



微流控离子浓差极化芯片研制及其 生化检测中的应用*

贺志恒^{1,2)} 王小丽³⁾ 葛 闯^{1,4)} 徐 溢^{1,2)**}

⁽¹⁾ 重庆大学, 新型微纳器件与系统技术国防重点学科实验室&光电技术与系统教育部重点实验室, 重庆 400044;

⁽²⁾ 重庆大学光电工程学院, 重庆 400044; ⁽³⁾ 重庆邮电大学生命健康信息科学与工程学院, 重庆 400065;

⁽⁴⁾ 重庆大学肿瘤医院, 肿瘤转移转化与个体化治疗重点实验室, 重庆 400030

摘要 离子浓差极化 (ion concentration polarization, ICP) 现象是在外加电场作用下发生在微纳界面处的一种电富集现象, 将 ICP 现象与微流控分析技术相结合, 可广泛应用于生化分析中带电粒子预富集、目标物分离、靶标物检测等领域。本文首先对 ICP 原理及微流控 ICP 芯片进行了简要介绍, 梳理总结了 ICP 芯片的制备技术和方法, 其中重点关注了微流道结构设计、纳米结构制备与设计等方面的研究现状与进展。首先对基础单通道 ICP 芯片的结构进行分析, 进而对并行通道 ICP 芯片结构以及集成多功能的微流控 ICP 芯片进行了总结和讨论, 列举了 ICP 芯片中纳米结构的制备方法及其优缺点。进而, 讨论了优化 ICP 芯片的富集效能途径, 可通过引入多场耦合、阀门控制等多种手段, 实现对靶标物的富集效能优化。最后, 针对 ICP 芯片在多种带电生化样本分析检测中的应用进行综述, 指出 ICP 芯片在匹配检测目标生物特性方面面临挑战, 需要提高富集效率和选择性, 解决流体控制、混合及传输问题。可以看到, 微流控 ICP 芯片具有处理样本流量低、分离富集效果好、检测效率高以及易于集成化和小型化等优势, 在生化检测领域展示出很好的研究意义和实用前景。

关键词 离子浓差极化, 微纳结构, 微流控芯片, 分离富集, 生化检测

中图分类号 TP212, Q5-3, O65

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0403

离子浓差极化 (ion concentration polarization, ICP) 是在外加电场作用下发生在微纳界面处的一种电动传输现象^[1]。以负电样本粒子为例, 当微米通道与纳米通道连接时, 由于纳米通道的双电层重叠^[2], 表面充满负电荷, 具有阳离子选择性^[3], 在外加电场作用下, 阳离子通过纳米通道传输, 阴离子由于强静电相互作用而被排除在外, 会在离子选择性膜两侧形成离子耗尽区与离子富集区^[4]。电渗流将样本带到耗尽区边缘处, 使得样品富集在耗尽区的边缘, 从而形成样本富集区 (图1)。这种独特的离子选择性传输现象称为 ICP。利用 ICP 现象, 可实现痕量目标物的高效富集功能。

近年来, 通过微纳加工技术将 ICP 所需的纳米结构与微流控所需的微米结构进行有机结合, 构建可以实现 ICP 高效富集与微流道运输一体化的微流控分析芯片, 从而提高微流控芯片的检测灵敏度和

选择性。微流控 ICP 芯片由于高富集倍数、痕量检测、低消耗量、高灵敏度等特点, 常被应用于生化检测中带电粒子的分离富集^[5-6]、海水淡化^[7]和生物传感检测^[8-9]等诸多领域, 相关研究备受瞩目。

本文通过分析微流控芯片微通道中 ICP 产生机制, 探讨其对纳米微米通道的要求, 归纳总结 ICP 芯片制备技术和方法, 重点对 ICP 芯片设计及富集效能的优化进行分析和探讨, 并对 ICP 芯片在生化分析检测中的应用进展进行综述, 总结 ICP 芯片在靶标物富集和生化分析应用中面临的挑战, 展望相关领域的发展趋势。

* 国家重点研发计划 (2020YFB2009001), 国家自然科学基金 (62071072), 重庆市医学科研重点攻关项目 (重庆市卫健委、科技局联合项目) (2023GGXM002) 和智能传感与微纳生化系统 (2019研究生导师团队) 项目资助。

** 通讯联系人。

Tel: 023-65111022, E-mail: xuyibbd@cqu.edu.cn

收稿日期: 2023-10-23, 接受日期: 2023-12-29

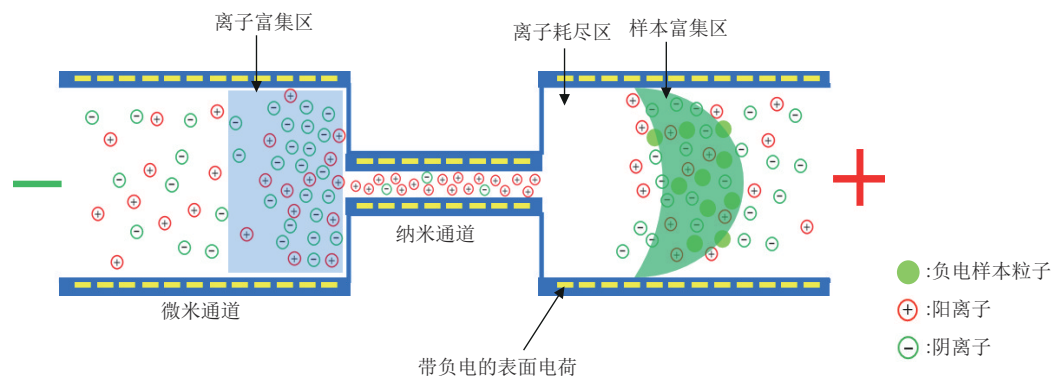


Fig. 1 Schematic diagram of ICP enrichment principle
图1 ICP富集原理示意图

1 微流控ICP芯片微流道设计

微流控 ICP 芯片是利用微纳加工技术将 ICP 所需的纳米结构与微流控所需的微米结构有机结合, 实现 ICP 高效富集与微流道运输一体化的生化分析芯片。ICP 芯片通常由上层的微米通道和下层含有纳米结构的基底构成, 通过研制微流控通道布局, 并且利用微流控芯片易于集成化的特点, 设计研制具有高效富集功能的 ICP 芯片是当前 ICP 芯片研究关注的重点之一。微米通道的形状、尺寸对 ICP 芯片富集效率具有重要的影响。一维 I 形单通道由于结构简单被广泛应用于原理分析。Ahmed 等^[10] 研究了 I 形通道中的 ICP 现象, 并对电导相互作用进行了原理分析。Gholinejad 等^[11] 利用 COMSOL 软件对 I 形结构进行仿真模拟, 发现改变电场可以调控靶标物的预富集模式。Dhopeswarkar 等^[12] 采用 I 形通道验证纳米多孔水凝胶具有离子选择性, 进而设计基于纳米多孔水凝胶的 ICP 芯片 (图 2a), 实现带负电的荧光素钠和单链 DNA 的富集。I 形单通道为 ICP 理论研究和 ICP 芯片功能验证提供了重

要的硬件支持和理论参考价值, 但 I 形微流道结构简单、功能单一, 在靶标物富集范围和富集效率方面仍有较大限制。

基于 H 形微流道的 ICP 芯片设计被用于多种分析物的静态富集, 如蛋白质^[13-14]、DNA^[15-16]、荧光素^[17] 等带电组分。Choi 等^[18] 设计的 H 形芯片能将 Alexa Fluor 488 荧光染料与罗丹明 B 的混合溶液根据带电荷不同进行分离富集。Song 等^[15] 设计的 H 形芯片利用 DNA 质荷比不同进行 ICP 分离富集 (图 2b)。基于 Y 形微流道的 ICP 芯片设计可以满足复杂样品中靶标物的流动富集或分离需求。Kwak 等^[19] 设计的 Y 形微纳流体预富集系统, 可以对蛋白质、红细胞和细菌等样品进行流动富集, 富集倍数最高可达 100 倍。Phan 等^[20] 设计集成适体传感器的 Y 形 ICP 芯片 (图 2c), 利用流体曳力与 ICP 相互作用, 分离富集三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP), 实现了人血清中 ATP 的连续监测。基于 H 形与 Y 形的 ICP 芯片已被广泛用于样本的静态与动态富集, 是目前主流的两种单元结构芯片。

