

マイクロ分析システムに関する研究 (第2報)

山田 博之・萩原 茂・寺澤 章裕・吉田 善^{*1}・寺田 信幸^{*2}

Study on Micro Total Analysis System (2nd Report)

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

要 約

マイクロ加工技術を応用した μ TAS (Micro Total Analysis System) について研究を行った。これまでに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について検討した。今年度は、コンピュータシミュレーション (CAE) を用いた流体解析によってマイクロ流体デバイスの微細流路について設計を行った。また、微細流路内を一直線上に流れている血球の数を計測するために、小径ファイバとレーザー光を用いた検出機構を提案し、第1段階として外径140 μ mの小径ファイバの端面研磨加工と、直径10 μ mのラテックスビーズを用いた予備実験による検討を行った。

Abstract

A μ TAS (Micro Total Analysis System) which applied micro fabrication technology is studied. A fabrication of a micro fluid device by ultraviolet pulse laser ablation and a resin film lamination was examined until now. Next, a micro channel in a micro fluid device was designed by CFD (Computational Fluid Dynamics). The detection mechanism which used an optical fiber and a laser was proposed in order to count the number of blood cells which was flowing on the straight line in a micro channel. And, the polishing conditions on an end face of the optical fiber with a diameter of 140 μ m were examined. The prior experiment using the latex bead with a diameter of 10 μ m was examined as the 1st phase.

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 μ m～数百 μ mの大きさを考えている。流路の作製方法には、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)}。

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や、小径パイプを挿入し

*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

た立体流路をも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とができた^{6)~7)}。

本報では、コンピュータシミュレーション (CAE) による流体解析を用いて、小径パイプ流路以外に、生理食塩水の流れによって血液の流れ幅を絞ることを目的とした立体流路を設計した。また、流路内を一直線上に流れている血球数を計測するために小径ファイバとレーザー光を用いた検出機構を提案し、第1段階として小径ラテックスビーズを用いた検出の予備実験を行ったので報告する。

2. 実験方法

2-1 マイクロ分析チップの作製方法

熱硬化性樹脂のポリイミドに注Hし、ポリイミド層とエポキシ系接着層からなるラミネートフィルムを使用した。加工実験およびマイクロ流体デバイスの試作に用いた材料の種類と厚さを表1に示す。

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加工に用いた。本実

表1 材料の種類と厚さ

材 料	厚さ [μm]
ポリイミド+エポキシ系接着層 (ニッカン工業(株)製)	25+20 (総厚: 45)
カバーガラス (松波硝子工業(株)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社製発振器 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	100[Hz]
ビーム形状	50×50 [μm^2]

表3 流体解析の条件

流体解析ソフト	ANSYS-CFX Ver10.0
要素分割ソフト	ICEM-CFD Ver10.0
流体物性値	密度: 1.06×10^3 [kg/m ³]
	粘性係数: 4.71×10^{-3} [Pa·s]
要素分割サイズ	8 [μm]
要素の種類	4 面体要素
	壁面近傍: プリズム要素 (3層)

験ではExitech社製のエキシマレーザー加工機PS2000 (発振器: LAMBDA PHYSIK社製LPX200i) を用いた。微細流路の加工条件を表2に示す。

マイクロ分析チップの作製プロセスは、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、レーザー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24mm×60mm×0.23mmの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、レーザー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。

2-2 流体解析条件

主な解析条件を表3に示す。流体解析ソフトは「ANSYS-CFX Ver10.0」を使用し、要素分割ソフトは「ICEM-CFD Ver10.0」を使用した。流体の物性値は血液の密度や粘性係数の値を用いた。本解析は1成分解析であり、生理食塩水は血液の物性値に近いため、生理食塩水の流体部分についても同一の物性値を用いた。要素分割では、要素寸法を8 μm とし、一番細い流路幅でも6分割されるように設定した。壁面近傍では流速変化に対応できるようにプリズム要素を使用してさらに3層分割を行った。流路構成、流路寸法、および流入部分の流速を変更して流路設計を行った。

