

Sambætting vökvarása og ljósrása á örflögum

Guðmundur Kári Stefánsson, Daði Bjarnason og Kristján Leósson

Raunvísindastofnun Háskólans, Dunhaga 3, IS-107 Reykjavík

Vefútgáfa: 30.12.2011

Ágrip — Hér er lýst aðferðafræði fyrir framleiðslu vökvarása á örflögum. Slíkar örrásir fyrir vökva voru í fyrsta sinn framleiddar hérlendis af höfundum sumarið 2011. Við þróun framleiðsluáðferða var sérstök áhersla lögð á að geta skeytt saman vökvarásam og ákveðinni gerð ljósrása sem hefur verið í þróun við Raunvísindastofnun Háskólans undanfarin ár. Framleiðsluferlið býður einnig upp á ýmsa möguleika í þróun vökva- eða gasrása fyrir frekari tilraunir í líftækni, efnafræði og fleiri greinum.

1. Inngangur

Vökvarásatækni (*e. microfluidics*) hefur verið í örri þróun á undanförunum árum og notagildi hennar hefur sannað sig á mörgum sviðum svo sem í líffræði og læknisfræði. Vökvarásir má auðveldlega nota samhliða annars konar rásam, t.d. ljós- eða rafrásam. Saman geta ljós- og vökvarásir m.a. myndað grunn fyrir notkun ljóss í smásæjum lífnemum eða öðrum efnagreiningarásum. Hér verður kynnt aðferðafræði sem notuð var til framleiðslu PDMS vökvarása við örtæknikjarna Háskóla Íslands sumarið 2011, en það var í fyrsta sinn sem smásæjar vökvarásir voru framleiddar hérlendis. Vökvarásirnar voru svo sambyggðar ljósrásam sem hannaðar voru sérstaklega fyrir mælingar á lífrænum sýnum eða sýnum í vatnslausn [1, 2].

Plastefni eru vinsæll kostur sem byggingarefni vökvarása, m.a. sökum lágs kostnaðar og einfaldra framleiðsluáðferða. Algengasta undirstöðuefnið er PDMS (polydimethylsiloxane) en það er í flokki svokallaðra sílíkon-efna. PDMS og hefur marga kosti, það er gagnsætt, teygjanlegt og hentar vel til notkunar með líffefnum. Framleiðsla vökvarása úr plastefnum felur oftast í sér yfirfærslu á rásamunstrinu með því að steypa rásina í mót (*e. master mold*). Mótið er framleitt úr ljósnæmu plastefni þar sem bygging og gerð rásanna er skilgreind með mynsturflutningi/rásaprentun (*e. photolithography*). Algengt er að ljósnæma plastefnið SU-8 sé notað til að skilgreina slík mót því auðvelt er að prenta munstur í þykk lög af SU-8 með útfjólubláu ljósi sem herðir efnið [3]. Þegar búið er að steypa sjálfa rásina í mótið er henni skeytt saman við undirlag eða lok þ.a. eftir sitji fullbúin vökvarás. Aðrar útfærslur byggðar á þurr- og votætingu hafa einnig verið notaðar [4].

Tryggja þarf að vökvarásin sé vel fest við undirlagið til að rásirnar leki ekki eða detti í sundur. Festing við undirlag er því mikilvægt skref í framleiðsluferlinu. Ýmsar aðferðir hafa verið prófaðar í þeim tilgangi eins og notkun viðloðunarefna, yfirborðsmeðhöndlun með rafgasi og upphitun [5, 6, 7, 8]. Festingin þarf að viðhalda uppbyggingu rásanna ásamt því að þola talsverðan þrýsting. Í mörgum tilfellum er rásam lokað með því að festa þær beint á glerplötur, en í öðrum tilfellum getur verið nauðsynlegt að byggja vökvarásir ofaná önnur efni.

