

マイクロ分析システムに関する研究

山田 博之・萩原 茂・寺澤 章裕・吉田 善一*1・寺田 信幸*2

Study on Micro Total Analysis System

Hiroyuki YAMADA, Shigeru HAGIHARA, Akihiro TERASAWA,
Yoshikazu YOSHIDA*1, and Nobuyuki TERADA*2

要 約

ポリイミドとフッ素樹脂に着目し、樹脂材料の加工に適した紫外線レーザーを用いて、マイクロ加工の検討を行った。さらに、マイクロ加工技術を用いた μ -TAS (Micro Total Analysis System) への応用として、レーザー加工と樹脂フィルムラミネートを用いたマイクロ流体デバイスの作製を行った。小径パイプを挿入した立体流路を作製し、微細流路に血液と生理食塩水を送液する実験を行い血球の観察を行った。その結果、血液の流れ幅を絞り、血球を一直線に並べて流すことができた。また、厚さ $100\mu\text{m}$ のフッ素樹脂フィルムに直径 $20\mu\text{m}$ の貫通穴を加工し比較的良好な加工面が得られた。

Abstract

A micro-channel is fabricated in resin by ultraviolet pulse laser ablation. A number of thermosetting resin-films are layered on a soda glass. A laser fabricates a part of the channel on each film for every lamination. The channels are $45\text{--}180\mu\text{m}$ in depth and $50\text{--}200\mu\text{m}$ in width. We fabricated a capillary pipe inserted a three-dimensional micro-channel. We tested this micro-fluidic device for blood transportation and blood-cell observation. And a through hole with a diameter of $20\mu\text{m}$ is made in a fluoro resin film with a thickness of $100\mu\text{m}$ by ultraviolet pulse laser.

1. 緒 言

現在、半導体関連産業やIT関連産業、精密機器製造産業をはじめとして様々な分野において、各種材料を対象にしたマイクロ加工に取り組んでいる企業や研究機関が増加してきている。

また、血液検査やDNA分析など多くの分野において微量流体の成分分析を精度良く、迅速に行いたいという要求が高まっている。そこで流体試料の注入、混合、攪拌、分離、抽出を行う機構部品や流路、溜池などの流体分析に必要な要素を小型・集積化した μ -TAS (Micro Total Analysis System) というマイクロ流体デバイスが注目されている¹⁾。 μ -TASはカードサイズで作製できるため、測定試料が微量で済むだけでなく、試薬や廃液の量も低減でき、さらに分析時間の短縮も期待できる。

本研究において μ -TASの流路幅は、数 μm ～数百 μm の大きさを考えている。その作製方法には、半導体製造プロセスを応用し、シリコンや石英ガラスに微細溝を形成する方法、熱転写や成形で樹脂やシリコンゴムに溝を形成する方法、レーザーで樹脂に直接加工する方法などが報告されている^{2)・3)}。半導体製造プロセスを用いた方

法では、加工工程が複雑で、マスクを用いるため流路形状の変更が容易ではなく、材料も高価である。熱転写や成形を用いた方法では、高精度・高微細の加工が困難であり、材料の種類も限定される。

そこで著者等は、樹脂材料に対しアブレーション加工が可能な紫外線レーザーに着目し、レーザー加工による微細溝加工をはじめとするマイクロ加工技術の検討を行った。本研究では、マイクロ流体デバイスの作製方法として、共同研究者の吉田が提案している樹脂ラミネート法⁴⁾に着目した。この作製方法は、マイクロ機構部品や電極を予め組み込んだ基板の上に、ラミネート接着によって樹脂部分を形成し、この樹脂部に流路や反応溜池などを作製する方法である。これにより、使用済み μ -TASは汚染された流路等のある樹脂部分のみを洗浄・除去し、各種部品が組み込まれた基板部は再利用が可能のため低価格化、洗浄・交換の簡素化をはじめ、衛生的であるなどの効果が期待できる⁵⁾。これまでにマイクロ加工技術を用いた μ -TASへの応用の第1段階として、三又構造の微細流路をもつマイクロ流体デバイスを作製し、血液送液実験を行った⁶⁾。

本報では、小径パイプを挿入した立体流路を持つマイクロ流体デバイスを作製した。さらに、微細流路に血液を送液する実験を行い、血球を一直線上に並べて流すこ

*1 東洋大学 工学部 機械工学科

*2 東洋大学 工学部 機能ロボティクス学科

とができた。また、血液などの生体物質を対象とするため、材料としてフッ素樹脂に着目し、紫外線レーザーによるフッ素樹脂への加工条件についての検討を行った。この結果をもとに血液検査への応用例を提案することができたので報告する。

