DOI: 10.11895/j.issn.0253-3820.140804

微流控芯片上高电导率介质中聚苯乙烯微球的动电分离

' 宋宁宁'' 张 昊'' 李金波'' 甄军晖''' 高 健'''

¹(齐鲁工业大学化学系 济南 250353) ²(山东大学医学院 济南 250012)

摘 要 采用三层夹心式、三平行微电极设计制作了聚二甲基硅氧烷 (Polydimethylsiloxane,PDMS) /玻璃微 流控芯片 通过交流电对在微流控芯片中的高电导率溶液施加电场 达到不同尺寸聚苯乙烯 (Polystyrene, PS) 微球分离的目的;探讨了微球定向运动的动电学原理。结果表明 在电压为 14 V ,频率为 100 kHz 时 ,直径为 10 和 25 μm 的 PS 微球分离效率最好;在电压为 10 V ,频率为 2 MHz 时 ,直径为 5 和 25 μm 的 PS 微球分离效 率最好;对于直径分别为 5、10 和 25 μm 的 3 种 PS 微球分离 在电压为 11 V 频率为 1 MHz 时 ,可以达到大球 和另外两种尺寸较小微球的快速有效分离 ,分离效率均可达 90% 以上。结果表明 相邻电极中间位置层流区 域的形成 对微球分离起到关键作用。

关键词 微流控芯片; 动电技术; 高电导率; 聚苯乙烯微球

1 引 言

交流电场通过微电极作用在微流体或带电微粒子上,使它们产生多种动电特性^[1-3],除介电泳(Dielectrophoresis, DEP)^[4,5]外,还包括电泳(Electrophoresis, EP)^[6,7]、电渗(Electroosmosis, EO)^[8,9]、电 热流(AC electrothermal flow, ACEF)^[10,11]等。动电作用是操纵微尺度目标的最有效的方法之一,前人 对动电力操控微纳尺度生物目标的研究主要集中在低电导率溶液中的介电泳力^[12-14]。然而大多数生 理体液的电导率较高(~1 S/m),常需要对样品进行预处理,调节电导率至较低水平(~0.01 S/m)。这 样做有可能造成目标细胞的损失或稀释,降低检测灵敏度;同时也难以发挥其它动电作用的特点,限制 了方法的使用范围。在高电导率介质中研究多种动电力对不同尺寸微目标的作用规律,对于最终实现 实际生物样品的高效动电操纵具有重要意义。由介电泳受力方程可知^[2,15]:

$$F_{\text{DEP}} = \pi a^3 \varepsilon_{\text{m}} \text{Re}(f_{\text{CM}}) \nabla |E|^2$$
(1)

$$f_{\rm CM} = \frac{\varepsilon_{\rm p}^* - \varepsilon_{\rm m}^*}{\varepsilon_{\rm p}^* + 2\varepsilon_{\rm m}^*}$$
(2)

$$\varepsilon^* = \varepsilon - i\sigma/\omega \, j^2 = -1 \tag{3}$$

其中 μ 为粒子半径 ε_m 为流体介质的介电常数 $\operatorname{Re}(f_{CM})$ 为 CM 因子的实部 E 为电场强度 ε_p 为粒子的 介电常数 σ 为电导率 ω 为电场频率。

 $\operatorname{Re}(f_{CM})$ 是决定 DEP 力大小的因素之一,它表示在不同频率的电场下粒子和悬浮溶液的介电特性。 当 $\operatorname{Re}(f_{CM}) > 0$ 时 微粒的极化作用大于溶液极化作用,从而使微粒聚集在电场的极大值处(靠近电极 区域) 这样的现象称为正介电泳现象;反之,为负介电泳现象^[16,17]。由方程(2)和(3)可知,当溶液电 导率 > 100 mS/m 时 $\operatorname{Re}(f_{CM})$ 为负值^[15] 因此,高电导率介质中主要表现为负介电泳。此外,研究发现, 在高电导率溶液中,多种动电力同时存在且共同发挥作用。一般认为,ACEF 是一种远程作用力,可夹 带离电极较远处的微粒;而 EP、DEP 是近程作用力,对于电极附近的微粒作用比较强^[18,19]。理论上,上 述动电特性在不同溶液中以及对不同种类微粒的作用效果都有差异^[3]。利用这些差异,可实现对不同 尺寸微目标的有效分离和捕获。

