

基于表面增强拉曼光谱微流控芯片的研究进展

李博伟, 陈令新*

(中国科学院烟台海岸带研究所, 中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室, 山东 烟台 264003)

摘要: 微流控芯片实验室是一种以在微米尺度的空间中对流体进行操控为主要特征的技术, 具有灵活集成多种单元技术, 降低样品消耗量等优势。拉曼光谱是一项重要的现代光谱技术, 被广泛应用于化学、物理和生物科学等诸多学科领域, 基于纳米银或金粒子的表面增强拉曼(SERS)技术具有非常高的灵敏度, 可对环境中的污染物和生物分析样品进行痕量分析。该文主要对表面增强拉曼光谱微流控芯片领域的研究进展进行总结, 包括纳米粒子合成、芯片设计以及常见的传感器类型, 介绍了其在生命科学、环境监测等领域的应用, 显示了其广阔的应用前景。

关键词: 微流控芯片; 芯片实验室; 表面增强拉曼; 环境污染; 生物分析; 综述

中图分类号: O657.1; G353.11 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2015)03-0302-06

Advance in Microfluidic Chips Based on Surface Enhanced Raman Spectroscopy Technique

LI Bo-wei, CHEN Ling-xin*

(Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China)

Abstract: Microfluidic chip is a kind of technology manipulating fluids in micrometer scale with advantages of flexible integration of variety of cell technology, reducing sample consumption and etc. Raman spectroscopy is an important spectroscopic technique used widely in the fields of chemical, physical and biological sciences, and many other disciplines. Moreover, based on the surface of silver or gold nanoparticles, the enhanced Raman(SERS) technique has very high sensitivity that could be easily used for monitoring environmental pollutants and biological analysis of samples. This paper mainly summarizes the research progress of microfluidic chip in the field of surface-enhanced Raman spectra, including nanoparticle synthesis, chip design and common sensor types, and introduces its applications in life sciences and environmental monitoring, which reveals its broad application prospects.

Key words: microfluidic chip; lab on a chip; surface-enhanced Raman; environmental pollutant; bioanalytical analysis; review

表面增强拉曼散射(Surface enhanced Raman scattering, SERS)现象自被发现以来已有40多年的历史, 因其具有高灵敏度、高选择性、检测时间短、无损检测等优势而被广泛应用于环境、化学检测、生物医学诊断等领域。伴随着纳米技术和激光技术的进步, SERS技术具有非常诱人的发展前景。而金属纳米材料拥有独特的光电性质, 比如特定尺寸的贵金属纳米粒子能够产生理想的SERS效应, 特别是当纳米粒子之间产生“热点(Hot spots)”效应时, SERS增强因子最高可达 $10^{12} \sim 10^{15}$ 倍^[1], 从而实现单分子检测。经历多年的发展后, 表面增强拉曼光谱在化学、生物学、物理学以及材料科学等方面有着重要的应用^[2]。从目前研究来看, 贵金属纳米粒子的拉曼增强效果远强于其他金属, 其中又以银纳米粒子的拉曼增强能力最为显著。

微流控芯片是一个多学科高度交叉的综合学科, 是以在微米或者纳米尺度空间对流体进行操控为主要特征的技术平台, 微型化、试剂用量少、快速高效以及易于与其他装置集成是微流控芯片的主要

收稿日期: 2015-01-10; 修回日期: 2015-02-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21275158, 21205131); 中国科学院重要方向性项目(KZCX2-EW-206)

* 通讯作者: 陈令新, 博士, 研究方向: 生命分析化学及纳米分析化学, Tel: 0535-2109130, E-mail: lxchen@yic.ac.cn

