
ОПТИМИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ПОДГОТОВКИ ПОВЕРХНОСТИ КАНАЛОВ МИКРОФЛЮИДНЫХ ЧИПОВ ИЗ БОРОСИЛИКАТНОГО СТЕКЛА

© 2020 г. А. Ю. Шмыков^{1, *}, С. В. Мякин¹, Н. А. Бубис¹, Л. М. Кузнецов¹,
Н. А. Есикова¹, В. Е. Курочкин¹

¹*Институт аналитического приборостроения РАН,
ул. Ивана Черных, 31–33, лит. А, Санкт-Петербург, 198095 Россия*
**e-mail: shmykov.alexey@gmail.com*

Поступила в редакцию 26.12.2019 г.

После доработки 05.05.2020 г.

Принята к публикации 05.06.2020 г.

Методом измерения краевых углов смачивания и расчета полной, полярной и дисперсионной составляющих поверхностной энергии изучено влияние обработки боросиликатных стекол плавиковой кислотой, кислотой Каро и концентрированным раствором пероксида водорода на их гидрофильно-гидрофобные свойства и морфологию поверхности. Показано, что наиболее значительная и стабильная гидрофилизация поверхности стекол в сочетании с максимальным увеличением их поверхностной энергии достигается при последовательной обработке кислотой Каро и плавиковой кислотой.

Ключевые слова: боросиликатное стекло, поверхностная энергия, гидрофильность, кислота Каро, плавиковая кислота

DOI: 10.31857/S013266512005011X

ВВЕДЕНИЕ

Впервые практическая возможность создания микрофлюидного устройства на подложках из стекла для быстрого электрофоретического разделения пробы на компоненты была продемонстрирована в [1]. В настоящее время микрофлюидные чипы (МФЧ) на стеклянных подложках широко используются в хроматографии, электрофоретическом разделении, секвенировании ДНК, для полимеразной цепной реакции (ПЦР) и т.д. Одним из важнейших факторов, определяющих качество МФЧ, является правильный выбор материала подложки и методов ее подготовки, определяющий эффективность нанесения необходимых функциональных слоев на ее поверхность [2, 3].

Разнообразие номенклатуры силикатных, кварцевых, боросиликатных и других специальных стекол позволяет осуществлять оптимальный выбор материалов с требуемым набором целевых физико-химических (оптических, термических, диэлектрических и т.д.) свойств для изготовления МФЧ для решения различных аналитических задач. Физико-химические свойства стекол, в особенности состояние их поверхности, могут изменяться в широких пределах в зависимости от условий их хранения и обработки [4]. Перед применением МФЧ и дальнейшим модифицированием поверхности каналов производится их очистка – удаление органических и неорганических загрязнителей и травление с целью получения требуемого состояния поверхности (структура, рельеф, функциональный состав и гидрофобно-гидрофильные свойства). Для со-

здания микрофлюидного чипа необходима стабильная гидрофилизация поверхности, т.е. формирование слоя силанольных групп, необходимых для последующего нанесения функциональных слоев, обеспечивающих взаимодействие с анализируемыми веществами (ДНК, РНК и др.).

Для соответствующей подготовки внутренней поверхности кварцевых капилляров применяют различные методы, включая обработку NaOH с последующей термообработкой, промывкой водой, ацетоном и сушкой в потоке азота [5], сочетание обработки щелочью (NaOH) и кислотой (HCl) [6], а также аналогичный процесс в сочетании с последующей обработкой метанолом [7]. Перечисленные методы характеризуются существенным недостатком, связанным с низкой воспроизводимостью гидроксильного покрытия поверхности и сохранением значительного количества остаточных силоксановых структур [8].

Важной задачей является разработка методов оперативного измерения, контроля и стабилизации достигнутых характеристик. Перспективным подходом к решению данной задачи является использование таких реагентов, как плавиковая кислота HF и кислота Каро (смесь серной кислоты и пероксида водорода), обеспечивающие травление поверхностного слоя стекла и повышение его химической стойкости за счет удаления натрийсодержащих компонентов [9].

