

玻璃微流控芯片表面改性的微观机理研究*

李宝兴 叶美英 褚巧燕 俞 健

(杭州师范学院物理系、化学系、杭州师范学院有机硅化学及材料技术教育部重点实验室
和微流控芯片研究所 杭州 310036)

(2006 年 10 月 9 日收到, 2006 年 11 月 14 日收到修改稿)

在玻璃微流控芯片通道表面用硅烷化试剂二氯二甲基硅烷进行处理后, 二氯二甲基硅烷与玻璃通道表面的硅羟基反应, 硅烷基覆盖在原来的硅羟基上, 其结果为电渗流减小甚至完全消除. 进一步采用全势能线性糕模轨道分子动力学方法, 对表面反应的微观结构进行了理论计算, 计算结果表明硅羟基中的氢原子与二氯二甲基硅烷中的氯原子结合形成稳定的 HCl 分子结构而脱离, 从而使硅烷基覆盖在表面上.

关键词: 微流控芯片, 二氯二甲基硅烷, 分子动力学方法, 微观稳定结构

PACC: 7115F, 7125W, 7320

1. 引 言

20 世纪 90 年代以来, 自然科学与工程技术发展的重要趋势是向微型化迈进, 其中微流控芯片(microfluidic chip)是当前微型化仪器研究中最活跃的领域和发展前沿^[1].

目前微流控芯片主要应用于生化样品的分析及生化反应中. 与传统的生物化学分析及反应仪器相比, 在微流控芯片中进行生化反应及分析过程具有试剂用量少、反应及分离分析效率高、安全性高、仪器成本低, 可实现一次性使用等优点^[2-5]. 然而, 这种微加工的仪器并没有想象的那么稳定可靠. 由于生化反应和分析主要在微流控芯片中微米级别的通道中进行, 微通道的比表面积很大, 因此通道的表面性质对生化反应和生化分析的效率的影响至关重要^[6]. 如玻璃微流控芯片的通道表面有很多硅羟基, 在碱性条件下带负电荷, 蛋白质、DNA 等生物样品会在玻璃表面大量吸附, 从而影响了蛋白质等样品的分析效果. 此外, 一般情况下, 微通道的表面不均一, 且性质很不稳定, 容易随外界条件如温度、pH 值、试剂种类及浓度的变化而变化. 因此很多情况下需要对通道表面进行改性, 以得到一个性质均一、适合于待测样品分析的通道表面^[7].

目前世界上已有较多的研究组在从事微流控芯

片通道表面改性的研究^[6]. 通道表面改性的方法很多, 如将疏水性微通道表面改性为亲水性, 以使通道内的电渗流增大^[8,9]. Ramsey 等人在玻璃通道内引入 γ -异丁烯丙氧基三甲氧基硅烷(γ -MAPS)双功能团的硅烷化试剂^[10], 这种硅烷化试剂的硅基团与表面硅羟基反应, 其另一端的双键用来与丙烯酰胺单体原位共聚, 从而在微通道表面形成永久性 PA 聚合物涂层. 这种涂层可以有效的抑制电渗流和防止被分析的生物大分子吸附.

表面硅烷化是将表面的 Si-OH 结合上不带电的硅烷试剂, 使表面带电荷的基团大大减少, 从而降低了表面的 ξ 电势, 抑制了电渗流的产生^[11].

虽然微通道的改性方法从生物和化学的角度已有一定的研究, 但这些改性方法大多从通道的功能改善方面进行研究. 从动力学角度对二氧化硅表面氧化层已有过理论研究的报道^[12], 钱林茂等曾在实验上研究过二氧化硅表面的摩擦力随湿度的变化规律^[13,14], 但研究改性试剂如硅烷化试剂在玻璃表面与硅羟基的结合情况较少. 这样的研究能使我们认识改性的微观机理, 为进一步提高改性效果奠定理论基础.

2. 理论方法

全势能线性糕模轨道分子动力学(FP-LMTO-

*国家自然科学基金(批准号:10674039)、高等学校全国优秀博士学位论文作者专项资金(批准号:200320)和浙江省自然科学基金(批准号:R405097)资助的课题.

