

文章编号 1004-924X(2013)09-2309-08

具有三维聚焦功能的微流控芯片

杨潞霞^{1,2,3}, 郝晓剑^{1,3}, 王春水^{1,3}, 张斌珍^{1,3}, 王万军^{1,3*}

- (1. 中北大学 仪器科学与动态测试教育部重点实验室, 山西 太原 030051;
2. 山西大学商务学院 信息学院, 山西 太原 030031;
3. 中北大学 电子测试技术重点实验室, 山西 太原 030051)

摘要: 为了使用微流体细胞仪对细胞精确计数, 采用紫外光刻工艺制作了能够真正实现三维聚焦功能的微流体检测芯片(微流控芯片)。使用聚二甲基硅氧烷(PDMS)进行二次倒模复制其结构以缩短微流控芯片制作周期、降低制作成本, 并进行了芯片的封装与测试。首先, 利用沉浸式光刻技术和斜曝光工艺制作了具有三维聚焦功能的 SU-8 微流沟道; 然后, 利用 PDMS 对所制作的 SU-8 微流沟道进行一次倒模, 得到其负模结构; 对负模结构进行表面处理, 再进行二次倒模, 得到 PDMS 微流沟道; 最后, 封装 PDMS 微流沟道与盖片, 制得微流控芯片, 并对微流控芯片的沟道聚焦效果进行了测试。实验测试发现随着鞘流与样本流流速比不同, 得到样本流的聚焦宽度也不同。当鞘流与样本流流速比为 20 : 1 时, 可以得到约 10.4 μm 的聚焦宽度。结果表明, 该芯片结构可靠, 可以满足进一步的流体聚焦检测要求。采用该方法制作的微流控芯片具有生产周期短、成本低、效率高和结构可靠的特点。

关键词: 微流控芯片; 三维聚焦; SU-8 胶; 聚二甲基硅氧烷(PDMS); 倒模

中图分类号: TP273; TH703 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20132109.2309

Three-dimensional focusing microfluidic chip

YANG Lu-xia^{1,2,3}, HAO Xiao-jian^{1,3}, WANG Chun-shui^{1,3}, ZHANG Bin-zhen^{1,3}, WANG Wan-jun^{1,3*}

- (1. *Key Laboratory of Instrumentation Science & Dynamic Measurement of the Ministry of Education, North University of China, Taiyuan 030051, China;*
 2. *School of Information, Business College of Shanxi University, Taiyuan 030031, China;*
 3. *Science and Technology on Electronic Test & Measurement Laboratory, North University of China, Taiyuan 030051, China)*
- * *Corresponding author, E-mail: wangwanjun@nuc.edu.cn*

Abstract: To count the cells precisely by using a microfluidic cytometer, a three-dimensional focusing microfluidic chip was designed by UV-photolithography based on SU-8 photoresist. The Polydimethyl Siloxane (PDMS) was used to cast doubly to replicate its structure and to shorten the fabrication cycle of microfluidic chip and reduce its costs. First, the PDMS was taken to fabricate a mold with a three-dimensional focusing microfluidic channel by the oblique exposure lithography of SU-8 photoresist and immersion lithography. Then, the PDMS was used to cast firstly for the SU-8 microfluidic to obtain a PDMS negative mode structure. After the negative mode structure was treated, it was casted again and the PDMS microfluidic detection channel which was consistent with that of the original mold was

收稿日期: 2013-04-11; 修订日期: 2013-06-07.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(61176115)

achieved. Finally, the PDMS microfluidic channel with a cover plate was packaged by using a certain packaging method and the microfluidic chip was obtained. Furthermore, the channel focus effect was tested. The test result shows that the focused width of sample flow changes with the different velocity ratios of sheath flow and sample flow. When the ratio of sheath flow and sample flow is 20 : 1, the focused width is about 10.4 μm . The results demonstrate that the chip with the microstructure is reliable, and it meets the requirements of further fluid focus testing. The manufactured microfluidic chip by using this process has a short cycle, low costs and a high efficiency.

Key words: microfluidic chip; three-dimensional focusing; SU-8 photoresist; Polydimethyl Siloxane (PDMS); inverting mold

1 引言

微机电系统 (Micro-electro-mechanical Systems, MEMS) 是指基于 (但不限于) 集成电路 (Integrate Circuit, IC) 工艺设计制造, 集微机构、微传感器、微执行器、信号处理及控制电路等于一体的装置^[1-2]。随着 MEMS 技术的迅猛发展, 生物微机电系统 (BioMEMS) 已成为其中重要的分支。微机电技术和生化分析结合的生物芯片在将仪器设备微小化的同时, 可以大大加快分析速度, 简化操作程序, 因此被广泛应用于疾病诊断、药物筛选和环境检测等诸多领域^[3], 已成为近年来微流控芯片技术发展的热点。

微流控芯片是 MEMS 研究的一个重要分支^[4-5], 采用传统 MEMS 工艺制作的微型流体聚焦沟道 (微流控芯片) 都是基于平面设计加工的, 在垂直于基片的方向是等深的, 因而样本只能在沿平行于基片的平面方向上聚焦排列, 而无法在垂直于基片的方向实现有效的聚焦排列。基于这种设计的二维流体聚焦腔也只能实现所谓“一维聚焦” (即水平方向的聚焦, 而无法实现竖直方向上的聚焦), 很难制作出具有三维聚焦功能的微流控芯片^[6-7], 在一定程度上降低了测量的精度和取样效率。