优势。微流控芯片和表面增强拉曼两种技术有着不同的优势,而将这两种技术相结合的综合交叉研究和发 展倍受关注^[3]。

1 表面增强拉曼的微流控芯片系统

1.1 金属纳米粒子

自 1974 年 Fleischmann 等首次在吡啶吸附的粗糙银电极上观察到表面增强拉曼散射 (SERS) 现象以来, SERS 凭借其本身的高灵敏度、高选择性和高特异性而被广泛应用。SERS 技术已成为最灵敏的分析手段之一,在食品安全、环境监测和生物成像等领域均有广泛的应用^[4]。金属纳米材料在尺寸的变化下有着独特的光电性质,很多特定尺寸的贵金属纳米粒子能够产生理想的 SERS 效应^[5],其中以金和银的研究最为广泛。金纳米粒子有着很多优良性能,包括稳定性好,形状可控,粒径分布均匀等。但相比于银纳米粒子,金的拉曼增强效应一般比其低 10~1 000 倍;因此银纳米颗粒的应用比金纳米粒子更为广泛。最常用的合成银纳米颗粒的方法有盐酸羟胺^[6]和硼氢化钠^[7]还原等方法。同时金属纳米粒子的团聚对于表面增强拉曼信号的提高有着重要的影响,因此,为了获得最优的拉曼增强信号,控制粒子的团聚变得非常重要。根据相关报道,团聚的银纳米颗粒的信号远高于非团聚状态下的情况^[8]。

1.2 微混合器

为了实现表面增强拉曼可重复性检测,如何在微流控通道中实现被分析对象和金属纳米粒子间的有效混合变得极为重要。在微尺度下,流体的雷诺系数 (Reynolds) 比较小(通常 < 1),通道内流体的运动主要以层流为主,混合主要依靠分子的自由扩散,这样很难实现快速有效的混合;为了实现芯片上样品的混合,按照有无外界能量驱动的方式可分为被动混合和主动混合两种^[9-10]。被动混合主要依赖于流体通道的内部结构和几何特性,通过改变流体的流动方式,增大混合面积等来提高混合效率,具有操作简单灵活的特性;主动混合是通过外场(包括电场^[11-12]、磁力^[13]、超声波^[14]、蠕动泵等)的作用在通道内使液体间产生相互运动来达到混合的效果。Yea 等^[15]在含有类似鳄鱼牙齿形的 PDMS 微流体通道内使用表面增强拉曼光谱对水体污染物中的氰化物进行研究,检测灵敏度可达 0.5 ppb 水平,与先前报道的分析方法相比,增强了 2~3 个数量级(如图 1A 所示)。类似鳄鱼牙齿形的芯片还被用于双染料标记 DNA 序列的检测^[16]和甲基对硫磷的定量分析^[17]。同时 Z 字型 (Zigzag-shaped) 通道也能够显著增强混合的效率^[10],已有应用于水样中孔雀石绿^[18]、砷(III)离子的快速痕量检测的报道^[19]。近日,Choo 课题组应用可编程浓度梯度的混合芯片,分别对 DNA 和免疫抗体对象进行了拉曼测定^[20-21]。

1.3 拉曼微流控芯片材质

常用于制备拉曼微流控芯片的无机材料有玻璃、晶体硅、石英等,其中石英芯片的透光性好、拉曼背景低,但价格昂贵;玻璃和晶体硅具有机械强度大、通道表面易修饰等优点。常用的有机材料主

