

玻璃芯片上温控微阀的制备和 微流体控制性能研究

李志明, 陈恒武, 马 丹

(浙江大学微分析系统研究所, 杭州 310058)

摘要 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAAm) 在临界温度 (32 °C) 附近会发生敏锐的相变, 导致其体积和表面亲疏水性的突变. 利用这种由温度刺激引起的体积变化, 可以控制微通道内微流体的运动状态. 本文以 2-羟基-2-甲基-1-苯基丙酮为引发剂, 水-乙醇混合体系为溶剂, 在玻璃芯片通道内局部区域以紫外光诱导聚合 PNIPAAm 整体柱塞, 制备温控微阀. 系统地考察了聚合条件对该阀的形态和性能的影响. 在此基础上, 建立了一个芯片上的集成化单温控阀流动注射分析模型, 利用镁离子与荧光探针 *O,O'*-二羟基偶氮苯的螯合荧光反应, 表征温控微阀的控制效果. 结果表明, 所制作的微阀温控效果良好, 在微流控领域有应用前景.

关键词 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺; 温控微阀; 微流控芯片; 流动注射分析

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2009)01-0032-05

微流体的驱动和控制是微流控分析的基础^[1]. 目前, 在微流控分析系统中所采用的微流体驱动和控制技术主要有电渗泵^[2,3]、气压泵^[4]/阀^[5]、注射泵^[6,7]及重力泵^[8,9]等. 电渗泵/阀主要应用于芯片毛细管电泳, 另外几种泵和阀则用于微流动注射分析等应用流体动力流的微流控分析系统中, 除重力泵外, 一般需要较为复杂和体积较大的外置机械系统. 近些年, 基于温敏高聚物聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 [Poly(*N*-isopropylacrylamide), PNIPAAm]^[10] 的液流控制系统因具有无需机械部件及易微型化集成化等优势而引起了人们的关注. Yu 等^[11] 采用硅烷化试剂在玻璃通道内壁引入乙烯基, 再以 4,4'-偶氮-双(4-氰基戊酸) [4,4'-Azobis(4-cyanovaleric acid)] 为引发剂, 通过紫外光诱导的聚合反应, 在玻璃通道内制备了 PNIPAAm 凝胶塞状阀体, 配合通道外的电热温控, 使 PNIPAAm 阀体可逆溶胀/收缩, 实现了对芯片上微流体的操控.

最近 Singh 等^[12] 发现, 采用疏水性引发剂 2-羟基-2-甲基-1-苯基丙酮 (2-Hydroxy-2-methyl propiophenone, 商品名 Darocure-1173), 在 1:1 (体积比) 的水/乙醇介质中, 以紫外光诱导聚合得到的 PNIPAAm 凝胶比采用亲水性引发剂在水相中聚合得到的同类凝胶具有更大的溶胀/收缩体积比, 但没有进一步应用该反应在通道中制备 PNIPAAm 温敏阀. 本文以 Darocure-1173 为引发剂, 在玻璃芯片通道的局部区域内, 以紫外光诱导聚合 PNIPAAm 整体柱塞, 建立了一种在玻璃芯片通道内快速制备温控塞状微阀的方法. 系统地考察了聚合条件对微阀性能的影响. 以微型注射泵驱动溶液, 用微型半导体加热/制冷器 (Peltier) 控制该温控微阀的开/闭, 结合激光诱导荧光检测 (LIF), 组成芯片上的单阀微流动注射分析模型 (Micro-flow injection analysis, μ FIA), 利用 Mg^{2+} 与荧光探针 *O,O'*-二羟基偶氮苯 (2,2'-Dihydroxyazobenzene, DHAB) 的螯合反应表征了该温控微阀操控液流的效果.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

JHG-2A 型光刻机 (上海光学机械厂); KDS101 注射泵 (KD Scientific, USA); TES1-0801 陶瓷 Peltier (4 mm × 6 mm, 天津精易工贸有限公司); 参照文献 [13] 方法设计制作共聚焦型 LIF 检测系统; 玻璃

收稿日期: 2008-07-27.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 20675072, 20890020) 和国家“九七三”计划 (批准号: 2007CB714502) 资助.