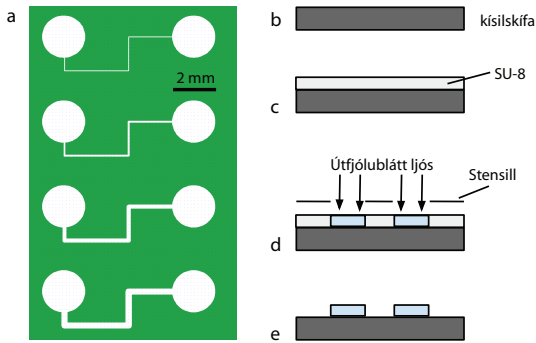
2. Efni og aðferðir

2.1. Mótun PDMS

Fyrsta skrefið í smíði vökvarásanna er framleiðsla mótsins. Mynd 1 sýnir framleiðsluferlið í hnotskurn. Ljósnæma plastefninu SU-8 er spunnið¹ á hreina kísilskífu sem síðan er bökuð í tveimur skrefum við mismunandi hitastig í nokkrar mínútur. Stefnt var að því að endanleg þykkt á SU-8 laginu yrði um 40 µm. Skífan er sett undir stensil eða grímu sem skilgreinir rásirnar og lýst með útfjólubláu ljósi (365 nm bylgjulengd) sem herðir plastefnið. Skífurni er því næst dýft í framköllunarlausn sem fjarlægir ólýsta hluta SU-8 lagsins. Munstrið sem framleitt var samanstóð af misbreiðum rásam tengdum við hringlaga vökva-inntak og -úttak eins og sést á mynd 1(a).

PDMS er blanda tveggja efna, grunnfjölliðu og þéttingarefnis. Eftir blöndun er efnið þykkfjótandi og var því fyrst komið fyrir í lofttæmi í 10–15 mínútur til að losna við loftbólur. Á mynd 2 sjást helstu skrefin

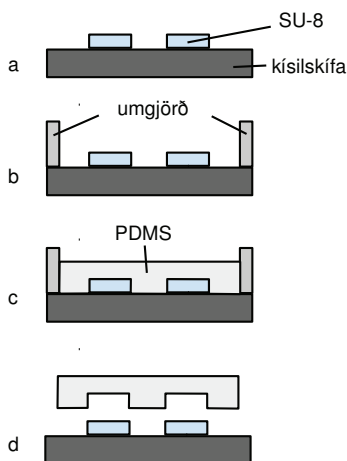
¹ Hér er gerð tilraun til að þýða enska hugtakið *spin-coating* með íslensku sögninni að spinna. Tækið sem notað er til slíks mætti þá kalla snældu (*e. spin coater*).



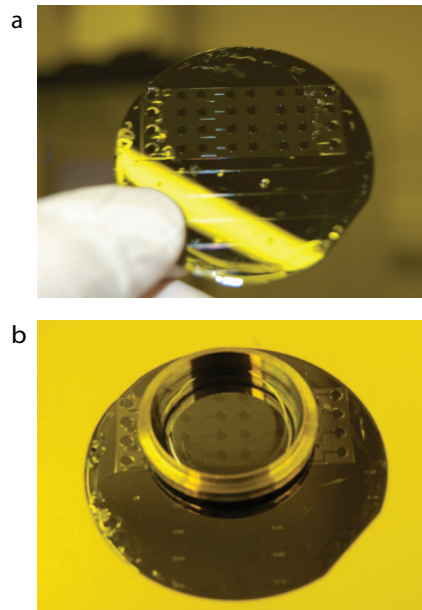
Mynd 1. (a) Teikning sem skilgreinir vökrarásirnar. Rásirnar eru 50, 100, 200 og 300 μm að breidd. Inntaks- og úttakshólf eru 2 mm í þvermál (b) Hrein kísilskífa (c) SU-8 lagi er spunnið á kísilskífuna (d) Skífan er sett undir stensil (grímu) og lýst með útfjölubláu ljósi (e) Ólýstur hluti SU-8 lagsins fjarlægður með framköllunarvökva.

við mótun rása í PDMS. PDMS-blöndunni er hellt í SU-8 mótið og blandan látin stífna með bökun við 65°C í tvo tíma eða látin standa við stofuhita yfir nótt. PDMS hlutinn er síðan skilinn frá mótinu.

Hæð vökrarásanna eftir mótun mældist á bilinu 35–45 μm . SU-8 mótin reyndust endurnýtanleg ef allt afgang PDMS var fjarlægt eftir steypu. Á mynd 3 sést fullunnið SU-8 mót á 50 mm kísilskífu og sama mót eftir að PDMS hefur verið hellt yfir. Rásir með breidd 100–300 μm virkuðu í öllum tilfellum vel, en 50 μm breiðar rásir voru í sumum tilfellum lokaðar. Slíkt er ekki óalgengt í rásaprentun, þ.e.a.s. að línu-breidd verði að vera nokkru stærri en þykkt þess ljós-næma efnis sem prentað er í.