MD)方法是一种在局域密度近似下求解 Kohn-Sham 方程的自洽迭代方法^[15-18].在分子动力学计算过程中,实空间被划分成两个部分:以原子核为中心的一个个非交叠的糕模(MT)球和剩余的球间隙区.线性糕模轨道(LMTO)在糕模球内是缀加的汉克(Hankel)函数,但在间隙区不是^[19-22].在分子动力学计算过程中,系统的总能量和作用力逐渐降低,当总能量变化小于 10^{-5} a.u. 和作用力小于 10^{-3} a.u. 时,被认为它们已达到自洽收敛.这种方法的详细介绍可查阅有关文献[15-22].我们曾经用这种先进方法对中等大小以下 Si_n 团簇、 Ge_n 团簇、 As_n 、 Ga_n 团簇以及一些小分子在硅团簇上吸附进行过全面的研究,所得结果与用其他先进的分子动力学方法计算所得到的以及实验结果相一致^[23-27].我们还对该方法进行了改进,使之适合于小分子在硅等晶体或非晶体表面被吸附或沉积的特性研究,取得了好的结果^[28].用分子动力学方法研究原子及分子在表面上的吸附和沉积现象能使我们了解它们的微观结构^[29-32].本文中我们用改进后的全势能线性糕模轨道分子动力学方法对二氯二甲基硅烷分子在玻璃表面上改性特性进行了理论计算,其结果能满意解释玻璃微流控芯片硅烷化反应过程的微观机理.

3. 表面改性

3.1. 仪器及试剂

实验所用仪器有 ZDMCI6-1 微流控芯片检测仪(杭州美晶电子有限公司),DZF-6065 型真空干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),微量移液器(上海求精生化试剂仪器有限公司),电子天平(AL204-1C, METTLER TOLEDO).

实验所用试剂有:Rh123(罗丹明 123, $C_{21}H_{16}N_2O_3 \cdot HCl$, M_w 380.8, 荧光试剂, Fluka), 荧光素钠($C_{20}H_{10}O_5Na_2$, M_w 376.3, 荧光试剂, Sigma-aldrich), 20 mmol/L, pH = 9.2 的硼砂缓冲溶液, 二氯二甲基硅烷(dichlorodimethylsilan, Aldrich), KOH(AR).

测试样品为 1.0×10^{-7} mol/L Rh123 及 1.0×10^{-7} mol/L 荧光素钠的 20 mmol/L 硼砂溶液.

3.2. 芯片毛细管电泳

微流控芯片为自制的玻璃微流控芯片,其结构如图 1 所示.微芯片分离通道从十字口到储液池 1,

2, 3, 4 的距离分别为 0.8, 0.8, 0.8, 4.0 cm. 通道深 $20 \mu m$, 宽 $50 \mu m$.

芯片毛细管电泳实验在 ZDMCI6-1 微流控芯片检测仪上进行.该仪器同时具有六路独立输出高压电源,激光共聚焦荧光显微镜及信号记录处理功能.

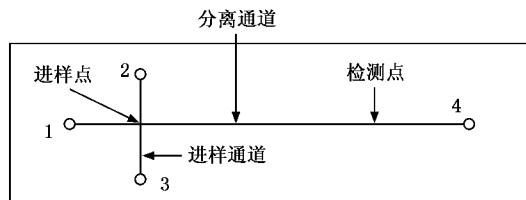


图 1 微流控芯片结构示意图

微流控芯片先用分析纯的浓 H_2SO_4 冲洗内壁 10 min, 以除去有机物, 经去离子水洗净后, 在储液池中加入 1 mol/L 的 KOH, 用注射器抽负压使 1 mol/L 的 KOH 冲洗管壁 30 min 后, 再用去离子水洗净.

将四个液槽及通道用 20 mmol/L, pH = 9.2 的硼砂缓冲溶液冲洗并充满, 在分离条件下预电泳 10 min. 电泳分离的样品为用 20 mmol/L 硼砂缓冲溶液稀释的混合荧光染料(1.0×10^{-7} mol/L Rh123 和 1.0×10^{-7} mol/L 荧光素钠). 芯片预处理好后, 用样品替换样品储槽 2 中的缓冲液, 并将四储槽液面调整水平. 样品注入采用夹流方式, 进样与分离电压见表 1. 进样时间 30 s, 分离距离 2 cm. 通过微流控芯片检测仪记录电泳图.