联系人介绍: 陈恒武, 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事微流控分析研究. E-mail: hwchen@zju.edu.cn

芯片(6.2 cm × 3.8 cm × 1.5 mm, 其结构及通道尺寸见图 1)参照文献[14]方法制作, 反应通道上宽 180 μm, 阻尼通道上宽 130 μm, 所有通道深 40 μm.

3-甲基丙烯酰氧丙基三甲氧基硅烷(3-Methacryloxypropyltrimethoxysilane, MPTMS)、*N*-异丙基丙烯酰胺(*N*-Isopropylacrylamide, NIPAAm)和 *N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺(*N,N'*-Methylenebisacrylamide, BIS)均为美国 Acros 公司产品, 其中 NIPAAm 使用前用正己烷重结晶提纯. Darocure-1173 及 DHAB (美国 Sigma-Aldrich 公司); MgCl₂ (国药集团化学试剂有限公司). 所用试剂均为分析纯以上.

DHAB 溶液: 用乙醇配制 0.02 mol/L 的储备液, 用 0.01 mol/L NaOH 稀释到所需浓度.

1.2 温控微阀的制作

玻璃芯片通道经丙酮、水、0.2 mol/L 的 NaOH 和 HCl 顺序清洗并干燥后, 在其中充满含 30% (体积分) MPTMS 的丙酮溶液, 于暗处与乙烯基硅烷化反应 24 h^[11]. 经丙酮清洗, N₂ 气吹干后, 在通道内灌满经除氧后的单体溶液[含 14.3% (质量分数, 下同) NIPAAm, 0.14% BIS, 2% Darocure-1173, 溶剂为体积比为 1:1 的水-乙醇溶液]. 利用掩膜在通道上定位光诱导聚合反应的区域后, 将芯片在冰水浴保护下置于光刻机的曝光平台上, 光照 1 min (365 nm, 200 W). 再将芯片置于 45 °C 电热板上, 用大量蒸馏水冲洗通道, 以除去未反应的单体等.

1.3 阀的操控及实验过程

采用微型 Peltier 对玻璃芯片上整体柱塞所在的区域局部加热和制冷, 实现塞型微阀的受控启/闭. 实验中, 用导热硅脂将 Peltier 紧贴在阀体位置的芯片底面, 并以相应的控制电路操控 Peltier 的加热/制冷.

在流动注射分析时, 双道注射泵的两个注射器分别通过聚四氟乙烯管(内径 0.5 mm)与芯片上的试样进口 S 和试剂进口 R 连接, LIF 的光斑聚焦于芯片混合/反应通道下游 1 cm 处(D). 在室温下(温敏阀 V 处于关闭状态)启动双道注射泵, 将 DHAB 溶液以 1.5 μL/min 的流速引入至混合反应通道 M 中, 而试样溶液(MgCl₂ 水溶液)以 1 μL/min 流速经阻尼通道排入废液槽 W2. 建立基线后, 启动电路使 Peltier 加热, 开启温敏阀, 使试样溶液注入混合反应通道中, 加热 25 s 后, 切换电路使 Peltier 制冷, 关闭温敏阀. 所注入的试样带在混合反应通道内与 DHAB 混合反应, 生成的荧光螯合物 DHAB-Mg 试样带流经检测点 D 时, 得到一个流动注射信号峰. Peltier 制冷 60 s 后, 切换电路制热, 开始下一个循环.

2 结果与讨论

2.1 聚合条件的考察

参考文献[12]方法, 以 Darocure-1173 为亲脂引发剂, 乙醇-水为混合溶剂, 研究在微米尺度通道内制备温控微阀的方法, 具体考察了单体-交联剂配比、聚合温度及聚合时间等条件对整体柱塞的聚合形态及性能的影响.

