



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105854964 A

(43)申请公布日 2016.08.17

(21)申请号 201610271856.1

(22)申请日 2016.04.27

(71)申请人 浙江工业大学

地址 310014 浙江省杭州市下城区潮王路
18号

申请人 浙江理工大学

(72)发明人 吴化平 刘爱萍 李吉泉 丁浩

柴国钟 朱凯 曹彬彬 吴兵兵

(74)专利代理机构 杭州天正专利事务所有限公
司 33201

代理人 王兵 黄美娟

(51)Int.Cl.

B01L 3/00(2006.01)

G01N 21/65(2006.01)

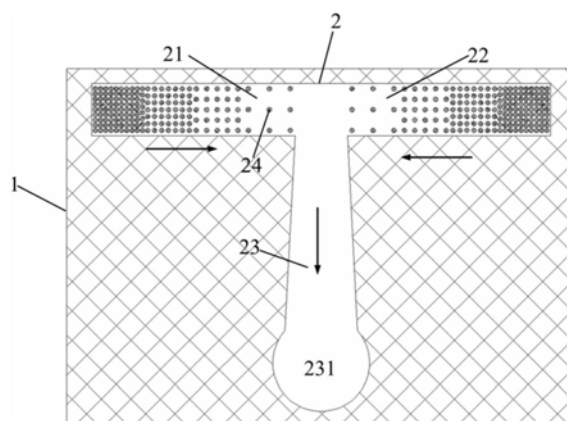
权利要求书2页 说明书4页 附图2页

(54)发明名称

基于SERS检测的微流控芯片、制备方法及其
应用

(57)摘要

基于SERS检测的微流控芯片、制备方法及其
应用,所述的制备方法包括制备超疏水二氧化钛
涂覆液,制备带超疏水层的基体,制备芯片,芯片
包括基体和设置在基体表面的T形流道,流道内
为超亲水,流道外为超疏水;T形流道的横流道两
端作为两个流道进口,竖流道末端设检测区;T形
流道的横流道内分布有超疏水的微图案,微图案
从两端向中心划分成多个区域,每个区域内的超
疏水图案间距相等,而沿两端向中心方向区域与
区域间的图案间距梯度增大,在横流道内从两端
到中心形成疏水到亲水的润湿梯度;竖流道设计
成楔形流道。本发明的有益效果是:结合表面润
湿梯度和楔形结构流道,实现了液滴自动运输到
检测区,极大降低了微流体驱动的成本。



1. 基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,包括以下步骤:

1) 制备超疏水二氧化钛涂覆液:将二氧化钛粉末与无水乙醇混合后在50~100Hz条件下超声配成的二氧化钛悬浮液,再加入硅烷,继续在50~100Hz条件下超声混匀,然后室温下反应10~15h,得到超疏水二氧化钛涂覆液;所述的无水乙醇的加入量以二氧化钛质量计为0.01~0.02g/mL,所述硅烷与二氧化钛悬浮液体积比为0.01~0.03:1;

2) 制备带超疏水层的基体:利用旋涂机将超疏水二氧化钛涂覆液分次旋涂到清洗干净的玻璃片基体表面,然后置于烘箱中100~120°处理1~2h,得到带超疏水层的基体;所述的超疏水二氧化钛涂覆液的涂覆用量为0.1~0.2g/cm³;

3) 制备掩模板:通过高分辨的激光打印机在胶片上打印用于透光的T形流道,制成掩模板,其中所述的T形流道由横流道和垂直于横流道中间位置的竖流道组成,所述的横流道以中间位置为轴对称从两端向中间位置划分成若干相应对称的区域,每个区域均匀分布疏水微图案,所述的疏水微图案所对应基体相应位置的位置为超疏水区,疏水微图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水微图案个数递减,即相邻疏水微图案间的间距逐渐递增;所述的竖流道设计成楔形流道,末端作为检测区;