В серии ранее выполненных исследований [10, 11] была показана возможность регулирования функционального состава и гидрофильно-гидрофобных характеристик поверхности стекла. Например, оптимизация параметров обработки стекла под воздействием ускоренных электронов приводит к повышению содержания гидроксильных групп с определенными кислотно-основными свойствами и регулированию краевого угла смачивания и поверхностной энергии. Это позволило осуществить прививку используемых в электрохроматографии функциональных слоев на поверхность модифицируемого стекла.

В данной работе изучено влияние обработки поверхности применяемого для изготовления МФЧ боросиликатного стекла плавиковой кислотой и кислотой Каро, а также раствором пероксида водорода H_2O_2 (не реагирующего непосредственно со стеклом, но модифицирующего функциональный состав поверхности) на поверхностную энергию и гидрофильно-гидрофобные свойства материала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые материалы. Объектами исследования в настоящей работе были боросиликатные стекла промышленной марки SCHOTT BOROFLOAT® 33 (состав, мас. %: $81SiO_2$, $13B_2O_3$, $4Na_2O/K_2O$, $2Al_2O_3$) размером 10×10 мм и толщиной 1.0 ± 0.1 мм.

Реактивы. Для обработки и модифицирования поверхности кварцевого стекла использовали ацетон (“ч. д. а.”, ГОСТ 2603-79, ООО “Нева-Реактив”), изопропанол (“х. ч.”, ТУ 2632-181-44493179, АО “ЭКОС-1”), плавиковую кислоту (46–49%-й раствор, “ос. ч.”, ТУ 2612-007-56853252-2010, ООО “Нева-Реактив”), серную кислоту (95.6%-й раствор, “х. ч.”, ГОСТ 4204-77, ООО “Нева-Реактив”), пероксид водорода (37%-й раствор, “х. ч.”, ГОСТ 177-88, ООО “Нева-Реактив”).

Методы подготовки и обработки образцов. *Подготовка контрольных образцов для сравнения.* Предварительно было установлено, что для стабилизации характеристик поверхности исследуемых материалов необходимо непосредственно перед травлением (после обезжиривания) подвергать их термостатированию, которое проводили в

Таблица 1. Краевые углы смачивания и поверхностная энергия (мН/м) образцов стекол, кондиционированных термостатированием при 80°C

№ образца	Сторона 1						Сторона 2					
	краевые углы θ , град.		поверхностная энергия, мДж/м ²				краевые углы θ , град.		поверхностная энергия, мДж/м ²			
	вода	глицерин	σ_p	σ_d	σ_Σ	$\frac{\sigma_p}{\sigma_d}$	вода	глицерин	σ_p	σ_d	σ_Σ	$\frac{\sigma_p}{\sigma_d}$
1	67	59	21.1	14.0	35.1	1.5	65	55	20.4	16.9	37.3	1.2
2	66	57	20.8	15.5	36.3	1.3	65	55	20.4	16.9	37.3	1.2
3	68	58	18.4	16.7	35.1	1.1	67	59	21.1	14.0	35.1	1.5

течение 2 ч при температуре 80°C, что позволило получить образцы с воспроизводимыми и стабильными во времени значениями краевых углов смачивания (табл. 1).

В отсутствие такой подготовки, а также при меньших значениях температуры и времени выдержки наблюдался недопустимый разброс значений краевых углов смачивания исследуемых образцов в диапазоне от 30° до 55°, что свидетельствовало о крайней неоднородности состояния (гидратации) их поверхности.

Приведенные в табл. 1 данные для кондиционированных образцов, не подвергавшихся дополнительному модифицированию, использовали в качестве контрольных значений для сравнения с результатами, получаемыми для модифицированных образцов стекол.

Модифицирование поверхности образцов. Перед модифицированием все образцы обезжиривали погружением в ацетон на 8 мин, после чего промывали дистиллированной водой, погружали в изопропанол на 5 мин и снова промывали дистиллированной водой.

