

文章编号 1004-924X(2009)08-1902-06

# 微流体数字化喷点技术的实现

耿鑫, 侯丽雅, 章维一

(南京理工大学微系统研究室, 江苏南京 210094)

**摘要:**为了解决现有的微喷点技术中外接驱动设备过于庞大, MEMS 技术制作的微喷头结构复杂, 与生物样品的兼容性差等问题, 提出了新型脉冲惯性力驱动方式和无热源、无外部加压装置的微喷点系统用于微流体数字化喷点技术。介绍了微流体数字化喷点技术的驱动原理, 搭建了微喷点系统的实验平台; 然后, 实验研究了样品均一性和驱动参数对微喷点的影响, 并对实验数据进行分析 and 总结; 最后, 用黏度为  $4.13 \text{ mPa} \cdot \text{s}$  的点样液制作了密度为  $4\,000 \text{ 点}/\text{cm}^2$  的中等密度微阵列。实验结果表明: 样品点直径  $< 100 \mu\text{m}$ , 变异系数  $\text{CV} < 8\%$ , 完全可以满足微阵列制备技术的密度、样品点尺度和均一性的要求, 可供小型实验室使用。

**关键词:**微流体; 微喷点; 微阵列; 生物芯片

**中图分类号:** Q819; TH703 **文献标识码:** A

## Implementation of digital dispensing technology for microfluids

GENG Xin, HOU Li-ya, ZHANG Wei-yi

(*Institute of Micro System, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China*)

**Abstract:** A digital dispensing technology by using a pulse inertial force driven micro dispensing system without a heat resource and a pneumatic actuator for microfluids was presented to solve the existing problems on the huge external driving device, complicated configuration manufactured by MEMS technology and poor operability and compatibility with biological samples. The principle of digital dispensing technology of microfluids was introduced. Then, effects of the sample uniformity and driven parameters on dispensing technology were researched and the experimental data were analysed. Finally, the medium-density microarray was accomplished with the low viscosity liquid at  $4.13 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ . The experimental results show that the average diameter of spots is below  $100 \mu\text{m}$ , and the Coefficients of Variation (CV) for diameters of spots are clearly below the measurement error ( $8\%$ ). It can satisfy the microarray requirements for the density, uniformity and sizes of spots, and can be used in small laboratories.

**Key words:** microfluids; micro dispensing technology; microarray; biological chip

收稿日期: 2008-09-01; 修订日期: 2008-10-23.

基金项目: 国家教育部博士学科点专项科研基金资助项目 (No. 20060288005); 江苏省自然科学基金资助项目 (No. BK2007209)

## 1 引言

微阵列(Micro array)或生物芯片技术是随着“人类基因组计划(HGP)”的进展而发展起来的分子生物学里又一项里程碑式的重大技术革新。生物芯片技术也是一种高通量检测技术(HTS),能够实现现代药物检测和筛选的自动化,每天完成对数十万种化学物质的检测<sup>[1]</sup>。同时生物芯片技术在医学、生命科学、农业、环境科学等与生命活动有关的领域中均具有广阔的应用前景。

制作生物芯片微阵列的传统方法有两种:原位合成法和点样法。前者由于其操作过程复杂、制作流程长、所需试剂样品要求高、所需实验条件苛刻和受专利保护等原因越来越不受关注;后者由于其制作简单、容易操作和点样效率稳定等优势得到了迅猛的发展。然而在离位合成后点样微阵列芯片中,大量使用的点样仪体积庞大不利于携带,同时操作复杂、工作时间长、不便清洗,为了克服这些缺点,多种微喷点技术应运而生。

目前微喷点技术主要有接触式(Pin Printing)和非接触式(Inkjet Printing)两种。比较而言,非接触式喷点技术具有样品点定量准确、重现性好等优势,是主要的点样方法之一。现有的非接触式喷点技术按照驱动方式可分为气压驱动、热空气驱动、压电驱动、压力驱动和静电驱动等类型<sup>[2]</sup>。

微阵列制备技术主要用以下几个指标进行评价<sup>[3]</sup>:容量,密度,样品点尺度和均一性。样品点尺度是一个很重要的指标,因为它决定微阵列的密度。大多数接触式和非接触式点样设备制备的样品点的尺度为75~300  $\mu\text{m}$ 。

气压驱动主要以 Jens Ducree 等人提出的 TopSpot<sup>TM</sup> 技术,以及 Peter Koltay 等人提出的一种基于 Si 的 DWP<sup>TM</sup> (Dispensing Well Plate)<sup>[4-6]</sup> 系列样品分配装置为代表。气压驱动具有操作简便、制作工艺相对简单等优点,但是外接驱动设备过于庞大,无法与微喷阵列芯片集成,同时由于气压大小无法精确控制,并且在喷射过程中会有负压产生,会使微喷头内部产生气泡影响喷射质量。