4) 制备芯片:将掩模板覆盖在带超疏水涂层的基体表面,然后开启深紫外光(UV)光源,紫外光透过所述的掩模板,照射到超疏水涂层表面,被曝光区域由超疏水转变为超亲水,而基体剩余的部分仍为超疏水,即可将掩模板上的T形流道复制到基体的超疏水表面上。

2. 如权利要求1所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,其特征在于:所述的硅烷为十八烷基三甲氧基硅烷。

3. 如权利要求1所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,其特征在于:步骤1)中的第一次超声时间为30~60min,第二次超声时间为10~20min。

4. 如权利要求1所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,其特征在于:步骤1)中的基体为玻璃片、金属片或者棉织品片。

5. 如权利要求4所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,其特征在于:所述的基体的清洁方式为:将基体依次在丙酮、乙醇、去离子水中超声10~20min,超声频率为50~100Hz。

6. 如权利要求1所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,其特征在于:步骤2)中的旋涂次数为五次,每次取50μL二氧化钛涂覆液旋涂到洗净的基体表面。

7. 如权利要求6所述的基于SERS检测的液滴自驱动式微流控芯片,其特征在于:所述的旋涂机的转速为1000~2000rad/min。

8. 权利要求1~7任意一项权利要求所述的制备方法得到的基于SERS检测的微流控芯片,其特征在于:包括基体和设置在基体表面的T形亲水流道,所述的T形亲水流道由横流道和垂直于横流道中间位置的竖流道组成,所述的横流道以中间位置为轴对称从两端向中间位置划分成若干相应对称的区域,每个区域均匀分布疏水微图案,所述的疏水微图案所对应基体相应位置的位置为超疏水区,疏水微图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水微图案个数递减,即相邻疏水微图案间的间距逐渐递增,因而在横流道内从两端到中心形成疏水到亲水的润湿梯度,润湿梯度能驱动液滴自发运动;所述的竖流道设计成楔形流道,末端为检测区,竖流道的楔形结构能驱动融合后的液滴继续运动,直到混合液滴运动到流道末端的检测区。

9.如权利要求8所述的基于SERS检测的液滴自驱动式微流控芯片,其特征在于:所述的竖流道为楔形流道,其中楔形角为 $4\sim 8^{\circ}$ 。

10.如权利要求9所述的微控流芯片在同时检测液体待分析物中的应用,其特征在于:所述的应用方法按以下步骤进行:

(1)配置 $1\sim 100\text{nM}$ 含待分析物的溶液和浓度为 $0.3\sim 0.5\text{mM}$ 的Au纳米粒子溶液;

(2)在T形流道的横流道其中一个流道进口处滴入 $5\sim 10\mu\text{L}$ 的Au纳米粒子溶液,同时,在另一个流道进口处滴入 $5\sim 10\mu\text{L}$ 的含待分析物的溶液;

(3)两个液滴在横流道交汇处融合,并在竖流道内充分混合后运动到竖流道末端的制定检测区,在检测区进行原位的拉曼检测,得到混合溶液的SERS光谱图,从而可以确定含待分析物的溶液中待分析物的浓度。

基于SERS检测的微流控芯片、制备方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种基于SERS检测的微流控芯片、制备方法及其应用。

背景技术

[0002] 表面增强拉曼技术(Surface Enhanced Raman Scattering,简称SERS)是指借助粗糙金属表面或金属纳米结构增强吸附分子的拉曼信号的技术,它可以使拉曼信号增强 $10^{10}\sim 10^{11}$ 倍,这意味着它能检测单个分子。由于其具有超高的灵敏度,SERS技术已被广泛应用于化学、生物学、医学等领域。

[0003] 微流控芯片是通过微加工的方法制作出微米级别的通道,通过通道的设计将分析的各种基本过程如样品前处理、分离、分析检测集成在一个小的基片上,实现对蛋白质、无机离子、DNA等化学成分的快速标定和检测,叫做微流控芯片实验室。它可以在几分钟甚至更短的时间内进行几百个样品的同时分析。与传统的分析方法相比,它具有分析效率高、试剂消耗量小和体积小易于集成等优点。