Перед последующим травлением образцы промывали дистиллированной водой и сушили при температуре 80°C в течение 2 ч, аналогично рассмотренным выше контрольным образцам.

Модифицирование осуществляли с использованием следующих реагентов:

- кислоты Каро, приготовленной смешением исходных растворов перекиси водорода (37%) и серной кислоты (98%) в соотношении 1 : 2 (об.),
- 25% (об.) раствора плавиковой кислоты HF, полученного соответствующим разбавлением исходной концентрированной кислоты,
- 37%-го раствора пероксида водорода H₂O₂.

По 15 образцов исследуемых стекол подвергали обработке в следующих условиях:

- погружением в раствор HF на 5 мин;
- погружением в кислоту Каро на 5 мин с последующей промывкой водой и погружением в раствор HF на 5 мин;
- погружением в раствор пероксида водорода.

Все эксперименты проводили в стандартных чашках Петри.

Измерение краевых углов смачивания и определение поверхностной энергии. Для измерения краевых углов (θ) смачивания водой и глицерином поверхности боросиликатных стекол применяли гониометрический метод фотографической регистрации изображения лежащей на поверхности капли, реализованный с помощью лабораторной установки, аналогичной прибору DSA14 (“Kruss”, Germany), в соответствии с методикой, описанной в [12]. Измерения проводили на двух сторонах пластин стекла для 8–10 капель на каждой стороне пластины, усредненные краевые углы смачивания определяли с погрешностью $\pm 1^\circ$.

Полярную (σ_p) и дисперсионную (σ_d) составляющие поверхностной энергии исследуемых материалов определяли, решая систему уравнений [12]:

$$\frac{\sigma_b (\cos \theta_b + 1)}{2} = (\sigma_p)^{1/2} (\sigma_{bp})^{1/2} + (\sigma_d)^{1/2} (\sigma_{bd})^{1/2},$$

$$\frac{\sigma_g (\cos \theta_g + 1)}{2} = (\sigma_p)^{1/2} (\sigma_{gp})^{1/2} + (\sigma_d)^{1/2} (\sigma_{gd})^{1/2},$$

где σ_b , σ_{bp} и σ_{bd} – полное поверхностное натяжение воды и его полярная и дисперсионная составляющие (соответственно 47,8, 25,0 и 72,8 мДж/м²), а σ_g , σ_{gp} и σ_{gd} – аналогичные значения для глицерина (соответственно 59,4, 22,4 и 37,0 мДж/м²)

На основании полученных результатов рассчитывали полную поверхностную энергию исследуемых образцов ($\sigma_\Sigma = \sigma_p + \sigma_d$), определяющую общую активность поверхности, а также соотношение между полярной и дисперсионной составляющими поверхностной энергии ($\sigma_p : \sigma_d$), характеризующее ее гидрофильность.

С целью проверки стабильности изменений состояния поверхности, измерения краевых углов смачивания проводили как непосредственно после модифицирования, так и через неделю после нее.

Исследование морфологии поверхности образцов. Морфологию поверхности исходных и модифицированных образцов исследовали методом атомно-силовой микроскопии с использованием прибора СЗМ Ntegra Aura (NT-MDT) в контактном режиме сканирования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результат измерений краевых углов смачивания и расчета поверхностной энергии исследуемых образцов приведены в табл. 2.

Полученные данные показывают, что все используемые виды модифицирования поверхности стекла приводят к ее гидрофилизации – росту полярной и снижению дисперсионной составляющей поверхностной энергии и значительному увеличению соотношения между ними в сравнении с результатами для контрольных образцов, приведенными в табл. 1. Наиболее значительное и стабильное увеличение данного показателя (до 6,1 и 5,6 для двух сторон непосредственно после обработки и соответственно до 9,7 и 6,1 через неделю) наблюдается в случае последовательной обработки кислотой Каро и плавиковой кислотой. При обработке плавиковой кислотой без использования кислоты Каро указанные показатели непосредственно после обработки составляют 8,2 и 3,9, а через 7 сут – 4,4 и 2,4. В случае применения пероксида водорода наблюдается наименее выраженная гидрофилизация – рост рассматриваемого соотношения до 2,2 и 2,5 непосредственно после обработки и до 3,8 и 1,5 через неделю.