2-3 小径ファイバ端面の研磨加工条件

検出機構用の小径ファイバには外径140 μm 、コア径50 μm 、被覆樹脂厚さ7.5 μm の石英バルクファイバを用いた。投光および受光するレーザー光が拡散しないように小径ファイバの端面を研磨加工することを試みた。主な研磨加工条件を表4に示す。研磨紙と遊離砥粒を用い、砥粒の種類、粒径、研磨時間について加工条件の検討を行った。また、加工面は、光学顕微鏡による表面観察と、zygo社製の非接触表面形状測定機NewView6300を使用した形状測定や表面粗さ測定によって評価を行った。

表4 ファイバの研磨加工条件

加工装置	ムサシノ電子(株)社製 精密試料研磨装置MA-200
回転板	外径 ϕ 200 [mm]
回転数	0~170 [rpm] 可変
研磨用ウェイト	250 [g]
試料保持機構	パンタグラフ式
試料固定治具	試料埋め込み用樹脂の外周面に ファイバを接着テープで固定
研磨剤	#1500研磨紙, #2000研磨紙, アルミナ粒径0.5 [μm], シリカ粒径0.03 [μm]

3. 結果および考察

3-1 流体解析による立体流路の設計

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、流路幅が数 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、これまでにマイクロ加工技術と樹脂ラミネート法を用いて、三又構造の微細流路をもつマイクロ流体デバイスや、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。さらに、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、圧力調節による流れ幅を制御する方法を応用して、図1～3に示すように三又流路や小径パイプ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、血球を一直線上に並

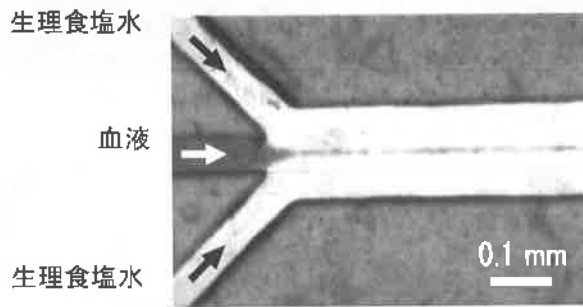


図1 三又流路における血液の流れ（合流部）

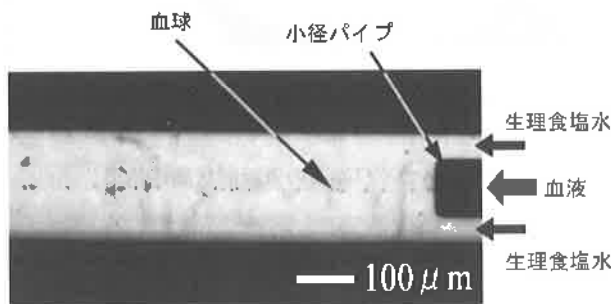


図2 小径パイプ流路における血液の流れ

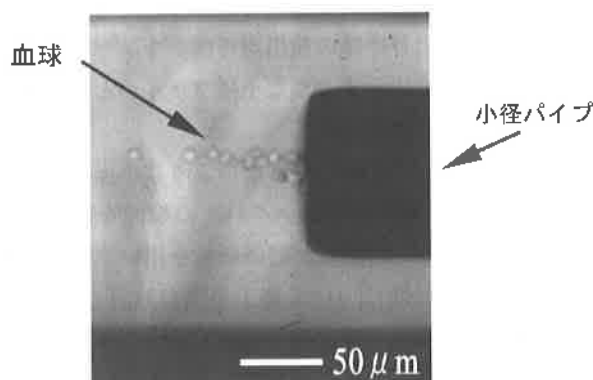


図3 小径パイプ流路の合流部における血液の流れ

べて流すことがこれまでに確認できた。

ただし、小径パイプの内径は $30\mu\text{m}$ であり、血液が閉塞する可能性も残されている。しかし、流れが層流から乱流に移行する臨界レイノルズ数を考慮すると、流路幅寸法を大きくすることは難しい。そこで、小径パイプを挿入した微細流路以外に、生理食塩水の流れによって血液の流れ幅を絞ることを目的とした微細流路を提案した。

