

Stanovení ζ -potenciálu a elektroosmotické mobility v mikrofluidním čipu – [ZP]

1. Úvod

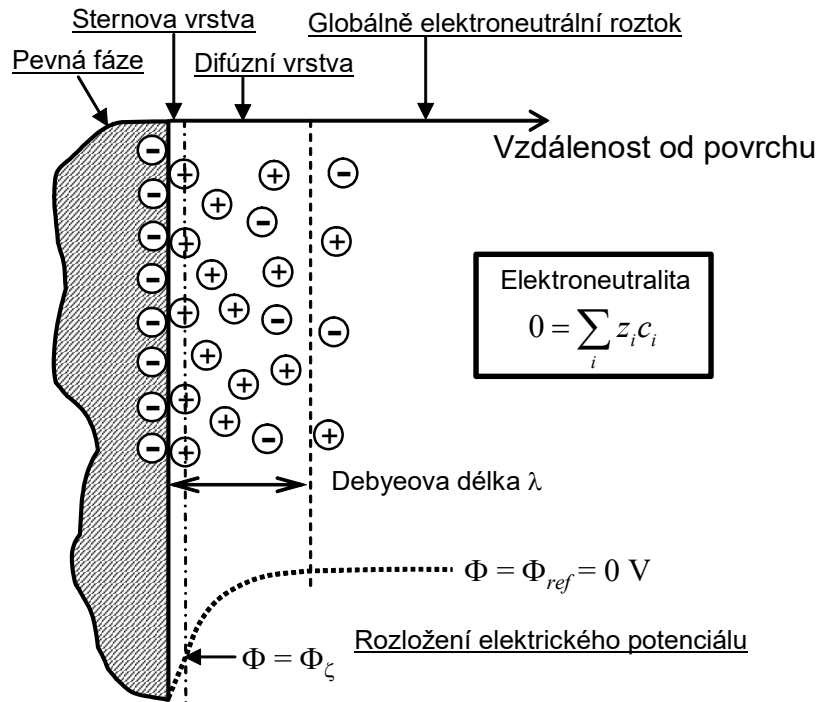
V mikrofluidních aparátech proudí kapalné nebo plynné médium soustavou mikrokanálových struktur [1-2]. Zpravidla je tekutina dávkována do aktivní části mikrofluidního čipu, kde dochází k chemické nebo biochemické transformaci nebo ke sdílení hmoty a tepla na fázovém rozhraní. Přesnost a reprodukovatelnost dávkování tekutin je tak jedním ze základních předpokladů pro uskutečňování mikrofluidních aplikací.

K dávkování kapalin v mikrofluidních aparátech jsou využívána buď mechanická (tlaková) čerpadla nebo transport indukovaný vloženým elektrickým polem (elektrokinetický transport). Velkým problémem tlakových čerpadel může být razantní nárůst tlakové ztráty v delších mikrokanálcích malého průřezu. Například při čerpání vody kanálkem dlouhým 1 m o průměru 10 μm rychlostí 10 mm s^{-1} činí tlaková ztráta přibližně 3,2 MPa. Překonání obdobné tlakové ztráty vyžaduje zapojení výkonného, například pístového, čerpadla.

Elektrokinetický tok kapaliny vzniká působením elektrických sil na elektrický náboj lokalizovaný například na rozhraní kapalné a pevné fáze. V makrosystémech obvykle není elektrokinetický transport pozorován, protože tlakový nebo výškový spád mají na tok tekutiny mnohem významnější vliv. V mikroměřítku je však elektrokinetický tok často dominantním mechanismem transportu hmoty. Využívání elektrokinetického toku nevyžaduje začlenění žádného mechanického čerpadla. Elektrokinetický transport má také své nevýhody: je nutno připojit vysokonapěťový zdroj, na elektrodách může vznikat elektrodový plyn, intenzita toku je závislá na koncentraci transportovaného elektrolytu a na koncentraci fixovaného elektrického náboje na povrchu mikrokanálek atd.