目前,还未见针对高电导率溶液中分离不同尺寸微粒的系统研究。由于单分散聚苯乙烯(Polystyrene, PS) 微球的密度以及多种尺寸规格均与细胞接近,可作为不同种类、不同大小的细胞替代物或模

²⁰¹⁴⁻⁰⁹⁻⁰⁸ 收稿; 2014-10-25 接受

本文系国家自然科学基金面上项目(No. 21375068)、国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 81400729)、山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(No. BS2012SW017)及山东大学基本科研业务费专项资金(No. 2014JC033)资助

^{*} E-mail: gaojian@ qlu. edu. cn; zhen6576@ 126. com

拟物。本研究采用多种尺寸的单分散 PS 微球为研究对象,在流体静态条件下系统研究了 DEP、EP 与 ACEF 相结合的混合动电技术分离多尺寸微球的电场条件和动电学原理,为实际样品的分离捕获提供 理论基础。实验在高电导率条件下进行,常用的 Au-Cr 微电极难以适应高电导率环境,在实验条件下容 易被电解脱落,使用改进的 Ti-Au-Ti 三层夹心式微电极^[18,9],能够在高电导率溶液中以及实验条件下 (<20 V, AC)长期稳定工作。聚二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane,PDMS)基的微流控芯片则具有制 备方便、牢固耐用等优点。将 PS 微球均匀分散在 10 × TAE 缓冲溶液(~1.59 S/m)中,以 PDMS/玻璃 微流控芯片为操作平台,利用混合动电作用实现不同尺寸 PS 微球的分离。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

XD-101 倒置显微镜(南京江南永新光学有限公司); EC300 CCD(济南强胜光电仪器有限公司);
 SDG1020 函数波形发生器(深圳鼎阳科技有限公司); PDC-32G 等离子清洗仪(美国 Harrick Plasma 公司)。单分散 PS 微球(5、10 和 25 μm, Micromod, GER); TAE 缓冲溶液(美国 Sigma 公司)。

2.2 微流控芯片的制备

利用平版印刷术和电子束物理气相沉积法(EB-PVD)在载玻片上制备了三层夹心式(Ti-Au-Ti)微电极。其尺寸为:电极长度 2.5 mm,上下电极宽度 100 μm,中心电极宽度 50 μm,Ti-Au-Ti 层均为 30 nm 相邻电极间隙宽度为 125 μm。将制备好微通道(宽度为 500 μm)的 PDMS 基片与沉积好微电极 的玻璃基片表面进行等离子清洗 然后迅速粘合 即制成 PDMS/玻璃微流控芯片(图 1a)。



图1 (a) 微流控芯片示意图; (b) 混合动电原理图

Fig. 1 Schematic diagrams of microfluidic chip (a) and hybrid electrokinetic (b)