热空气驱动虽然已成功应用到打印机技术中,但其制作工艺过于复杂,同时长期发热会影响生物样品活性,因而大大限制了其在生物领域中的应用。

压电驱动是通过在压电陶瓷施加电压,产生形变使得微喷头腔体的体积迅速发生变化,进而喷射出微滴。压电驱动在处理黏稠度较大的液体时显得非常困难,采用的解决办法是对喷头腔体进行加热,但加热会造成蛋白变性,所以对热敏感的样品无法进行点样。

压力驱动和压电驱动的机理相近,2004年,T Lindemann 等人<sup>[7]</sup>在发展了 PipeJet<sup>TM</sup> 技术的基础上制作了基于压力驱动的微喷装置,主要通过外力挤压活塞导致微管道变形使液滴从喷嘴处喷出。压力驱动的微喷装置和压电喷头都是基于 MEMS 技术制作而成,结构复杂且造价昂贵。另外,压电驱动装置的点样头固定在喷头上,上下运动时稍有不慎就会损坏压电喷头,操作起来安全性较低。

为了解决现有的微喷点技术中存在的问题,微流体数字化喷点技术采用新型的脉冲惯性力驱动方式和简洁的无热源、无外部加压装置的非接触式微喷点系统来满足微阵列制备技术的密度、样品点尺度和均一性、可操作性等要求。

本文搭建了微流体数字化喷点技术的实验平台,针对不同的低黏度点样液在同一驱动参数下,和同一黏度的点样液在不同驱动参数下进行微喷点基础实验研究,并且喷点出一个中等密度、样品点尺度和均一性都满足生物芯片要求的微阵列。

## 2 微流体数字化喷点技术的驱动原理和系统构成

### 2.1 微流体数字化喷点技术的驱动原理

微流体数字化喷点技术以脉冲惯性力作为液体喷射的主动动力<sup>[8-10]</sup>,其中脉冲惯性力可以通过各种人工手段来产生,如撞击、振动。本设计是通过给压电陶瓷驱动器加载脉冲电压来产生脉冲惯性力,并且由加载的电压波形控制脉冲惯性力的

大小和方向,从而精准地控制单次喷射液体的体积。

## 2.2 微流体数字化喷点实验的系统构成

微流体数字化喷点实验的系统构成如图 1 所示。

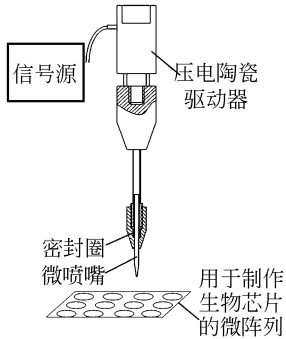


图 1 实验系统构成

Fig. 1 Structure of experimental system

实验系统采用压电陶瓷驱动器作为脉冲惯性力的动力源,压电驱动器选用德国 PI 公司的 P844.10(低压 100 V)型号。对 P844.10 压电驱动器的动态响应性和位移与电压特性进行了检验,得出压电陶瓷伸长距离与所加电压成线性关系。

本文设计的信号产生装置基于高性能、低功耗的 8 位 AVR 微处理器 ATmega8535(L),通过串口通讯与 PC 机相联。把任意一个周期波形中 1000 个等间隔采样得到的瞬时幅度的 12 位数字值,写入到单片机的两片外部存储器里,以分别存放数字信号的高四位和低八位,然后通过同步的时钟信号将两存储器单元里的数字值送到 12 位的 D/A 转换器上,经过数模转换和低通滤波输出平滑波形。最后,经过功率放大电路提高输出波形的电压和电流,来驱动压电陶瓷动作。信号源产生装置的具体构成如图 2 所示。