2. Teorie

Vznik elektrokinetického transportu je podmíněn existencí vázaného elektrického náboje (například záporného) na povrchu stěn mikrokanálek [3]. Tento náboj může vzniknout například disociací některých chemických funkčních skupin materiálu smočeného roztokem vodného elektrolytu. Na skleněných površích disociují skupiny Si-OH na Si-O⁻ a uvolněné vodíkové ionty přecházejí do okolního elektrolytu. Také u řady organických polymerů (PS, PMMA, PDMS aj.) je pozorován vznik vázaného elektrického náboje. Fixovaný záporný elektrický náboj přitahuje opačně nabitě ionty z elektrolytu. Vzniká tak oblak kladného náboje ve vrstvě elektrolytu přilehlé těsně ke stěně kanálku. Část kladného náboje se pevně váže elektrostatickými silami k povrchu materiálu (Sternova vrstva) a část zůstává pohyblivá v elektrolytu (difúzní vrstva). Celá oblast s nenulovým (kladným) elektrickým nábojem se nazývá elektrická dvojvrstva (EDL z anglického „electric double layer“). Tloušťka Sternovy vrstvy je velmi malá a je přibližně dána poloměrem iontů. V oblasti vzdálenější od povrchu pevné fáze se kapalina chová elektroneutrálně, tj. její celkový elektrický náboj je nulový (obr. 1).



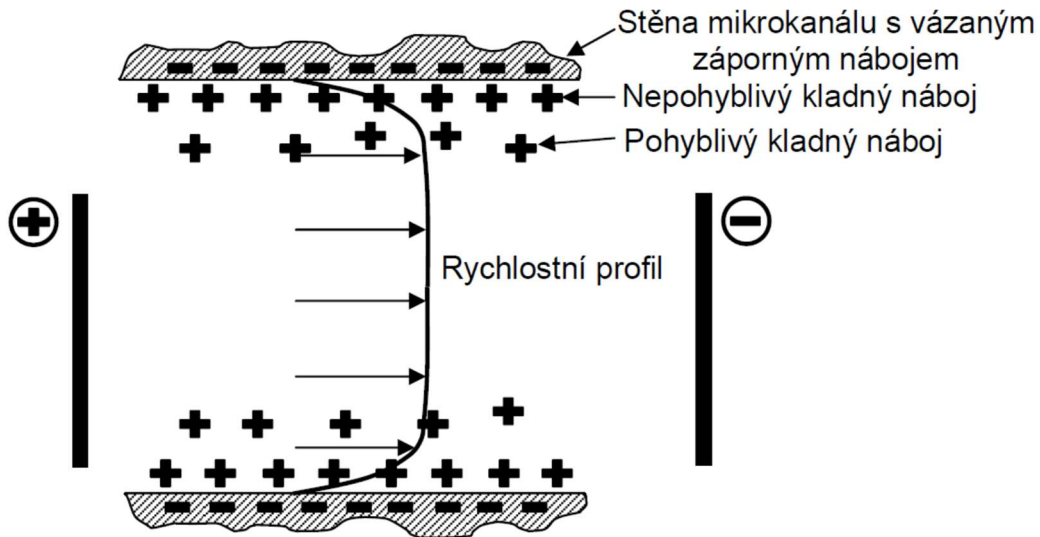
Obr. 1. Charakteristiky elektrické dvojvrstvy u povrchu pevné fáze

Tloušťka difúzní části EDL se pohybuje v závislosti na celkové koncentraci použitého elektrolytu obvykle v rozmezí 1 nm – 1 μm a je označována jako Debyeova délka. V případě uni-uni-valentního elektrolytu, například roztoku chloridu draselného, lze tloušťku difúzní vrstvy odhadnout ze vztahu

$$\lambda = 1/\gamma = \sqrt{\frac{RT\varepsilon}{2c_0F^2}}, \quad (1)$$

kde symboly R , T , ε , c_0 a F označují molární plynovou konstantu, absolutní teplotu, permitivitu prostředí, koncentraci elektrolytu a Faradayovu konstantu. Obecně platí, že čím je nižší koncentrace elektrolytu, tím větší je Debyeova délka. Reciproká hodnota Debyeovy délky λ je nazývána Debyeovým-Hückelovým parametrem.