2. 実験方法

2-1 材料

熱硬化性樹脂のポリイミドと耐薬品性や撥水性が高いフッ素樹脂に注目し検討を行った。加工実験およびマイクロ分析チップの試作に用いた材料の種類と厚さを表1に示す。なお、フッ素樹脂EFEPはダイキン工業株式会社製「ネオフロンEFEP」である。

2-2 エキシマレーザーによる加工

樹脂材料に対し非熱でアブレーション加工が可能な紫外レーザーとして、エキシマレーザーを用いた。本実験ではExitech社製のエキシマレーザー加工機PS2000（発振機：LAMBDA PHYSIK社製LPX200i）を用いた。ポリイミドへの加工では加工性が高いKrFエキシマレーザーにより加工実験を行った。また、フッ素樹脂への加工では波長248nmのKrFエキシマレーザーと波長193nmのArFエキシマレーザーにより加工実験を行い、比較評価を行った。それぞれの加工条件を表2、3に示す。材料の温度を変化させる場合は、加工用ステージの温度を制御し、材料の表面温度を非接触温度計で計測しながら加工実験を行った。加工面は、レーザー顕微鏡による形状・寸法測定と電子顕微鏡による表面観察により評価を行った。

表1 材料の種類と厚さ

材 料	厚さ [μm]
ポリイミド+フッ素系接着層	25+20 (総厚：45)
フッ素樹脂 (EFEP)	100
カバーガラス (MATSUNAMI製)	230

表2 ポリイミドの加工条件

加工装置	Exitech社製エキシマレーザー加工機 PS2000 LAMBDA PHYSIK社製発振機 LPX200i
レーザー波長	248 [nm]
縮小光学系倍率	10倍レンズ系
フルエンス	0.75 [J/cm ²]
発振周波数	20, 100 [Hz]
ビーム形状	□108 [μm]

表3 フッ素樹脂の加工条件

加工装置	Exitech社製エキシマレーザー加工機 PS2000 LAMBDA PHYSIK社製発振機 LPX200i
レーザー波長	248 [nm], 193 [nm]
縮小光学系倍率	30倍レンズ系
フルエンス	6.8, 12.1 [J/cm ²]
発振周波数	20, 100 [Hz]
ビーム形状	□100 [μm], ϕ 17 [μm]

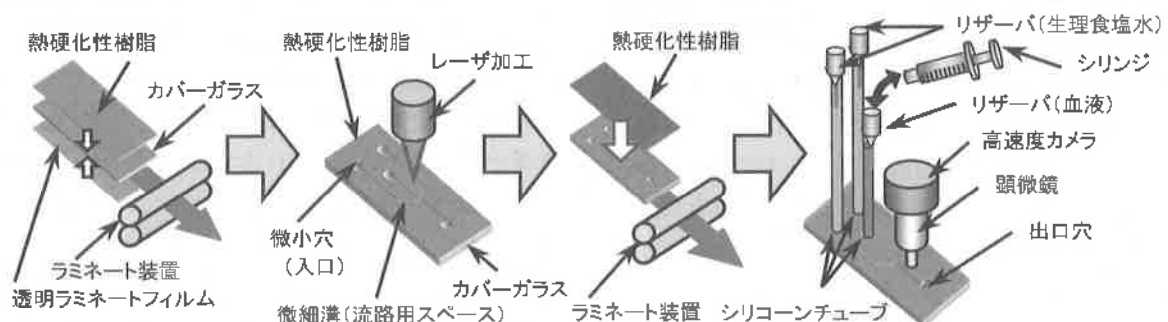


図1 マイクロ分析チップ作製プロセス

2-3 マイクロ分析チップ作製プロセス

図1に送液実験用の微細流路をもつマイクロ分析チップの作製プロセスを示す。はじめにカバーガラスに樹脂フィルムをラミネート接着し、レーザ加工により樹脂部分に微細溝や微小穴を形成する。基板には24×60×0.23mmのMATSUNAMI製カバーガラスを用いた。次に樹脂フィルムをラミネート接着することによりそれらを覆う。多層化させる場合は、レーザ加工により微細溝を形成し、さらに樹脂フィルムをラミネート接着する。最後にガラスなどの透明部品側に送液用の小径チューブを接着する。ラミネート装置は、一般的な事務機器であるコクヨ製ラミネータを使用した。