本研究では、はじめにコンピュータシミュレーション(CAE)による流体解析を用いて、生理食塩水の流れによって血液の流れの左右方向と上下方向から血液の流れ幅を絞る立体流路の形状と送液条件を設計した。さらに、観察時の透過性や積層数を減らすことにより単純化した流路を設計することを目的の1つとした。図4に設計した立体流路の要素分割図と流体解析を行った境界条件を示す。表5に流路の断面寸法と境界条件を示す。図5～7に流体解析を行った解析結果を示す。図5に血液の流線と流速を、図6に左右方向から血液に合流する生理食塩水の流線と流速を、図7に上下方向から血液に合流する生理食塩水の流線と流速をそれぞれ示す。血液の流路に左右の流路が合流する位置で血液の左右方向の流れ幅が絞られ、次に上下の流路が合流する位置でさらに血液の上下方向の流れ幅が絞られる解析結果が得られた。また、送液の条件としては、(血液流路の流速)：(左右流路の流速)：(上下流路の流速) = 1：20：60の比で流

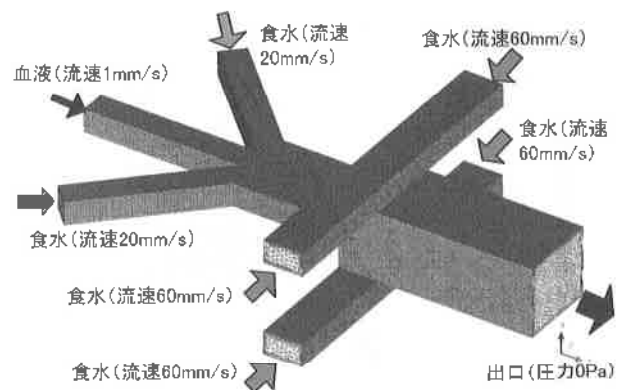


図4 要素分割図と境界条件

表5 流路断面形状と境界条件

血液流入部	断面形状： 0.05×0.045 [mm^2]
	流速：1 [mm/s]
左右流路の流入部	断面形状： 0.05×0.045 [mm^2]
	流速：20 [mm/s]
上下流路の流入部	断面形状： 0.075×0.045 [mm^2]
	流速：60 [mm/s]
出口部	断面形状： 0.15×0.135 [mm^2]
	平均圧力：0 [Pa] (大気開放)