[0004] 微流控芯片广泛的应用价值得到了众多研究者的关注,其相关的基础和应用研究已成为一个前沿的研究领域。

[0005] 随着微流控芯片的集成化和微型化,其对微流体体积的控制逐步提高,要求体积达nL(10⁻⁹L)到pL(10⁻¹²L)甚至到fL(10⁻¹⁵L),如此微量的体积使得试样分子的检测成为难题。但是具有超高灵敏度的SERS技术恰好能解决这一难题,于是,基于SERS检测技术的微流控芯片应运而生。

[0006] 目前,微流控表面增强拉曼测试芯片大致可以分为两种:颗粒式芯片和基底式芯片。虽然运用广泛,但是仍存在如下缺点:(1)结构复杂,制备过程繁琐,需要很多例如蠕动泵等外部辅助设备;(2)液体的流动时损耗大,而且被检测粒子分布不均匀,检测精度不够高。

发明内容

[0007] 本发明针对目前的微流控表面增强拉曼测试芯片存在结构复杂,制备过程繁琐、液体的流动时损耗大,而且被检测粒子分布不均匀,检测精度不够高的问题,提出了一种结构简单、制作方便、液体流动损耗小、被检测粒子分布均匀、检测精度高的基于SERS检测的微流控芯片、制备方法及其应用。

[0008] 本发明所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,包括以下步骤:

[0009] 1)制备超疏水二氧化钛涂覆液:将二氧化钛粉末与无水乙醇混合后在50~100Hz条件下超声配成的二氧化钛悬浮液,再加入硅烷,继续在50~100Hz条件下超声混匀,然后室温下反应1~2h,得到超疏水二氧化钛涂覆液;,所述的无水乙醇的加入量以二氧化钛质量计为0.01~0.02g/mL,所述硅烷与二氧化钛悬浮液体积比为0.01~0.03:1;

[0010] 2)制备带超疏水层的基体:利用旋涂机将超疏水二氧化钛涂覆液分次旋涂到清洗干净的玻璃片等基体表面,然后置于烘箱中100~120℃处理1~2h,得到带超疏水层的基

体;所述的超疏水二氧化钛涂覆液的涂覆用量为 $0.1\sim 0.2\text{g}/\text{cm}^3$;

[0011] 3)制备掩模板:通过高分辨的激光打印机在胶片上打印用于透光的T形流道,制成掩模板,其中所述的T形流道由横流道和垂直于横流道中间位置的竖流道组成,所述的横流道以中间位置为轴对称从两端向中间位置划分成若干相应对称的区域,每个区域均匀分布疏水微图案,所述的疏水微图案所对应基体相应位置的位置为超疏水区,疏水图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水微图案个数递减,即相邻疏水微图案间的间距逐渐递增;所述的竖流道设计成楔形流道,末端作为检测区;

[0012] 4)制备芯片:将掩模板覆盖在带超疏水涂层的基体表面,然后开启深紫外光(UV)光源,紫外光透过所述的掩模板,照射到超疏水涂层表面,被曝光区域由超疏水转变为超亲水,而基体剩余的部分仍为超疏水,掩模板上的T形流道被复制到基体的超疏水表面上。

[0013] 所述的UV辐照强度为 15mW cm^{-2} ,波长为390nm,照射时间为 $5\sim 15\text{min}$ 。

[0014] 所述的硅烷为十八烷基三甲氧基硅烷。

[0015] 步骤1)中的第一次超声时间为 $30\sim 60\text{min}$,第二次超声时间为 $5\sim 10\text{min}$ 。

[0016] 步骤1)中的基体为玻璃片、金属片或者棉织品片。

[0017] 所述的基体的清洁方式为:将基体依次在丙酮、乙醇、去离子水中超声 $10\sim 20\text{min}$,超声频率为 $50\sim 100\text{Hz}$ 。