Сочетание обработки кислотой Каро и плавиковой кислотой обеспечивает наибольшее увеличение полной поверхностной энергии – до 61–64 мДж/м² в сравнении с

Таблица 2. Значения краевых углов смачивания и поверхностной энергии исследуемых образцов

Условия обработки	Сторона 1						Сторона 2					
	краевые углы θ , град.		поверхностная энергия, мДж/м ²				краевые углы θ , град.		поверхностная энергия, мДж/м ²			
	вода	глицерин	σ_p	σ_d	σ_Σ	$\frac{\sigma_p}{\sigma_d}$	вода	глицерин	σ_p	σ_d	σ_Σ	$\frac{\sigma_p}{\sigma_d}$
HF												
В течение часа после обработки	48	50	47.7	5.8	53.5	8.2	42	38	44.1	11.4	55.5	3.9
Через 7 сут	58	56	34.9	8.0	42.9	4.4	43	34	38.2	15.8	54.0	2.4
Кислота Каро и HF												
В течение часа после обработки	34	34	53.9	8.8	62.7	6.1	33	32	53.4	9.6	63.0	5.6
Через 7 сут	35	39	58.3	6.0	64.3	9.7	36	36	52.8	8.6	61.4	6.1
H ₂ O ₂												
В течение часа после обработки	62	56	26.9	12.0	38.9	2.2	50	43	34.7	13.9	48.6	2.5
Через 7 сут	55	52	35.9	9.4	45.3	3.8	51	39	28.8	19.5	48.3	1.5

43–54 мДж/м² при обработке плавиковой кислотой, 39–49 мДж/м² при обработке пероксидом водорода и 35–37 мДж/м² для исходного материала. Такая активация поверхности способствует усилению ее взаимодействия с наносимыми функциональными слоями.

Следует отметить, что через 7 сут после обработки кислотой Каро в сочетании с плавиковой кислотой соотношение полярной и дисперсионной составляющих поверхностной энергии (σ_p : σ_d) несколько возрастает, а в случае обработки HF без использования кислоты Каро – значительно (почти в 2 раза) снижается. Наблюдаемое различие изменения гидрофильно-гидрофобных характеристик поверхности стекла с течением времени может быть дегидратирующим действием кислоты Каро (концентрированной серной кислоты), приводящим поверхность стекла в неравновесное состояние вызывающей дегидроксилирование поверхности стекла с последующей постепенной релаксацией поверхности с последующей постепенной регидратацией при контакте с атмосферой, что приводит к увеличению полярной и снижению дисперсионной составляющей поверхностной энергии. Обработка плавиковой кислотой может сдвигать равновесие в сторону избыточной гидрофилизации и гидратации поверхности с последующей релаксацией в противоположную сторону при хранении на воздухе.

Сравнительный анализ результатов АСМ для образцов, подвергнутых травлению плавиковой кислотой и при сочетании обработки HF и кислотой Каро (рисунок 1, табл. 3) показывает, что в обоих случаях однородность поверхности резко снижается. При последовательной обработке кислотой Каро и HF наблюдаемое снижение однородности рельефа поверхности выражено в значительно меньшей степени в отношении как шероховатости поверхности (рост величины Ra до 3.9 нм в сравнении с 4.7 нм в случае обработки HF в отсутствие кислоты Каро относительно 0.7 нм для исходного