2.1.1 单体与交联剂 BIS 的配比 不同配比的交联剂 BIS 对通道内阀体的形态的影响如图 2 所示. 采用 0.5% [*m*(交联剂):*m*(单体)] 交联剂所制备的阀体在 PNIPAAm 临界温度(LCST, 32 °C)上下(0 °C/45 °C)都呈透明状[图 2(A₁, A₂)], 通水实验表明, 该柱塞没有温控开闭液流的效果. 采用 1% 交联剂所得到的阀体在 0 °C 时呈半透明状态[图 2(B₁)], 而 45 °C 时则不透明[图 2(B₂)], 且温控开闭性能良好. 用 4% 交联剂制备的阀体形态无论在 45 °C 或 0 °C 均呈现不透明状态[图 2(C₁, C₂)], 通水实验表明, 在 0 °C 时, 该阀无法堵死通道, 可能是因为交联度大, 限制了 PNIPAAm 链的伸缩, 导致低温时高聚物链伸展程度不足, 从而无法堵塞液流. 该现象与文献[12]报道的以 Darocure-1173 为引发剂时,

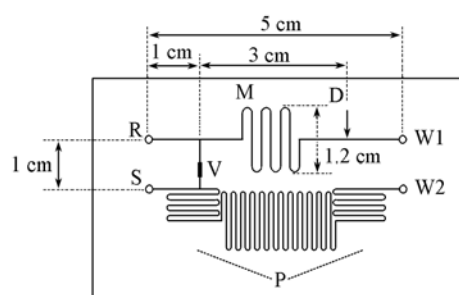


Fig. 1 Schematic diagram of the glass microfluidic chip

D: Detection point; M: mixing/reaction channel; P: damping channel; R: reagent inlet port; S: sample inlet port; V: thermally actuated microfluidic valve; W1 and W2: waste outlet port.

1% 交联度的 PNIAAm 凝胶具有最明显的溶胀/收缩比相吻合. 因此选择交联剂/单体的质量分数为 1%.

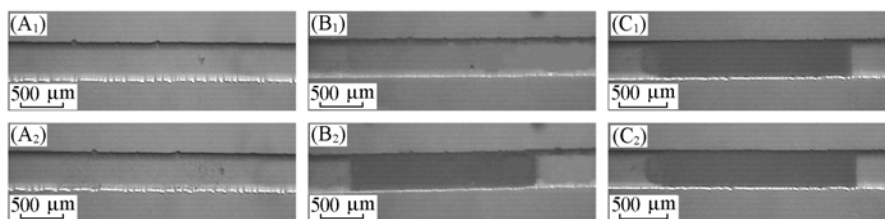


Fig. 2 Effect of the ratio of cross-linker to monomer on the appearance of monolithic plugs at the temperature above (A_2 , B_2 , C_2) and below (A_1 , B_1 , C_1) the LCST of PNIPAAm

(A_1 , A_2) 0.5% BIS (mass fraction against NIPAAm); (B_1 , B_2) 1% BIS; (C_1 , C_2) 4% BIS.

2.1.2 聚合温度及时间 考察了光照聚合时间对整体柱塞长度及形态的影响. 结果表明, 紫外光照 1 min 即可实现芯片通道内局部区域整体柱塞的聚合和固定, 且柱塞长度 (2 mm) 与掩膜图形一致, 未见明显的柱塞扩展现象. 经测试, 该阀的液流控制效果较好, 而且可以抵御约 0.45 MPa 的流体背压, 足以实现芯片上的单元操作. 实验中还发现, 延长光照时间, 微通道内的整体柱塞出现了不同程度的扩展, 这可能是由光照区域内所生成的自由基扩散引起的. 当聚合时, 紫外光照长达 6 min 时, 所生成的柱塞在加热状态无法开启使水流通过, 这可能是长时间光照导致交联度过高所致. 故本实验选取 1 min 作为最优聚合时间. 该聚合时间较 Yu 等^[11]报道的 45 min 大大缩短, 这主要是因为采用了 Darocure-1173 作为引发剂的缘故.