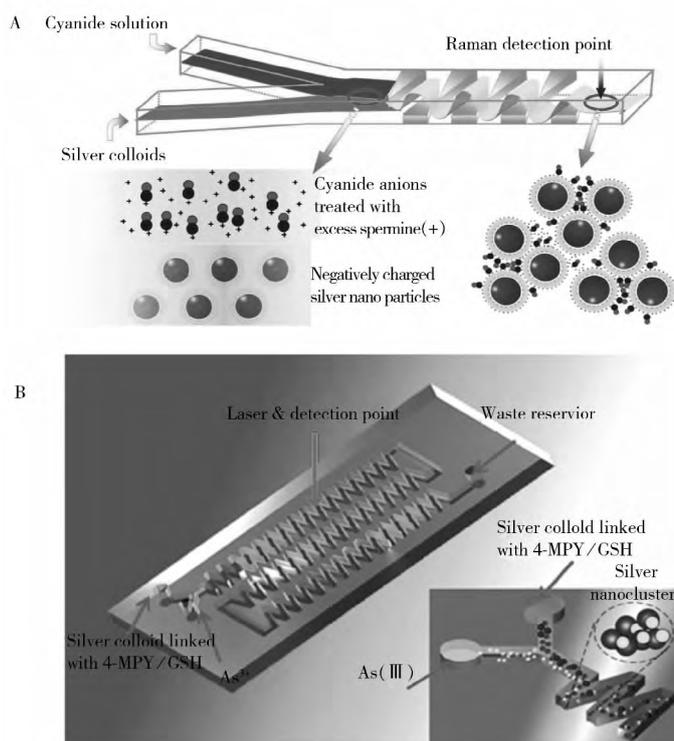


图 1 在类似鳄鱼牙齿形 PDMS 微流体通道内使用表面增强拉曼光谱检测氰化物 (A) 及表面增强拉曼散射高灵敏度检测三价砷离子微流控芯片示意图 (B)

Fig. 1 The use of surface-enhanced Raman spectroscopy to detect cyanide in a alligator teeth-shaped microfluidic PDMS channel (A) and schematic illustration of alligator teeth-shaped microfluidic channel (B)

要是聚二甲基硅氧烷(PDMS),其价格低,加工技术已较为成熟,但对纳米粒子容易产生记忆效应;而最新出现的纸芯片技术,因成本低廉、便携性好,引起科研人员的广泛关注。

2 表面增强微流控芯片传感器类型

2.1 连续流芯片

在微流控器件上实现 SERS 的检测通常有两种途径:①通过光刻技术、粒子刻蚀等技术固定金银的纳米粒子,这些粒子可以吸附流经的样品,并产生拉曼信号;②在通道中控制连续流动的金/银纳米粒子溶液与待测样品充分混合,产生持续稳定的拉曼信号。Liu^[22]和 Leem^[23]等基于以纳米孔为基础的银基和结构可控的银纳米结构获得 SERS 信号。Dluhy 等^[24]利用电子束蒸发将银纳米棒阵列沉积到基底表面。Parisi 等^[25]在电镀铜和炭的纳米墙上原位修饰合成银纳米粒子,实现了超高灵敏度的检测,对结晶紫的检出限可达 50 ppm。飞秒激光作为新发展的技术,可以与目标物迅速作用同时保证了极高的分辨率。

与传统的分析检测仪器相比,SERS 技术具有灵敏度高、检测速度快、所需试样量少、无损检测等优势。因此,近年来被广泛应用到化学检测分析方面。本课题组在这方面做了大量的研究工作^[19,26-28]。Li 等^[26]利用谷胱甘肽功能化的银纳米颗粒,通过谷胱甘肽与 As(III)的特异性配位作用,并在 4-巯基吡啶的协助下(4-巯基吡啶作为拉曼报告分子)实现了水体中 As(III)离子的高灵敏检测,检测限可达到 0.76 ppb;Qi 等^[19]将该方法移植到微流控芯片平台上(图 1B),实现了水体中 As(III)离子的高灵敏度检测,检出限可达到 0.67 ppb,远低于世界卫生组织规定的饮用水标准(10 ppb)。Lou 等^[27]利用 4-巯基吡啶修饰的金纳米粒子对三聚氰胺进行快速检测分析,并在实际样品的检测中取得较好效果。

2.2 液滴芯片

虽然一些被动式混合的连续流动式芯片操作简单灵活,但在连续流动状态下纳米颗粒容易沉积聚集在微流控芯片的通道壁上产生“记忆效应”,从而对测定结果产生干扰。为了解决此问题,Popp 等^[29-30]率先利用液滴(Droplet)技术将纳米粒子通过油水两相液-液分割,避免了纳米粒子在通道上的吸附,同时提高了实验的重复可靠性。液滴微流控技术还可以实现样品的高通量^[31]和超快速分析^[32],Cecchini 等^[32]利用 Ismagilov 课题组的液滴快速检测技术^[33-34]建立了超快的表面增强共振拉曼散射方法,实现了微流控芯片中单个液滴的拉曼信号检测。Wu 等^[35]在 SERS 液滴微流控芯片平台上对实际人血清和唾液中的硫氰酸进行了快速分析。