3 结果与讨论

3.1 芯片上的微球分离

如前所述 ,高电导率溶液中 Re(f_{CM}) <0 ,各尺寸微球均受到负介电泳力作用 ,被推向场强较弱的区 域; 电热流则会导致流体在电极上方做环状流动^[20]; 实验还发现 ,施加一定的直流偏压后 ,微球的移动 速度增大 ,这说明混合动电中存在 EP ,且 EP 可以增强混合动电的作用效果。因此 ,ACEF、DEP 和 EP 同时存在且共同发挥作用。施加电场后 ,在电极附近的 5 和 10 μ m 微球被 ACEF、DEP 和 EP 共同推至 远离电极区域。由图 1b 可见 相邻的一对平行电极上方均有 ACEF 作用引起的流体流动 ,且方向相反; 而在相邻电极的中间位置则存在一个 ACEF 相对较弱甚至无作用的层流区域(一定电压范围内 ,图 1b 中虚线框所示)。5 和 10 μ m 微球进入该区域后 ,因尺寸较小 ,易停留在该区域内 ,无法被 ACEF 夹带出 去 同时它们也会受到来自另一方电极的 ACEF、DEP 和 EP 的作用 ,3 种动电力协同作用使它们在电极 间隙中心线区域达到受力平衡而聚集在该区域(图 2c 和 2f)。相同条件下 ,在电极附近的 25 μ m 微球 也受 ACEF、DEP 和 EP 共同作用被推离电极。但因其尺寸较大 ,不易停留在层流区域内 ,在离电极较远 处的 25 μ m 微球被远程作用力 ACEF 夹带逐渐向中心电极靠近。当微球进入到近程作用力 DEP、EP 主 要作用区域后,因受到 DEP, EP 的推离电极的力逐渐增强,微球速度逐渐减慢,最终 DEP, EP 与 ACEF 达到力平衡 将 25 μ m 微球捕获在中心电极的中心线上(图 2c 和 2f,因电极遮挡故不可见)。对预先混 合的 10 和 25 μ m 微球进行分离,图 2a ~ 2c 显示,在施加电场 15 s 后,基本可以实现两种微球的分离。同样,通过对预先混合的 5、10 和 25 μ m 的 3 种微球进行分离实验可以得到类似的结果(图 2d ~ 2f),仅需 18 s 左右即可达到分离。从图 2 可见,除个别 25 μ m 微球沉底贴壁无法移动外,绝大多数微球均可 定向移动,多次实验统计结果得出分离效率大于 90%。



图 2 (a~c) 10 和 25 μ m PS 微球随时间变化运动图像。施加的电压是 14 V_{pp} , 频率 100 kHz, 直流 偏压为 0.3 V DC; (d~f) 5, 10 和 25 μ m PS 微球随时间变化运动图像。施加的电压是 11 V_{pp} , 频率 1 MHz, 直流偏压为 1.0 V DC

Fig. 2 (a – c) Time lapse images for visualizing the movement of 10 and 25 μm polystyrene microspheres. The applied voltage was 14 V_{p-p} at 100 kHz with 0.3 V DC offset; (d – f) Time lapse images for visualizing the movement of 5 , 10 and 25 μm polystyrene microspheres. The applied voltage was 11 V_{p-p} at 1 MHz with 1.0 V DC offset

由于实验所讨论的 3 种动电力的大小均与微球尺寸有关($F_{\text{DEP}} \sim a^3$, $F_{\text{ACEF}} \sim 1/a^3$, $F_{\text{EP}} \sim a$),因此, 多种动电协同操纵微球时,其尺寸差异是影响分离的重要因素。

3.2 频率的影响

考察了频率 100 kHz ~ 10 MHz 对 PS 微球定向操控的影响。由方程(1) 可知,频率直接影响微球受 到的 DEP 力的大小。同样,频率也影响 ACEF 的大小($F_{ACEF} ~ M(\omega, T)$),在不同频率条件下微球受到 的 ACEF、DEP 和 EP 的总的合力不同,合力越大,微球的速度就越大。因此,频率对微球的影响可以通 过微球的运动速度来体现。对于 10 和 25 μ m 微球的分离,以 25 μ m 微球为例,对不同频率下的微球进 行分析,由图 3a 可知,不同位置微球速度随频率的变化趋势是相同的;而对于同一位置的微球而言,在 频率为 100 kHz 时速度最大,即此时 25 μ m 微球受到的合力最大。频率为 100 kHz 时,通道各处的 25 μ m微球运动到中间电极中心线附近的时间均相对最短,同样的分析也适用于溶液中的 10 μ m 微球。

实验还观察到 微球运动速度过小 会导致距离中心电极较远的25 μm 微球在没有到达中心电极之前就达到受力平衡 ,停止在电极间隙部位 降低了分离效率。微球运动速度越大 ,即所受合力越大 ,距离中心电极较远的25 μm 微球被捕获到中心电极上的越多 ,分离效率越高。以上结果说明 ,100 kHz 是实现快速有效分离的最优条件。

