

# 集成光纤的微流控电泳芯片制作技术

李孟春

(太原理工大学应用物理系, 太原 030024. E-mail: limengchun75@163.com)

**摘要** 利用印刷电路板技术制作芯片模具, 以 PDMS 为材料制成微流控电泳芯片. 该芯片上集成有光纤, 靠光纤传输激发光, 使激发光斑的大小与微流控沟道的深度尺寸相接近, 提高了检测灵敏度, 省去了光学聚焦系统. 对集成光纤的微流控电泳芯片的加工工艺和封装方法进行了探讨. 用所制作的芯片对 FITC(异硫氰酸荧光素)和以 FITC 标记的氨基酸进行了分离, 结果证明了该芯片的可行性.

**关键词** 聚二甲基硅氧烷(PDMS) 光纤 微流控芯片 制作技术

微流控芯片电泳技术是一种新兴的生化分析技术, 并已广泛应用于 DNA、氨基酸、蛋白质、有机分子及无机离子等物质的分析和检测. 目前各种微流控电泳芯片的研制都处在一个比较热的发展阶段, 在众多的微流控电泳芯片中, 集成光纤的微流控电泳芯片由于其特有的结构逐渐引起人们的注意. 这种芯片是把光纤集成在芯片上, 用光纤作为传光介质, 靠光纤端面发出的微小光斑激发微通道中用荧光物质标记的生物样品来产生荧光信号. 将光纤集成在芯片上已有文献报道<sup>[1]</sup>, 但对于光纤中心与微通道中心对准的问题却很少提及<sup>[2]</sup>.

制作微流控电泳芯片时, 通常应用的是光刻掩模技术, 这需要特殊的设备来完成, 所以制作成本较高. 目前, 国外已经将印刷电路板技术应用到微通道道的制作<sup>[3]</sup>, 即利用印刷电路板上两个相对的铜线间的空间作为微通道, 然后对微通道进行封装制成微芯片. 由于封装后的微通道四个壁的材料不完全相同, 其表面电荷密度也就不尽相同<sup>[4]</sup>, 所以在电泳分离过程中会出现分离谱带展宽的现象.

本研究采用印刷电路板技术制作了盖片模具和基片模具, 在此基础上以聚二甲基硅氧烷(PDMS)为材料制成了集成光纤的微流控电泳芯, 该芯片的盖片和基片上都有 PDMS, 使整个微流控沟道的材料保持一致, 增加了芯片的密封效果, 提高了电泳分离效率.

## 1 微流控芯片的制作

集成光纤的微流控电泳芯片的制作过程主要包括两部分: 印刷电路板模具的制作及 PDMS 基片和

盖片的制作.

印刷电路板模具主要由电路板加工公司来完成. 微流控电泳芯片的制备就是靠印刷电路板上凸起的铜皮“复制”出芯片上的沟道. 印刷电路板上的铜皮厚度一般都是相同的, 而为了使将来制成芯片上的微通道中心和光纤中心对准, 基片模具上微流控通道的铜皮和光纤沟道的铜皮厚度不相同, 这就需要在制作电路板时进行特殊声明. 加工的基片模具和盖片模具如图 1 所示, 基片上微通道铜皮厚度为 50  $\mu\text{m}$ , 光纤沟道铜皮厚度为 90  $\mu\text{m}$ ; 盖片上的光纤沟道铜皮厚度为 40  $\mu\text{m}$ .

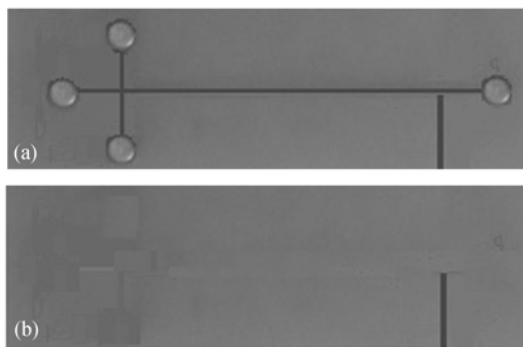


图 1 基片模具(a)和盖片模具(b)

芯片的制作流程与文献<sup>[5]</sup>报道的相类似, 整个制作过程示意图如图 2 所示. 图 3 为芯片的示意图.