2-4 送液実験方法

試作した送液実験用のマイクロ分析チップに、シリンジを取り付け手動やシリンジポンプなどにより液体試料を流し、光学顕微鏡および高速度ビデオカメラによって流路内の流れ状態を観察した。液体試料は、医療分野への応用を考え、血液と生理食塩水を用いて送液実験を行った。

3. 実験結果および考察

3-1 マイクロ加工による小径パイプ流路の作製

流れが層流から乱流に移行する臨界レイノルズ数は円管の中の定常流で約2000であり、血液は約4500~0.001である。従って、血液は内径が1mm程度の腹大動脈よりも細い血管では層流になる。一方、血液は粘性の高いコロイド状の流体でタンパク質などを含むため、幅数 μm の微細流路に血液を流すと直ちに閉塞する可能性が考えられる。しかも、数 μm の微細流路を精度良く、かつ面粗さも良好な状態で加工を行うことは容易ではない。そこで、試料がシース液に包まれた状態で流れるシースフロー現象と、三又構造の流路において圧力調節による流れ幅を制御する方法を応用して、図2に示すように三又流路の合流位置で生理食塩水の流れによって血液の流れ幅が数 μm に絞られた状態で流れることがこれまでに確認できた。しかし、図3に示すように三又流路の厚さ方向については血液の流れ幅は絞られておらず、流路底面を転がるように流れる血球も観察された。

そこで、図4に示すように血液と生理食塩水の合流部において血液の流れの全周を生理食塩水のシースフローで覆うことを目的として、図5に示すような小径パイプを挿入した立体流路を作製した。図6にマイクロ流体デバイスの概略図を示す。表2に示す加工条件をもとに、エキシマレーザ加工機により樹脂材料に微細溝を加工した。パイプは外径 $100\mu\text{m}$ 、内径 $30\mu\text{m}$ の銅パイプを用い、

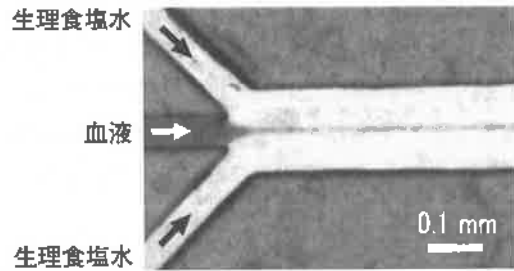


図2 三又流路における血液の流れ（合流部）

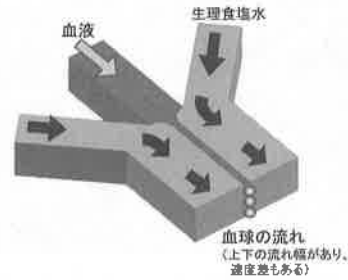


図3 三又流路における流れ模式図

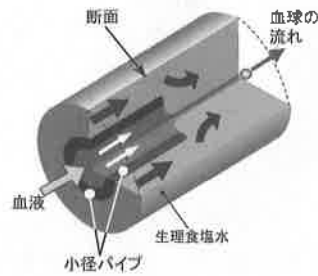


図4 同軸流路における流れ模式図

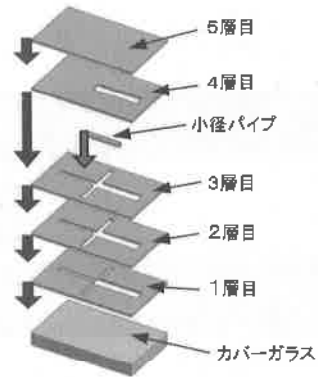


図5 樹脂フィルム積層による小径パイプ流路の概略図

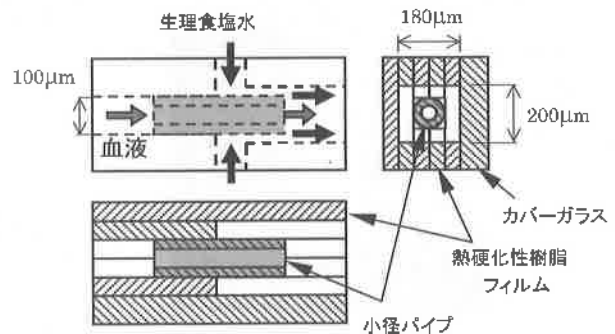


図6 小径パイプ流路の概略図

微細放電加工機により長さ5 mmに切断加工し、ラミネートフィルムを積層してレーザー加工した流路の中央に銅パイプを取り付けた構造とした。図7および図8は4層と5層のラミネートを行う前の3層目までの構造の電子顕微鏡観察写真である。比較的良好な加工形状と加工面粗さが得られた。

