

[研究快报]

微流控芯片高通量试样引入系统的研究

方 群, 杜文斌, 何巧红, 方肇伦

(浙江大学化学系微分析系统研究所, 杭州 310028)

关键词 微流控芯片; 高通量试样引入; 流动注射分析

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2004)08-1442-03

基于微流控芯片试样引入技术的研究是目前微流控芯片分析领域内的重要研究方向之一, 其目的是实现宏观外部系统(进行 $10^{-6} \sim 1$ L 级液体的操作)与芯片系统(进行 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ L 级液体的操作)的衔接(World-to-chip interfacing). 目前文献报道的微流控分析系统^[1,2], 包括芯片流动注射系统^[3,4], 多采用固定式试样池型接口, 以手工操作方式间歇进行试样引入. 虽然其装置和操作较为简单, 但步骤繁琐费时、效率低且换样的时间常远远超过分析时间, 是实现系统自动化的主要瓶颈之一. 自2001年以来, 文献[5~7]相继报道了多个基于流通式试样引入接口的微流控芯片分析系统. 但均应用于芯片毛细管电泳体系且使用真空、蠕动泵或注射泵提供试样引入动力, 多数系统试样消耗量偏大. 此外, 目前报道的芯片试样引入系统均未将外部系统的试样容器考虑在系统之内, 取样导管与各个试样管的连接多采用手工方法进行, 未实现系统的全面集成化和自动化; 如采用体积较大且结构复杂的三维移动自动取样平台, 虽可实现操作自动化, 但将显著增加系统的造价及整体系统的微型化难度.

本文建立了一种基于取样探针和缺口型试样管阵列^[8]的微流控芯片试样引入系统, 在芯片上实现高通量和快速的换样操作, 同时具有结构简单、体积小、试样消耗少、操作方便和易实现自动化等特点. 将该试样引入系统应用于重力驱动芯片流动注射分析系统以考察其性能. 系统在进行试样引入的同时, 还完成了流动注射进样操作. 与多数文献报道的芯片流动注射分析系统^[3,4]相比, 新系统的整体结构和操作得到大大简化, 对不同试样的分析通量显著提高, 达到600样/h, 为构建芯片流动注射分析系统提供了一种新思路.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 OPT301 集成化光电二极管 (Texas Instruments Co., Tucson); 自制微机控制一维平移台: 自编数据采集与处理及平移台控制程序. 采用邻菲咯啉(*o*-Phenanthroline)-铁(II)显色体系考察系统的分析性能.

1.2 微流控芯片加工 采用光刻、湿法刻蚀和高温键合技术加工^[9]的芯片通道构型见图1. 芯片尺寸6 mm×15 mm×3.4 mm. 微通道深20 μm, 宽120 μm. 左通道入口上方固定一长30 mm, 内径4.7 mm的塑料管作为试剂液池, 右通道出口耦合一4 mm长的石英毛细管(75 μm内径, 河北永年锐沅色谱仪器有限公司)作为取样探针. 混合管道出口耦合一20 mm长的Teflon AF2400毛细管(50 μm内径, Random Technology, San Francisco, USA), 充满溶液后作为液芯波导吸收光度检测池. 芯片集成化吸收光度检测器的加工方法参见图1和文献[9]. 光源采用510 nm发光二极管. 波导管出口通过1 m长的Tygon泵管(内径1 mm), 连接水平放置的废液池.

取样探针右侧为直线排列的试样管阵列, 固定于平移台上. 试样管采用薄壁微型管(0.2 mL, Porex, Petaluma)加工而成, 在试样管底部切割出1 mm宽、2 mm深的缺口, 作为取样探针的进出口.

收稿日期: 2004-03-26.

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(批准号: 20299030)、国家“八六三”计划项目(批准号: 2002AA2Z2042, 2002AA404240)和教育部科学技术研究重点项目(批准号: 01093)资助.