Mynd 2. PDMS steypit í mót: (a) Endurnýtanlegt SU-8 mót (b) Umgjörð (stálhólkur) er sett ofan á mótið (c) PDMS blöndunni er hellt yfir og hún látin stífna (d) PDMS hlutinn fjarlægður.



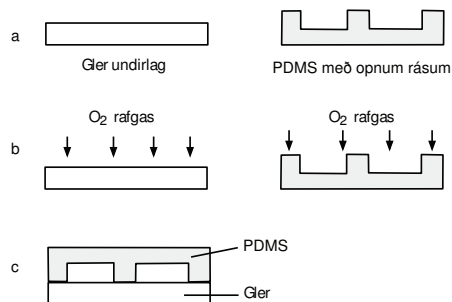
Mynd 3. (a) Fullunnið SU-8 mót á 50 mm kísilskífu (b) PDMS steypit í mótið.

2.2. Viðloðun

PDMS er vatnsfælið og óhvarfgjarnt efni og því getur verið erfitt að binda það við undirlag. Meðhöndlun með súrefnisrafgasi gerir yfirborð PDMS hins vegar vatnssækið og hvarfgjarnt. Slíkt getur gefið sterka viðloðun við kísil- og glerundirlag [8]. Þar sem hvarfgirmi PDMS yfirborðsins minnkar hratt eftir slíka meðferð og hverfur jafnvel alveg eftir nokkra tíma [9] þá var PDMS hlutinn festur á undirlagið strax eftir yfirborðsmeðhöndlun til að tryggja sem besta viðloðun. Í okkar tilraunum fór meðhöndlun í rafgasi fram í rafgasætingartæki sambærilegu við það sem Helgi S. Skúlason og Snorri Ingvarsson hafa lýst í [10]. Slíkur búnaður hentaði einkar vel fyrir tilraunir okkar því sýnum má ná út úr tækinu strax eftir meðhöndlun og binding gat því átt sér stað mjög fljótlega.

Mynd 4 sýnir hvernig PDMS er fest við gler. Hreint gler og PDMS bútur eru yfirborðsmeðhöndluð með rafgasi í 30 sekúndur. Strax eftir meðhöndlunina eru þau látin snerta hvort annað og látin standa þannig óhreyfð í 5 mínútur. Sterk tengi myndast milli yfirborðanna og mynda þau þannig fullbúna vökrarás. T. Maturos *et al.* [11] greina frá því að PDMS sem komist hefur í snertingu við súrefnisrafgas myndar hydroxyl-hópa á yfirborðinu sem geta myndað samgild tengi við glerkennd efni.

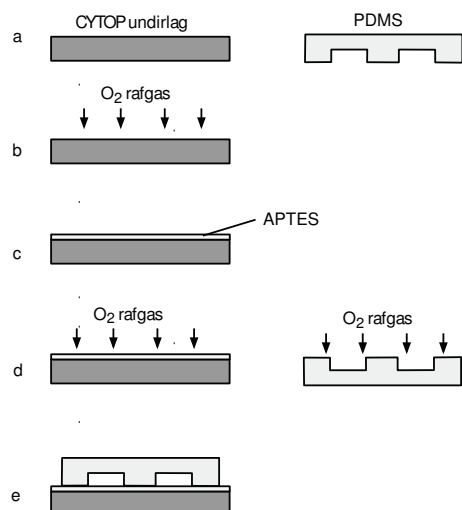
Samkvæmt A. Kroatech *et al.* [8] má binda PDMS við kísilundirlag með sömu aðferð og lýst er hér að ofan, enda er yfirborð kísils í raun kísiloxíð, venjulega um 1–2 nm á þykkt. Við gerðum tilraunir með



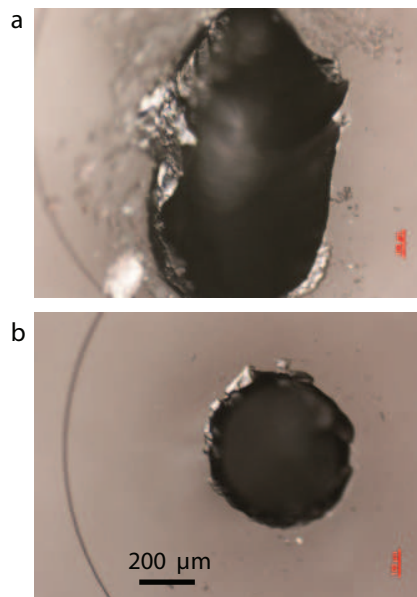
Mynd 4. PDMS bundið við glerundirlag: (a) Hreint gler og mótað PDMS (b) Báðir hlutarnir eru yfirborðsmeðhöndlaðir með rafgasi (c) Yfirborðum skeytt saman strax eftir meðhöndlun til að fá óæfturkræfa bindingu.