2.3 纸基表面增强拉曼芯片

SERS 检测技术具有检测时间短、无损检测、灵敏度高等优势,但是 SERS 基底的活性和重现性极大地限制了其在日常生活中的应用。而微流控纸芯片是一个以纸为基底的平台,具有成本低、便携等优势。纸芯片的概念最早由哈佛大学的 Whitesides 研究组提出^[36-37]。目前用于纸芯片的制作技术如下:①光刻技术^[36,38];②等离子处理技术^[39-40];③喷蜡打印^[41-43];④柔印技术^[44];⑤丝网印刷技术^[40];⑥激光处理技术^[45]等。这些技术的目的均是在纸上构建可控的流体通道。纸本身含有大量的纤维,纤维表面含有丰富的羟基,因此可以很好地吸附贵金属纳米粒子。这可以降低 SERS 基底的制作成本,同时省去了复杂的微纳合成和修饰,也使得大规模生产 SERS 基底成为了可能。目前已有许多不同的思路用以实现纸芯片的纳米粒子沉积。吉林大学孙洪波课题组^[46]利用等离子溅射的方法将银纳米粒子沉积到纸上。Long 等^[47]利用丝网印刷技术将纳米金和银颗粒沉积到纤维素纸上,定量分析了废水样品中取代的芳香族污染物。本课题组也提出了一种纳米粒子喷雾沉积方法(如图 2A 所示)^[28],制备方法无需大型设备,成本较低;所得纸芯片重现性好,灵敏度高。并在此基础上发展了一种笔刷涂覆的方法,可以简单、快速、大批量地制备具有 SERS 活性的纸芯片^[48]。Dou 等^[49]在微流控纸芯片上用金纳米粒子对猪毛发提取物的 β -受体激动剂进行了拉曼检测(图 2B 所示),为毛发样品的现场及时分析检测提供了有效途径。

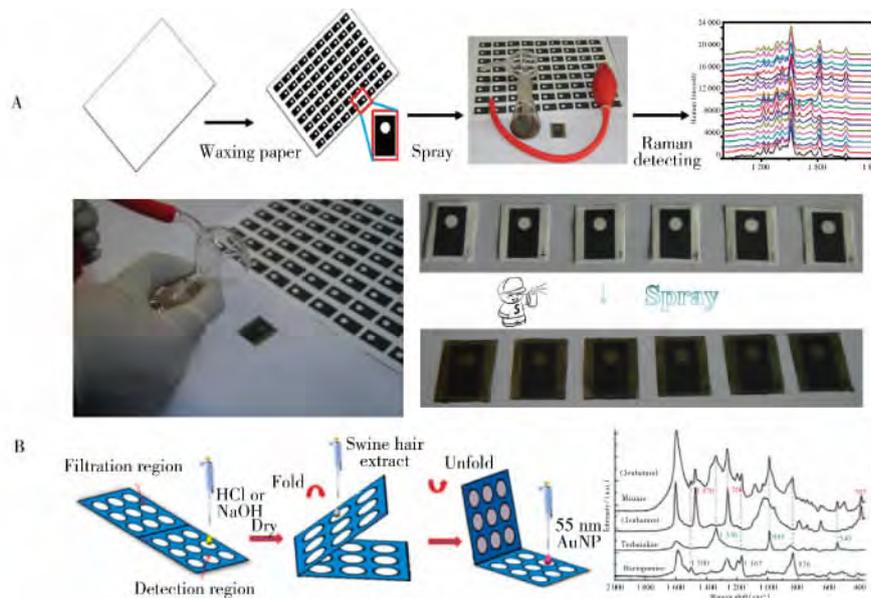


图 2 快速低成本喷涂方法制作表面增强拉曼微流控纸芯片 (A) 及微流控纸芯片表面增强拉曼光谱直接测量毛发提取物中的 β -受体激动剂 (B)

Fig. 2 A fast and low-cost spray method for fabricating SERS - active arrays on microfluidic paper-based device (A) , and direct measurement of beta-agonists in swine hair extract by surface-enhanced Raman spectroscopy on microfluidic paper (B)