[0018] 步骤2)中的旋涂次数为五次,每次取 $50\mu\text{L}$ 二氧化钛涂覆液

[0019] 旋涂到洗净的基体表面。

[0020] 所述的旋涂机的转速为 $1000\sim 2000\text{rad}/\text{min}$ 。

[0021] 本发明所述的制备方法制备得到的基于SERS检测的微流控芯片,其特征在于:包括基体和设置在基体表面的T形亲水流道,所述的T形亲水流道由横流道和垂直于横流道中间位置的竖流道组成,所述的横流道以中间位置为轴对称从两端向中间位置划分成若干相应对称的区域,每个区域均匀分布疏水微图案,所述的疏水微图案所对应基体相应位置的位置为超疏水区,疏水图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水微图案个数递减,即相邻疏水微图案间的间距逐渐递增,从而在流动内形成从两端往中间亲水区域逐渐增大的润湿梯度;润湿梯度能驱动被检测液滴自发运动;竖流道设计成楔形流道,竖流道的楔形结构能驱动融合后的液滴继续运动,直到流道末端的检测区。

[0022] 所述的竖流道为楔形流道,其中楔形角为 $4\sim 8^\circ$ 。

[0023] 如本发明所述的微流控芯片在同时检测液体待分析物中的应用,其特征在于:所述的应用方法按以下步骤进行:

[0024] (1)配置 $1\sim 100\text{nM}$ 含待分析物的溶液和浓度为 $0.3\sim 0.5\text{mM}$ 的Au纳米粒子溶液;

[0025] (2)在T形流道的横流道其中一个流道进口处滴入 $5\sim 10\mu\text{L}$ 的Au纳米粒子溶液,同时,在另一个流道进口处滴入 $5\sim 10\mu\text{L}$ 的含待分析物的溶液;

[0026] (3)两个液滴在横流道交汇处融合,并在竖流道内充分混合后运动到竖流道末端的检测区,在检测区进行原位的拉曼检测,得到混合溶液的SERS光谱图,从而可以确定含待分析物的溶液中待分析物的浓度。

[0027] 本发明的有益效果是:(1)本发明设计的基于SERS检测的液滴自驱动式微流控芯片流道内具备润湿梯度,结合润湿梯度和楔形结构实现液滴自驱动,可省去外力驱动系统等辅助设备,更易实现微流控芯片的微型化和便携化;(2)液滴在两个具备润湿梯度的流道

内基本无液体损失,液滴混合后在梯形流道内能充分混合均匀,可以获得高重复的SERS信号,适合进行定量或半定量分析,同时大幅提升SERS检测的灵敏度。

附图说明

[0028] 图1是(a)为本发明中基于SERS检测的液滴自驱动式微流控芯片的结构示意图,其中阴影区域为超疏水区域,无阴影区为超亲水区域,其中标号表示:1为基体;2为T形流道;21,22为T形流道2横流道的两个入口流道;23为T形流道的竖流道;231为竖流道末端的检测区;箭头代表液滴运动的方向。(b)为(a)中流道21或22的放大图,从左到右亲水区域逐步增大,呈现润湿梯度;(c)为液滴融合区域局部放大图。

[0029] 图2是一种Au纳米粒子溶液和不同浓度的罗丹明B混合后的SERS光谱图。

[0030] 图3是一种DNA溶液和Au纳米粒子溶液混合前后的SERS光谱图。

具体实施方式

[0031] 下面结合附图进一步说明本发明

[0032] 参照附图:

[0033] 实施例1本发明所述的基于SERS检测的微流控芯片的制备方法,包括以下步骤:

[0034] 1)制备超疏水二氧化钛涂覆液:将0.1g粒径为25nm的二氧化钛粉末(P₂₅)与10mL无水乙醇混合后在100Hz条件下超声30min配成0.01g/mL的二氧化钛悬浮液,再加入0.2mL十八烷基三甲氧基硅烷,继续在100Hz条件下超声10min混匀,然后室温下反应12h,得到超疏水二氧化钛涂覆液;所述硅烷与二氧化钛悬浮液体积比为0.02:1;