考察聚合温度对阀性能的影响, 结果表明, 无论是 0 °C (< LCST) 还是 45 °C (> LCST), 所得的整体柱塞形态均良好, 两端平整且无扩展现象. 通水实验结果表明, 在较高温度下聚合得到的阀加热时开启速度较快, 然而, 进一步的耐压测试则显示, 在 45 °C 下聚合得到的柱塞无法承受 0.25 MPa 的流体背压. 因此最终选择 0 °C 作为聚合温度.

2.2 温控微阀的开关性能

图 3 所示为 PNIPAAm 阀体对水流的控制过程. 在低于 LCST 的室温下, 通道内的阀体 (图中虚线范围所示) 溶胀, 呈现半透明状 [图 3(A)], 此时通道被阻断, 由注射泵驱动的液流 (1 $\mu\text{L}/\text{min}$) 无法通过该通道 (标示水流前沿的空气泡停滞在阀体的左侧上游). 当温度升高到 LCST 以上的 40 °C 时,

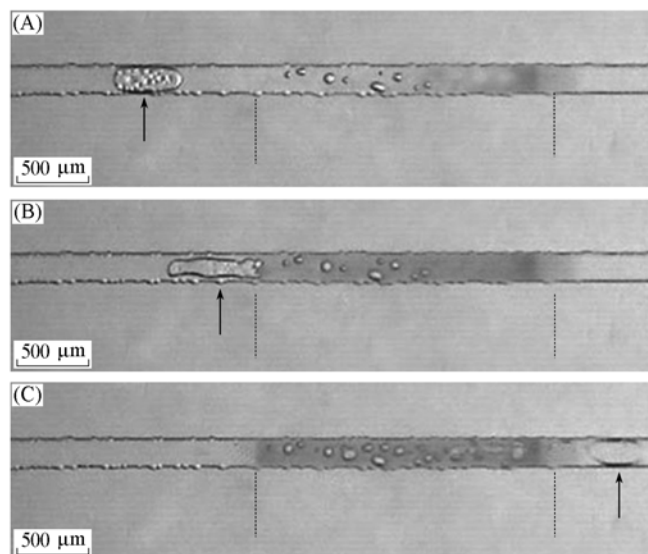


Fig. 3 CCD images of the status of water flow in a microchannel controlled by thermally actuated microfluidic valve

The dash lines indicate the location of the valve, and the arrow indicates the air bubble in the front of the fluid.

PNIAAm 阀体收缩, 高聚物的孔眼增大, 阀体开启(变得不透明), 液流导通, 其前沿的空气泡随液流穿过阀到达阀体的右侧下游[图 3(B)和(C)].

CCD 录像结果显示, 打开阀的致动时间约为 20 s, 关闭阀的致动时间约为 10 s. 该响应速度较文献[11]报道的慢, 其原因是本实验中 Peltier 隔着 1.5 mm 的玻璃片加热/致冷通道内阀体, 因未采取相应的措施减小区域热容和增加导热速率, 从而导致阀的致动速度较慢.

2.3 微流动注射分析模型

为考察该温敏阀的开/关性能及在微流控分析芯片中应用的可能性, 利用 Mg^{2+} 离子与荧光探针 DHAB 的荧光反应体系^[15], 建立了一个芯片上的简易单阀流动注射分析模型.

2.3.1 阀体加热时间考察 在特定的体积流速下考察了 Peltier 加热时间对流动注射荧光信号的影响. 结果表明, 当加热时间小于 18 s 时, 记录图上几乎无信号峰出现, 这是因为温控阀所在区域的温度尚未使阀开启. 加热时间在 20 ~ 30 s 间, 随加热时间增长, 进样体积增大, 峰高几乎线性增大(见图 4). 但当加热时间达到 30 s 时, 半峰宽明显增大, 表明进样过量. 所以, 本文选择 25 s 作为阀体加热时间.