## 2 实验与讨论

### 2.1 芯片的放置

进行实验时, 把芯片放在特制的暗室中, 暗室底

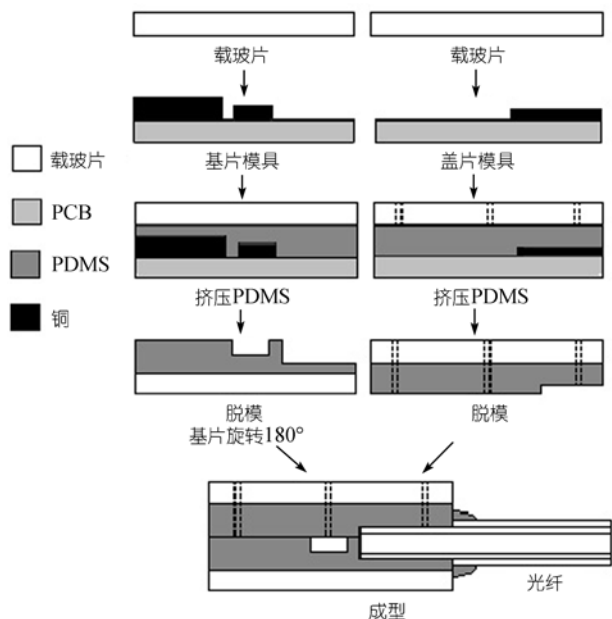


图 2 芯片的制作过程示意图



图 3 芯片示意图

部有一个比芯片稍大的凹槽，用来固定芯片，凹槽中有一个直径为 3 mm 的小圆孔正对着暗室下方的光电倍增管，光纤与沟道的交叉部分刚好放置在小圆孔的上方，芯片中被激发的荧光信号可以通过该小圆孔并经滤光片滤光和凸透镜会聚后到达光电倍增管，光电倍增管所加的电压为 650 V。暗室侧壁有高压导线和光纤接口，用中心波长为 470 nm 的蓝色发光二极管作为激发光源，经耦合装置引入光纤。光电倍增管输出信号经过单片机电路处理后由串口送入计算机。如图 4 所示。

### 2.2 LED 光束与光纤的耦合

由于 LED 为非相干光源，其光束的发散角比较大。如果 LED 直接与纤芯只有 62.5 μm 的光纤耦合，耦合效率将非常低，采用光纤准直器能够显著提高它们的耦合效率。光纤准直器是由尾纤与自聚焦透镜(渐变折射率棒透镜)精确定位而成，可将光纤内传

输的光转变成准直光(平行光)，或者将外界的平行光耦合到光纤内 [6]。芯片上的光纤与光纤准直器上的尾纤各自接有裸光纤适配器，然后通过法兰盘与其进行连接，如图 5 所示。

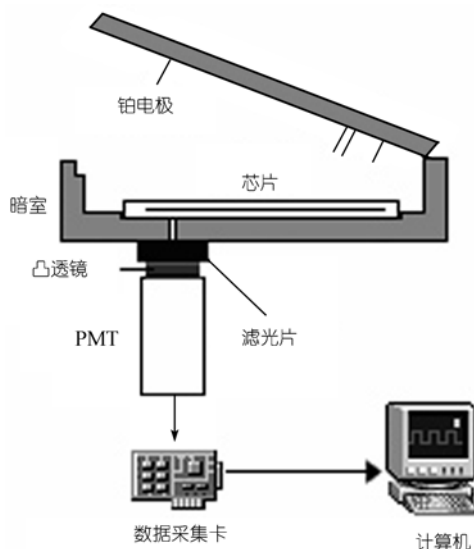


图 4 芯片的放置

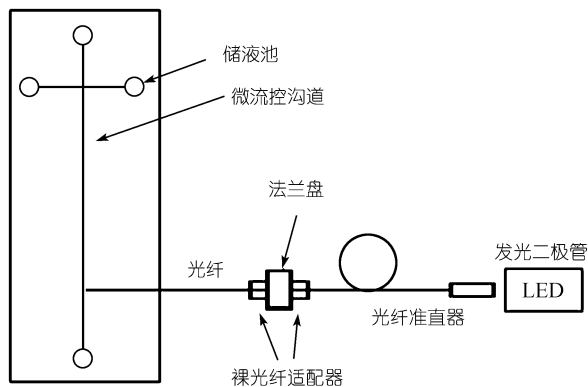


图 5 微流控芯片及光的耦合

### 2.3 光纤与微流控沟道之间的距离

芯片上微流控沟道的深度为 50 μm，而光纤纤芯的直径为 62.5 μm，光纤所发出的光在到达微流控沟道前还要有一定的发散，发散角的大小由光纤的数值孔径 NA 来决定，即  $NA = n \sin \theta$  [7]，n 代表光纤与微流控沟道之间的传播介质 PDMS 的折射率。这里所用的多模光纤的数值孔径为 0.22，PDMS 的折射率为 1.43，所以这个角度  $\theta$  等于 8.85°，则照射到微流控沟道上的光斑直径的大小可以粗略地根据  $w = D + 2x \tan \theta$  得到，

其中 $D$ 为光纤的直径,  $x$ 为光纤端面与微流控沟道之间的距离, 该值为  $100\ \mu\text{m}$ , 所以 $w$ 的大小为  $93\ \mu\text{m}$ , 这个值小于文献 [8] 中的  $160\ \mu\text{m}$ . 用该芯片对浓度为  $50\ \text{ng}/\mu\text{L}$  的 $\phi\text{X174}/\text{HaeIII}$  DNA markers(72, 118, 194, 234, 271, 281, 310, 603, 872, 1078 和  $1353\text{bp}$  11 个片段)进行电泳分离, 当光电倍增管所加的电压为  $650\ \text{V}$ 、分离电压为  $300\ \text{V}/\text{cm}$  时, 11 个片段中差别比较小的 271 和 281 都得到了完全分离. 所以我们认为光纤与微流控沟道之间的距离已经满足对普通生物试剂的分离要求.