联系人简介: 方 群(1966年出生), 男, 博士, 教授, 从事微流控芯片研究. E-mail: fangqun@mail.hz.zj.cn

1.3 实验操作 在试剂液池中加入 300 μL 的显色剂溶液(质量体积分数 0.05% 邻菲咯啉-0.2% 盐酸羟胺-乙酸钠混合液, $\text{pH}=5$), 芯片通道内充满空白溶液(去离子水), 向阵列中的试样管内依次间隔加入 50 μL 样品溶液和 50 μL 空白液. 实际测定时, 芯片保持垂直固定放置, 利用试剂试样池与废液池之间的压差, 提供液流进样、传输、混合和反应的驱动动力. 进行试样引入和流动注射操作时, 探针保持水平位置固定, 通过一维平移试样管阵列, 使探针依次经缺口进入试样管内实现进样. 先将取样探针在空白液管内停留一定时间, 空白液依靠重力流入取样探针和芯片微通道内; 试样管阵列平移, 探针进入相邻的装有试样溶液的试样管内, 取样数秒; 阵列再次平移, 探针进入下一空白液管引入空白溶液, 完成一次流动注射进样操作. 重复上述操作可实现不同试样的流动注射进样. 经探针引入的试样区带与试剂在芯片上混合显色, 进入波导管检测池检测. 在分析前由计算机设定平移台的移动程序和时间, 系统自动完成多样品的连续流动注射分析.

2 结果与讨论

2.1 设计思想 高通量试样引入系统由加工有取样探针的微芯片和可按设定程序自动平移的试样管阵列组成. 采用毛细管取样探针取样, 可避免试样贮液池的使用, 简化试样引入操作, 同时, 显著降低试样的消耗(至 10^{-9}L 级). 目前, 用于芯片的各种类型的自动采样器的换样操作均需取样探针或试样盘做三维移动才能实现, 其缺点是三维控制机械复杂、体积大、成本高、换样速度慢且分析通量低. 采用在试样管上加工供取样探针进出的取样缺口的方法, 只需通过一维移动试样管阵列即可实现高通量的试样引入, 使得进行流动注射进样和不同试样的更换操作变得非常方便. 实验中, 在试样管底部进行取样缺口的加工, 且试样管呈水平放置, 可保证在较长的工作时间内系统具有稳定的液位差(液流流速). 试样管上取样缺口的加工宽度小于 2 mm, 可利用表面张力的作用, 使管内液体不会由取样缺口外流或者溢出. 该系统在两试样管之间加装空白液管, 以防止两管间试样的交叉污染, 同时, 空白液又可作为流动注射进样的载流溶液. 系统利用重力提供取样的动力, 具有系统结构简单、操作方便和集成化程度高等优点. 试样引入量即流动注射进样量为 10^{-9}L 级, 试样利用率 100%. 进样量由取样探针在试样管内停留的时间及液流流速(试样管距出口管液位差)决定. 前者可通过计算机程序精确控制和调整, 后者在系统液位差不变时保持恒定.

2.2 条件实验 初步考察了系统液位差对流速的影响及进样时间对进样量的影响. 在液位差为 10~80 cm 范围内, 流速与液位差成正比关系. 在 0.5~10 s 范围内, 进样时间与进样量成正比. 优化条件: 进样时间 1 s, 缓冲液进样时间 5 s, 分析速度 600 样/h. 试样管至出口液位差 60 cm, 流速 18.5 nL/s. 样品进样量仅 4.3 nL.

2.3 分析性能 系统中采用 2 cm 波导管作为检测池, 光程增加至 1.8 cm, 检测池体积为 40 nL. 图 2 为优化条件下 $\text{Fe}(\text{II})$ 标准系列溶液进样结果记录图. 线性回归方程为 $A = (2.80c + 2.60) \times 10^{-3}$, $R^2 = 0.999$, 其中 A 为吸光度, c 为 $\text{Fe}(\text{II})$ 的浓度 ($\mu\text{mol/L}$). 系统对 $\text{Fe}(\text{II})$ 的检出限为 0.5 $\mu\text{mol/L}$. 峰高重现性为 0.22% [RSD, $n = 11$, 80 $\mu\text{mol/L}$]