表 1 所施加的进样电压和分离电压

储液槽	1	2	3	4
进样电压/V	480	600	0	580
分离电压/V	1000	650	700	0

3.3. 表面硅烷化处理

在干燥的芯片中分别用浓硫酸、去离子水、氢氧化钾处理后, 用去离子水冲洗干净, 再用甲醇: 浓盐酸为 1:1 的混合液在 $70^\circ C$ 下冲洗 30 min, 放入真空干燥箱中真空干燥. 在干燥的芯片中加入硅烷化试剂二氯二甲基硅烷(Aldrich), $70^\circ C$ 下反应 1 h, 用去离子水和甲醇冲洗干净后, 真空干燥;

改性后的微流控芯片无需芯片预处理, 直接在通道中加入缓冲液, 在样品槽中加入混合荧光染料进行电泳分离检测.

3.4. 硅烷化处理前后的实验结果

玻璃芯片通道经 1 mol/L 的 KOH 处理后,由于 KOH 可以在玻璃表面上蚀刻出一层新表面,使玻璃通道表面硅羟基密度增大,从而可产生明显的电渗

流^[1]. 由于电渗流的运动方向为电场的正端向负端运动,当混合荧光染料样品进入通道后,Rh123 带正电荷,电泳方向与电渗流方向相同,而荧光素钠带负电荷,电泳方向与电渗流方向相反,因此在电渗流的带动下他们的运动速度不同,从而得到分离(如图 2).

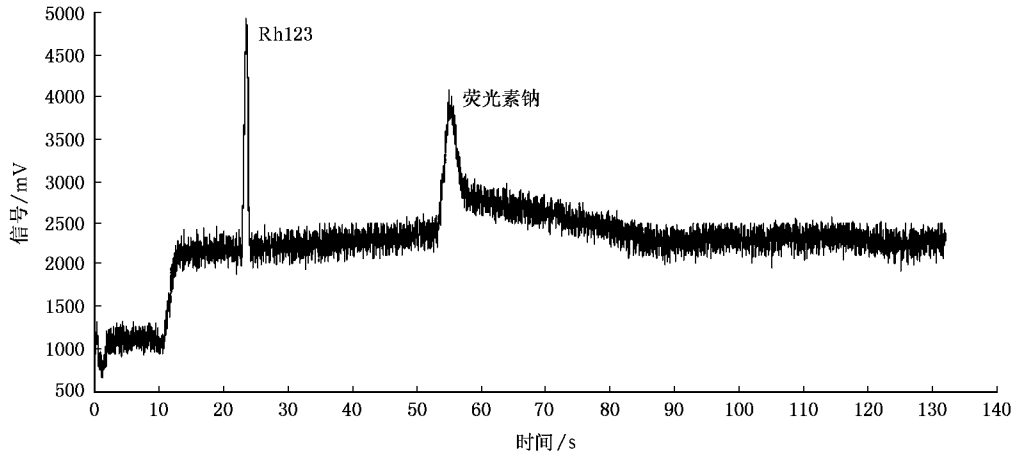


图 2 玻璃微流控芯片分离 Rh123 与荧光素钠电泳图 缓冲溶液:硼砂(20 mmol),pH 9.2;有效分离长度:2 cm;分离场强:205 V/cm,测试样品:1.0 × 10⁻⁷ mol/L Rh123 和 1.0 × 10⁻⁷ mol/L 荧光素钠.每个储槽所加电压如表 1 所示

由图 2 可见 Rh123 的运动速度要比荧光素钠快,它们的出峰时间分别为 23 s 和 55 s.且荧光素钠的峰形要比 Rh123 的宽得多,这主要是由于荧光素钠带负电荷,其电泳运动方向与电渗流方向相反所致.

当上述玻璃微流控芯片用硅烷化试剂处理了之后,在芯片通道里进行样品分离时,如图 3,只有样品的电泳起作用,因此在上述相同的电压条件下,荧光素钠不能出峰,且 Rh123 出峰时间推迟,扩散也比在未硅烷化的芯片中严重.