3 表面增强拉曼微流控芯片的应用

3.1 环境监测

目前实时现场分析技术在环境痕量分析、水质监测、国土安全、法医调查和医疗诊断等诸多领域均有着很大的需求。厦门大学田中群课题组在 Nature 上报道了一种通过超薄的氧化硅或氧化铝(厚度约 2~3 nm) 包覆的金纳米颗粒的核壳结构, 以它作为拉曼增强基底可以获得很好的拉曼信号, 并将这种技术命名为 SHINER (Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy)。这种材料可以用于常规污染物、农药残留等的检测分析^[50]。

Wang 等^[51]建立了一种在液滴芯片上快速高效检测水体中汞离子的方法, Chung 等^[52]在此基础上发展了一种基于核酸适配体改性的金/银壳核结构纳米颗粒检测汞离子的方法。Quang 等^[53]用便携式拉曼对 2 种有毒物质 (DPA 和 MB) 进行了检测。Galarreta 等^[54]通过电子束光刻金属纳米结构在玻璃盖玻片表面, 并将其嵌入 PDMS 的微流体通道 Z 中, 对赭曲霉毒素 A 进行了检测。Choi 等^[55]设计了一种 CD 盘式的芯片, 可以高通量检测免标记的环境污染物 (图 3A)。

Guo 等^[56]用中空形状的金纳米粒子对牛奶中的三聚氰胺实现了一步化检测, Gao 等^[57]在微通道中实时合成纳米银粒子并检测了敌草快的二溴化合物 (图 3B)。

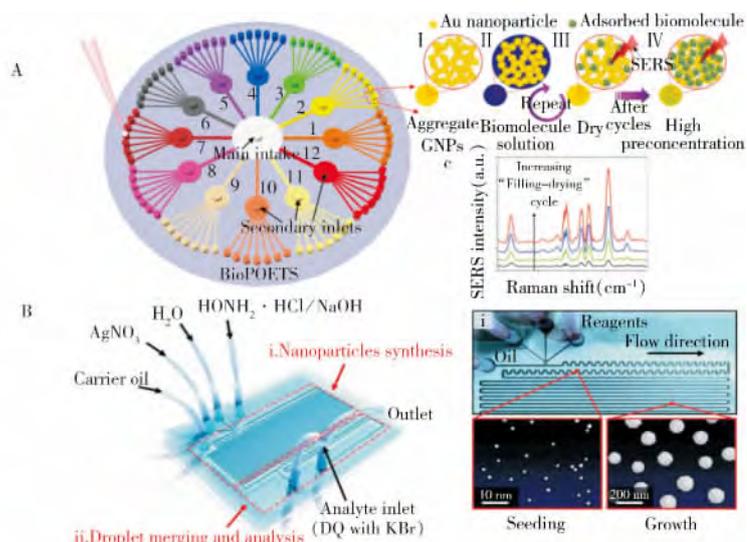


图 3 在 CD 盘式的微流控芯片上高通量分析污染物 (A) , 及在线合成纳米粒子并检测敌草快的二溴化合物 (B)

Fig. 3 An optofluidic SERS on a compact CD disk platform and its high-throughput analysis (A) , and online synthesis of Ag nanoparticles and detect diaquat dibromide monohydrate (B)

3.2 生物分析

与其他分析检测技术相比, SERS 技术具有如下独特优势^[58]: ①绝大多数的生命过程都是发生在水溶液中, 而水的拉曼信号极弱, 对拉曼谱图几乎无任何干扰。②许多生物样品的结构中都包含能产生拉曼信号的生色团, 这非常有利于完成 SERS 检测。③获取的拉曼光谱数据可以借助光纤远程传输, 这为实时、在线、远距离检测提供了可能。微流体通道与细菌和细胞的大小尺寸非常相似, 有利于在线培养, 并为细菌或细胞的生物/化学系统集成提供了可能^[59-60]。Walter 等^[61]用拉曼的方式对微通道中的细菌进行了快速检测; Cheng 等^[62]搭建了三维介电泳微流控装置, 可对细菌进行分选和拉曼检测, 利用这种方法, 革兰氏阴性菌和阳性菌可在几分钟内被分离鉴定出来; Lin 等^[63]通过在金粒子 (AuNPs) 上包覆二氧化硅, 并固定制备的 SERS 纳米探针, 对病原菌进行了单细胞水平的检测。Choo 等^[20]将光流控浓度梯度控件用于拉曼 ELISA 分析。本课题组也在拉曼的生物分析领域做了一些工作, 包括对细胞的上转换荧光和 SERS 的双模式检测^[64], 氧化石墨烯包裹 SERS 探针对于细菌的光热消融和杀灭作用的研究等^[65], 并希望未来将这些方法进一步集成到微流控芯片平台上。