2.3.2 体系重现性及其对 Mg^{2+} 浓度的响应 在上述条件下, 以 2.4×10^{-5} g/mL Mg^{2+} 标准溶液重复进样, 所得到的流动注射信号见图 5(A), 峰高 RSD 为 3.4% ($n = 5$). 采用不同浓度的 Mg^{2+} 标准溶液进样, 得到的记录曲线见图 5(B), 表明该体系对 Mg^{2+} 的浓度具有很好的响应性能.

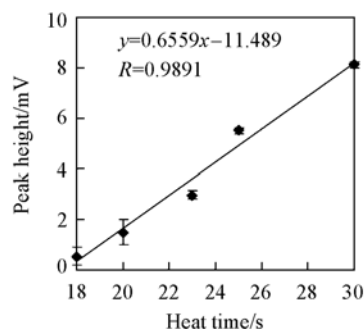


Fig. 4 Effect of heating time of Peltier on the peak height signals observed with the μ FIA system equipped with a thermally actuated valve

A 1.9×10^{-4} g/mL DHAB solution was pumped at a flow rate of 1.5 μ L/min, while 2.4×10^{-5} g/mL Mg^{2+} solution at 1 μ L/min. The cooling time of Peltier was set to 1 min.

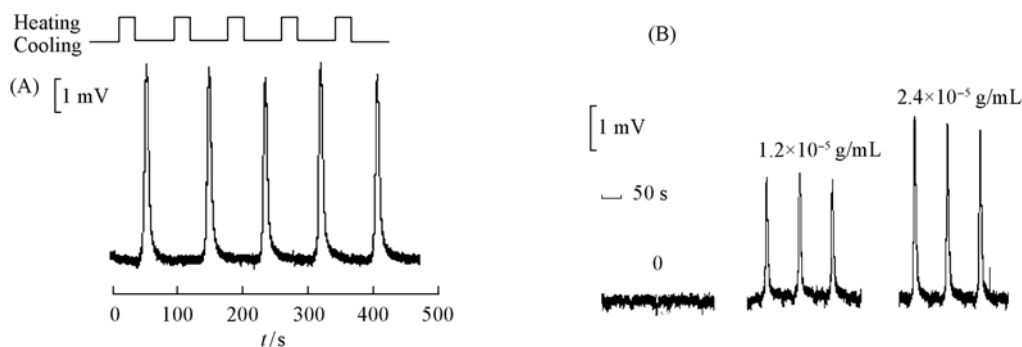


Fig. 5 Recording traces obtained with the μ FIA system for 5 consecutive injections of a 2.4×10^{-5} g/mL Mg^{2+} standard solution(A) and triplicate injections of three standard solutions containing 0, 1.2×10^{-5} and 2.4×10^{-5} g/mL Mg^{2+} (B)

(A) 1.9×10^{-4} g/mL DHAB solution was pumped at a flow rate of 1.5 μ L/min, while the Mg^{2+} solution at 1 μ L/min. The heating and cooling time of Peltier was set to 25 s and 1 min, respectively. The upper trace in (A) is the time-phase for heating and cooling.

实验表明, 应用本法制备的温敏塞状阀在小于 0.45 MPa 的背压下反复使用 4 周(不用时于室温下充水保存), 未见因柱塞脱落而损坏.

3 结 论

以 2-羟基-2-甲基-1-苯基丙酮为引发剂, 水-乙醇混合体系为溶剂, 在玻璃芯片通道内局部区域以紫外光诱导聚合 PNIPAAm 整体柱塞作为温控阀的阀体, 聚合时间仅需 1 min, 缩短了温敏阀制备的周期, 避免了因自由基扩散可能导致的柱塞阀体扩展现象. 采用半导体加热/制冷器可以方便地控制

PNIPAAm 温控阀的开闭, 无须任何机械装置即可实现对微液体的操控. 利用该温控微阀建立了微流控芯片上的流动注射体系, 并应用于镁离子的螯合荧光光度分析, 显示了该温控微阀在微流控分析领域的应用前景. 因芯片未做专门的热绝缘设计, 受玻璃芯片热容的影响, 本温敏阀的响应速度较慢. 后续的研究将通过芯片构型的优化设计, 改善传热速度和减小热扩散, 以提高温控微阀的响应速度.