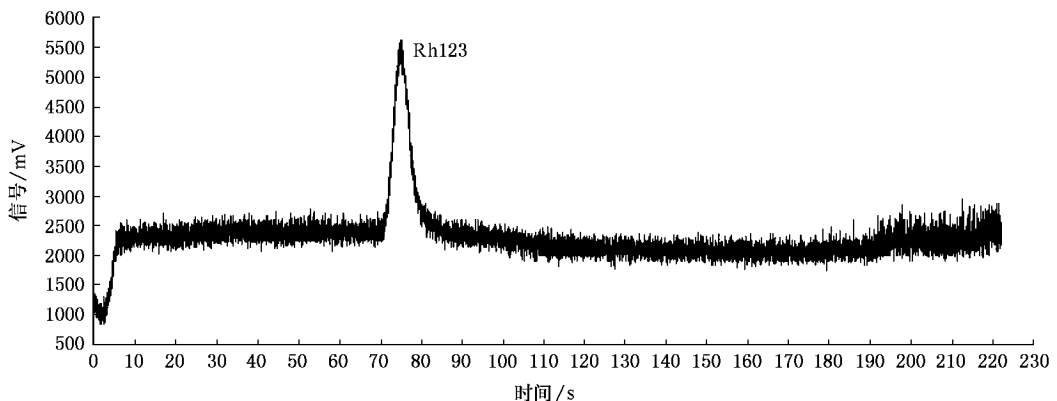


图 3 硅烷化玻璃微流控芯片分离 Rh123 与荧光素钠电泳图 缓冲溶液:硼砂(20 mmol),pH 9.2;有效分离长度:2 cm;分离场强:205 V/cm,测试样品:1.0 × 10⁻⁷ mol/L Rh123 和 1.0 × 10⁻⁷ mol/L 荧光素钠.每个储槽所加电压如表 1 所示

4. 理论解释

上述实验结果表明玻璃微流控芯片在经二氯二

甲基硅烷处理后,表面的电渗流大大的减小,甚至消除了,从微观角度,我们用分子动力学方法对其原因进行了较为详细的研究.

图 4 是用分子动力学方法计算得到的二氯二甲

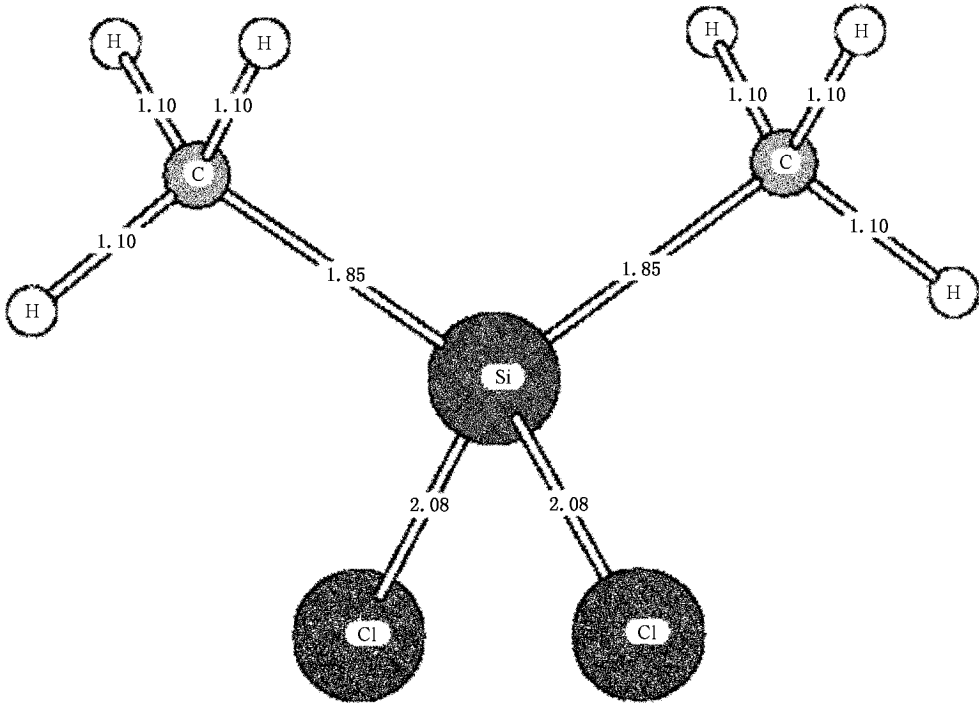


图4 二氯二甲基硅烷分子的稳定结构

基硅烷分子的稳定结构图,具有 C_{2v} 对称性.理论计算表明该分子在两个氯原子附近能吸附两个氢原子,而在其他位置却很难吸附.氢原子被吸附之后,结构发生严重的畸变,其 C_{2v} 对称性被破坏,成为图5中的所示结构.比较图4和图5两幅结构图,发现

氢原子被吸附后,C—H键长变化不大,C—Si键长也只从原有 1.85 \AA 增加到 1.97 \AA ,增加了 6.5% ,而变化最为明显的是两个 Cl—Si键,它们分别增加 37% 和 21% ,表明这两个键的强度明显地减弱了.进一步发现,Cl—H之间的键结合得比较牢固,它们