4 展 望

表面增强拉曼技术具有检测速度快、灵敏度高、选择性好等优势; 而微流控芯片具有检测效率高、系统体积小、操作单元易于集成等优点。近年来拉曼微流控芯片技术发展迅速, 在环境监测、生命科学、临床检验等方面具有良好的发展前景。主要体现在以下方面: 首先, 如何实现定量测定仍是表面增强拉曼光谱的重大挑战, 其中最为关键的是能够制作有序、均一的 SERS 基底, 而微流控通道尺度仅为几十到几百个微米, 这么小的面积很大程度上降低了制备均一性 SERS 基底的难度。同时利用在线合成纳米粒子以及液滴 (Droplet) 技术也能够大大提高检测的重复性和准确性, 使得芯片的应用有越来越广泛的空间; 其次, 随着微流控芯片制备技术的日趋成熟和完善, 拉曼微流控芯片的制备正逐步朝着功能化、微型化和规模化的方向发展, 对拉曼分析仪器便携化、集成化、自动化的发展也具有重要意义; 拉曼微流控技术还有赖于纳米制备技术、检测系统的进一步改进和完善, 包括纳米粒子制备与自组装、性能好而造价低且便携的激光器以及更加完善的光学检测系统等, 这都需要多种技术的不断进步、提高和交叉。

参考文献:

- [1] Nie S M, Emery S R. *Science*, **1997**, 275(5303): 1102-1106.
- [2] Lim C, Hong J, Chung B G, de Mello A J, Choo J. *Analyst*, **2010**, 135(5): 837-844.
- [3] Chen L, Choo J. *Electrophoresis*, **2008**, 29(9): 1815-1828.
- [4] Li Q L, Li B W, Wang Y Q. *RSC Adv.*, **2013**, 3(32): 13015-13026.
- [5] Aroca R F, Alvarez-Puebla R A, Pieczonka N, Sanchez-Cortez S, Garcia-Ramos J V. *Adv. Colloid Interface Sci.*, **2005**, 116: 45-61.
- [6] Leopold N, Lendl B. *J. Phys. Chem. B*, **2003**, 107(24): 5723-5727.
- [7] Doty R C, Tshikhudo T R, Brust M, Fernig D G. *Chem. Mater.*, **2005**, 17(18): 4630-4635.
- [8] Kneipp J, Kneipp H, Kneipp K P. *Natl. Acad. Sci. USA*, **2006**, 103(46): 17149-17153.
- [9] Liu R H, Stremmer M A, Sharp K V, Olsen M G, Santiago J G, Adrian R J, Aref H, Beebe D J. *J. Microelectromech. Syst.*, **2000**, 9(2): 190-197.
- [10] Nguyen N T, Wu Z G. *J. Micromech. Microeng.*, **2005**, 15(2): R1-R16.
- [11] El Moctar A O, Aubry N, Batton J. *Lab Chip*, **2003**, 3(4): 273-280.
- [12] Sasaki N, Kitamori T, Kim H B. *Lab Chip*, **2006**, 6(4): 550-554.
- [13] Lu L H, Ryu K S, Liu C. *J. Microelectromech. Syst.*, **2002**, 11(5): 462-469.
- [14] Sritharan K, Strobl C J, Schneider M F, Wixforth A, Guttenberg Z. *Appl. Phys. Lett.*, **2006**, 88(5): 054102.
- [15] Yea K, Lee S, Kyong J B, Choo J, Lee E K, Joo S W, Lee S. *Analyst*, **2005**, 130(7): 1009-1011.
- [16] Park T, Lee S, Seong G H, Choo J, Lee E K, Kim Y S, Ji W H, Hwang S Y, Gweon D G. *Lee S. Lab Chip*, **2005**, 5(4): 437-442.
- [17] Lee D, Lee S, Seong G H, Choo J, Lee E K, Gweon D G. *Appl. Spectrosc.*, **2006**, 60(4): 373-377.
- [18] Lee S, Choi J, Chen L, Park B, Kyong J B, Seong G H, Choo J, Lee Y, Shin K H, Lee E K, Joo S W, Lee K H. *Anal. Chim. Acta*, **2007**, 590(2): 139-144.
- [19] Qi N, Li B, You H, Zhang W, Fu L, Wang Y, Chen L. *Anal. Methods*, **2014**, 6(12): 4077-4082.