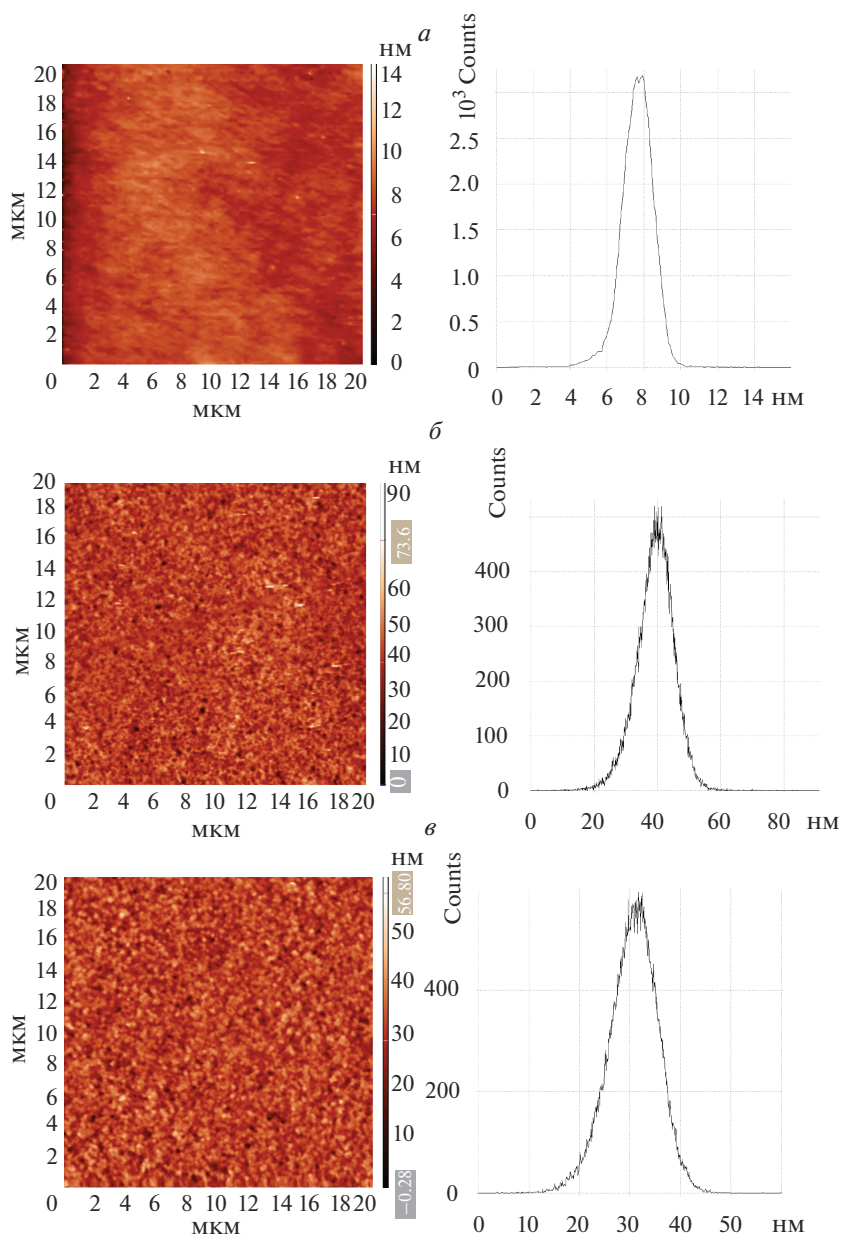


Рис. 1. АСМ-изображения и гистограммы распределения высоты неровностей поверхности для образцов боросиликатного стекла в исходном состоянии (*а*), после обработки HF (*б*) и последовательной обработки кислотой Каро и HF (*в*).