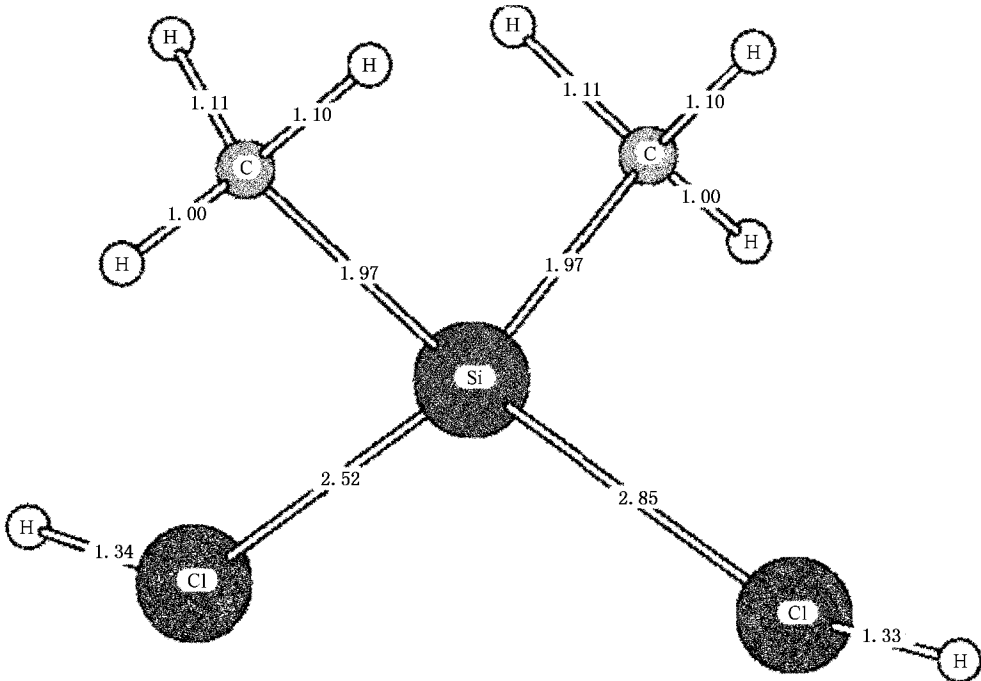


图5 二氯二甲基硅烷分子吸附两个氢原子后的稳定结构

的键长分别为 1.33 \AA 和 1.34 \AA . 查阅文献发现气态的 HCl 分子其键长 1.28 \AA ^[33]. 我们用上述分子动力学方法同样对 HCl 分子进行了理论计算, 其计算的键长为 1.31 \AA . 显然, 氢原子被氯原子吸附后形成的 HCl 结构, 其键的强度与气态的 HCl 分子的非常接近. 综合图 5 的结构特点, 我们能推断出二氯二甲基硅烷分子在两个氯原子上吸附氢原子后, 使得原有的两个 Cl—Si 键强度减弱. 经分子间的碰撞, 这两个键很容易断裂, 断裂后将在 Si 原子上留下两个悬挂键, 并出现两个游离的 HCl 分子.

我们知道, 玻璃的主要成分是二氧化硅. 玻璃表面用浓硫酸、去离子水、氢氧化钾处理后, 会在通道表面上存在大量的硅羟基, 如图 6 所示. 我们可以用一定的结构来模拟固体表面的原子结构, 但由于玻璃为非晶体, 不存在长程有序, 这样给研究带来了困难. 但由于原子间的作用为短程作用, 在短程范围内, 这些结构可以认为具有一定的周期性, 这为该问题的研究带来了方便. 实际上, 上述问题可以用比较简单的方法来处理. 我们用图 7 所示的结构来模拟玻璃表面上的硅羟基, 其中三个氢原子是用来饱和硅原子上的三个悬挂键的.