Pokud je na mikrokanálek s EDL vloženo axiálně orientované elektrické pole, pohyblivá část kladného náboje v difúzní části EDL je uvedena do pohybu směrem k záporně nabitě elektrodě. Pohyblivý oblak iontů působí při svém pohybu viskózními silami na okolní tekutinu, která je takto uvedena do pohybu ve stejném směru. Výsledkem je elektrokinetický tok tekutiny indukovaný vloženu diferencí elektrického potenciálu (obr. 2). Protože mikrofluidní struktury mohou být mnohokanálkové (například DNA čipy obsahují až desetitisíce detekčních míst), elektrokinetického transportu může být využito k cílenému adresování vzorku do libovolné části složitého zařízení. Podmínkou je pouze vložení rozdílu elektrického potenciálu mezi zdrojový a cílový rezervoár mikrofluidního čipu.



Obr. 2. Princip vzniku elektroosmotického toku elektrolytu

Pro popis elektrokinetického toku v konkrétním mikrofluidním zařízení jsou důležité další dvě charakteristiky: zeta-potenciál (ζ) a elektroosmotická mobilita (μ_{eo}). Hodnota elektroosmotické mobility určuje, jaké rychlosti elektrokinetického toku v lze dosáhnout při vložení jednotkového gradientu elektrického potenciálu tečného k povrchu mikrokanálu

$$v = -\mu_{eo} \frac{d\Phi}{dx} \quad (2)$$

Na obr. 2 je naznačeno, že rychlostní profil charakteristický pro elektroosmotický tok mikrokanálkem je plochý kromě oblasti EDL, kde lze pozorovat postupný pokles rychlosti až na nulovou hodnotu na stěně. Elektroosmotická mobilita tedy nevystihuje elektroosmotický tok zcela přesně a popisuje jeho charakter pouze mimo EDL, tj. v oblasti plochého rychlostního profilu. Vzhledem k tomu, že rozměr elektrické dvojvrstvy bývá o několik řádů menší než průměr mikrokanálků, zanedbání popisu dějů uvnitř EDL je zpravidla přijatelné.

Pokud je na pevné fázi vázán záporný elektrický náboj, hodnoty elektrického potenciálu vztažené na referenční hodnotu elektrického potenciálu v jádru elektrolytu klesají směrem k povrchu. Pokles elektrického potenciálu je znatelný až uvnitř EDL, kde je lokalizován přebytek kladného náboje. Na rozhraní difúzní a nepohyblivé části EDL, na tzv. Sternově ploše, je hodnota elektrického potenciálu rovna zeta-potenciálu (obr. 1). Vztah mezi zeta-potenciálem a elektroosmotickou mobilitou je dán vztahem

$$\mu_{eo} = -\frac{\varepsilon \zeta}{\eta} \quad (3)$$

kde η je dynamická viskozita elektrolytu.

Elektroosmotická mobilita nezávisí na vloženém napětí, a tedy rychlost elektroosmotického toku je přímo úměrná gradientu elektrického potenciálu podle rovnice (2). Elektroosmotická mobilita však obecně závisí na koncentraci použitého elektrolytu. V praxi se tato závislost aproximuje pomocí dvou rovnic

$$\mu_{eo} = k_0 + k_1 \ln(c_0), \quad (4)$$

$$\mu_{eo} = k_2 + k_3 c_0^{-0.5}, \quad (5)$$

kde k_0 až k_3 jsou empirické konstanty. Zatímco vztah (4) lépe vystihuje koncentrační závislost při velkých hodnotách zeta-potenciálu (v absolutní hodnotě), rovnice (5) je použitelná, pokud absolutní hodnota zeta-potenciálu není o mnoho vyšší než 25 mV.