参 考 文 献

- [1] FANG Zhao-Lun(方肇伦). Microfluidic Analytical Chips(微流控分析芯片)[M], Beijing: Science Press, 2003: 56—89
- [2] Sella K., Fan Z. H., Flurk K., *et al.*. Anal. Chem. [J], 1994, **66**: 3485—3491
- [3] WU Zhi-Yong(吴志勇), FANG Fang(方芳). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2008, **29**(2): 283—287
- [4] Unger M. A., Chou H. P., Thorsen T., *et al.*. Science[J], 2000, **288**: 113—116
- [5] Leach A. M., Wheeler A. R., Zare R. N., *et al.*. Anal. Chem. [J], 2003, **75**: 967—972
- [6] Tokeshi M., Minagawa T., Kitamori T., *et al.*. Anal. Chem. [J], 2000, **72**: 1711—1714
- [7] XU Yi(徐溢), ZHANG Jian(张剑), ZHANG Wen-Pin(张文品), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2008, **29**(5): 892—896
- [8] HUANG Yan-Zhen(黄艳贞), FANG Qun(方群), LI Dan-Ni(李丹妮). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(9): 1628—1631
- [9] Cai Z. X., Chen H. W., Chen B., *et al.*. Talanta[J], 2006, **68**(3): 895—901
- [10] Gil E. S., Hudson S. M.. Prog. Polym. Sci. [J], 2004, **29**: 1173—1222
- [11] Yu C., Mutlu S., Selvaganapathy P., *et al.*. Anal. Chem. [J], 2003, **75**: 1958—1961
- [12] Singh D., Kuckling D., Choudhary V., *et al.*. Polym. Adv. Technol. [J], 2006, **17**: 186—192
- [13] YUAN Guang-Xin(苑广信), HE Qiao-Hong(何巧红), CHEN Heng-Wu(陈恒武), *et al.*. Chinese J. Anal. Chem. (分析化学)[J], 2006, **34**(12): 1693—1696
- [14] MENG Fei(孟斐), CHEN Heng-Wu(陈恒武), DOU Yue-Hua(窦跃华), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(5): 844—846
- [15] Diehl H., Olsen R., Spielholz G. I., *et al.*. Anal. Chem. [J], 1963, **35**(9): 1144—1154

Preparation and Characterization of Thermally Actuated Microfluidic Valve on Glass Microchips

LI Zhi-Ming, CHEN Heng-Wu*, MA Dan

(Institute of Microanalytical Systems, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) undergoes a rapid phase transition at its lower critical solution temperature (32 °C), leading to sharp changes in its volume and surface wettability. The thermally responsive volume change behavior of the PNIPAAm can be used to manipulate the microfluids in microchannels. In the present work, PNIPAAm monolithic plugs, serving as the thermally actuated microfluidic valve, were prepared by photoinitiated polymerization within the channels of a glass chip. Photo-polymerization of the *N*-isopropylacrylamide monomer in water/ethanol was carried out using 2-hydroxy-2-methyl propiophenone as the photo-initiator. The polymerization conditions for the thermally actuated microfluidic valve and its fluid-manipulating behavior were systematically investigated. Based on these investigations, a protocol of on-chip-integrated micro-flow injection (μ FIA) system equipped with a single thermally actuated microfluidic valve was established. The analytical performance of the μ FIA system was demonstrated with the chelating reaction between the magnesium(II) and the fluorescent agent *O*, *O'*-dihydroxyazobenzene. Experimental results show that the microfluidic valve behaved well for the flow control and was promising in the field of microfluidics.

Keywords Poly(*N*-isopropylacrylamide); Thermally actuated microfluidic valve; Microfluidic chip; Flow injection analysis

(Ed.: A, G)