输出的驱动电压波形在一个周期内的数学表达式为:

$$U = at^2, (0 < t \leq T). \quad (1)$$

其中  $T = \frac{1}{f}$ , 为波形的周期。

$$a = \frac{u_{\max}}{T^2} = u_{\max} f^2, \quad (2)$$

$u_{\max}$  为驱动电压的幅值。

驱动电压波形如图 3 所示。

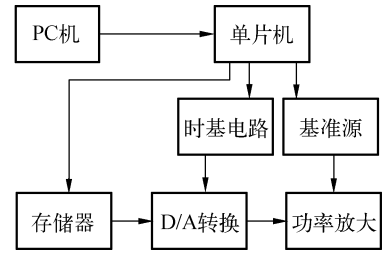


图 2 信号源产生装置的功能模块图

Fig. 2 Function modules of generating device of signal power

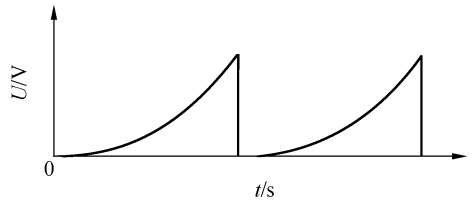


图 3 驱动电压波形

Fig. 3 Driving voltage waveform

驱动电压波形坐标图形的横轴代表电压波形的相位,纵轴代表输出电压。驱动电压波形在  $t=T$  时,压电陶瓷驱动器有一个数值很大(理论上是无穷大)的负向加速度,于是微喷头内的液体受到一个较大的惯性力,克服黏性力和表面张力的作用使液体喷出。其实压电陶瓷就相当于一个电容,在  $t=T$  时它不能瞬间放电到 0 V,这个放电常数  $\tau$  是由功放的输出电阻和压电陶瓷自身电容所决定的,因此微喷头得到的负向加速度并非理论上的无穷大,而是由驱动电压幅值和压电陶瓷的放电常数所决定的。

这个加速度的大小可以由下式得出:

$$\frac{1}{2} a \tau^2 = \delta U, \quad (3)$$

$$a = \frac{2\delta U}{\tau^2}. \quad (4)$$

其中: $\delta$  是压电陶瓷位移-电压的线性系数, $U$  为驱动电压的幅值。由这个恒定的加速度提供一个恒定惯性力,于是单次喷出的液体体积是恒定的。

## 3 微流体数字化喷点实验

### 3.1 同一驱动参数下的微喷点均一性实验

本节针对 3 种黏度不同的点样液,在同一种

驱动电压和频率下进行微喷点实验。通过计算样点直径的变异系数,来验证微流体数字化喷点技术是否满足生物芯片制备中样品点均一性的要求。其中微喷头的端口内径为  $160\ \mu\text{m}$ ,点样液为 3 种低黏度的甘油水溶液,载玻片用 pinen 溶液进行了疏水化处理,微喷头到载玻片的距离为  $2.0\ \text{mm}$ 。

驱动电压幅值为  $50\ \text{V}$ ,驱动频率为  $2\ \text{Hz}$ 。针对每种黏度的液体,分别记录了 10 个样点直径的样本数据,并求出样点直径的变异系数  $CV$ 。

$$CV = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%, \quad (5)$$

$S$  为样本的标准差, $\bar{x}$  为样本的平均值。

实验结果如表 1 所示:

表 1 3 种黏度的液体在同样喷射参数下的  $CV$  值

Tab. 1  $CV$  for liquids with three different viscosities at the same driving parameters

点样液的黏度 ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ )	$CV$	样点直径 ( $\mu\text{m}$ )				
1.50	4.517%	215.0	231.2	237.5	231.2	
2.28	7.975%	288.7	281.2	306.2	325.0	
4.13	6.865%	237.5	256.2	250.0	252.5	
			样点直径 ( $\mu\text{m}$ )			
250.0	222.5	231.2	236.2	240.0	247.5	
325.1	337.5	318.7	281.2	268.7	281.2	
272.5	287.5	272.5	275.0	293.7	285.0	

由表 1 可以看出,3 种低黏度的点样液在采用微流体数字化喷点技术进行点样实验时,样点直径的变异系数都没有超过  $8\%$ ,具有良好的稳定性。

### 3.2 驱动参数对微喷点的影响

本节主要说明驱动电压与样点直径的关系和驱动频率对微喷射稳定性的影响。

#### 3.2.1 驱动电压与样点直径的关系

实验条件:微喷头的端口内径为  $100\ \mu\text{m}$ ,点样液为  $35\%$  甘油水溶液,载玻片用 pinen 溶液进行了疏水化处理,微喷头到载玻片的距离为  $2.0\ \text{mm}$ 。测得驱动电压与样点直径的数据如表 2 所示,样点直径与驱动电压的关系如图 4 所示。

表 2 驱动电压对样点直径的影响

Tab. 2 Impacts of driving voltages on spot diameters

驱动电压 ( $\text{V}$ )	样点直径 ( $\mu\text{m}$ )					平均值
	样点 1	样点 2	样点 3	样点 4	样点 5	
50	200	204	198	200	202	200.8
55	233	228	230	236	226	230.6
60	261	264	258	260	256	259.8
65	272	267	268	273	270	270.0
70	281	282	278	277	284	280.4
75	293	291	290	288	289	290.2
80	301	302	299	298	300	300.0