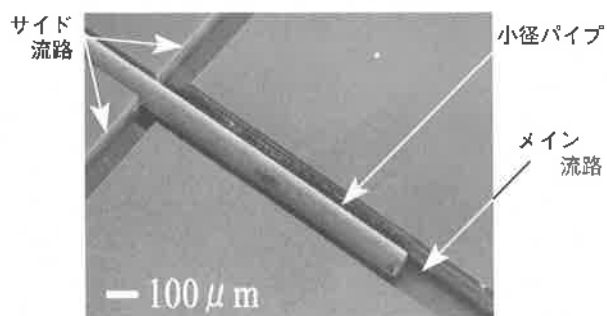


図7 小径パイプ流路の観察図 (微細溝加工部)

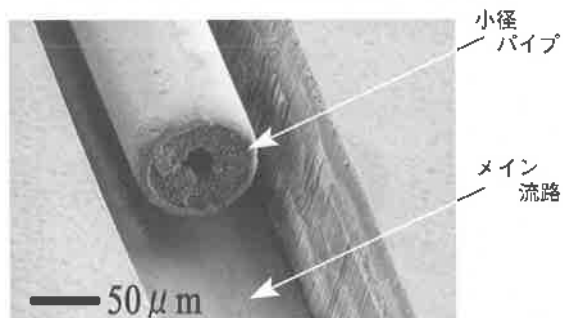


図8 小径パイプ流路の観察図 (パイプ先端部)

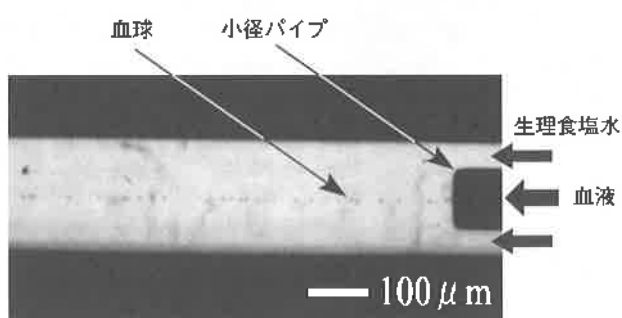


図9 小径パイプ流路における血液の流れ

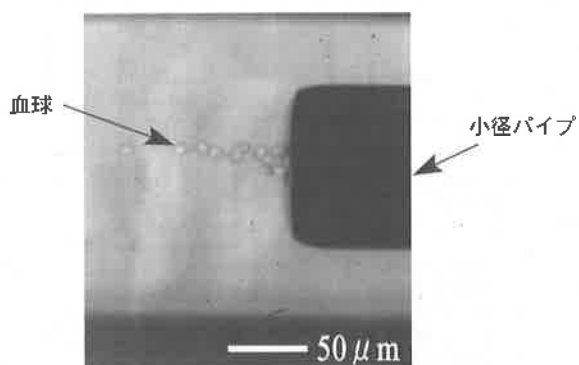


図10 小径パイプ流路の合流部における血液の流れ

次に、4層と5層についてもラミネート接着およびレーザー加工を行い、小径パイプ流路を持つマイクロ流体デバイスを作製した。

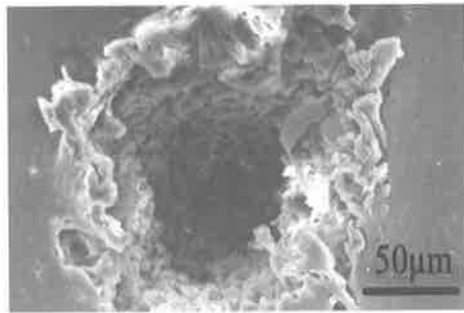
3-2 小径パイプ流路の血液送液実験

小径パイプ流路を持つマイクロ流体デバイスにおいて、パイプに血液を流し、サイド流路の両側からメイン流路に生理食塩水を流した。内径 $30\mu\text{m}$ のパイプの中に血液を流すことができ、生理食塩水と合流する流路に吐出することができた。さらに、生理食塩水の圧力を高くすることにより図9に示すように血液の流れ幅が絞られ、赤血球が一列に並んだ状態で流れることが確認できた。下流では全ての血球が同一速度で流れており、血液の上下の流れ幅や流路底面を転がるように流れる血球もないことが分かった。また、図10に合流部分の拡大図を示す。血液と生理食塩水の合流部分において、血球の流れが生理食塩水によって全周から絞られ、血球が一列に並んでいく状態が確認できた。この方法を用いることにより、血液検査の1つである血球カウント、すなわちマイクロフローサイトメータへの応用が期待できる。