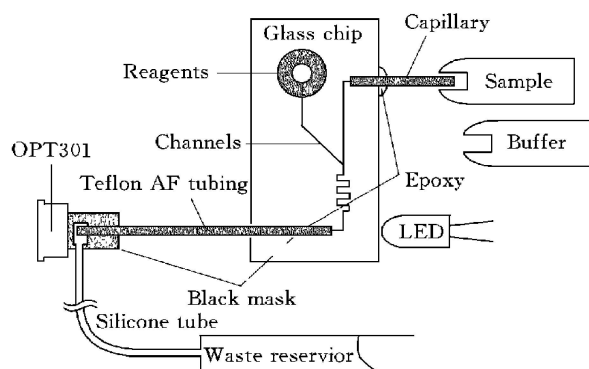


Fig. 1 Schematic diagram of the microchip for gravity-driven flow-injection analysis with high-throughput sample introduction interface and absorption detection(not to scale)

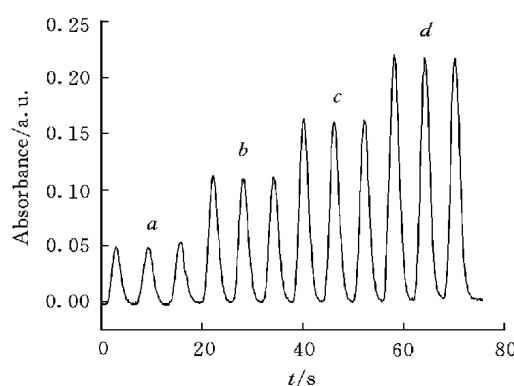


Fig. 2 Typical recording for continuous injection of a series of $\text{Fe}(\text{II})$ standard solutions

a—d. 20, 40, 60 and 80 $\mu\text{mol/L}$ $\text{Fe}(\text{II})$ solutions.

Fe(II) 溶液].

初步实验结果表明, 本文提出的微流控芯片高通量试样引入技术是可行的. 有可能与其它多种微流控分析系统联用, 具有广泛的应用前景.

参 考 文 献

- [1] Harrison D. J., Manz A., Fan Z. H. *et al.*. Anal. Chem.[J], 1992, **64**: 1 926—1 932
- [2] Jacobson S. C., Hergenroeder R., Koutny L. B. *et al.*. Anal. Chem.[J], 1994, **66**: 1 107—1 113
- [3] Doku G. N., Haswell S. J.. Anal. Chim. Acta[J], 1999, **382**: 1—13
- [4] Leach A. M., Wheeler A. R., Zare R. N.. Anal. Chem.[J], 2003, **75**: 967—972
- [5] Attiya S., Jemere A. B., Tang T. *et al.*. Electrophoresis[J], 2001, **22**: 318—327
- [6] Fang Q., Xu G. M., Fang Z. L.. Anal. Chem.[J], 2002, **74**: 1 223—1 231
- [7] Fang Q.. Anal. Bioanal. Chem.[J], 2004, **378**: 49—51
- [8] FANG Qun(方 群), DU Wen-Bin(杜文斌), HE Qiao-Hong(何巧红). Chinese Patent 03 114 734. 8[P], 2003
- [9] DU Wen-Bin(杜文斌), FANG Qun(方 群), FANG Zhao-Lun(方肇伦). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(3): 610—613

High Throughput Sample Introduction System for Microfluidic Chips

FANG Qun*, DU Wen-Bin, HE Qiao-Hong, FANG Zhao-Lun

(*Institute of Microanalytical Systems, Department of Chemistry, Zhejiang University, Hangzhou 310028, China*)

Abstract A high-throughput sample introduction system for chip-based microfluidic analysis was developed. The sampling system was composed of a capillary sampling probe attached to the microchip channel and an array of horizontally positioned micro-sample vials with slits fabricated on the bottom of each vial for pass-through of the sampling probe. The micro-sample vials array was fixed on a homebuilt platform capable of moving linearly under computer control. Sample introduction was performed by linearly moving the array of vials, allowing the probe inlet to sequentially enter the solutions in the vials through the slits. The use of a slotted vial array in the sample introduction system allowed convenient and rapid sample change with low sample volume in 10^{-9} L range and high sampling frequency without requiring mechanical valves and pumps. The system was applied to achieve continuously automated sample change in a chip-based flow injection analysis system with absorption detection by using a liquid-core waveguide capillary flow-cell. High sampling throughput of 600 h^{-1} was obtained in this system with a sample consumption of only 4.3 nL for each cycle.

Keywords Microfluidic chips; High throughput sample introduction; Flow injection analysis

(Ed.: A, X, Z)