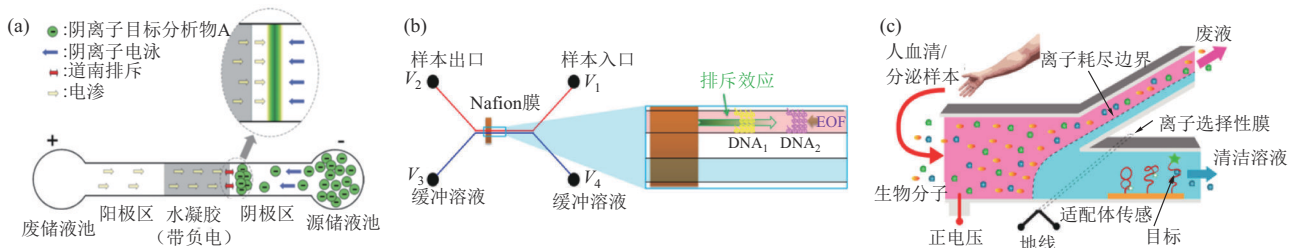


Fig. 2 Schematic structure of straight channel microfluidic ICP chips
图2 直通道微流控ICP芯片结构示意图

(a) I形微流控芯片^[12]; (b) H形微流控芯片^[15]; (c) Y形微流控芯片^[20]。

在微流控芯片上设置并行微流道, 构建高通量 ICP 芯片, 对其富集和检测效率提升显示出极大潜力。Ko 等^[21-22] 研制出含 128 个平行通道的 ICP 芯片 (图 3a), 仅一个入口和一个出口即可实现靶标物高效富集。Ouyang 等^[23] 研制出分层浓缩模式的高通量 ICP 芯片 (图 3b), 利用该芯片可处理毫升级样品, 在 30 min 内实现生物分子的十亿倍富集效率。但这类高通量 ICP 芯片面临富集样本难以提取的难题。Scarff 等^[24] 设计了径向 ICP 芯片, 可以在 36 s 内将异硫氰酸荧光素标记的牛血清白蛋白

(FITC-BSA) 富集在圆心处, 富集倍数达 168 倍。Lee 等^[25] 设计的半圆形芯片 (图 3c) 由 10 条通道组成, 预浓缩体积相较于 I 形通道增加了 3 个数量级。Lee 等^[26] 以径向微流道为基本单元, 设计出集成多个基本单元的圆形 ICP 芯片 (图 3d), 采用移液器提取富集在圆心处的靶标物, 提取的 DNA 体积为 20 nl, 富集倍数为 168 倍。可以看出, 通过设计并行或径向的 ICP 芯片, 能有效解决 ICP 芯片中处理通量较少、样本提取困难的问题。

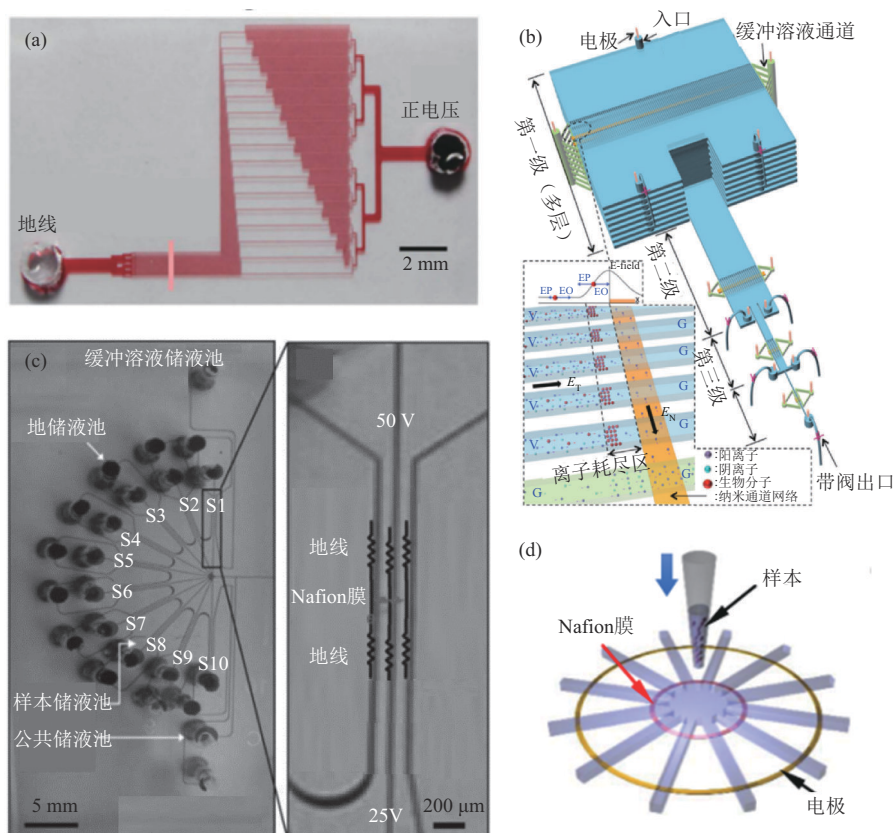


Fig. 3 Schematic structure of parallel microfluidic ICP chips

图3 并行微流控ICP芯片构型示意图

(a) 二维并行通道^[22]; (b) 三维并行通道^[23]; (c) 半圆形通道^[25]; (d) 圆形通道^[26]。

ICP 芯片微流道设计涉及微流道形状、尺寸和布局等参数的设计与调控, 在应用时更着眼于 ICP 芯片上样品收集、转移、检测等多项功能的集成和效能提升, 以使 ICP 芯片适用于实际样本测试, 这也成为目前微流控 ICP 芯片研究的焦点。有研究将微流控液滴技术引入 ICP 芯片中, 用以实现靶标物的收集和转移。Yu 等^[27] 将喷嘴结构引入 ICP 芯片

中, 利用压力诱导驱动, 将预浓缩塞封装成大小可控的油包水液滴, 实现了目标物的捕获和转移 (图 4a)。Phan 等^[28] 在芯片上集成 ICP 富集功能和液滴生成功能, 将 ICP 富集后的荧光素钠盐封装在连续可控的液滴中。为在 ICP 芯片上实现靶标物的原位检测, Wang 等^[29] 将免疫磁珠引入微流道中, 以捕获 ICP 富集后的靶标物, 实现靶标物的特异性检

测 (图 4b)。

尽管人们在 ICP 芯片功能集成方面已经做了一些探索, 然而当前研究还十分不足, 未来还需不断加强这方面的研究。

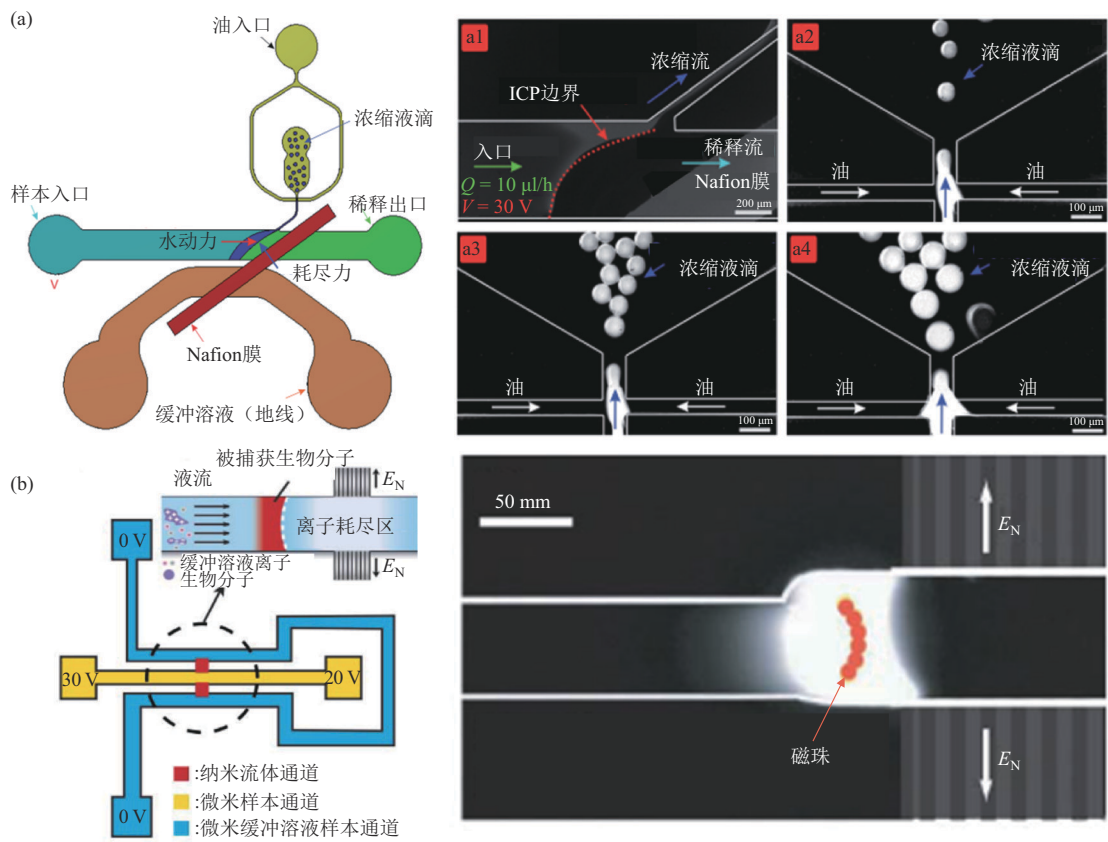


Fig. 4 Integrated multifunctional microfluidic ICP chips

图4 集成多功能的微流控ICP芯片

(a) 集成液滴的微流控ICP芯片^[28]; (b) 集成磁珠的微流控ICP芯片^[29]。

2 微流控ICP芯片中纳米结构的制备与设计

随着微流控芯片的制备技术日渐成熟^[30], 相关的制备工艺能满足 ICP 芯片的微米通道设计与制备。而针对 ICP 芯片中纳米结构的制备是芯片加工中最核心的内容, 决定芯片结构和功能能否实现。ICP 芯片中纳米结构的制备方法包括掩膜加工法、浇筑法、自组装法、电击穿法和嵌入法等 (表 1)。经典的掩膜加工方法用高精度图形结构掩模版, 通过刻蚀方法, 在基底上制作微米通道和纳米通道, 常用材料为高硬度材料, 已从硅片发展到玻璃、石英等。由于芯片键合采用的阳极键合法、高温键合

