, Vellekoop M J. Sensors and Actuators A, 2001, 92: 109
- [7] Heiger D N. An Introduction to High Performance Capillary Electrophoresis. HP Company, 1993. 56
- [8] Lin Bingcheng. An Introduction to Capillary Electrophoresis. Beijing: Science Press(林炳承.毛细管电泳导论.北京:科学出版社),1996. 15
- [9] Chen Yi. Study on Capillary Electrophoresis Theory. Beijing: Huawen Press(陈义.毛细管电泳理论探索.北京:华文出版社),2001. 112