3. Cíle práce

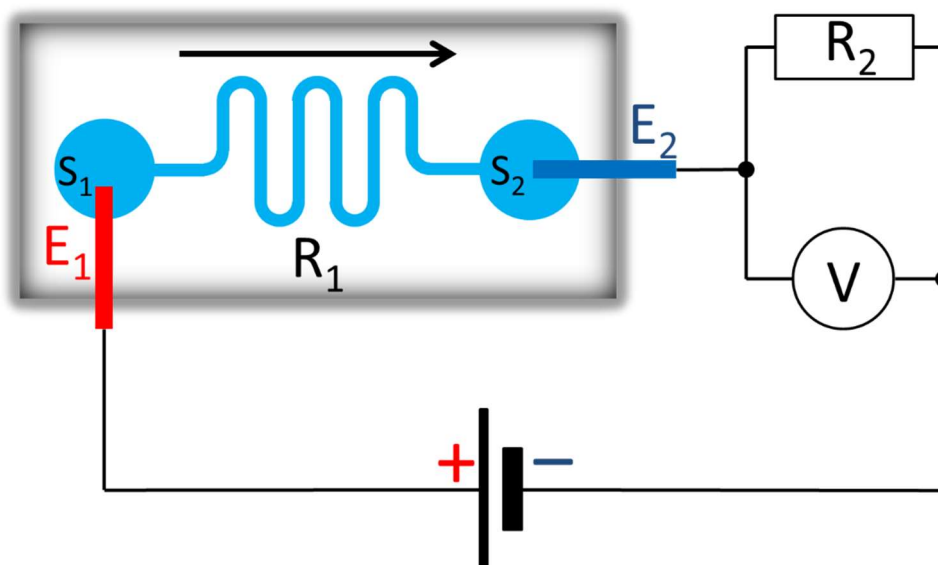
- 1) Pomocí metody měření elektrického proudu (tzv. vodivostní metody) odhadněte hodnoty elektroosmotické mobility a zeta-potenciálu v mikrofluidním čipu při zadaných podmínkách.
- 2) Získejte závislost rychlosti elektroosmotického toku a elektroosmotické mobility na intenzitě vloženého elektrického pole.
- 3) Získejte závislost rychlosti elektroosmotického toku a elektroosmotické mobility na koncentraci použitého elektrolytu.

4. Popis experimentálního uspořádání

Měření elektroosmotické mobility je uskutečňováno v mikrofluidním čipu tvořeném jedním meandrujícím mikrokanálkem a dvěma rezervoáry S_1 a S_2 (obr. 3). Princip metody je založen na použití dvou různě koncentrovaných elektrolytů [4]. Pokud je na mikrokanálek vloženo konstantní napětí pomocí elektrod E_1 a E_2 a mikrokanálek je naplněn elektrolytem konstantního složení, je možno měřit procházející elektrický proud. Velikost procházejícího elektrického proudu je dána koncentrací (vodivostí) použitého elektrolytu. Elektrický proud je měřen nepřímo s využitím pomocného elektrického odporu R_2 a voltmetru V . Procházející proud je dopočtem z Ohmova zákona při znalosti hodnoty elektrického odporu R_2 a odečteného napětí na voltmetru. Pro přesné měření je nutno zajistit, aby velikost odporu R_2 byla mnohem menší než vnitřní odpor voltmetru.

Po změření ustálené hodnoty elektrického proudu je do vstupního rezervoáru S_1 uveden nový elektrolyt o vyšší nebo nižší koncentraci než měl původní elektrolyt. Poznamenejme, že rezervoár S_1 bude vstupním rezervoárem pouze tehdy, jestliže dodržíme polaritu vloženého napětí totožnou s obr. 3 a na stěnách mikrokanálku bude vázán záporný elektrický náboj (obvyklá situace). Nový elektrolyt je elektroosmotickým mechanismem transportován mikrokanálkem směrem k výstupnímu rezervoáru S_2 . V průběhu natékání nového elektrolytu dochází ke snižování nebo zvyšování hodnoty měřeného elektrického proudu, protože se postupně mění elektrická vodivost roztoku vyplňujícího mikrokanálek.