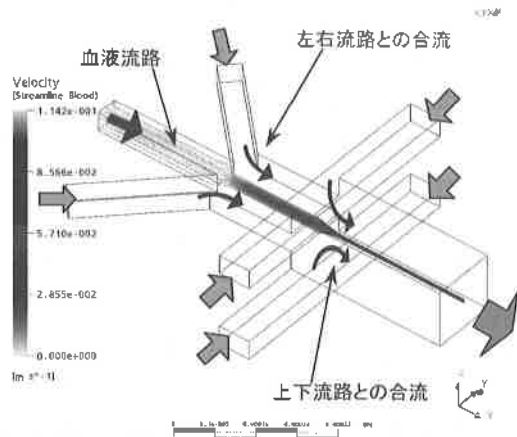


図5 流体解析結果（血液の流線のみ表示）

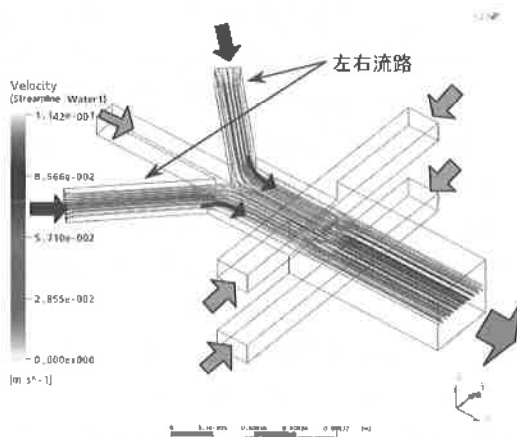


図6 流体解析結果（左右流路からの流線のみ表示）

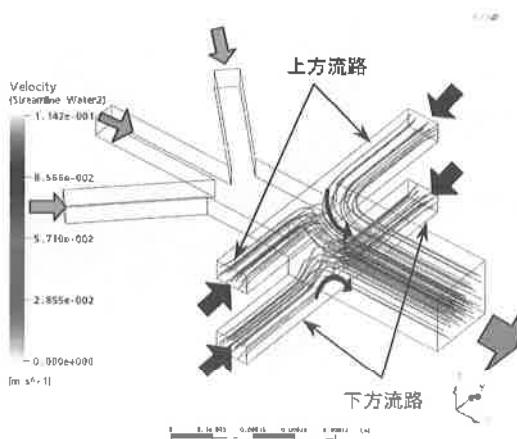


図7 流体解析結果（上下流路からの流線のみ表示）

速を与えることによって血液の流れ幅が絞られる解析結果が得られた。

今後は、エキシマレーザー加工と樹脂ラミネート法を用いて、設計した立体流路をもつマイクロ流体デバイスを作製し、血液送液実験によって血液の流れ幅を確認したい。

3-2 小径ファイバの端面研磨加工

これまでに、図1～3に示すようにレーザー加工と樹脂

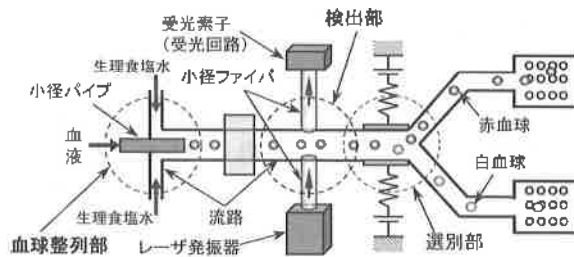


図8 小径ファイバとレーザー光による検出機構の構想図

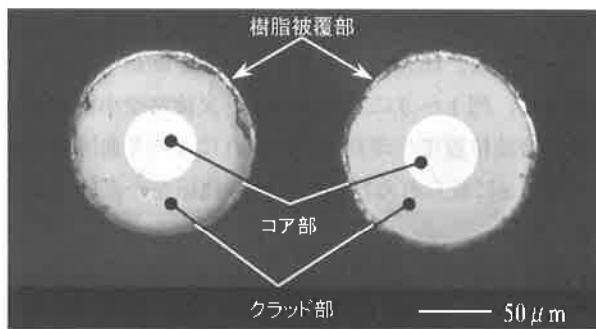


図9 ファイバ端面の研磨加工面の観察写真

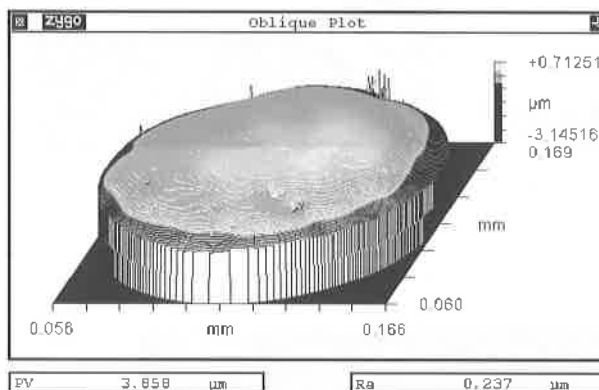


図10 ファイバ端面の表面形状測定結果

ラミネート法を用いて三又構造の流路や小径パイプを挿入した立体流路を作製し、血球を一直線上に並べて流すマイクロ流体デバイスを検討した。次に、この流路の下流部に血球計数（カウント）を行うための検出用光ファイバを配置し、ファイバを用いて計測用レーザーを照射・受光することにより血球の検出が可能かを調べることを目的として、図8に示すような小径ファイバとレーザー光による検出機構を提案した。