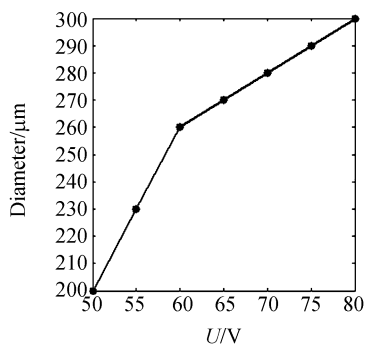


图 4 样点直径与驱动电压的关系

Fig. 4 Relationship between diameters of spots and driving voltages

由表 2 和图 4 得出:在喷嘴结构参数、液体黏度等一定的情况下,存在一阈值驱动电压,决定液滴是否能够喷出。超过该阈值电压后,液滴体积与驱动电压成阶段线性关系,图 4 中在驱动电压为  $50\sim 60\ \text{V}$  和  $60\sim 80\ \text{V}$  两段,液滴体积随驱动电压增加呈线性增大。

#### 3.2.2 驱动频率对喷射稳定性的影响

实验条件:微喷头的端口内径为  $100\ \mu\text{m}$ ,点样液为  $30\%$  甘油水溶液,载玻片用 pinen 溶液进行了疏水化处理,微喷头到载玻片的距离为  $2.0\ \text{mm}$ 。在不同频率下测得的实验数据如表 3 所示。

由表 3 可以得出:在微喷点过程中,驱动频率对气泡的产生有很大的影响。微喷头参数一定的情况下,要实现喷射稳定均匀、不产生气泡,必须采用与驱动频率最优组合的驱动电压。如第 1 组实验,驱动频率为  $2\sim 10\ \text{Hz}$ ,稳定喷射的驱动电压为  $20\sim 40\ \text{V}$ ;第 5 组实验,驱动频率在  $35\sim 40\ \text{Hz}$  时,稳定喷射的驱动电压为  $50\sim 60\ \text{V}$ 。

表 3 驱动频率对微喷射稳定性的影响

Tab. 2 Impacts of driving frequencies on microjet stability

实验组号	驱动频率 (Hz)	实验数据			
		未喷出无气泡	喷射稳定均匀	未喷出有气泡	喷出有气泡
1	2~10	驱动电压<20 V	20 V<驱动电压<40 V	40 V<驱动电压<80 V	
2	10~25	驱动电压<20 V	20 V<驱动电压<50 V	60 V<驱动电压<80 V	50 V<驱动电压<60 V
3	25~30	驱动电压<20 V 30 V<驱动电压<40 V	40 V<驱动电压<50 V		50 V<驱动电压<80 V 20V<驱动电压<30V
4	30~35	驱动电压<20 V 30 V<驱动电压<50 V	50 V<驱动电压<70 V		70 V<驱动电压<80 V 20 V<驱动电压<30 V
5	35~40	驱动电压<20 V 30 V<驱动电压<50 V	50 V<驱动电压<60 V	20 V<驱动电压<30 V	60 V<驱动电压<80 V
6	40~45	驱动电压<20 V 30 V<驱动电压<60 V	20 V<驱动电压<30 V	60 V<驱动电压<70 V	70 V<驱动电压<80 V
7	45~50	驱动电压<20 V 30 V<驱动电压<70 V	70 V<驱动电压<80 V	20 V<驱动电压<30 V	

### 3.3 微流体数字化喷点技术制作微阵列

图 5 为微流体数字化喷点技术制作的中等密度的微阵列。检测结果为:样点直径 $<100\ \mu\text{m}$ ,样点基本圆整,密度为 $4\ 000\ \text{点}/\text{cm}^2$ ,样点间距为 $160\ \mu\text{m}$ 。

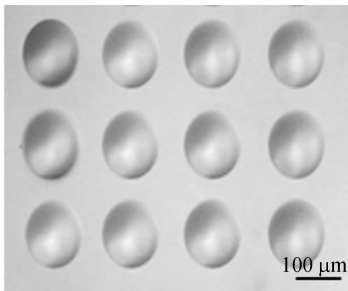


图 5 中等密度的微阵列

Fig. 5 Microarray with medium-density

## 4 结 论

本文搭建了微流体数字化喷点技术的实验

平台,制作了产生驱动电压波形的信号源和功率放大装置,并通过驱动压电陶瓷产生脉冲惯性力来实现数字化微喷射。整个实验平台无热源和外部加压装置,不影响点样液的化学性质,能够对低黏度液体实现稳定地微喷点,样点直径的变异系数小于测量误差 $8\%$ ,满足生物微阵列制备的样品点尺度和均一性的要求。