Po zaplnění mikrokanálku novým elektrolytem po celé délce meandru, dojde opět k ustavení konstantní hodnoty elektrického proudu.

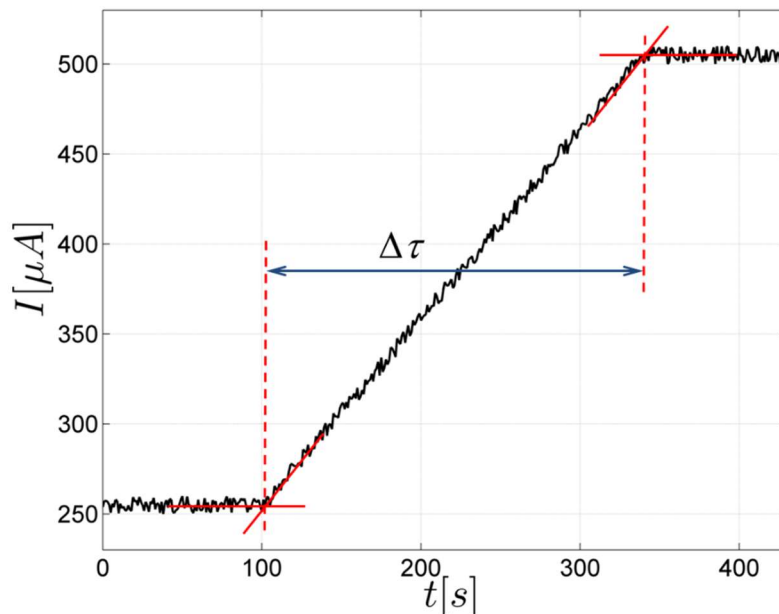


Obr. 3. Základní schéma zařízení určeného k experimentálnímu stanovení elektroosmotické mobility a zeta-potenciálu. S_1 – vstupní rezervoár, S_2 – výstupní rezervoár, E_1 – anoda, E_2 – katoda, R_1 – elektrický odpor představovaný elektrolytem mezi katodou a anodou, R_2 – pomocný elektrický odpor, V – voltmetr k měření elektrického napětí na odporu R_2 pro nepřímé určení procházejícího elektrického proudu. Šipka naznačuje směr toku elektrolytu meandrujícím mikrokanálkem.

5. Postup práce

- 1) Ze zásobního roztoku chloridu draselného o celkové molaritě 200 mM připravte 10 ml experimentálních roztoků o koncentracích 200mM, 100 mM, 50 mM, 25 mM, 12,5 mM. K ředění použijte deionizovanou vodu.
- 2) Pomocí multimetru změřte hodnotu pomocného elektrického odporu R_2 . Zjistěte laboratorní teplotu.
- 3) Mikrofluidní čip naplňte pomocí injekční stříkačky roztokem 100 mM pufru. Oba rezervoáry musí být před měřením naplněny přibližně do stejné výšky. Čip musí být položen vodorovně, aby nedošlo k ovlivnění měření vlivem hydrostatického tlaku.
- 4) Experimentální čip zapojte do elektrického obvodu podle schématu na obr. 3. Velkou pozornost věnujte umístění elektrod do rezervoáru, aby nemohlo dojít k jejich vypadnutí v průběhu měření.
- 5) **POZOR! V žádném případě se v průběhu celého měření nedotýkejte živých součástí elektrického obvodu, pracujete pod vysokým napětím!!! Zapnutí zdroje stejnosměrného proudu, přístroje pro sběr dat a obslužného počítače provede asistent.**
- 6) Asistent vám též vysvětlí obsluhu programu pro sběr dat. Napětí na zdroji nastavte na základní hodnotu podle vašeho zadání. Průběžný záznam měření by měl ukazovat rychlé ustalování hodnoty protékajícího elektrického proudu.