图 3b 表明 频率为 2 MHz 时 5 和 25 μm 微球分离效率最高; 5, 10 和 25 μm 微球在 1 MHz 时分离 效率最高。以上结果表明 频率是不同尺寸微球分离的另一个重要因素。 3.3 电压的影响

考察了电压对 PS 微球分离效率的影响。对以上所述 3 组分离实验,选取了 7 ~ 14 V_{pp}系列电压进 行研究。实验表明,PS 微球的分离效率会随电压的增大而增大。这是因为电压增大,ACEF、DEP 和 EP 均会增大($F_{ACEF} \sim E^4$, $F_{DEP} \sim E^2$, $F_{EP} \sim E$),合力也变大,其作用范围就会扩大,距离中心电极较远的 25 μ m 微球被运送到中心电极附近的数量增多。聚集到中心电极上的微球越多,分离效率越高。由





Fig. 3 Frequency dependence of the velocity at different locations from the center electrode. Among them, (a) was the 25 μ m polystyrene microspheres in 10 and 25 μ m mixture; (b) was the 25 μ m polystyrene microspheres in 5 and 25 μ m mixture

3.2 节可知 微球的运动速度体现了其所受到的合力大小 进而可说明微球的分离效率大小。由图 4 可 见 ,10 和 25 μm 微球分离的最佳电压值是 14 V; 而电压超过 14 V 后 ,10 μm 微球会移向电极 不能实现 分离。这是因为随着电压增大 ,ACEF 作用范围也增大 ,3.1 节提及的层流区域减小甚至消失 ,10 μm 微 球同样会被 ACEF 夹带到电极附近 ,导致 10 μm 微球的平衡位置发生变化而不能实现分离。同样的分 析也适用于 5 μm 微球。实验表明 5 和 25 μm 微球分离的最佳电压值是 10 V; 5、10 和 25 μm 微球混合 分离的最佳电压值是 11 V。而 3 种微球分离所受电压稍高于两种微球的情况 ,则可认为是 3 种微球相 互作用的结果。以上结果表明 ,电压是影响分离的又一重要因素。虽然电压越大 ,微球的分离效率越 高 ,但存在最高电压极限 ,超过极限电压值 ,尺寸较小的微球所受平衡力的位置会发生变化 ,反而影响分 离效果。综上可知 ,不同尺寸微球分离是多种动电力协同作用的结果。





Fig. 4 Voltage dependence of 25 µm polystyrene microspheres velocity

(a) 10 和 25 μm PS 微球混合中的 25 μm 微球; (b) 5 和 25 μm PS 微球混合中的 25 μm 微球。

(a) 25 µm polystyrene microspheres in 10 and 25 µm mixture; (b) 25 µm polystyrene microspheres in 5 and 25 µm mixture.

4 结 论

在流体静态条件下,采用混合动电技术,在微流控芯片上实现了多种不同尺寸 PS 微球在高电导率 溶液中的分离,探讨了微球定向运动的动电学原理。微球分离现象是 DEP,EP和 ACEF等动电力协同 作用的结果。微球尺寸、频率和电压是影响不同尺寸微球分离的重要因素。尤其发现了在一定电场条 件下,两个相邻电极的中间位置存在一个层流区域,这个区域是 ACEF 作用较小甚至作用不到的区域, 其中的流体相对静止。因而尺寸较小的微球(<10 μm)可以停留在此而不易被 ACEF 夹带出去;而尺 寸较大的微球(25 μm)由于超出此区域边界,易于被 ACEF 夹带出去,向电极方向移动,从而实现不同