#### 2.4 性能考察

用发光二极管作为激发光源, 以异硫氰酸荧光素(FITC)作为检测物质对该芯片进行考察, 结果显示: 检测极限达到  $1.3\times 10^{-7}\ \text{mol}/\text{L}$ , 信噪比 $S/N = 5$ ; 在  $1.8\times 10^{-7}\sim 4.2\times 10^{-5}\ \text{mol}/\text{L}$  范围内相关系数为  $0.996$  ( $n = 6$ ). 用  $2.0\times 10^{-6}\ \text{mol}/\text{L}$  的 FITC 共做了 6 次重复电泳实验, 其峰值面积、峰高以及迁移时间重复性比较好, 从数据采集软件上的自动寻峰和对曲线积分等功能可以发现上面三个参数的变异系数均小于  $5\%$ . 该性能与用溴钨灯作为激发光源的检测结果相当 [9], 可以满足一般的测试需求, 能够用于普通生物样品的分析. 图 6 是用硼酸 ( $2.0\times 10^{-2}\ \text{mol}/\text{L}$ ,  $\text{pH}\ 9.2$ ) 为缓冲液, 以  $3$

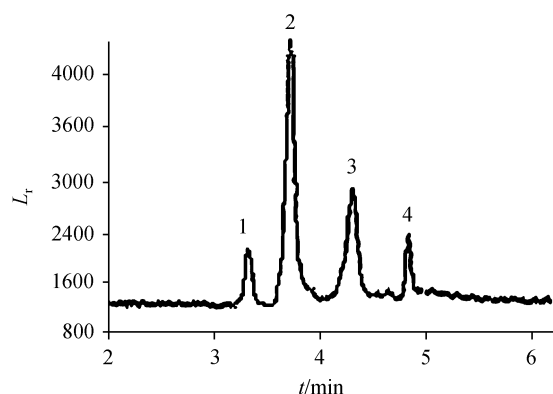


图 6 氨基酸电泳图

1, 精氨酸(arginine); 2, 异硫氰酸荧光素(FITC); 3, 甘氨酸(glycine); 4, 苯丙氨酸(phenylalanine)

$\text{mol}/\text{L}$  FITC 标记的氨基酸电泳图. 横坐标表示分离阶段所用的时间, 纵坐标  $L_r$  表示荧光信号的相对光强. 从图中看出基线噪声比较高, 已经达到 1200 左右, 这是因为发光二极管发出光的波长范围比较大, 有一部分光可以经过滤光片直接被光电倍增管放大.

### 3 结论

本文探讨了集成光纤的微流控电泳芯片的工作原理以及制作过程, 以发光二极管作为激发光源, 用异硫氰酸荧光素和异硫氰酸荧光素标记的氨基酸考察了芯片的性能, 实验验证了该芯片的可行性. 由于发光二极管为非相干光源, 亮度比较低, 所以芯片的检出限不如用激光作为激发光源那样低, 但随着超高亮度发光二极管的不断商品化, 提高 LED 与光纤之间的耦合效率, 芯片的检出限还能进一步降低.

### 参 考 文 献

- 1 Chabinyc M L, Chiu D T, McDonald J C, et al. An integrated fluorescence detection system in poly(dimethylsiloxane) for microfluidic applications. *Anal Chem*, 2001, 73(18): 4491–4498 [DOI]
- 2 Fu L M, Yang R J, Lin C H, et al. Electrokinetically driven micro flow cytometers with integrated fiber optics for on-line cell/particle detection. *Analytica Chimica Acta*, 2004, 507(1): 163–169 [DOI]
- 3 Merkel T, Pagel L, Glock H-W. Electric fields in fluidic channels and sensor applications with capacitance. *Sensor Actuat A-Phys*, 2000, 80(1): 1–7 [DOI]
- 4 Sanders J C, Breadmore M C, Mitchell P S, et al. A simple PDMS-based electro-fluidic interface for microchip electrophoretic separations. *Analyst*, 2001, 127(12): 1558–1563 [DOI]
- 5 Zhang C X, Manz A. Narrow sample channel injectors for capillary electrophoresis on microchips. *Anal Chem*, 2001, 73(11): 2656–2662 [DOI]
- 6 崔三烈. 光纤传感器原理与应用技术. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 1995. 13–20
- 7 吴德明. 光纤通信原理与技术. 北京: 科学出版社, 2004. 8–15
- 8 Li H F, Lin J M, Su R G, et al. A compactly integrated laser-induced fluorescence detector for microchip electrophoresis. *Electrophoresis*, 2004, 25(12): 1907–1915 [DOI]
- 9 熊少祥, 李建军, 程介克. 高效毛细管电泳——电荷耦合器件检测器联用技术研究. VI. 激光诱导荧光检测装置及与普通光源装置的比较. *分析科学学报*, 1995, 11(3): 12–15