- 7) Po dosažení ustálené hodnoty elektrického proudu je nutno provést několik kroků v rychlém sledu. Zdroj vysokého napětí musí být vypnut. Ze vstupního rezervoáru odsajete pomocí filtračního papíru 100 mM pufr a rezervoár naplníte pufrm o koncentraci 200 mM. Poté je opět zapnut vysokonapěťový zdroj a vloženo základní napětí.
- 8) Krátkodobé vypnutí vysokonapěťového zdroje způsobí přechodný pokles protékajícího elektrického proudu až na nulovou hodnotu. Po jeho opětovném zapnutí je možno pozorovat velmi rychlý nárůst proudu na původní hodnotu. Postupné natékání více koncentrovaného elektrolytu způsobuje snižování elektrického odporu uvnitř mikrokanálku, a tak zvyšování hodnoty procházejícího elektrického proudu, který je zaznamenáván. V okamžiku, kdy je kapilára zcela zaplněna novým roztokem, je pozorováno ustavení nové konstantní hodnoty elektrického proudu, obr 4.
- 9) Po dosažení ustálené hodnoty elektrického proudu je základní experiment ukončen. Stejný experiment zopakujte ještě dvakrát. Data jsou uložena do souboru a vysokonapěťový zdroj je vypnut. Tím je splněn cíl 1.
- 10) Měření opakujte při základním napětí pro všechny koncentrace připravených roztoků. Čip nemusí být mezi jednotlivými experimenty proplachován, stačí měnit (odsátím a naplněním) koncentrace pufru ve vstupním rezervoáru, a to postupně od nejnižší k nejvyšší koncentraci. Tím je splněn cíl 2.
- 11) Dle vašeho zadání zopakujte měření s předepsanou koncentrací pufru při různých hodnotách vloženého napětí. Při měření nahrazujte předepsaný pufr ve vstupním rezervoáru pufrm o dvojnásobné koncentraci. Tím je splněn cíl 3.
- 12) Po ukončení měření zavolejte asistenta, který vypne a zkontroluje všechny přístroje.



Obr. 4. Dynamický průběh typického experimentu. Trvání nárůstu měřeného proudu $\Delta\tau$ odpovídá době potřebné pro transport elektrolytu mikrokanálkem. Červenými čarami jsou znázorněny asymptoty potřebné pro určení doby transportu.

6. Zpracování výsledků

Doba trvání nárůstu hodnoty elektrického proudu odpovídá době, která je potřeba k elektrokinetickému transportu elektrolytu mikrokanálkem o známé délce. Z experimentálně naměřené závislosti elektrického proudu na čase je nutno tuto dobu určit. Protože výsledná proudová odezva není zcela lineární, dobu trvání nárůstu elektrického proudu je nutno určit pomocí asymptot (obr. 4). Dvě asymptoty jsou definovány jako lineární (obvykle konstantní) závislosti elektrického proudu na čase při kompletním naplnění kapiláry jedním nebo druhým elektrolytem. Další dvě asymptoty jsou definovány přímkami, jejichž směrnice jsou dány rychlostí nárůstu elektrického proudu na čase po uvedení koncentrovanějšího roztoku do mikrokanálku a před kompletním naplněním mikrokanálku. Asymptoty můžete zkonstruovat sami nebo pomocí interaktivního programu pro vyhodnocování experimentálního měření. Zjištěný časový interval nárůstu elektrického proudu $\Delta\tau$ poté určuje hodnotu pozorované elektroosmotické konvektivní rychlosti podle rovnice

$$v = l/\Delta\tau, \quad (6)$$

kde l je délka mikrokanálku. Spojením rovnic (2) a (6) je možno získat vztah

$$\frac{l}{\Delta\tau} = -\mu_{eo} \frac{d\Phi}{dx}. \quad (7)$$

Distribuce gradientu elektrického potenciálu v mikrokapiláře závisí na rozložení vodivosti. Protože při nátoce koncentrovanějšího elektrolytu není distribuce elektrické vodivosti rovnoměrná, není konstantní ani gradient elektrického potenciálu. Přesto bývá dobrou aproximací vztahu (7) rovnice