Таблица 3. Характеристики морфологии поверхности образцов

Условия обработки	Максимальная высота неровностей, нм	Средняя высота неровностей, нм	Шероховатость R_a , нм
Исходное стекло	16.0	7.6	0.7
HF	90.9	39.2	4.7
Кислота Каро и HF	59.9	30.6	3.9

стекла), так и средней (соответственно 30.6 и 39.2 относительно 7.6 нм) и особенно максимальной (соответственно около 60 и более 90 нм относительно 16 нм) высоты неровностей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволили определить эффективный способ подготовки поверхности боросиликатных стекол, основанный на последовательной обработке кислотой Каро и плавиковой кислотой и обеспечивающий значительное повышение поверхностной энергии материала, его гидрофильности и стабильности характеристик поверхности при хранении, что перспективно для последующего нанесения функциональных слоев в каналах микрофлюидных чипов.

Работа выполнена в ИАП РАН в рамках Государственного задания № 0074-2019-0013.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Manz A., Harrison D.J., Verpoorte E.M.J., Fettinger J.C., Lüdi H., Widmer H.M.* Miniaturization of chemical analysis systems – a look into next century's technology or just a fashionable craze? // *Chemia*. 1991. V. 45. P. 103–105.
2. *Евстратов А.А., Лукашенко Т.А., Рудницкая Г.Е., Буляница А.Л., Курочкин В.Е., Гусев В.С., Иванов О.Г., Беркутова И.Ф., Савицкая А.А.* Микрофлюидные чипы из стеклянных материалов // *Научное приборостроение*. 2012. Т. 22. № 2. С. 27–43.
3. *Kaupf S., Wätzig H.* Fused-silica capillaries for capillary electrophoresis and gas chromatography: inner surface corrosion, within-batch differences, and influence of drawing parameters studied by atomic force microscopy // *Electrophoresis*. 1999. V. 20. P. 2566–74.
4. *Айлер Р.* Химия кремнезема / Пер. с англ. в 2 ч. М.: Мир, 1982. Ч. 2. 706 с.
5. *Messina A., Desidero C., A De Rossi, Bachechi F., Sinibaldi M.* Capillary Electrochromatography on Methacrylate Based Monolithic Columns: Evaluation of Column Performance and Separation of Polyphenols // *Chromatographia*. 2005. V. 62. P. 409–416.
6. *Chun-Chi Lin, Guan-Ren Wang, Chuen-Ying Liu.* A novel monolithic column for capillary electrochromatographic separation of oligopeptides // *Analytica Chimica Acta*. 2006. V. 572. P. 197–204.
7. *Jandera P., Urban J., Moravcova D.* Polymetacrylate and hybrid interparticle monolithic columns for fast separations of proteins by capillary liquid chromatography // *J. Chromatogr. A*. 2006. V. 1109. P. 60–73.
8. *Li Y., Xiang R., Wilkins J.A., Horvath C.* Capillary electrochromatography of peptides and proteins // *Electrophoresis*. 2004. V. 25. P. 2242–2256.
9. *Weber C., Stockmann J., Rosier E.* Corrosion of Borosilicate Glasses. Additional Conferences (Device Packaging, HiTEC, HiTEN, & CICMT). 2015. 000041–000046. <https://doi.org/10.4071/CICMT-TA23>.
10. *Курочкин В.Е., Красовский А.Н., Васильева И.В., Мякин С.В., Заграничек А.Л., Шмыков А.Ю.* Исследование функционально-химического состава поверхности кварцевого стекла, обработанного под воздействием ускоренных электронов // *Научное приборостроение*. 2008. Т. 18. № 1. С. 3–9.
11. *Shmykov A.Ju., Mjakin S.V., Vasiljeva I.V., Filippov V.N., Vylegzhanina M.E., Sukhanova T.E., Kurochkin V.E.* Electron beam initiated grafting of methacryloxypropyl-trimethoxysilane to fused silica glass // *Applied Surface Science*. 2009. V. 255. P. 6391–6396.
12. *Красовский А.Н., Мякин С.В., Осмоловская Н.А., Пак В.Г., Сычев М.М., Шмыков А.Ю.* Определение краевых углов смачивания и поверхностной энергии полимерных пленок и композитов (методические указания). Санкт-Петербург: СПбГТИ (ТУ), 2015. 16 с.