- [20] Lee M, Lee K, Kim K H, Oh K W, Choo J. *Lab Chip*, **2012**, 12(19): 3720–3727.
- [21] Choi N, Lee K, Lim D W, Lee E K, Chang S I, Oh K W, Choo J. *Lab Chip*, **2012**, 12(24): 5160–5167.
- [22] Liu G L, Lee L P. *Appl. Phys. Lett.*, **2005**, 87(7): 074101.
- [23] Leem J, Kang H W, Ko S H, Sung H J. *Nanoscale*, **2014**, 6(5): 2895–2901.
- [24] Liu Y J, Fan J G, Zhao Y P, Shanmukh S, Dluhy R A. *Appl. Phys. Lett.*, **2006**, 89(17): 173134.
- [25] Parisi J, Su L, Lei Y. *Lab Chip*, **2013**, 13(8): 1501–1508.
- [26] Li J L, Chen L X, Lou T T, Wang Y Q. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2011**, 3: 3936–3941.
- [27] Lou T, Wang Y, Li J, Peng H, Xiong H, Chen L. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2011**, 401(1): 333–338.
- [28] Li B, Zhang W, Chen L, Lin B. *Electrophoresis*, **2013**, 34(15): 2162–2168.
- [29] Strehle K R, Cialla D, Roesch P, Henkel T, Koehler M, Popp J. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(4): 1542–1547.
- [30] Ackermann K R, Henkel T, Popp J. *ChemPhysChem*, **2007**, 8(18): 2665–2670.
- [31] Srisa – Art M, deMello A J, Edell J B. *Anal. Chem.*, **2007**, 79(17): 6682–6689.
- [32] Cecchini M P, Hong J, Lim C, Choo J, Albrecht T, deMello A J, Edell J B. *Anal. Chem.*, **2011**, 83(8): 3076–3081.
- [33] Song H, Tice J D, Ismagilov R F. *Angew. Chem Int. Ed.*, **2003**, 42(7): 768–772.
- [34] Song H, Ismagilov R F. *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125(47): 14613–14619.
- [35] Wu L, Wang Z, Zong S, Cui Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2014**, 62: 13–18.
- [36] Martinez A W, Phillips S T, Butte M J, Whitesides G M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, 46(8): 1318–1320.
- [37] Yetisen A K, Akram M S, Lowe C R. *Lab Chip*, **2013**, 13(12): 2210–2251.
- [38] Martinez A W, Phillips S T, Whitesides G M P. *Natl. Acad. Sci. USA*, **2008**, 105(50): 19606–19611.
- [39] Li X, Tian J, Nguyen T, Shen W. *Anal. Chem.*, **2008**, 80(23): 9131–9134.
- [40] Li X, Ballerini D R, Shen W. *Biomicrofluidics*, **2012**, 6(1): 11301–1130113.
- [41] Yu J, Ge L, Huang J, Wang S, Ge S. *Lab Chip*, **2011**, 11(7): 1286–1291.
- [42] Li B, Fu L, Zhang W, Feng W, Chen L. *Electrophoresis*, **2014**, 35(8): 1152–1159.
- [43] Zhang Q, Zhou X M, Yan W, Liang G T, Zhang Q C, Liu D Y. *Chin. J. Anal. Chem.* (张琼, 周小棉, 严伟, 梁广铁, 张其超, 刘大渔. 分析化学), **2012**, 7: 996–1001.