$$\frac{l}{\Delta\tau} \approx \mu_{eo} \frac{\Delta\Phi}{l}, \quad (8)$$

kde $\Delta\Phi$ je vložené napětí. Rovnici (8) lze přepsat do tvaru vhodného pro výpočet elektroosmotické mobility

$$\mu_{eo} = \frac{l^2}{\Delta\Phi\Delta\tau}. \quad (9)$$

Elektroosmotickou mobilitu lze při znalosti vložené hodnoty elektrického napětí, doby nárůstu elektrického proudu a délky mikrokapiláry odhadnout z rovnice (9). Hodnota zeta-potenciálu může být vypočtena z rovnice (3).

Pro splnění bodů 2 a 3 zadání je nutno sestavit celkem 5 grafů naměřených závislostí konvektivní rychlosti a elektroosmotické mobility na vloženém napětí a na koncentraci. Při prokládání experimentálních dat teoretickými závislostmi uveďte zjištěné hodnoty

konstant. Protože se v průběhu každého měření koncentrace mění, na osu x vynášejte vždy aritmetický průměr počáteční a konečné koncentrace ve vstupním rezervoáru.

Dodejte tyto grafy:

1. Závislost konvektivní rychlosti v na vloženém napětí $\Delta\Phi$. Závislost proložte přímkou.
2. Závislost elektroosmotické mobility μ_{eo} na vloženém napětí $\Delta\Phi$. Závislost proložte konstantní funkcí.
3. Závislost konvektivní rychlosti v na koncentraci elektrolytu c_0 . Závislost neprokládejte.
4. Závislost elektroosmotické mobility μ_{eo} na přirozeném logaritmu koncentrace elektrolytu, rovnice (4). Závislost proložte přímkou.
5. Závislost elektroosmotické mobility μ_{eo} na převrácené hodnotě druhé odmocniny koncentrace elektrolytu, rovnice (5). Závislost proložte přímkou.

7. Bezpečnostní pokyny

Během měření budete pracovat se zdrojem vysokého napětí. Zdroj je vybaven proudovou ochranou, přesto není dovoleno se během měření dotýkat živých částí elektrického obvodu nebo měnit hodnotu proudové ochrany 2 mA. Při práci mějte suché ruce. Při měření musí být zajištěna trvalá přítomnost nejméně dvou osob u aparatury. Během plnění a výměny roztoků v rezervoárech mikrofluidního čipu musí být zdroj napětí vypnut. Pokud dojde k průniku roztoků mimo mikrofluidní čip, ihned vypněte zdroj napětí.

Asistent zapne přístroj a nastaví proudovou ochranu (maximální povolenou hodnotu procházejícího elektrického proudu) na hodnotu 2 mA. Studentům je v průběhu měření povoleno měnit vkládané napětí. Proudová ochrana musí být zachována. Uvedení zdroje, přístroje pro sběr dat i obslužného počítače do chodu provede asistent. Asistent vysvětlí posluchačům ovládání přístrojového vybavení. Asistent též zodpovídá za vypnutí všech přístrojů.

8. Kontrolní otázky

1. Popište strukturu elektrické dvojvrstvy.
2. Jak se nazývá tloušťka elektrické dvojvrstvy a na čem závisí?
3. Co je to zeta-potenciál?
4. Jaký je vztah mezi elektroosmotickou konvekcí a elektroosmotickou mobilitou?
5. Závisí hodnota elektroosmotické mobility na vloženém napětí a na koncentraci použitého elektrolytu?
6. Kvalitativně popište rychlostní profil při elektroosmotické konvekci v mikrokanálku.
7. Co je hnací silou při elektroosmotickém čerpání?
8. Co musí být splněno, aby byl elektrolyt v mikrokanálku transportován elektroosmózou?
9. Proč stanovujeme charakteristiky elektroosmotického toku ve vodorovně umístěném mikrofluidním čipu.
10. Jak bychom museli změnit experimentální proceduru, jestliže by na povrchu mikrokanálků byl fixován kladný elektrický náboj?