slíka bindingu með því að endurtaka ferlið sem lýst er að ofan, auk þess að reyna að styrkja bindinguna með hitameðhöndlun, þ.e. bökun í 30 mínútur við 80°C, 90°C eða 100°C strax eftir rafgasmeðhöndlun og samsetningu. Þrátt fyrir þetta fékkst aðeins mjög veik viðlöðun milli kísils og PDMS. Frekari tilrauna er þörf til að skilja hvers vegna binding við kísilyfirborð reynist mun lakari en fyrir gler.

Tilraunir voru einnig gerðar með að festa PDMS vökvarás við plastyfirborð. Við Raunvísindastofnun Háskólans hafa á undanförunum árum verið þróaðar ljósrásir sem nýtast sérstaklega vel til mælinga í vatnslausn, eða á lífrænum sýnum með brotstuðul nálægt 1,33 [1, 2]. Gagnlegt er að geta tengt slíkar ljósrásir við vökvarásir svo hægt sé



Mynd 5. PDMS bundið við Cytop undirlag: (a) Hreint Cytop undirlag og mótaður PDMS íhlutur (b) Cytop undirlagið er meðhöndlað með rafgasi í eina mínútu (c) APTES er spunnið á meðhöndlaða yfirborðið (d) Bakaða Cytop sýnið er sett í rafgas ásamt PDMS íhlutnum (e) Íhlutir festir saman.



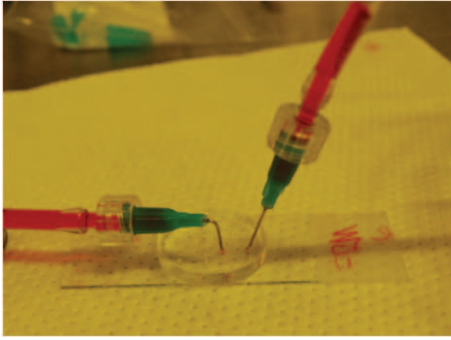
Mynd 6. Vökvainntök PDMS vökvarásanna. Sami skali er á báðum myndum. (a) Gat eftir oddhvassa sprautunál (b) Gat eftir flata nál.

að mæla efni í minna magni og stýra flæði efnanna betur. Yfirborð umræddra ljósrása er úr efninu Cytop (myndlaus perfluoropoly-butenyl-vinyl-ether) sem svipar til Teflon og sýnir því mjög takmarkaða viðlöðun við önnur efni. Miklívægt var að geta takmarkað hitastig í bindiferlinu við <100°C þar sem Cytop getur aflagast við hærri hita. Vlachopoulou *et al.* [6] þróðu aðferð til að binda PDMS vökvarásir við plexigler við lágt hitastig með hjálp aminopropyltriethoxysilane (APTES) viðlöðunarefnis og var sú aðferð prófuð hér.

Hreint Cytop undirlag var meðhöndlað með rafgasi í eina mínútu (sjá mynd 5) til að lækka snertihorn og tryggja jafna húðun. Þunnri APTES húð var spunnið á undirlagið. Sýnið var bakað við 80°C í 30 mínútur og leyft að kólna við stofuhita. Cytop undirlagið var aftur meðhöndlað í rafgasi, ásamt PDMS rásinni. Strax á eftir var PDMS rásinni skeytt á Cytop sýnið og það látið standa í einn klukkutíma. Seinni rafgasmeðferðin á Cytop undirlaginu myndar silanol (Si-OH) hópa á APTES yfirborðinu. Þegar hlutunum er skeytt saman myndast sterk Si-O-Si tengi milli undirlags og vökvarásar [6].

2.3. Tengingar við ytri rás

Í framleiðsluferlinu er nauðsynlegt er að gera ráð fyrir tengingum við ytri rás sem sér smásæju rásunum fyrir vökva og þrýstingi. Mögulegt er að framleiða vökvarásir með innbyggðum dælum og flæðisstýringum, en



Mynd 7. Fullbúin og tengd PDMS vökvarás á glerplötu.

slíkt kallar á flóknara framleiðsluferli en það sem lýst er hér. Tengingar við ytri rás má gera með því að setja göt í gegnum PDMS hlutann eða gegnum lokið. Hér var brugðið á það ráð að stinga göt á PDMS hlutann og tengja rásirnar við sprautur sem innihéldu afjónað vatn, litað með matarlit eða flúrljómandi ögnum.