尺寸的微球的分离,为实际样品的研究提供了理论基础。

References

- 1 Wong P K , Wang T H , Deval J H , Ho C M. Ieee-asme T. Mech. , 2004 , 9(2): 366 376
- 2 Sin M L Y, Shimabukuro Y, Wong P K. Nanotechnology, 2009, 20(16): 165701
- 3 Li D Q. Electrokinetics in microfluidics , Academic Press , 2004 , Chapter 8
- 4 Hardt S, Schönfeld F. Microfluidic Technologies for Miniaturized Analysis Systems. Springer, 2007: 315-317
- 5 Sin M L Y , Gau V , Liao J C , Haake D A , Wong P K. J. Phys. Chem. C. , 2009 , 113: 6561 6565
- 6 Hardt S, Schönfeld F. Microfluidic Technologies for Miniaturized Analysis Systems. Springer, 2007: 393-395
- 7 Gao J , Yin X F , Fang Z L. Lab Chip , 2004 , 4: 47 52
- 8 Sun Y, Lim C S, Liu A Q, Ayi T C, Yap P H. Sens. Actuators A, 2007, 133(2): 340-348
- 9 Takamura Y, Onoda H, Inokuchi H, Adachi S, Oki A, Horiike Y. Electrophoresis, 2003, 24: 185-192
- 10 Feldman H C , Sigurdson M , Meinhart C D. Lab Chip , 2007 , 7: 1553 1559
- 11 Mandy L Y S , Vincent G , Joseph C L , Pak Kin W. J. Assoc. Lab. Autom. , 2010 , 15: 426 432
- 12 Li Y, Dalton C, Crabtree H J, Nilsson G, Kaleret K V I S. Lab Chip, 2007, 7(2): 239 248
- 13 Doh I, Cho Y H. Sens. Actuators A: Phys. , 2005, 121(1): 59-65
- 14 Cheung K Gawad S , Renaud P. Cytometry Part A , 2005 , 65A(2): 124-132
- 15 Krishnan R, Sullivan B D, Mifflin R L, Esener S C, Heller M J. Electrophoresis, 2008, 29(9): 1765-1774
- 16 Lin R Z , Ho C T , Liu C H , Chang H Y. Biotechnol. J. , 2006 , 1(9): 949-957
- 17 XU Jing , ZHAO Zhan , FANG Zhen , LIU Yong-Hong , DU Li-Dong , GENG Dao-Qu. Chinese J. Anal. Chem. , 2011 , 39(3): 295 299

许静 赵湛,方震刘泳宏杜利东,耿道渠.分析化学 2011, 39(3): 295 - 299

- 18 Gao J , Sin M L Y , Liu T , Gau V , Liao J C , Wong P K. Lab Chip , 2011 , 11(10): 1770 1775
- 19 Gao J, Riahi R, Sin M L Y, Zhang S, Wong P K. Analyst , 2012 , 137(22): 5215 5221
- 20 Gonzalez A , Ramos A , Morgan H , Green N G , Castellanos A. J. Fluid Mech. , 2006 , 564: 415 433

Electrokinetic Separation of Polystyrene Microspheres in Conductive Media on a Microfluidic Chip

SONG Ning-Ning¹ , ZHANG Hao¹ , LI Jin-Bo¹ , ZHEN Jun-Hui^{* 2} , GAO Jian^{* 1}

¹ (Department of Chemistry, Qilu University of Technology, Jinan 250353, China)

² (School of Medicine , Shandong University , Jinan 250012 , China)

Abstract A polydimethylsiloxane (PDMS) /glass microfluidic chip consisting of a three-layer sandwich structure and three-parallel micro-electrode system was fabricated for the separation of polystyrene microspheres according to the particle size in high conductive solution by electric field produced by alternating current. The principle of electrokinetics of microspheres directional movement was investigated. The results showed that , when the applied voltage was 14 V at 100 kHz , the separation efficiency of 10 and 25 μ m polystyrene microspheres was the best. Similarly , with a voltage of 10 V at 2 MHz , the separation efficiency of 5 and 25 μ m polystyrene microspheres could achieve the highest value. Meanwhile , the voltage of 11 V at 1 MHz was suitable for the separation of 5 , 10 and 25 μ m polystyrene microspheres with the separation efficiency of over 90%. At the same time , the formation of the laminar region in the middle of the electrode gap was the key role of microsphere separation.

Keywords Microfluidic chip; Electrokinetics; High-conductivity; Polystyrene microspheres

(Received 8 September 2014; accepted 25 October 2014)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 21375068, 81400729)