法, 易导致芯片通道产生变形或者被堵塞, 因此掩膜加工法对芯片加工与键合工艺要求高。浇筑法常用于聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 上微纳结构的制备, 电击穿法常用于 PDMS 和聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET) 材料, 二者在加工精度上均有欠缺, 且电击穿技术加工条件苛刻、耗能高, 因此均逐渐淡出视线。目前, 最为广泛采用的是嵌入法和自组装法。嵌入法通过将纳米孔膜置于含有微米通道的 PDMS 芯片之间, 实现微米纳米结构的有机结合, 其使用的材料价格便宜、加工工艺简单, 被广泛用于制备基于多孔膜的 ICP 芯片; 自组装法通过自发地形成有序排列或结构, 适用于金纳米颗粒、硅珠

Table 1 Nanostructure preparation in common microfluidic ICP chips
表1 常见微流控ICP芯片中纳米结构制备技术

制备技术	纳米结构材料	纳米结构尺寸/nm	微米结构材料及其制备	预浓缩目标物及其浓度	富集倍数	参考文献
掩膜加工法	二氧化硅	40	硅片/刻蚀	33 fmol/L绿色荧光蛋白	10 ⁶ ~10 ⁸	[31]
	聚碳酸酯	20	PDMS/软光刻	1.5 nmol/L BSA	10 ³ ~10 ⁴	[32]
浇筑法	PDMS	1	PDMS/软光刻	10 nmol/L FITC-BSA	10 ³ ~10 ⁶	[33]
	PDMS	55~77	PDMS/软光刻	200 nmol/L 荧光素	10 ³	[34]
自组装法	金纳米颗粒	13	PDMS/软光刻	10 μmol/L FITC-BSA	10 ²	[35]
	poly-AMPS		铬板/刻蚀	1 μmol/L TRITC-BSA	500	[36]
	硅珠纳米颗粒	60	PDMS/软光刻	4 mg/L藻红素蛋白	10 ²	[37]
	金纳米颗粒	40	PDMS/软光刻	0.5 μmol/L FITC-BSA	60	[8]
电击穿法	PDMS		PDMS/软光刻	400 pmol/L β藻红素蛋白	10 ⁴	[38]
	PET		PET/印刷	10 nmol/L FITC-BSA	10 ³ ~10 ⁵	[39]
嵌入法	Nafion	5~7	PDMS/软光刻	100 nmol/L FITC-BSA	400	[40]
	Nafion	5~7	光敏树脂/3D打印	100 μmol/L罗丹明6G	40	[41]
	GO-Nafion		PDMS/软光刻	0.1 μmol/L荧光素钠盐	60	[42]
	Nafion	5~7	光敏树脂/3D打印	3 μmol/L荧光素钠盐	102	[43]
	碳纳米管	60	PDMS/软光刻	1 mg/L荧光素钠盐		[44]

纳米颗粒、聚 2-丙烯酰胺基-2-甲基-1-丙磺酸 (poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propanesulfonic acid), poly-AMPS) 等纳米尺寸的材料, 其自主装方式多样, 材料种类丰富, 反应条件温和, 被认为是最具有应用前景的 ICP 芯片制备方法。未来 ICP 芯片制备技术研究重点仍然集中在纳米结构制备及其与微米通道的集成上。

构建 ICP 芯片的重要环节是微通道中集成纳米结构, 这导致其制备方法受材料特性限制, 同时对制备技术有更高的要求。ICP 芯片中微纳米结构主要采用嵌入法和自组装方法制备, 其中嵌入膜材料的改性以及原位制备纳米通道的研究备受关注。Chang 等^[42] 使用氧化石墨烯 (GO) 来增强 ICP 芯片富集性能, 将 GO 添加到全氟磺酸 (Nafion) 膜中, 使纳米多孔结构内有更高的表面电荷密度, GO-Nafion 复合膜的样本的富集倍数是 Nafion 膜的 1.5 倍。众所周知, Nafion-聚偏氟乙烯 (PVDF) 纳米纤维膜已被用于宏观规模的燃料电池, Kim 等^[45] 将图案化的 Nafion-PVDF 纳米纤维膜 (图 5a) 引入微流体装置中, 充当离子选择性传输的纳米多孔结。Park 等^[46] 从生物相容性出发, 将鸡蛋的纳米多孔结构集成到纸基上, 构建 ICP 纸基芯片。可以看到, 通过将 Nafion 与其他材料相结合, 可实现单种膜材料无法实现的效果, 同时有研究在

理论分析的基础之上, 开始尝试将一些常见材料用作 ICP 结构单元, 这大大拓宽了 ICP 芯片的集成纳米微结构的设计思路和应用范围。

结隙电击法可通过上千伏的高电压击穿产生纳米裂缝^[39, 47], Jen 等^[48] 利用纳米颗粒沉积来降低所需的电击穿电压 (图 5b), 在结隙处滴加 100 nl 的 2 nmol/L 金纳米颗粒能将击穿电压降至 300 V。Chen 等^[49] 研发了一种在 PDMS 微通道中对水凝胶塞进行原位光聚合的制造方法, 由于水凝胶材料的多孔特性, 可作为 ICP 所需纳米结构。这种在 ICP 芯片上原位制备纳米结构的方法虽然可形成良好的 ICP 效应, 但是不仅成本高而且危险性大。

另外, 有研究通过几何形状设计将纳米颗粒限制在固定区域形成 ICP 效应。Lu 等^[5] 首先在硅基底上刻蚀了间距为 250 nm 的硅柱阵列, 通过氧化生长使得纳米间隙缩小至 30 nm 左右, 利用该硅柱阵列, 能将免疫磁珠限制在该区域, 实现 ICP 富集与免疫测定。Choi 等^[50] 利用几何限制进行原位自组装的新方法, 纳米颗粒在两个微流体通道之间形成离子选择性纳米通道网络 (图 5c)。

总之, 现有的微纳米结构及其制备方法较多, 但能将其与微流控芯片有机结合, 构建微流控 ICP 芯片的研究尚在发展, 需要充分考虑应用场景和检测目标, 才能达到制备便捷、高效富集的目标。