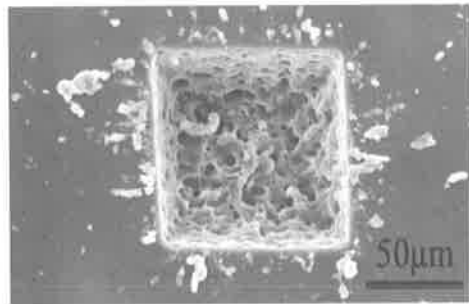
3-3 フッ素樹脂へのレーザー加工

他のフッ素樹脂材料に比べてレーザーによる加工性が比較的良好に接着性も向上しているダイキン工業株式会社製のフッ素樹脂EFEPのフィルムに対して、表3に示す加工条件で加工実験を行った。

はじめに、波長 248nm と波長 193nm のエキシマレーザーによって $100\mu\text{m}$ の矩形形状の穴加工を行い、波長の違いによる加工性への影響を調べた。図11に加工部の電子顕微鏡観察写真を示す。図に示すように、波長 248nm のKrFレーザーによる加工に比べて波長 193nm のArFレーザーによる加工形状の方が加工部のエッジがシャープになる。波長 248nm のKrFレーザーの光子エネルギーは、フッ素樹脂を構成する分子のC-F結合すなわち炭素とフッ素の結合エネルギーよりも小さく、逆に波長 193nm のArFレーザーの光子エネルギーは結合エネルギーよりも高いことが影響していると考えられる。しかし、波長 193nm のArFレーザーによる加工においても、フッ素樹脂は他の樹脂材料に比べて除去しにくく、大きなフルエンスを与えても完全なアブレーション加工ができずに加工屑のような状態で穴内部や周辺に堆積し、また加工面の面粗さにも問題がある。



(a) 波長248[nm] KrFレーザーによる加工部



(b) 波長193[nm] ArFレーザーによる加工部

図11 波長の違いによる加工部の比較

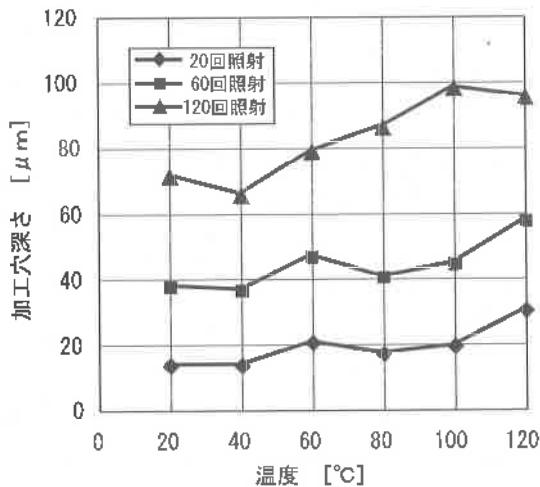
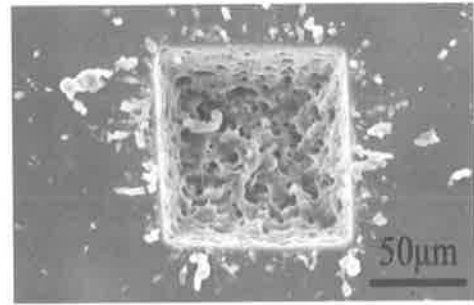
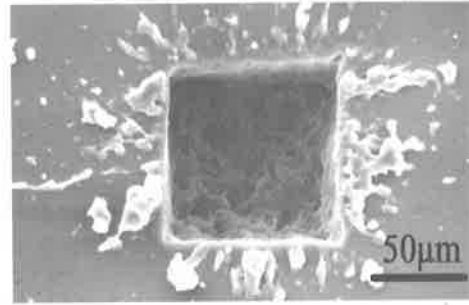