研究了在微喷头结构参数固定的情况下,驱动电压和驱动频率对微喷射的影响。实验结果表明:可通过改变驱动电压的大小来控制样点的直径;选择驱动电压和驱动频率的最优组合能够实现均匀稳定地喷点。

采用微流体数字化喷点技术制作了中等密度的微阵列,密度为 $4\ 000\ \text{点}/\text{cm}^2$ ,完全可以满足小型实验室制作生物芯片微阵列的要求。

### 参考文献:

[1] KOLTAY P, BOHL B, STEGER R, *et al.*. Dis-

pensing well plate (DWP): a highly integrated nanoliter dispensing system[C]. *The 12th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators*

and *Microsystems*, Boston, 2003;16-19.

- [2] 乔治,金庆辉,许宝建,等. 基于MEMS的生物微喷点样技术研究现状与展望[J]. *微纳电子技术*, 2006,10:483-486.

QIAO ZH, JIN Q H, XU B J, *et al.*. Development and review of MEMS-based bio-micro-dispensers technology [J]. *Micronanoelectronic Technology*, 2006,10:483-486. (in Chinese)

- [3] 谢纳,张亮. 生物芯片分析[M]. 北京:科学出版社,2004:140-144.

XIE N,ZHANG L. *Biochip Analysis*[M]. Beijing: Science Press, 2004;140-144. (in Chinese)

- [4] DUCREE J, GRUHLER H, HEY N, *et al.*. TOPSPOT-A new method for the fabrication of microarrays[C]. *Proceeding of the IEEE MEMS 2000. Miyazaki, Japan*, 2000;317-322.

- [5] KOLTAY P, BIRKENMEIER B, STEGER R, *et al.*. Massive parallel liquid dispensing in the nanoliter range by pneumatic actuation[C]. *Proc. Actuator 2002. Bremen, Germany*, 2002;235-239.

- [6] KOLTAY P, STEGER R, BOHL B, *et al.*. The dispensing well plate: a novel nanodispenser for the multiparallel delivery of liquids (DWP Part I) [J]. *Sensors and Actuators A*, 2004, 116: 483-491.

- [7] LINDEMANN T, STREULE W, BIRKLE G, *et al.*. PipeJet: a simple disposable dispenser for the nanoliter range[C]. *Actuator 2004. Bremen, Germany*, 2004;14-16.

- [8] 章维一,侯丽雅. 微流体数字化的科学与技术问题(D):概念、方法和效果[J]. *科技导报*,2005,23(8):4-9.

ZHANG W Y, HOU L Y. Scientific and technological problems of digitalization of microfluids (part D): concepts, methods and results [J]. *Science & Technology Review*, 2005, 23 (8): 4-9. (in Chinese)

- [9] 章维一,侯丽雅. 影响流体流动的方法及其装置和应用;中国CN03152948.8[P].2004-08-25.

ZHANG W Y, HOU L Y. *Method and device interfering fluidic flow and their applications*: CN03152948.8[P]. 2004-08-25. (in Chinese)

- [10] 张晓乐,侯丽雅,章维一. 玻璃三通微流体管道热流变控制仪设计及实验[J]. *光学精密工程*, 2008,16(9):1706-1711.

ZHANG X L, HOU L Y, ZHANG W Y. Design and experiment of hot rheologic deformation puller for fabricating vitreous three-way microchannel [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2008, 16 (9): 1706-1711. (in Chinese)

#### 作者简介:



耿鑫(1982-)男,江苏沛县人,2005年于南京理工大学获得学士学位,现为南京理工大学机械工程学院博士研究生,主要研究方向为微流体数字化喷点技术和新型微喷嘴的制作。E-mail: suyu\_xinxin@sohu.com

章维一(1943-),男,浙江临海人,教授,1966年毕业于浙江大学,1981年于东华大学获得硕士学位,1990年于北京航空航天大学获得博士学位,现为南京理工大学微系统研究室主任,主要从事微系统与纳米系统、生物制造工程、医学工程等方面的研究。E-mail: zhangweiyi\_email@163.com

#### 导师简介:

侯丽雅(1954-),女,江西余干人,教授,1984年于北京航空航天大学获得硕士学位,1995年于日本法政大学获得工学博士学位,现为南京理工大学微系统研究室主任,主要从事微系统与纳米系统、生物制造工程、机器人与自动控制技术等方面的研究。E-mail: hou\_liya@hotmail.com