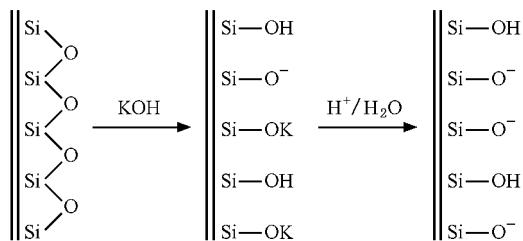


图 6 玻璃微流控芯片表面经浓硫酸、去离子水、氢氧化钾处理后, 存在大量的硅羟基和氧离子示意图

用硅烷化试剂处理后, 会出现如下两种情况:

1) 二氯二甲基硅烷中的氯原子吸附表面上处于游离状态的氢原子, 吸附后由于氯原子与氢原子的强烈结合, 产生如图 5 所示的结构. 经分子间的碰撞, 使 HCl 分子脱落, 并在脱落处留有悬挂键, 该悬挂键与表面上的氧离子结合形成如图 8 所示结构. 2) 二氯二甲基硅烷中的氯原子与硅羟基中的氢原子结合, 氯原子与氢原子的强烈结合使得原来二氯二甲基硅烷中的 Si—Cl 键和硅羟基中的 Si—O 键强度减弱. 减弱的结果容易使 HCl 分子分离出来, 分离后氯离子与氧离子结合形成如图 8 所示结构.

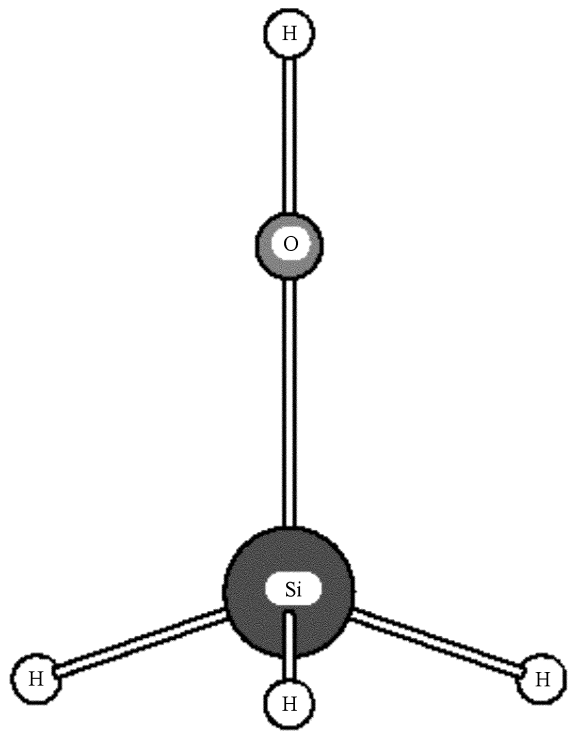


图 7 玻璃微流控芯片表面的硅羟基模拟示意图

图 8 中的数字为它们的键长值, 单位为 Å . 实际过程还要复杂, 如二氯二甲基硅烷只与一个硅羟基作用而形成一个非对称性结构. 另外, 玻璃表面上的硅羟基不会像图 7 那样比较自由地运动, 在这样的情况下, 所形成的结构将发生畸变, 但基本的特点没有改变. 再者, 还有一部分硅原子可能暴露在表面上. 图 9 给出了玻璃表面经过硅烷化试剂处理后的表面示意图.

显然, 表面经硅烷试剂处理后, 它们与玻璃通道表面的硅羟基发生反应, 反应的结果为硅烷基覆盖在原来的硅羟基上, 使表面带电荷的基团明显减少, 从而消除电渗流.

5. 结 论

我们对玻璃微流控芯片微通道表面用硅烷化试剂改性后的特点进行了实验和理论研究. 理论计算结果表明用二氯二甲基硅烷处理通道表面后, 表面上硅羟基中的氢原子与试剂中二氯二甲基硅烷中的氯原子结合形成稳定的 HCl 分子而脱离, 从而硅烷基覆盖在表面上, 减小了电渗流, 合理地解释了实验结果.