はじめに、レーザー光が拡散しないように小径ファイバ（外径 $140\mu\text{m}$ 石英バルクファイバ）の端面を研磨加工することを試みた。研磨紙と遊離砥粒を用い、砥粒の種類、粒径、研磨時間について加工条件の検討を行った。その結果、大きな研磨痕が発生しないように#2000研磨紙を用いて面出しを行い、その後、粒径 $0.03\mu\text{m}$ のコロイダルシリカを使用して30分間の仕上げ加工を行った

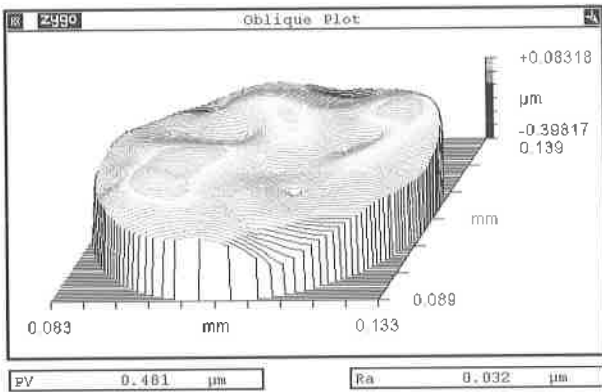


図11 ファイバ端面におけるコア部分の表面形状測定結果

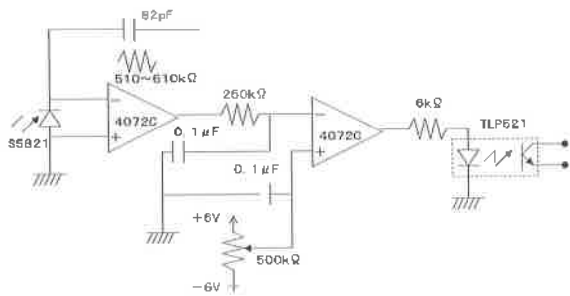


図12 レーザ受光用回路図

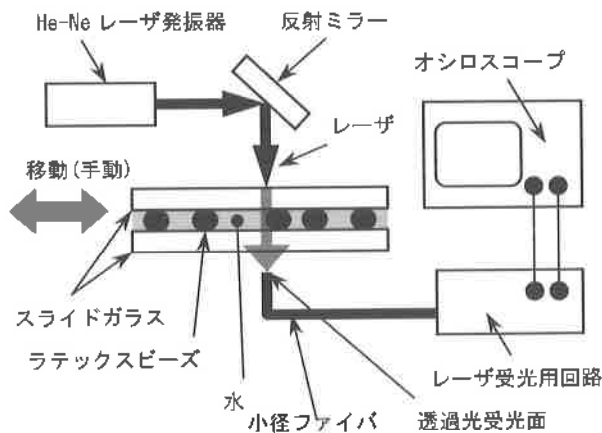


図13 検出予備実験の実験装置概略図

場合に加工面の状態が良好であった。図9にファイバ端面の光学顕微鏡観察結果を示す。また、非接触表面形状測定機NewView6300によって加工面を測定した結果を図10と図11に示す。図11はファイバ端面におけるコア部分のみを測定した結果である。ファイバ外周部分には加工によるダレがあるが、レーザを投光や受光する直径50 μm のコア部分への影響は少ない。コア部分における表面粗さは0.032 μmRa 、0.481 μmPV で、断面におけるうねりは0.05 μmPV であり、比較的良好な加工面が得られている。ただし、コア部分にも非常に小さな凹部が観察でき、これはカケまたは砥粒の食い込みが原因であると予想される。