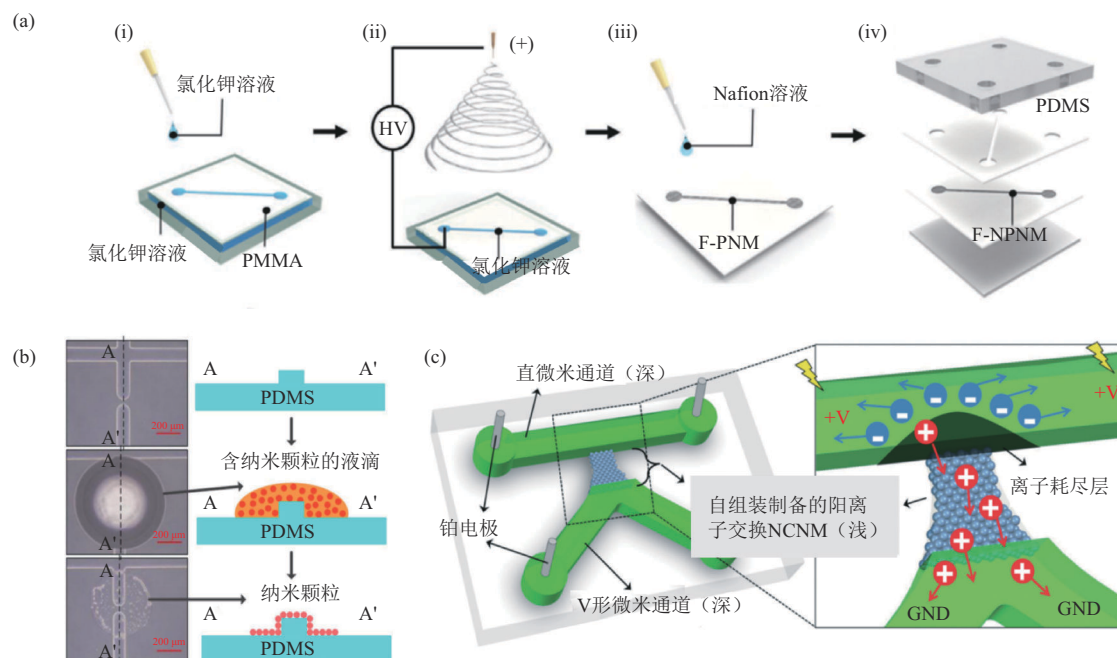


Fig. 5 Preparation methods of nanostructures in microfluidic ICP chips

图5 微流控ICP芯片中纳米结构的制备方式

(a) F-NPNM复合膜制备流程图^[45]; (b) 纳米金辅助电击穿流程图^[48]; (c) 改变几何结构限制纳米颗粒示意图^[50]。

3 微流控ICP芯片的富集效能优化

基于电场效应的ICP芯片在带电粒子富集领域已取得较多进展,但ICP芯片富集时往往伴随电渗流作用,导致富集区域的不可控性,使得靶标物分离、定点检测等后续环节操作困难。因此,如何实现ICP芯片富集区域定位,构建可调控的ICP富集模式,提高富集效能,已经成为当下研究的难点和重点。

有研究提出,多场耦合策略用来实现将靶标物富集在目标区域,最为常用的方法是在微流控芯片中利用流体动力学反压力,抵抗电渗流产生的推力,实现富集区域的可控调节。Louer等^[51]提出在双层玻璃制备的微流控ICP芯片中,构建压力辅助电预浓缩区域,利用流体动力学压力与ICP作用,能实现多种堆叠方式,在阴极堆叠模式下能使富集区域更加集中在设定区域(图6a)。Ngom等^[52]对压力协同控制ICP富集区域进行了理论分析,建立了“电场E/反压P”理论模型,可直观地分析最佳反压力点P以及稳定的富集区域。Papadimitriou等^[53]基于压力辅助富集原理,研制了双H形的ICP芯片,在加电200 s后,实现两种荧光分子的分离富集,富集倍数可达200倍。

通过阀门设计和集成来调控富集效果,也是实现ICP富集区域定位、提高富集效能的有效手段。Chen等^[54]在芯片通道分路中引入磁致动阀门(图6b),通过交替操作阀门和施加电压,使FITC-BSA和四甲基罗丹明富集至不同流道中,实现了二者有效分离。Choi等^[18]通过在ICP芯片中引入4个气动阀,实现了不同荧光染料富集分离,分离分辨率可达1.75(图6c)。Deng等^[14]通过在H形ICP芯片外接压电换能器产生声波,来控制气泡阀的开关(图6d),能将C反应蛋白限制在指定区域从而在30 min内实现C反应蛋白的富集和免疫检测。Sabbagh等^[55]在直通道双层PDMS的ICP芯片中设计了串行压力阀,通过调节阀门压力,实现富集区域的可控调节。阀门设计虽具有可控性强的突出优势,可方便实现ICP芯片中混合靶标物的有效分离、富集与提取,然而阀门设计往往使ICP芯片结构和外围设备复杂,操作流程也更为繁琐。Kwak等^[56]研究发现,给置于微通道中的Nafion膜施加电压后,带电粒子可以富集在Nafion膜所在区域,利用该现象不仅可以调控预浓缩塞位置,而且还能避免使用阀门。Park等^[57]在ICP芯片中引入多条Nafion膜,通过电压控制预浓缩塞进行上下、左右、分离和合并等数字化操作(图6e)。

综上,多场耦合的流体控制策略可以实现ICP芯片富集区域的可控设计和调节,但也会一定程度上增加芯片和装置系统的复杂性,不利于芯片集成

化、微型化和功能化。通过Nafion膜和电压调控富集区域,展示出结构简单、可控性强的特点,且可以为预浓缩塞智能化和编程数字化提供机会。

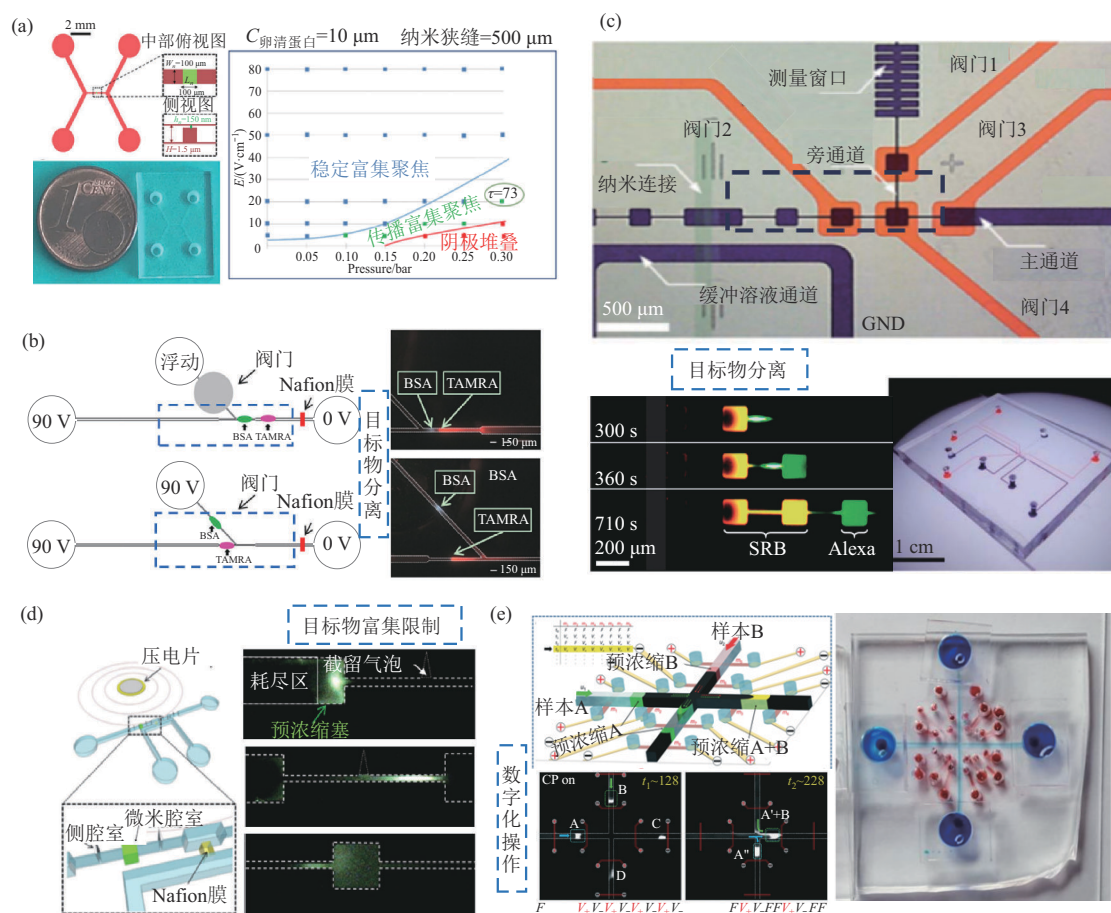


Fig. 6 Optimization method diagram for enrichment efficiency of microfluidic ICP chips

图6 微流控ICP芯片富集效能优化方式图

(a) 压力预富集模式分析与应用^[52]; (b) 引入磁动阀的ICP芯片^[54]; (c) 引入气动阀的ICP芯片^[18]; (d) 引入声激气泡阀的ICP芯片^[14]; (e) 数字化ICP芯片^[57]。

4 微流控ICP芯片在生化分析中应用进展

近十年来,具有高效、快速富集优势的ICP效应已被广泛应用于快速高效生物传感器的研发中,所构建的微流控ICP芯片可用于各种目标分析物,包括细胞、蛋白质、核酸、小分子和无机离子等。随着便携式、快速、低成本和高通量传感检测需求的不断增长,微流控ICP芯片在快速富集预处理、目标物分离以及高灵敏检测领域具有巨大潜力。

4.1 小分子和无机离子

由于小分子尺度小,常规大体系环境会与小分子所在真实环境有所差异,微流控芯片的微纳尺度

恰好满足了小分子尺度下的应用需求,结合ICP的高富集优势,可以实现富集、分离以及检测等应用要求。Phan等^[28]将ICP与液滴发生器结合,利用所研制的芯片可在1 h内将1 $\mu\text{mol/L}$ 的荧光素钠浓缩100倍。Aïzel等^[58]设计的径向ICP芯片通过刻蚀形成纳米通道,能在20 min内将FITC荧光素在中间稳定富集100倍(图7a)。Quist等^[34]利用气动阀来控制纳米通道深浅,通过调节阀门压力和相应纳米空间尺寸的变化,可以获得不同浓差极化状态(图7b),利用该芯片可在1 000 s内将0.2 $\mu\text{mol/L}$ 的荧光素钠浓缩至原浓度的1/100。Choi等^[18]通过在ICP芯片中引入4个气动阀,实现了