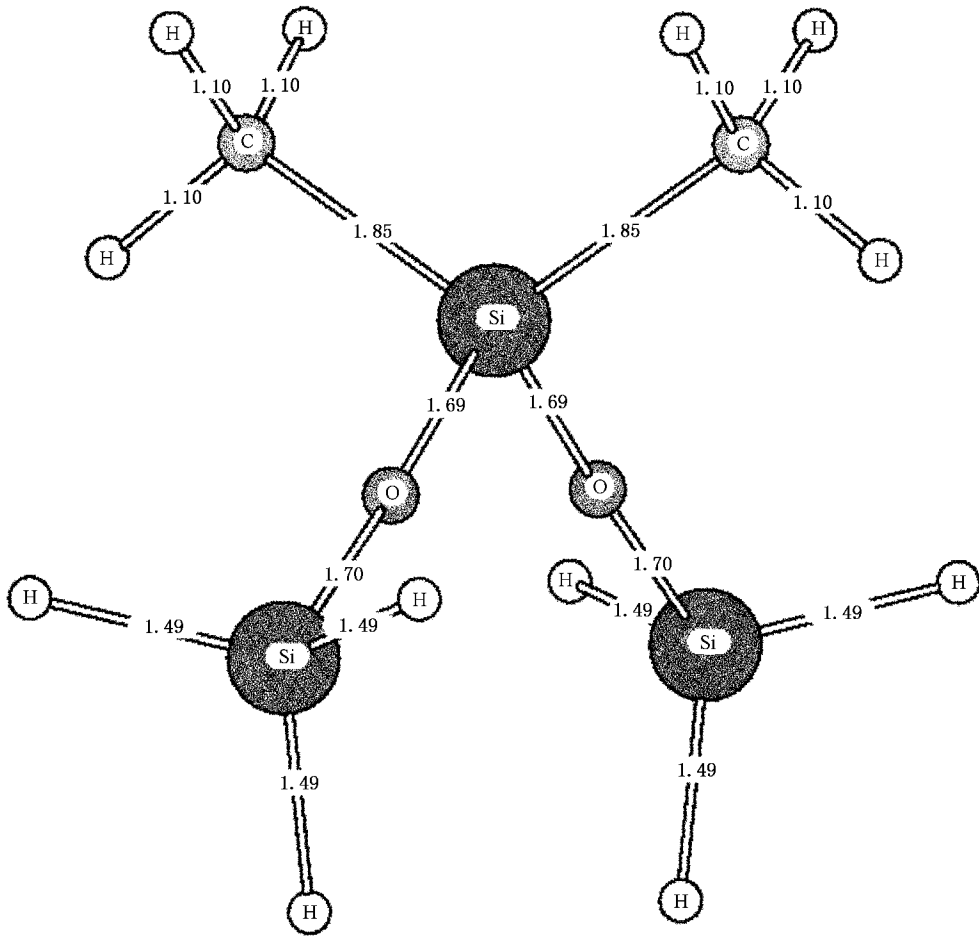


图 8 硅羟基与二氯二甲基硅烷相互作用脱落 HCl 分子后形成的稳定结构

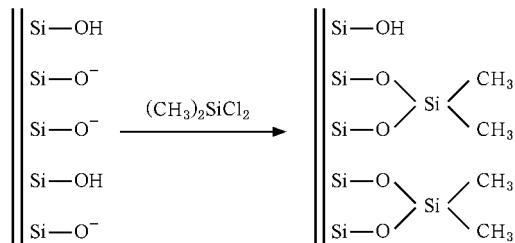


图 9 玻璃微流控芯片表面硅烷化试剂处理后的结构示意图

[1] Fang Z L 2003 *Microfluidic Chips 1st Edition* (Beijing: Science Press) pp1—305 (in Chinese) [方肇伦 2003 微流控分析芯片 (第一版) 北京: 科学出版社 第1—305页]

[2] Shevkoplyas S S, Yoshida T, Munn L L, Bitensky M W 2005 *Anal. Chem.* **77** 933

[3] Piehl N, Ludwig M, Belder D 2004 *Electrophoresis* **25** 3848

[4] Munce N R, Li J, Herman P R, Lilje L 2004 *Anal. Chem.* **76** 4983

[5] Belder D, Ludwig M 2003 *Electrophoresis* **24** 2422

[6] Dolník V 2004 *Electrophoresis* **25** 3589

[7] Barker S L R, Ross D, Tarlov M J, Gaitan M, Locascio L E 2000 *Anal. Chem.* **72** 5925

[8] Ye M Y, Fang Q, Yin X F, Fang Z L 2004 *Anal. Chem.* **12** 1585 (in Chinese) [叶美英、方群、殷学锋、方肇伦 2004 分析化学 **12** 1585]