図12 材料の温度状態と加工穴深さとの関係



(a) 温度20[°C]における加工部

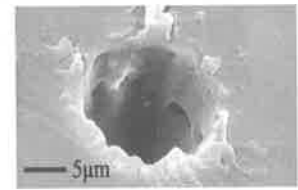


(b) 温度120[°C]における加工部

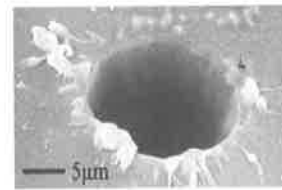
図13 材料温度の違いによる加工部の比較



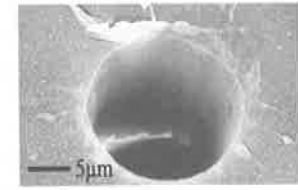
(a) 照射回数：100回



(b) 照射回数：200回



(c) 照射回数：700回



(d) 照射回数：825回

図14 照射回数の違いによる加工部の比較

そこで、加工性を向上させ加工面粗さの改善を目的として、材料の温度状態が加工状態へ及ぼす影響について調べた。図12に材料の温度状態とArFレーザーによる加工穴深さとの関係を示す。また、図13は温度20°Cと120°Cにおける加工部の電子顕微鏡観察写真である。材料の温度が上昇すると1パルス照射あたりの除去量が増加するが、加工面粗さの改善は少ないことがわかる。加工面や加工屑の状態から、材料の温度が上昇することによって熱加工の作用は増加するが、温度上昇によるアブレーション加工への影響は小さいと推測される。

次に、加工屑の残留に対する対策として除去する体積

を低減させる、すなわち微小径の穴加工に適用することを試みた。さらに、十分なレーザー光を照射するために、レーザーの照射回数による加工状態への影響を調べた。図14はArFレーザーによって直径20µmの穴を加工し、レーザーの照射回数を変化させた場合の加工部の電子顕微鏡観察写真である。レーザー照射回数を穴が貫通するまで、あるいはそれ以上に照射回数を増加させることによって、穴側面の面粗さが改善された。

今後はこの微小穴を流路として用いることにより、血球診断などのマイクロ流体デバイスへの応用が期待できる。

4. 結 言

エキシマレーザを中心にマイクロ加工技術の検討を行った。さらに微細流路をもつマイクロ流体デバイスを作製し、血液送液実験を行った。その結果は以下のとおりである。

- (1) エキシマレーザ加工機および微細放電加工機を用いて、外径 $100\mu\text{m}$ 、内径 $30\mu\text{m}$ の小径パイプを挿入した立体流路をもつマイクロ流体デバイスを作製した。
- (2) 小径パイプ流路をもつマイクロ流体デバイスを用いて血液送液実験を行った結果、血球を一直線に並べて流すことができた。
- (3) エキシマレーザによるフッ素樹脂への加工条件について検討を行った。波長 248nm と波長 193nm のレーザによる加工状態の比較を行った結果、波長 193nm による加工形状の方が加工部のエッジがシャープであった。
- (4) 波長 193nm のレーザを用いて、材料の温度状態が加工状態へ及ぼす影響について調べた結果、温度上昇によって1パルス照射あたりの除去量は増加したが、加工面粗さの改善は少なかった。また、直径 $20\mu\text{m}$ の微小穴加工に適用し、穴が貫通するまでレーザ照射回数を増加させることによって比較的良好な加工面が得られた。

参考文献

- 1) 平尾一之編：基礎から学ぶナノテクノロジー，p.197-222，東京化学同人（2003）
- 2) 江刺正喜 監修：マイクロマシン，産業技術サービスセンター，p.462-501（2002）
- 3) 日本経済新聞社・日経産業消費研究所編：日経先端技術，Vol.42，pp13-16（2003）
- 4) Y.Yoshida: "3-D Micro Channels in Laminated Resins by UV Laser Ablation"，Proc. SPIE, Vol.5063, p.189-192 (2003)
- 5) 吉田善一："レーザとラミネートによるマイクロ血液検査システムの開発"，電気学会研究会資料，マイクロマシン・センサシステム研究会，MSS-04-1～15,p.49-54（2004）
- 6) Hiroyuki Yamada, Yoshikazu Yoshida and Nobuyuki Terada: "Blood Cell Counter in Gravity-Driven Microchannel"，Japanese Journal of Applied Physics, Vol.44, No.12, p.8739-8741（2005）