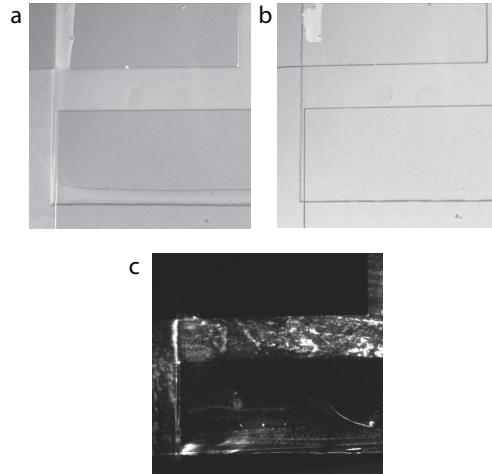
PDMS bútarnir voru gataðir með sprautunál. Tvær gerðir nála voru prófaðar eins og sýnt er á mynd 6. Önnur myndin sýnir gat eftir oddhvassa sprautunál en hin sýnir gat eftir nál af sömu breidd en með flatan enda. Flata nálin reyndist betur í öllum tilfellum, götin voru hringlaga, gáfu betri tengingu þegar vökva var þrýst í gegnum rásina þ.a. enginn leki mældist, jafnvel við háan þrýsting. Mynd 7 sýnir fullkláraða rás sem lokað hefur verið með smásjargleri. Rásin er tengd við inntaks og úttaksleiðslur og lituðum vökva hefur verið dælt í gegnum rásina með sprautu.

Á mynd 8 eru smásjármyndir af fullbúinni vökvarás sem fest hefur verið á yfirborð Cytop-PMMA-Cytop ljósrásar. Flúrljómandi lausn (Invitrogen FluoSpheres plastagnir í vatni) var dælt í gegnum rásina. Örvaðar flúrljómandi agnir sjást greinilega á mynd 8(c) þar sem grænt 532 nm ljós frá tíðnitvöfölduðum Nd:YAG leisi flæðir eftir ljósrásinni og örvar flúrljómandi agnir rétt við yfirborð hennar. Örvunarljósið er síað burt þ.a. myndin sýnir aðeins flúrljómun frá ögnunum. Tækjauppsetningu er lýst nánar í [13].

3. Niðurstöður

Fjallað hefur verið um aðferðir við framleiðslu vökvarása úr PDMS á örflögum. PDMS vökvarásir voru framleiddar í örtæknikjarna Háskóla Íslands og þeim skeytt við ljósrás með góðum árangri.

Viðloðun PDMS við mismunandi yfirborð (gler, kísil og Cytop plastefni) var prófuð. Í öllum tilfellum var yfirborðsmeðhöndlun með rafgasi nauðsynleg fersenda fyrir sterkri bindingu. Tilraunir til að festa PDMS á kísilundirlag sýndu þó litla eða enga viðloðun. Mógulega má reyna að oxa kísilundirlagið frek-



Mynd 8. Smásjármyndir af samskeyttri ljós- og vökvarás (a) Mynd tekin í venjulegu ljósi, vökvarás tóm (b) Mynd tekin í venjulegu ljósi, vökvarás fyllt af flúrljómandi lausn (c) Flúrljómun frá vökvanum í rásinni, örvunarljós síað frá.

ar til að gefa þykkara SiO₂ lag til að bæta viðloðun. Slík oxun á kísilyfirborði hefur verið framkvæmd við örtæknikjarna með hitameðhöndlun við 1100°C í hreinu súrefni. Til að auðvelda bindingu PDMS við Cytop undirlög þurfti þunnu húð af viðloðunarefninu APTES á yfirborðsmeðhöndlað Cytop.

Framleiðsla vökvarása getur boðið upp á ýmsa móguleika í rannsóknum í efnafræði, líffræði, líftækni og tengdum sviðum hérlendis í framtíðinni. Rásirnar nýtast einnig fyrir gasflæði og er samstarf þegar hafið við vísindamenn hjá efnafræðistofu Raunvísindastofnunar Háskólans sem snýr að hönnun og smíði á smásæjum gasrásum með yfirborðum sem hvata efnahvörf í gasfasa.