磺酰罗丹明 B 和 Alexa Fluor 488 两种荧光染料的分
离检测。Subramanian 等^[59] 研发了集成电化学检测
的微流控 ICP 芯片, 应用于田间水样中亚砷酸盐以
及金属离子的检测, 该芯片对 As^{3+} 的检测能力可低
至 1 ppb。可以看到, 未通过免疫捕获的分离富集
具有简便、适用性广泛的特点, 能有效克服 ICP 富
集中缺乏特异性以及无法分离的缺点, 微流控 ICP
芯片由于其优异的高富集倍数的优点, 对痕量小分
子目标物的富集和检测具有突出优势。

4.2 核酸

DNA 与 RNA 有着特异性序列, 在临床医疗中
有着针对性的因果联系。因此, 针对 DNA 和 RNA
的高效检测对病理研究和临床诊断具有重要意义。
Ouyang 等^[60] 通过压力调控选择性电动捕获、直接
富集和纯化人血清中的核酸, 在常规电驱动 ICP 富
集的基础上引入额外的压力驱动 (图 7c), 利用该
芯片可在 15 min 内将 1 nmol/L 的核酸富集 4 800 倍。
Lee 等^[61] 提出了一种基于序列特异性蛋白捕获机
制和 ICP 现象的纳米电动检测平台, 通过使用序列
特异性 DNA 结合蛋白可实现靶标 DNA 与非靶标的
分离 (图 7d)。Ouyang 等^[62] 研发了一种基于纳米
材料的场效应晶体管, 构建了 ICP 生物传感策略,
实现了血清和尿液中单克隆小鼠抗体和结核分枝杆
菌 DNA 的检测, 线性范围为 1~10 nmol/L。Chen 等^[63]
设计的微流控 ICP 芯片, 利用拉曼技术检测
miRNA, 与传统的磁检测芯片相比, 净化时间从
近 1 h 缩短到不到 10 min, 线性范围为 1~100 pmol/L。
研究显示, 利用 ICP 能将痕量带电物质进行高富集
的优势, 将 ICP 芯片应用于核酸检测中, 为实现快
速检测、低检出限提供有效途径。

4.3 蛋白质

蛋白质分子的定性与定量分析可以评价早期低
水平病变或损害程度, 为临床早期预防和诊断提供
辅助依据。当前, ICP 芯片在蛋白质分析应用中的
研究重点集中在信号增强和特异性检测。

Lee 等^[64] 将 ICP 与纸基折纸结构相结合, 增强
了预浓缩所需的电动力, 结果表明利用纸基折纸
ICP 芯片预浓缩蛋白质使信号增强了 2 倍。Wang
等^[65] 报道了一种结合荧光共振能量转移检测技术
的 ICP 传感芯片, 以金纳米颗粒 (AuNPs) 作为猝
灭剂, 利用该芯片可在 20 min 内完成 BSA 检测,
线性范围为 10~100 mg/L, 检出限为 1.5 pmol/L。
Wang 等^[66] 研制的微流控 ICP 芯片, 可在 10 min 内
完成痕量胰蛋白酶的检测, 检出限低至 0.1 $\mu\text{g/L}$,

与传统间歇式反应体系相比, 可以在更短时间内将
检测灵敏度提高 2 个数量级以上 (图 7e)。可以看
到, 通过微流控 ICP 芯片提高靶标物浓度而提高检
测效率, 可以有效解决蛋白质分析中检测灵敏度提
升的难题。

另外, 通过在电极上修饰抗体, 可实现蛋白质
的特异性捕获。Vu-Dinh 等^[8] 在 ICP 芯片后端集成
了检测电极, 通过在电极上修饰特异性抗体, 实现
了 FITC-BSA 的高效富集和免疫检测 (图 7f), 该
芯片可在 30 min 内将 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 的 FITC-BSA 富集
60 倍。Yoo 等^[67] 研制的集成 ICP 和叉指微电极
(IME) 传感器的微流体芯片, 在 IME 表面修饰了
 β 淀粉样蛋白 ($\text{A}\beta$) 抗体, $\text{A}\beta$ 检测灵敏度达到了飞摩尔
水平 (8.15 fmol/L), 线性范围为 10 pg/L~1 $\mu\text{g/L}$ 。
综上, 结合 ICP 富集与特异性识别, 可实现痕量靶
标物高效富集和捕获, 结合电化学检测可实现蛋白
质更高灵敏度的检测。将 ICP 富集与传感检测集成
为一体化芯片, 为蛋白质分析提供了新的技术和平
台, 也是未来发展的主要趋势。

4.4 细胞

多功能集成是微流控芯片的一大优势, 这已成
为当前微流控分析技术研究的热点, 本课题组在微
流控芯片预处理与传感检测集成方面开展了大量研
究工作^[68-70]。将 ICP 分离富集模式与微流控分析技
术结合, 构建微流控 ICP 芯片在细胞分析领域研究
中也备受关注。Wang 等^[71] 将微混合器集成在 ICP 芯
片中, 混合器能将大肠杆菌细胞与荧光染料混合,
利用 ICP 进行预浓缩, 可以在 1 min 内将
1 $\times 10^4$ cells/ml 大肠杆菌富集 10^4 倍。Kim 等^[72] 报道
了一种集成多个 ICP 功能区的微流控芯片, 该设备
的 ICP 裂解区能在 2 s 内裂解大量荧光染色的
HEK293T/17 细胞, 同时利用 Y 型 ICP 结构将细胞
裂解内组分以半连续方式依次处理 (图 7g)。Wei
等^[73] 将微流控 ICP 芯片与微孔板标准检测平台有
机融合 (图 7h), 将乳腺癌细胞培养上清液中基质
金属蛋白酶 (MMP) 9 和反应产物浓缩于每个芯片
微腔内, 与静态孵育下的常规检测方法相比, 这种
芯片检测时间缩短了至少 10 h, 检出限是微通道或
孔板中的孵育方法的 1/10。相关研究显示, ICP 芯
片利用其独特的高富集倍数和易集成化等优势, 在
细胞浓缩、细胞裂解物或分泌物富集等方面具有明
确的研究价值和应用前景。