- [44] Olkkonen J, Lehtinen K, Erho T. *Anal. Chem.*, **2010**, 82(24): 10246–10250.
- [45] Chitnis G, Ding Z, Chang C L, Savran C A, Ziaie B. *Lab Chip*, **2011**, 11(6): 1161–1165.
- [46] Zhang R, Xu B B, Liu X Q, Zhang Y L, Xu Y, Chen Q D, Sun H B. *Chem. Commun.*, **2012**, 48(47): 5913–5915.
- [47] Qu L L, Song Q X, Li Y T, Peng M P, Li D W, Chen L X, Fossey J S, Long Y T. *Anal. Chim. Acta*, **2013**, 792: 86–92.
- [48] Zhang W, Li B, Chen L, Wang Y, Gao D, Ma X, Wu A. *Anal. Methods*, **2014**, 6(7): 2066–2071.
- [49] Dou B, Luo Y, Chen X, Shi B, Du Y, Gao Z, Zhao W, Lin B. *Electrophoresis*, **2015**, 36(3): 485–487.
- [50] Li J F, Huang Y F, Ding Y, Yang Z L, Li S B, Zhou X S, Fan F R, Zhang W, Zhou Z Y, Wu D Y, Ren B, Wang Z L, Tian Z Q. *Nature*, **2010**, 464(7287): 392–395.
- [51] Wang G, Lim C, Chen L, Chon H, Choo J, Hong J, deMello A J. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2009**, 394(7): 1827–1832.
- [52] Chung E, Gao R, Ko J, Choi N, Lim D W, Lee E K, Chang S I, Choo J. *Lab Chip*, **2013**, 13(2): 260–266.
- [53] Quang L X, Lim C, Seong G H, Choo J, Do K J, Yoo S K. *Lab Chip*, **2008**, 8(12): 2214–2219.
- [54] Galarreta B C, Tabatabaei M, Guieu V, Peyrin E, Lagugne – Labarthe F. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2013**, 405(5): 1613–1621.
- [55] Choi D, Kang T, Cho H, Choi Y, Lee L P. *Lab Chip*, **2009**, 9(2): 239–243.
- [56] Guo Z, Cheng Z, Li R, Chen L, Liu H, Zhao B, Choo J. *Talanta*, **2014**, 122: 80–84.
- [57] Gao R, Choi N, Chang S I, Lee E K, Choo J. *Nanoscale*, **2014**, 6(15): 8781–8786.
- [58] Wang Y, Yan B, Chen L. *Chem. Rev.*, **2013**, 113(3): 1391–1428.
- [59] Yang H, Yang F, Cao J G, Chen Z G. *J. Instrum. Anal.* (杨晖, 杨帆, 曹继刚, 陈缙光. 分析测试学报), **2014**, 33(4): 483–488.
- [60] Qin J H, Liu T J, Lin B C. *Chin. J. Chromatogr.* (秦建华, 刘婷娇, 林炳承. 色谱), **2009**, 27(5): 655–661.
- [61] Walter A, Maerz A, Schumacher W, Roesch P, Popp J. *Lab Chip*, **2011**, 11(6): 1013–1021.
- [62] Cheng I F, Lin C C, Lin D Y, Chang H. *Biomicrofluidics*, **2010**, 4(3): 034104.
- [63] Lin H Y, Huang C H, Hsieh W H, Liu L H, Lin Y C, Chu C C, Wang S T, Kuo I T, Chau L K, Yang C Y. *Small*, **2014**, 10(22): 4700–4710.
- [64] Niu X J, Chen H Y, Wang Y Q, Wang W H, Sun X Y, Chen L X. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6(7): 5152–5160.
- [65] Lin D H, Qin T Q, Wang Y Q, Sun X Y, Chen L X. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2014**, 6(2): 1320–1329.