[0035] 2)制备带超疏水层的基体:利用旋涂机将超疏水二氧化钛涂覆液分次旋涂到清洗干净的基体上表面,然后置于烘箱中100℃处理1h,得到带超疏水层的基体,液滴在该表面的接触角为152.5°;所述的旋涂机的转速为1000rad/min;所述的超疏水层的厚度为5μm;所述的超疏水二氧化钛涂覆液的涂覆用量为0.1g/cm³;

[0036] 3)制备掩模板:通过高分辨的激光打印机在胶片上打印用于透光的T形流道,制成掩模板,其中所述的T形流道由横流道和垂直于横流道中间位置的竖流道组成,所述的横流道以中间位置为轴对称从两端向中间位置划分成若干相应对称的区域,每个区域均匀分布疏水微图案,所述的疏水微图案所对应基体相应位置的位置为超疏水区,疏水微图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水微图案个数递减,即相邻疏水微图案间的间距逐渐递增;所述的竖流道的末端作为检测区;

[0037] 4)制备芯片:将掩模板覆盖在带超疏水涂层的基体表面,然后开启UV光源,紫外光透过所述的掩模板照射到超疏水涂层表面,曝光10min后,超疏水涂层表面被曝光区域由超疏水转变为超亲水(水接触角小于5°),而基体剩余的部分仍然为超疏水,即可将掩模板上的T形流道复制到基体的超疏水表面上,其中所述的UV辐照强度为15mW cm⁻²,波长为390nm。

[0038] 步骤1)中的基体为玻璃片、金属片或者棉织品。

[0039] 所述的基体的清洁方式为:将基体依次在丙酮、乙醇、去离子水中超声10min,超声频率为100Hz。

[0040] 步骤2)中的旋涂次数为五次,每次取50μL二氧化钛涂覆液旋涂到洗净的基体表面。

[0041] 其中往二氧化钛悬浮液加入硅烷的量对曝光前后接触角和从超疏水到超亲水所需曝光时间的影响如下表：

[0042]

硅烷的量	曝光前接触角	所需曝光时间	曝光后接触角
0.01:1	152.5°	5min	<5°
0.02:1	153.2°	10min	<5°
0.03:1	151.6°	15min	<5°

[0043] 实施例2本发明所述的制备方法制备得到的基于SERS检测的微流控芯片,包括基体1和设置在基体表面的T形流道2,所述的T形流道2的横流道两端作为两个流道进口(21, 22),所述的T形流道2的竖流道23末端作为检测区231;所述的T形流道2的横流道从两端向中心划分成多个区域,每个区域均匀分布疏水图案24,每个疏水图案24对应基体相应位置作为超疏水区,疏水图案之外的部分为超亲水区;所述横流道沿两端向中间位置所述区域内疏水图案个数递减,即相邻疏水图案间的间距逐渐递增,即相应的基体1上的亲水区所占比例呈梯度递增;所述的竖流道23的末端设有检测区;整个T形流道成为用于液滴自驱动运动的梯度润湿表面。

[0044] 所述的竖流道23为楔形流道,其中楔形角为6°。

[0045] 实施例3所述的微控流芯片在同时检测液体待分析物中的应用,其特征在于:所述的应用方法按以下步骤进行:

[0046] (1)配置罗明丹B溶液和浓度为0.5mM的Au纳米粒子溶液;

[0047] (2)在T形流道的横流道其中一个流道进口处滴入5μL的Au纳米粒子溶液,同时,在另一个流道进口处滴入5μL的罗明丹B溶液;

[0048] (3)由于横流道设置两个润湿梯度,能为液滴运动提供一个驱动力,实现液滴的自驱动,两个液滴在横流道交汇处融合,并在竖流道内充分混合后运动到竖流道末端的检测区,在检测区进行原位的拉曼检测,得到混合溶液的SERS光谱图,从而可以确定含待分析物的溶液中待分析物的浓度。