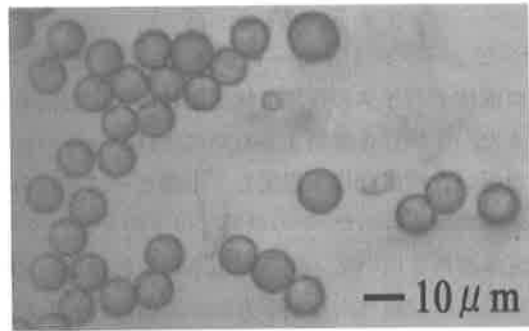


図14 ラテックスビーズ観察写真

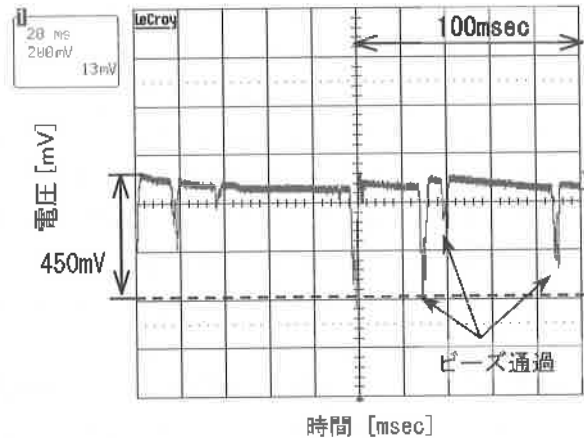


図15 ガラス上の小径ビーズをレーザで検出した電圧波形

3-3 小径ビーズを用いた検出の予備実験

次に、コア部分の小さな凹凸やうねりがレーザの投光や受光に僅かに影響することも予想されるため、予備実験としてスライドガラス上に小径ビーズを付着させ、小径ファイバとレーザ光を用いてビーズを検出することが可能かを検証した。

はじめに、図12に示す回路図を設計し、レーザ受光回路を作製した。また、図13に予備実験で使用した実験装置の概略図を示す。検出用レーザには波長633nmのHe-Neレーザを用いた。小径ビーズには、赤血球の直径が約8 μm であるため、図14に示すような平均外径10 μm のラテックスビーズを用いた。この小径ビーズをスライドガラス上に重複が起らないように付着させ、その後スライドガラスを面方向に移動させることによって、レーザ光にガラス上のビーズを通過させた。ガラス上のビーズがレーザ光を遮光しながら通過した時の受光結果を図15に示す。小径ビーズの通過による波形変化を確認することができ、研磨加工したファイバ端面の表面粗さが小径ビーズを検出する上で問題ないことが確認できた。

今後は、ファイバによる血球の検出について検討を行い、次に小径ファイバを挿入したマイクロ流体デバイスを作製し、血球を一直線上に並べて流し、血球計数の可能性について検討を行っていく必要がある。

5. 結 言

コンピュータシミュレーション (CAE) を用いてマイクロ流体デバイスの微細立体流路について設計を行った。また、血球数を計測するために小径ファイバとレーザー光を用いた検出機構を提案し、小径ビーズを用いた検出の予備実験を行った。その結果は以下のとおりである。

- (1) 流体解析を用いて、生理食塩水の流れによって血液の流れの左右方向と上下方向から血液の流れ幅を絞る立体流路の形状と送液条件を設計した。
- (2) 外径 140 μm の石英バルクファイバの端面を研磨する加工条件を検討した。その結果、直径 50 μm のコア部分における表面粗さは 0.032 μmRa 、0.481 μmPV であり、比較的良好な加工面が得られた。
- (3) スライドガラス上に外径 10 μm の小径ビーズを付着させ、ファイバとレーザー光を用いてビーズを検出する予備実験を行った。小径ビーズの通過による波形変化を確認することができ、研磨加工したファイバ端面の表面粗さが小径ビーズを検出する上で問題ないことが確認できた。

今後は、エキシマレーザー加工と樹脂ラミネート法を用いて、設計した微細立体流路をもつマイクロ流体デバイスや小径ファイバを挿入したマイクロ流体デバイスを作製し、血球を一直線上に並べて流し、血球計数の可能性について検討を行っていく予定である。

参考文献

- 1) 平尾一之編：基礎から学ぶナノテクノロジー，東京化学同人，p.197-222 (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, p.13-16 (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：電気学会，マイクロマシン・センサシステム研究会講演集 (2004)
- 6) Hiroyuki Yamada, Yoshikazu Yoshida and Nobuyuki Terada: *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol.44, No.12, p.8739-8741 (2005)
- 7) 山田博之, 萩原 茂, 寺澤章裕, 吉田善一, 寺田信幸：山梨県工業技術センター研究報告，No.20, p.27-32 (2006)