由于 ICP 是一种针对带电粒子的电富集现象,
目标物质所带电荷量的差异会影响富集的情况。目

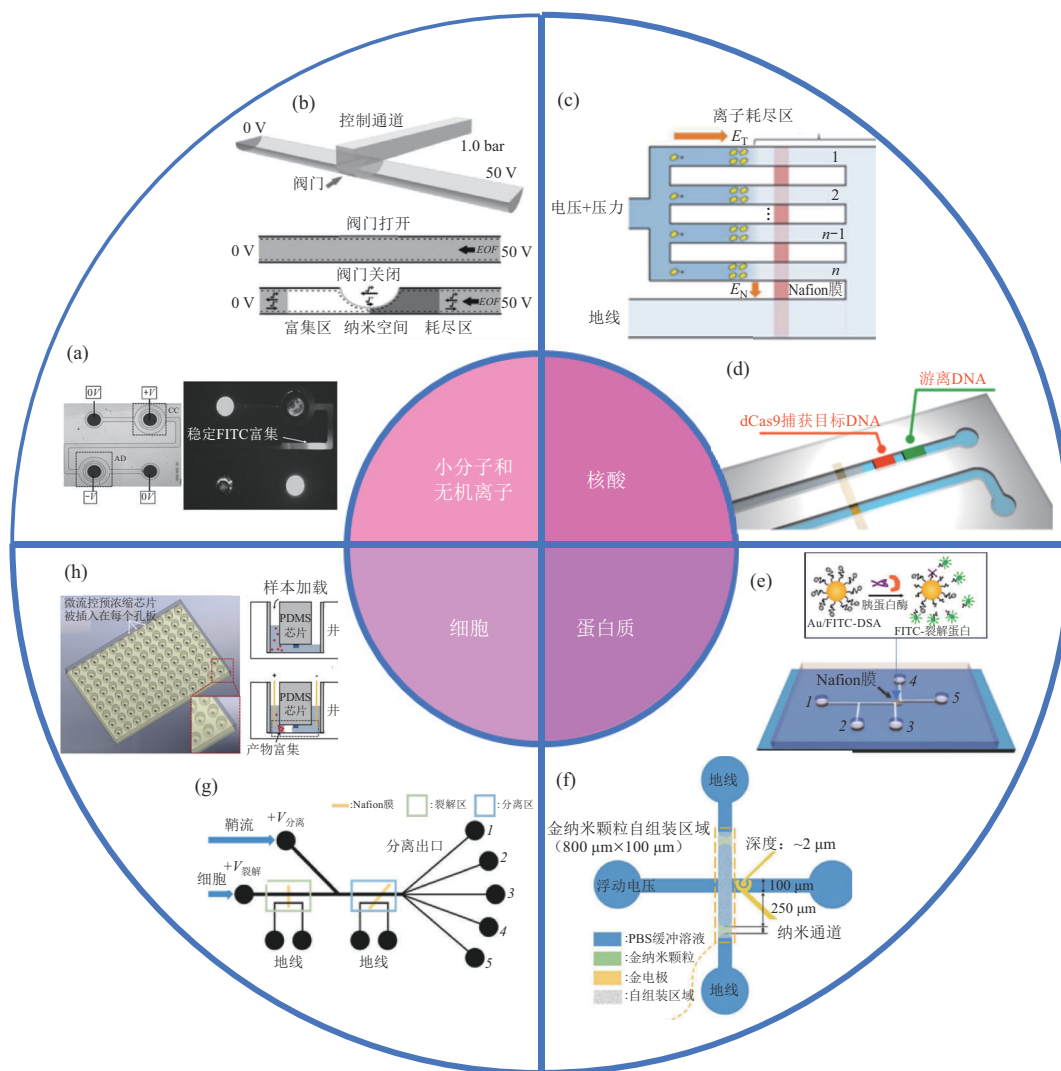


Fig. 7 Application of microfluidic ICP chip in biochemical detection

图7 微流控ICP芯片在生化检测中的应用

(a) ICP芯片富集荧光素^[58]; (b) ICP芯片富集荧光素钠^[34]; (c) 压力辅助ICP芯片富集核酸^[60]; (d) ICP芯片分离DNA^[61]; (e) ICP芯片结合FRET策略检测胰蛋白酶^[67]; (f) ICP芯片修饰特异性抗体检测FITC-BSA^[8]; (g) 集成多功能的ICP芯片用于细胞裂解与组分分离^[72]; (h) 集成孔板的ICP芯片用于富集细胞产物^[73]。

前对目标物为小分子和无机离子的ICP效应明确,人们更多关注ICP芯片上纳米结构的集成及微流道设计,以使其达到更好的富集效果。针对核酸的ICP芯片检测,通过不同核酸带电量之间的差可实现分离,对富集效率提升依然是关注重点。当待测靶标物为蛋白质时,ICP芯片研究不止停留于富集效率,同时也关注与之匹配的检测技术和检测灵敏度,以及通过引入蛋白质的生物免疫策略来进行特异性检测。在细胞层次的ICP芯片应用中,如何有效利用微流控多功能单元集成化的优势开展芯片设计和功能实现成为热点,例如:集成裂解和分离

功能的ICP芯片,其可应用于细胞组内成分提取以及集成细胞孔板培养的ICP芯片,由此提高检测速度及灵敏度。

ICP作为一种分离富集的途径和手段,已被广泛运用于微流控芯片,集成ICP富集功能的微流控芯片具有高效性、快速性、低样品消耗和适用范围广的优势。值得注意的是,只有带电的靶标物才能产生ICP效应,这既是利用ICP的优势,同时也是待测物分离富集和检测中选择性的局限。并且利用ICP芯片更适宜于处理痕量和微量靶标物,其测试通量相对较低。在实际应用中,需根据具体需求和

靶标组分的特性进行选择。

5 结论与展望

综上所述, 微流控 ICP 芯片将 ICP 效应与微流控分析技术有机融合, 其前期研究主要集中在芯片构型种类与应用, 但针对 ICP 制备芯片技术和富集效能的报道比较少。本文围绕 ICP 芯片中的芯片构型递进关系, 总结了纳米结构以及集成纳米微结构的 ICP 芯片制备方法, 针对 ICP 芯片的富集效能优化及其在生化分析中应用进展进行了综述。相关的研究显示微流控 ICP 芯片分析方法和技术在生化分析、微纳加工等领域均具有很好的研究意义, 其在应用中具有处理样本流量低、分离富集效果好、检测效率高以及易于集成化和小型化等优势, 在生化检测领域展示出很好的实用前景。

ICP 芯片在靶标物富集和生化分析中仍面临挑战, 例如怎样提高富集效率和选择性、解决流体控制、混合及传输的问题以匹配检测目标生物特性。通过对纳米材料与微米结构的研究和改进, 能有效提高目标分子的富集倍数、准确捕获和检测。优化芯片结构和流体控制, 结合微流控集成化的优势、引入多功能单元可以实现高效、稳定的生化分析过程。微流控 ICP 芯片通过材料改进、芯片设计和多功能单元集成等途径, 不断推动 ICP 芯片的发展, 为生化分析方法和应用领域开辟新的可能性。

参 考 文 献

- [1] Kim S J, Ko S H, Kang K H, *et al.* Direct seawater desalination by ion concentration polarization. *Nat Nanotechnol*, 2010, **5**(4): 297-301
- [2] Pu Q, Yun J, Temkin H, *et al.* Ion-enrichment and ion-depletion effect of nanochannel structures. *Nano Lett*, 2004, **4**(6): 1099-1103
- [3] Di Trani N, Racca N, Demarchi D, *et al.* Comprehensive analysis of electrostatic gating in nanofluidic systems. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, **14**(31): 35400-35408
- [4] Han W, Chen X. A review: applications of ion transport in micro-nanofluidic systems based on ion concentration polarization. *J Chem Technol Biotechnol*, 2019, **95**(6): 1622-1631
- [5] Lu B, Mahabiz M M. Ion concentration polarization (ICP) of proteins at silicon micropillar nanogaps. *PLoS One*, 2019, **14**(11): e0223732
- [6] Yu C, Dai S, Li S, *et al.* Nucleic acid detection with ion concentration polarization microfluidic chip for reduced cycle numbers of polymerase chain reaction. *Micromachines (Basel)*, 2022, **13**(9): 1394-1403
- [7] 黄海宁, 高少斌, 李鑫, 等. 基于离子浓差极化的立体式海水淡化微流控器件研究. *分析化学*, 2016, **44**(12): 1808-1813
- [8] Huang H N, Gao S B, Li X, *et al.* *Anal Chem*, 2016, **44**(12): 1808-1813
- [9] Vu-Dinh H, Tsao W Y, Jen C P. Enhanced immunoassay in a nanofluidic preconcentrator utilizing nano-interstices among self-assembled gold nanoparticles. *Biomed Microdevices*, 2022, **24**(2): 19-29
- [10] Fan Y J, Huang M Z, Hsiao Y C, *et al.* Enhancing the sensitivity of portable biosensors based on self-powered ion concentration polarization and electrical kinetic trapping. *Nano Energy*, 2020, **69**: 104407
- [11] Ahmed Z, Bu Y, Yobas L. Conductance interplay in ion concentration polarization across 1D nanochannels: microchannel surface shunt and nanochannel conductance. *Anal Chem*, 2020, **92**(1): 1252-1259
- [12] Gholinejad M, Moghadam A J, Shaegh S A M. Analysis of preconcentration patterns in microfluidic ion concentration polarization devices. *Physics of Fluids*, 2022, **34**(1): 012014
- [13] Dhopeswarkar R, Crooks R M, Hlushkou D, *et al.* Transient effects on microchannel electrokinetic filtering with an ion-permeable membrane. *Anal Chem*, 2008, **80**(4): 1039-1048
- [14] Kim S J, Han J. Self-sealed vertical polymeric nanoporous-junctions for high-throughput nanofluidic applications. *Anal Chem*, 2008, **80**(9): 3507-3511
- [15] Deng C Z, Fan Y J, Chung P S, *et al.* A novel thermal bubble valve integrated nanofluidic preconcentrator for highly sensitive biomarker detection. *ACS Sens*, 2018, **3**(7): 1409-1415
- [16] Song H, Wang Y, Garson C, *et al.* Nafion film based micro-nanofluidic device for concurrent DNA preconcentration and separation in free solution. *Microfluid Nanofluidics*, 2014, **17**(4): 693-699
- [17] Hong S A, Kim Y J, Kim S J, *et al.* Electrochemical detection of methylated DNA on a microfluidic chip with nanoelectrokinetic pre-concentration. *Biosens Bioelectron*, 2018, **107**: 103-110
- [18] Kim B, Heo J, Kwon H J, *et al.* Tunable ionic transport for a triangular nanochannel in a polymeric nanofluidic system. *ACS Nano*, 2013, **7**(1): 740-747
- [19] Choi J, Huh K, Moon D J, *et al.* Selective preconcentration and online collection of charged molecules using ion concentration polarization. *RSC Adv*, 2015, **5**(81): 66178-66184
- [20] Kwak R, Kim S J, Han J. Continuous-flow biomolecule and cell concentrator by ion concentration polarization. *Anal Chem*, 2011, **83**(19): 7348-7355
- [21] Phan D T, Jin L, Wustoni S, *et al.* Buffer-free integrative nanofluidic device for real-time continuous flow bioassays by ion concentration polarization. *Lab Chip*, 2018, **18**(4): 574-584
- [22] Ko S H, Kim S J, Cheow L F, *et al.* Massively parallel concentration device for multiplexed immunoassays. *Lab Chip*, 2011, **11**(7): 1351-1358
- [23] Ko S H, Song Y A, Kim S J, *et al.* Nanofluidic preconcentration device in a straight microchannel using ion concentration polarization. *Lab Chip*, 2012, **12**(21): 4472-4482
- [24] Ouyang W, Han J. Universal amplification-free molecular