[0049] 采用前面所述方法制备微流控芯片,芯片的设计示意图如图1(a)所示,包括两个流道入口和运输混合液滴的楔形流道,两个入口流道具备润湿梯度(亲水区域面积逐步增大),楔形流道楔形角为6°。图2为三种不同浓度(1nM,10nM,100Nm)的罗丹明B与Au纳米粒子的溶液混合后的SERS光谱图,可以检测到信号的最小罗丹明B的浓度达到1nM。

[0050] 实施例4与实施例3相比的区别之处在于:所述的罗明丹B溶液替换成DNA溶液,图3为DNA溶液和Au纳米粒子溶液混合前后的SERS光谱图,可以发现Au纳米粒子能明显增强DNA的拉曼信号。

[0051] 本说明书实施例所述的内容仅仅是对发明构思的实现形式的列举,本发明的保护范围不应当被视为仅限于实施例所陈述的具体形式,本发明的保护范围也包括本领域技术人员根据本发明构思所能够想到的等同技术手段。

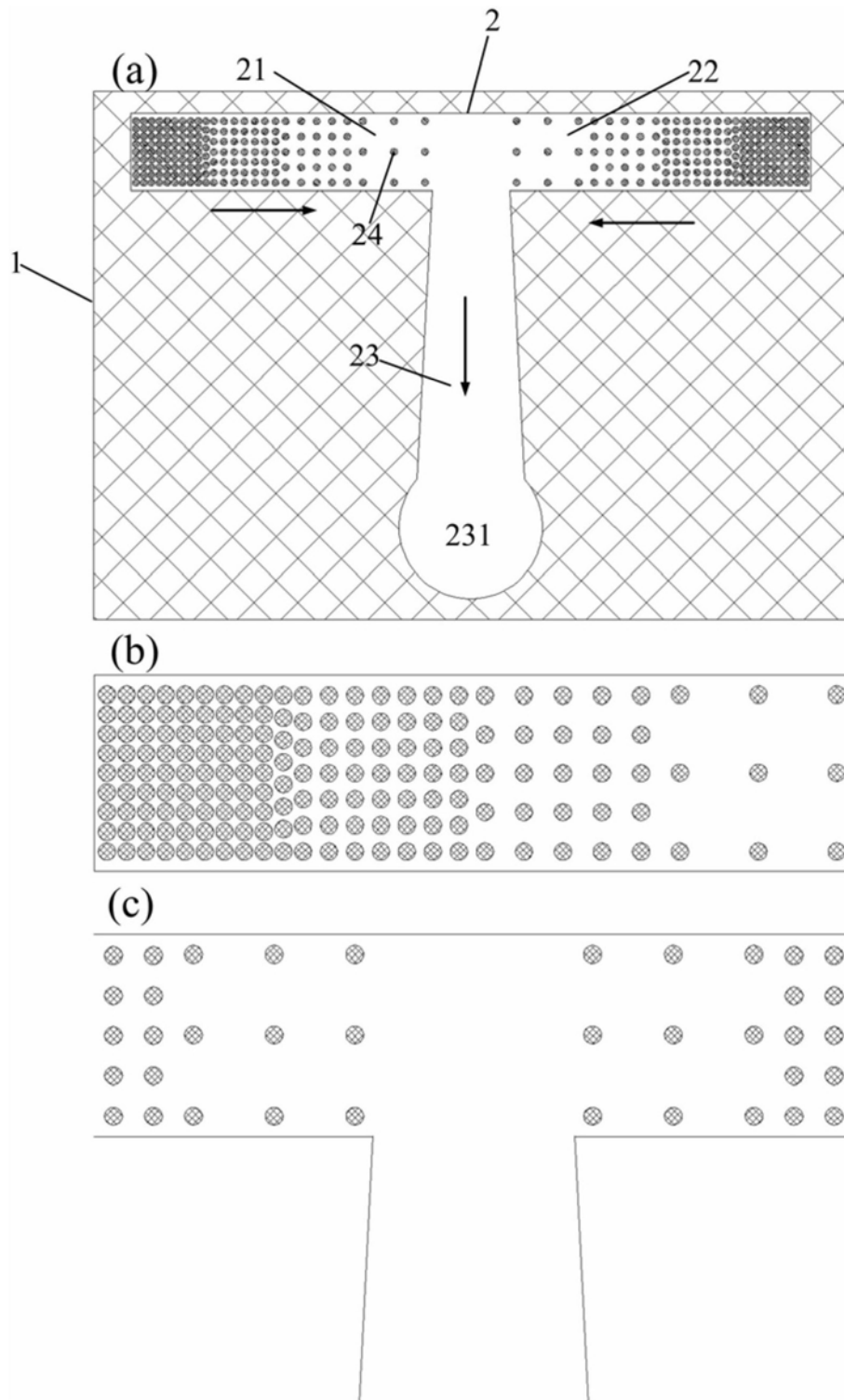


图1

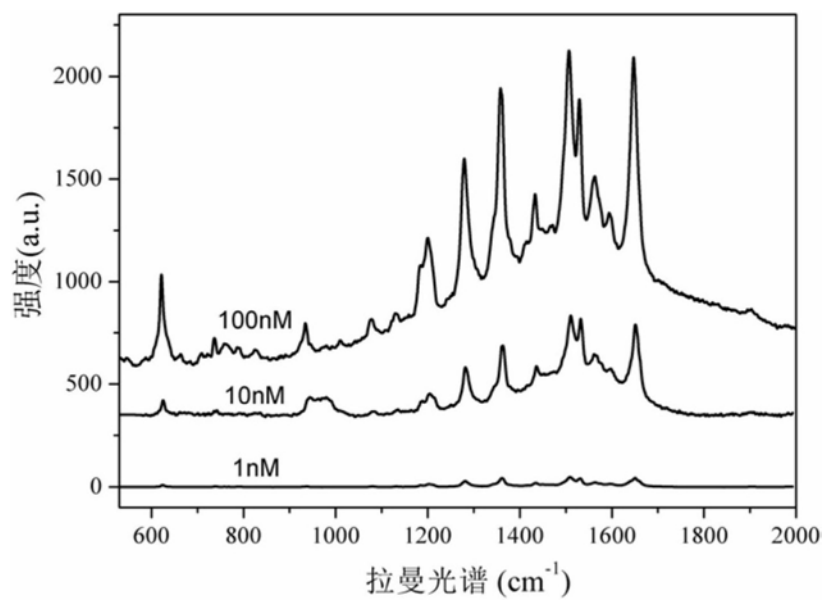


图2

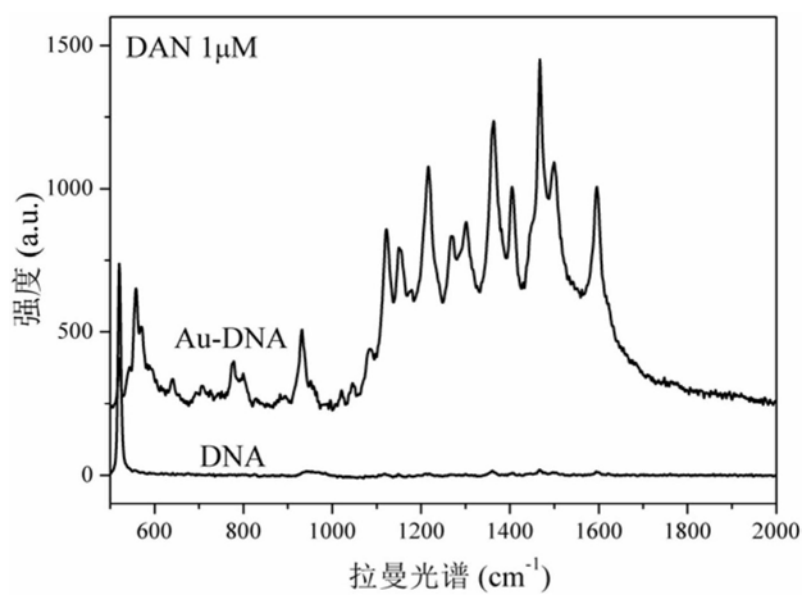


图3