Verkefnið var styrkt af Nýsköpunarsjóði námsmanna og Rannsóknasjóði Háskóla Íslands. Höfundar þakka Birni Agnarssyni fyrir þjálfun og aðstoð við vinnu í hreinherbergi.

Heimildir

- [1] B. Agnarsson, J. Halldorsson, N. Arnfinnsdottir, S. Ingthorsson, T. Gudjonsson, K. Leosson. Fabrication of planar polymer waveguides for evanescent-wave sensing in aqueous environments, *Microelectron. Eng.* **87** 56-61 (2010).
- [2] Björn Agnarsson, Jennifer Halldorsson, Nina Björk Arnfinnsdottir, Sævar Ingþórsson, Þórarinn Guðjónsson, Kristján Leósson. Þróun nýrrar örflögutækni fyrir smásjárskoðun lífrænna sýna, *Raust* **5**, 55 (2008).
- [3] P. Tabeling. *Introduction to microfluidics*. (Oxford University Press, 2005).

- [4] B. Balakrishnan, S. Patil, E. Smela. Patterning PDMS using a combination of wet and dry etching. *J. Micromech. Microeng.* **19**, 047002(2009).
- [5] Chia-Wen Tsao, Don DeVoe. Bonding of thermoplastic polymer microfluidics. *Microfluidics and Nanofluidics* **6**, 1 (2009).
- [6] M. Vlachopoulou, A. Tserepi, P. Pavli, P. Argitis, M. Sanopoulou, K. Misiakos. A low temperature surface modification assisted method for bonding plastic substrates. *J. Micromech. Microeng.* **19**, 015007 (2009).
- [7] M. Kanai, D. Uchida, S. Sugiura, Y. Shirasaki, J.S. Go, H. Nakansishi, T. Fanatsu, S. Shoji. PDMS microfluidic devices with PTFE passivated channels. *Proceedings of the 7th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems*, 429 (2003).
- [8] A. Kroetch. *University of Alberta NanoFab's PDMS Microfluidic Device Fabrication Manual* (2004). <http://www.nanofab.ualberta.ca/site/wp-content/uploads/2009/03/boxedpdms.pdf> (sótt nóv. 2011)
- [9] *PDMS-Glass Bonding via Oxygen Plasma. Standard Operating Procedure* (2007) http://engineering.tufts.edu/microfab/index_files/SOP/PDMS_GlassBond_SOP.pdf (sótt nóv. 2011)
- [10] Helgi S. Skúlason og Snorri Ingvarsson. Rafgas í örbylgjuofni. *Raust* **4**, 49 (2006)
- [11] T. Matusos, T. Lomas, A. Tuantranont, A. Wisitsora. Fabrication and characterization of polydimethylsiloxane (PDMS) microfluidic channels. *Proceedings of the 2007 ECTI International Conference*, 187 (2007).
- [12] K. C. Tang, E. Liao, W. L. Ong, J. D. S. Wong, A. Agarwal, R. Nagarajan, L. Yobas, Evaluation of bonding between oxygen plasma treated polydimethylsiloxane and passivated silicon. *Journal of Physics: Conference Series* **34**, 155 (2006).
- [13] B. Agnarsson, S. Ingthorsson, T. Gudjonsson, K. Leosson. Evanescent-wave fluorescence microscopy using symmetric planar waveguides. *Opt. Express*. **17**, 5075 (2009).

Summary: We report methodologies for fabricating microfluidic circuits on various substrates. We describe all necessary steps in fabricating a complete PDMS (polydimethylsiloxane) microfluidic chip, using standard microfabrication techniques. Bonding strength was evaluated on three different substrate materials; silicon, glass and the fluorinated polymer Cytop. Irreversible bonding was obtained for glass and Cytop substrates. Microfluidic circuits were also combined with integrated optical chips suitable for carrying out optical measurements in aqueous solutions and such chips were tested by monitoring light emission from fluorescent beads in solution.

Um höfundana:

Guðmundur Kári Stefánsson er B.S. nemi í eðlisfræði við Raunvísindadeild Háskóla Íslands. Daði Bjarnason er meistaranemi við danska tækniháskólann (DTU). Kristján Leosson er vísindamaður við Raunvísindastofnun Háskólans.

gks4@hi.is
dadi.bjarnas@gmail.com
k.leosson@raunvis.hi.is
Móttékin: 17.11.2011