- diagnostics by billion-fold hierarchical nanofluidic concentration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, **116**(33): 16240-16249
- [24] Scarff B, Escobedo C, Sinton D. Radial sample preconcentration. *Lab Chip*, 2011, **11**(6): 1102-1109
- [25] Lee J H, Song Y A, Han J. Multiplexed proteomic sample preconcentration device using surface-patterned ion-selective membrane. *Lab Chip*, 2008, **8**(4): 596-601
- [26] Lee S, Park S, Kim W, *et al.* Nanoelectrokinetic bufferchannel-less radial preconcentrator and online extractor by tunable ion depletion layer. *Biomicrofluidics*, 2019, **13**(3): 034113
- [27] Yu M, Hou Y, Zhou H, *et al.* An on-demand nanofluidic concentrator. *Lab Chip*, 2015, **15**(6): 1524-1532
- [28] Phan D T, Chun Y, Nguyen N T. A continuous-flow droplet-based concentrator using ion concentration polarization. *RSC Adv*, 2015, **5**(55): 44336-44341
- [29] Wang Y C, Han J. Pre-binding dynamic range and sensitivity enhancement for immuno-sensors using nanofluidic preconcentrator. *Lab Chip*, 2008, **8**(3): 392-394
- [30] Niculescu A-G, Chircov C, Bîrcă A C, *et al.* Fabrication and applications of microfluidic devices: a review. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(4): 2011
- [31] Wang Y C, Stevens A L, Han J. Million-fold preconcentration of proteins and peptides by nanofluidic filter. *Anal Chem*, 2005, **77**(14): 4293-4299
- [32] Wang C, Ouyang J, Ye D K, *et al.* Rapid protein concentration, efficient fluorescence labeling and purification on a micro/nanofluidics chip. *Lab Chip*, 2012, **12**(15): 2664-2671
- [33] Kim S M, Burns M A, Hasselbrink E F. Electrokinetic protein preconcentration using a simple glass/poly(dimethylsiloxane) microfluidic chip. *Anal Chem*, 2006, **78**(14): 4779-4785
- [34] Quist J, Trietsch S J, Vulto P, *et al.* Elastomeric microvalves as tunable nanochannels for concentration polarization. *Lab Chip*, 2013, **13**(24): 4810-4815
- [35] Chen Y H, Wu H F, Amstislavskaya T G, *et al.* A simple electrokinetic protein preconcentrator utilizing nano-interstices. *Biomicrofluidics*, 2016, **10**(2): 024121
- [36] Chun H, Chung T D, Ramsey J M. High yield sample preconcentration using a highly ion-conductive charge-selective polymer. *Anal Chem*, 2010, **82**(14): 6287-6292
- [37] Syed A, Mangano L, Mao P, *et al.* Creating sub-50 nm nanofluidic junctions in a PDMS microchip *via* self-assembly process of colloidal silica beads for electrokinetic concentration of biomolecules. *Lab Chip*, 2014, **14**(23): 4455-4460
- [38] Lee J H, Chung S, Kim S J, *et al.* Poly(dimethylsiloxane)-based protein preconcentration using a nanogap generated by junction gap breakdown. *Anal Chem*, 2007, **79**(17): 6868-6873
- [39] Yu H, Lu Y, Zhou Y G, *et al.* A simple, disposable microfluidic device for rapid protein concentration and purification *via* direct-printing. *Lab Chip*, 2008, **8**(9): 1496-1501
- [40] Chao C C, Chiu P H, Yang R J. Preconcentration of diluted biochemical samples using microchannel with integrated nanoscale Nafion membrane. *Biomed Microdevices*, 2015, **17**(2): 25
- [41] Pi H, Tong J, Bian C, *et al.* 3D printed micro/nanofluidic preconcentrator for charged sample based on ion concentration polarization. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 2017, **27**(5): 055008
- [42] Chang C H, Yang R J. Enhanced sample preconcentration in microfluidic chip using graphene oxide-Nafion membrane. *Microfluid Nanofluidics*, 2016, **20**(12): 168
- [43] 姜金华, 从奥博, 王月坤, 等. 基于三叉型离子交换膜的带电粒子微流控富集芯片的研究. *分析化学*, 2022, **50**(4): 585-592
- Jiang J H, Cong A B, Wang Y K, *et al.* *Anal Chem*, 2022, **50**(4): 585-592
- [44] Kim B, Heo J, Kwon H J, *et al.* Fabrication of entangled single-wall carbon nanotube films as nanoporous junctions for ion concentration polarization. *Jpn J Appl Phys*, 2015, **54**(3): 035102
- [45] Kim J, Park S M, Choi D, *et al.* Direct fabrication of freestanding and patterned nanoporous junctions in a 3D micro-nanofluidic device for ion-selective transport. *Small*, 2020, **16**(22): e2000998
- [46] Park S, Hong S, Kim J, *et al.* Eco friendly nanofluidic platforms using biodegradable nanoporous materials. *Sci Rep*, 2021, **11**(1): 3804
- [47] Mao X, Reschke B R, Timperman A T. Analyte transport past a nanofluidic intermediate electrode junction in a microfluidic device. *Electrophoresis*, 2010, **31**(15): 2686-2694
- [48] Jen C P, Amstislavskaya T G, Kuo C C, *et al.* Protein preconcentration using nanofractures generated by nanoparticle-assisted electric breakdown at junction gaps. *PLoS One*, 2014, **9**(7): e102050
- [49] Chen D, Timperman A T. Analyte enrichment *via* ion concentration polarization with hydrogel plugs polymerized in PDMS microchannels by a facile and comprehensive method for improved polymerization. *Anal Chem*, 2022, **94**(45): 15586-15594
- [50] Choi E, Kwon K, Kim D, *et al.* An electrokinetic study on tunable 3D nanochannel networks constructed by spatially controlled nanoparticle assembly. *Lab Chip*, 2015, **15**(2): 512-523
- [51] Louer A C, Plecis A, Pallandre A, *et al.* Pressure-assisted selective preconcentration in a straight nanochannel. *Anal Chem*, 2013, **85**(16): 7948-7956
- [52] Ngom S M, Flores-Galicia F, Delapierre F D, *et al.* Electropreconcentration diagrams to optimize molecular enrichment with low counter pressure in a nanofluidic device. *Electrophoresis*, 2020, **41**(18-19): 1617-1626
- [53] Papadimitriou V A, Segerink L I, Eijkel J C T. Continuous focusing, fractionation and extraction of anionic analytes in a microfluidic chip. *Lab Chip*, 2019, **19**(19): 3238-3248
- [54] Chen Y Y, Chiu P H, Weng C H, *et al.* Preconcentration of diluted mixed-species samples following separation and collection in a micro-nanofluidic device. *Biomicrofluidics*, 2016, **10**(1): 014119
- [55] Sabbagh B, Stolovicki E, Park S, *et al.* Tunable nanochannels connected in series for dynamic control of multiple concentration-polarization layers and preconcentrated molecule plugs. *Nano*