[9] Meng F, Chen H W, Fang Q, Zhu H L, Fang Z L 2002 *Chem. J.*

- Chin. Univ.* **23** 1264 (in Chinese) [孟斐、陈恒武、方群、朱海霖、方肇伦 2002 高等学校化学学报 **23** 1264]
- [10] Khandurina J , Jacobson S C , Waters L C , Foote R S , Ramsey J M 1999 *Anal. Chem.* **71** 1815
- [11] Duchet J , Chabert B , Chapel J P , Gerard J F , Chovelon J M , Faggeziec-Renault N 1997 *Langmuir* **13** 2271
- [12] Lu Y Z , Cheng Y C 1985 *Acta Phys. Sin.* **34** 447 (in Chinese) [卢豫曾、郑耀宗 1985 物理学报 **34** 447]
- [13] Qian L M , Luo J B , Wen S Z , Xiao X D 2000 *Acta Phys. Sin.* **49** 2240 (in Chinese) [钱林茂、雒建斌、温诗铸、萧旭东 2000 物理学报 **49** 2240]
- [14] Qian L M , Luo J B , Wen S Z , Xiao X D 2000 *Acta Phys. Sin.* **49** 2247 (in Chinese) [钱林茂、雒建斌、温诗铸、萧旭东 2000 物理学报 **49** 2247]
- [15] Methfessel M , Schilfgaard M V 1993 *Int. J. Mod. Phys. B* **7** 262
- [16] Methfessel M , Schilfgaard M V 1993 *Phys. Rev. B* **48** 4937
- [17] Methfessel M 1998 *Phys. Rev. B* **38** 1537
- [18] Methfessel M , Rodriguez C O , Anderson O K 1989 *Phys. Rev. B* **40** 2009
- [19] Kohn W , Sham L J 1965 *Phys. Rev.* **140** A1133
- [20] Andersen O K 1975 *Phys. Rev. B* **12** 3060
- [21] Andersen O K , Woolley R G 1975 *Mol. Phys.* **26** 905
- [22] Springborg M , Anderson O K 1987 *J. Chem. Phys.* **87** 7125
- [23] Li B X , Cao P L 2000 *Phys. Rev. B* **62** 15788
- [24] Li B X , Cao P L , Zhan S C 2003 *Phys. Lett. A* **316** 252
- [25] Li B X , Cao P L 2000 *J. Phys. : Condens. Matter* **12** 8357
- [26] Li B X , Cao P L 2001 *J. Phys. : Condens. Matter* **13** 1
- [27] Yang J S , Li B X 2006 *Acta Phys. Sin.* **55** 6562 (in Chinese) [杨建宋、李宝兴 2006 物理学报 **55** 6562]
- [28] Li B X , Cao P L 2004 *Phys. Lett. A* **330** 299
- [29] Xu P S , Li Y H , Pan H B 2005 *Acta Phys. Sin.* **54** 5824 (in Chinese) [徐彭寿、李拥华、潘海斌 2005 物理学报 **54** 5824]
- [30] Wei S Y , Wang J G , Ma L 2004 *Chin. Phys.* **13** 85
- [31] Huang Y , Zhu X Y 2004 *Chin. Phys.* **13** 725
- [32] Wei S Y , Wang J G , Ma L , Xia C X , Yan Y L 2004 *Chin. Phys.* **13** 932
- [33] Cao X Z , Zhang W H , Du Y G 1983 *Inorganic Chemistry (Volume 2)* 2nd Edition (Higher Education Press) (in Chinese) [曹锡章、张婉蕙、杜尧国 1983 无机化学 (下册) 第二版 (高等教育出版社) 第 22 页]

Investigation on micro-modification mechanism on surface of microfluidic glass chip^{*}

Li Bao-Xing Ye Mei-Ying Chu Qiao-Yan Yu Jian

(Physics Department , Chemistry Department , Key Laboratory of Organosilicon Chemistry and Material Technology of Ministry of Education , Hangzhou Teachers College , Hangzhou 310036 , China)

(Received 9 October 2006 ; revised manuscript received 14 November 2007)

Abstract

The surface of the glass channel of microfluidic chip is treated with dichlorodimethylsilane. After the treatment , the silicon hydroxyl on the surface of the glass channel is silylated , which results in the reduction or even the elimination of the electroosmotic flow. Furthermore , full-potential linear-muffin-tin-orbital molecular dynamics method is used to investigate the micro -mechanism of surface reaction theoretically. The calculation results indicate that the hydrogen atom in silicon hydroxyl binds with the chlorine atom in dichlorodimethylsilane to form a stable HCl molecule and goes off , thereby the surface of the channel is covered with silylone.

Keywords : microfluidic chip , dichlorodimethylsilane , molecular dynamics method , stable micro-structure

PACC : 7115F , 7125W , 7320

^{*} Project supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 10674039) , the Excellent Doctorial Thesis Foundation of Education Ministry of China (Grant No. 200320) and the Natural Science Foundation of Zhejiang Province , China (Grant No. R405097) .