- Lett, 2020, **20**(12): 8524-8533
- [56] Kwak R, Kang J Y, Kim T S. Spatiotemporally defining biomolecule preconcentration by merging ion concentration polarization. *Anal Chem*, 2016, **88**(1): 988-996
- [57] Park S, Sabbagh B, Abu-Rjal R, *et al.* Digital microfluidics-like manipulation of electrokinetically preconcentrated bioparticle plugs in continuous-flow. *Lab Chip*, 2022, **22**(4): 814-825
- [58] Aïzel K, Fouillet Y, Pudda C, *et al.* Investigation of ion concentration polarization in original micro-nanofluidic devices. *Procedia Eng*, 2012, **47**: 269-272
- [59] Subramanian V, Lee S, Jena S, *et al.* Enhancing the sensitivity of point-of-use electrochemical microfluidic sensors by ion concentration polarisation - a case study on arsenic. *Sens Actuators B Chem*, 2020, **304**: 127340
- [60] Ouyang W, Li Z, Han J. Pressure-modulated selective electrokinetic trapping for direct enrichment, purification, and detection of nucleic acids in human serum. *Anal Chem*, 2018, **90**(19): 11366-11375
- [61] Lee H, Choi J, Jeong E, *et al.* DCas9-mediated nanoelectrokinetic direct detection of target gene for liquid biopsy. *Nano Lett*, 2018, **18**(12): 7642-7650
- [62] Ouyang W, Han J, Wang W. Enabling electrical biomolecular detection in high ionic concentrations and enhancement of the detection limit thereof by coupling a nanofluidic crystal with reconfigurable ion concentration polarization. *Lab Chip*, 2017, **17**(22): 3772-3784
- [63] Chen W Y, Wang C H, Wang K H, *et al.* Development of microfluidic concentrator using ion concentration polarization mechanism to assist trapping magnetic nanoparticle-bound miRNA to detect with Raman tags. *Biomicrofluidics*, 2020, **14**(1): 014102
- [64] Lee J, Yoo Y K, Lee D, *et al.* Origami paper-based sample preconcentration using sequentially driven ion concentration polarization. *Lab Chip*, 2021, **21**(5): 867-874
- [65] Wang C, Shi Y, Wang J, *et al.* Ultrasensitive protein concentration detection on a micro/nanofluidic enrichment chip using fluorescence quenching. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, **7**(12): 6835-6841
- [66] Wang C, Ouyang J, Wang Y Y, *et al.* Sensitive assay of protease activity on a micro/nanofluidics preconcentrator fused with the fluorescence resonance energy transfer detection technique. *Anal Chem*, 2014, **86**(6): 3216-3221
- [67] Yoo Y K, Yoon D S, Kim G, *et al.* An enhanced platform to analyse low-affinity amyloid beta protein by integration of electrical detection and preconcentrator. *Sci Rep*, 2017, **7**(1): 14303
- [68] Wang X, He X, He Z, *et al.* Detection of prostate specific antigen in whole blood by microfluidic chip integrated with dielectrophoretic separation and electrochemical sensing. *Biosens Bioelectron*, 2022, **204**: 114057
- [69] Wang X, He X, Hou L, *et al.* High-performance detection of endotoxin by the microfluidic chip integrated with surface acoustic wave sensor modified by $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x/\text{Au}$ NPs nanocomposite. *Applied Surface Science*, 2023, **618**: 156423
- [70] He X, Wang X, Ge C, *et al.* Detection of VEGF(165) in whole blood by differential pulse voltammetry based on a centrifugal microfluidic chip. *ACS Sens*, 2022, **7**(4): 1019-1026
- [71] Wang Z, Han T, Jeon T J, *et al.* Rapid detection and quantification of bacteria using an integrated micro/nanofluidic device. *Sensor Actuators B Chem*, 2013, **178**: 683-688
- [72] Kim S, Nam H, Lee E, *et al.* Ion concentration polarization-based multifunctional microfluidic device for analysis of intracellular components. *Sensor Actuators B Chem*, 2022, **371**: 132576
- [73] Wei X, Do V Q, Pham S V, *et al.* A multiwell-based detection platform with integrated PDMS concentrators for rapid multiplexed enzymatic assays. *Sci Rep*, 2018, **8**(1): 10772

Development of Microfluidic Ion Concentration Polarization Chip and Its Application in Biochemical Testing*

HE Zhi-Heng^{1,2)}, WANG Xiao-Li³⁾, GE Chuang^{1,4)}, XU Yi^{1,2)**}

⁽¹⁾Key Disciplines Laboratory of National Defense for Novel Micro-Nano Devices and System Technology,

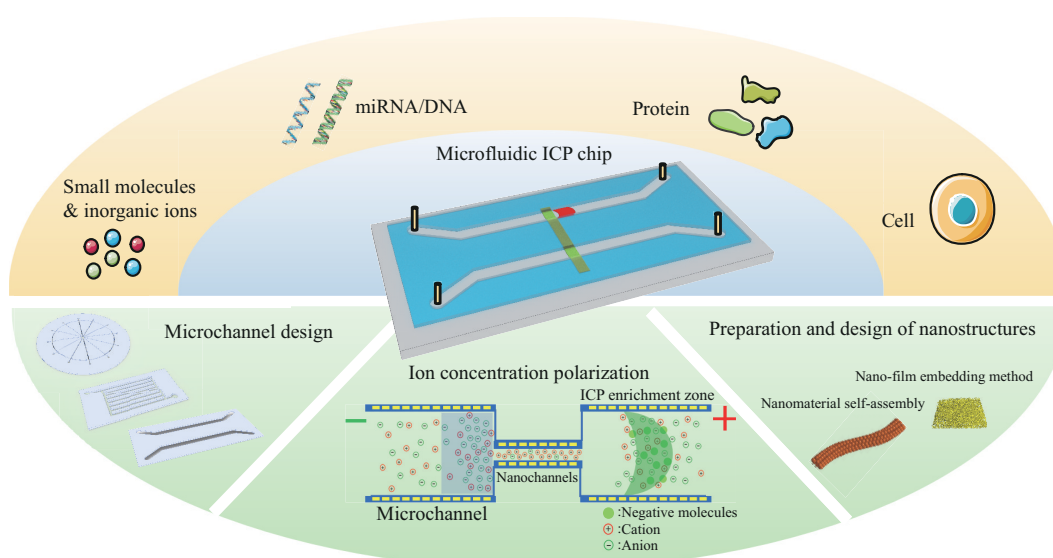
Key Laboratory of Optoelectronic Technology and Systems, Ministry of Education, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

²⁾School of Optoelectronic Engineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China;

³⁾School of Life and Health Information Science and Engineering, Chongqing University of Posts and Telecommunications, Chongqing 400065, China;

⁴⁾Key Laboratory of Translational Research for Cancer Metastasis and Individualized Treatment, Chongqing University Cancer Hospital, Chongqing 400030, China)

Graphical abstract



Abstract Ion concentration polarization (ICP) is an electrical transport phenomenon that occurs at the micro-nano interface under the action of an applied electric field, and the ICP phenomenon can be used to enrich charged particles with high efficiency. The microfluidic chip has the advantages of high precision, high efficiency, easy integration and miniaturization in biochemical analysis, which provides a new solution and technical way for biochemical analysis. In response to the demand for the detection of trace charged target analytes in sample solution, the advantages of high enrichment multiplicity, convenient operation and easy integration of ICP are

* This work was supported by grants from the National Key Research and Development Program (2020YFB2009001), The National Natural Science Foundation of China (62071072), the Chongqing Medical Research Key Research (Joint Project of Chongqing Health Commission and Science and Technology Bureau) (2023GGXM002), and Project of the Intelligent Sensing and Micro Nano Biochemical System (2019 Graduate Supervisor Team).

** Corresponding author.

Tel: 86-23-65111022, E-mail: xuyibbd@cqu.edu.cn

Received: October 23, 2023 Accepted: December 29, 2023

utilized to provide an effective way for microfluidic biochemical detection. The combination of ICP phenomenon and microfluidic analysis technology has been widely used in the fields of pre-enrichment of charged particles, separation of targets, and detection of target analytes in biochemical analysis. In this paper, the principle of ICP and the microfluidic ICP chip are briefly introduced. Under the action of external electric field, the co-ions pass through the ion-selective nanochannel, the counterions are rejected at the boundary of nanochannel to form a depletion zone, and the charged samples will be enriched at the boundary of the depletion zone. Then the preparation techniques and methods of ICP chips are summarized. Among them, the design of microfluidic channel structure and the preparation and design of nanostructures are emphasized. The basic single-channel structure is analyzed, and the parallel-channel structure as well as the integrated multi-functional microfluidic ICP chip are sorted out and summarized. The preparation methods of nanostructures in ICP chips and their respective advantages and disadvantages are listed, and it is summarized that the current mainstream means are the embedding method and the self-assembly method, and attention is paid to the design of nanostructures preparation methods by both of them. In addition, this paper also discusses how to optimize the enrichment efficiency of ICP chip, through the introduction of multi-field coupling, valve control and other means to achieve the optimization of the enrichment efficiency of target substances. Meanwhile, this paper provides a classified overview of the progress of application of ICP chips in biochemical analysis and detection. ICP chips have been widely used in the research and development of biosensors, which can be used for the enrichment and separation of a variety of analytes including small molecules, nucleic acids, proteins, and cells, *etc.* By changing the design of microfluidic structures, integrating detection methods and modifying specific antibodies, ICP chips have shown great potential in the fields of rapid enrichment and pre-processing of targets, separation of targets and highly sensitive detection. Finally, it is pointed out that ICP chips are facing challenges in improving enrichment efficiency and selectivity, and solving the problems of fluid control, mixing and transport to match the biological properties of target assay, and that microfluidic ICP chips have been continuously promoting the development of ICP chips through the improvement of materials, chip design and integration of multifunctional units, opening up new possibilities in the field of biochemical analysis methods and applications. It can be seen that microfluidic ICP chips have the advantages of low sample flow rate, good separation and enrichment, high detection efficiency, and easy integration and miniaturization, which have shown good research significance and practical prospects in the field of biochemical detection.

Key words ion concentration polarization, micro/nano structure, microfluidic chip, separation and enrichment, biochemical detection

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0403