传统的以硅片为模板, 采用湿法或干法刻蚀的制作方法一般只能在牺牲层上精确地刻蚀出微流控芯片的平面二维图形, 而且干法刻蚀设备昂贵, 湿法刻蚀的沟道侧壁形貌又对沟道宽度有直接影响。本文所设计的微流控芯片最大深宽比为 10 : 1, 在聚焦处还有与基底成 45° 的斜坡, 很难通过简单的湿法或干法刻蚀工艺得到。考虑 SU-8 胶是一种负性、环氧树脂型、近紫外线光刻胶, 适于制作超厚、高深宽比的 MEMS 微结构。因

此, 所设计的微流控芯片首先以 SU-8 光刻胶作为结构材料, 根据斜曝光原理, 采用沉浸式光刻工艺制造出一种立体的能够真正实现三维聚焦功能的微流控芯片。由于 SU-8 光刻加工工艺制作微流控芯片在每次制作时均需要二次甩胶和倾斜曝光, 存在加工程序复杂繁琐、制作周期较长、成本较高等的缺点, 而聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 具有高度的疏水性、良好的光学和化学性能, 且加工简单、价格便宜, 已经广泛应用于微流控芯片的研究领域^[7], 故本实验以 SU-8 微流控芯片为模具, 首先使用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 浇注得到负模结构, 然后再使用该负模进行多次倒模, 得到多个与原 SU-8 模具一致的 PDMS 微流控芯片。这些 PDMS 芯片有着良好的生物兼容性与光学性能, 将其键合封装后, 可以作为细胞计数及检测的微流控芯片结构。

2 SU-8 微流沟道的设计与制作

2.1 微流沟道的设计

微流体细胞仪用水力所引发的流体聚焦效应进行细胞计数及分类, 由 3 条平行进样管道、喷嘴及集中流管道组成。样品由中间进样管道注入, 鞘流体由两侧进样管道注入, 并在喷嘴口挤压中间样品流, 产生聚焦效应, 侧边鞘流的流速越快则聚焦效果愈佳。适当控制各进样管道流体的注入流速, 可将样品流宽度缩减至单一细胞的尺寸, 然后通过光学检测机构进行细胞计数, 再通过激光束对细胞所产生的折射及反射现象进行观察, 藉此分析细胞的大小和种类, 还可以利用荧光标定方法, 将标定细胞发出的荧光经由多组光学组件, 进入光电倍增管, 再经过计算机数据处理, 得到需要的细胞分析数字信号^[6,9-15]。

为了实现对流体的三维聚焦,基于目标需要和 SU-8 的斜曝光原理,设计了如图 1 所示的微流沟道结构。该结构共有 3 个流体入口,中间为样本流入口,左右两侧分别为鞘流入口。在流体聚焦处有 3 个斜面,左斜面和右斜面分别与基底垂直,中间斜面与基底成 45°角。中间的样本流通过两侧鞘流在左、右斜面的挤压作用下可以实现水平方向的聚焦;由于斜坡对流体的缓慢上抬作用,在中间斜坡处也可以实现对样本流垂直方向的聚焦;同时样本流入口沟道的截面积比出口的小,在沿样本流方向也可以产生一定的聚焦效果,这样就可以实现对样本流的三维聚焦功能。为了后续的流体芯片检测方便,将 3 个流体入口处设计为密封结构。

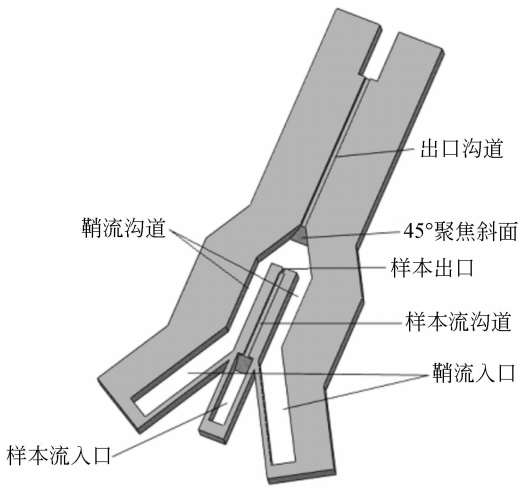


图 1 微流控芯片的设计结构

Fig. 1 Structure of microfluidic chip

2.2 斜曝光原理

因为未曝光的 SU-8 光刻胶在空气中的折射率为 1.65,即使紫外光入射角达到 90°,其折射角也只能达到 36.8°,无法满足制作 45°斜坡的需要,如图 2 所示。所以采用传统的平面垂直曝光光刻技术无法实现斜坡的制作,因此使用一种特殊的曝光方式,即沉浸式光刻技术^[16,17]和斜曝光技术来制作微流体聚焦的中间 45°斜坡。根据斯涅尔折射定律可知:

$$n_1 \sin \theta_1 = n_2 \sin \theta_2 = n_3 \sin \theta_3 = n_4 \sin \theta_4, \quad (1)$$

式中: n_1 、 n_2 、 n_3 和 n_4 为去离子水、掩模板、甘油和 SU-8 的折射率,分别为 1.33、1.52、1.45 和 1.65;对应的 θ_1 、 θ_2 、 θ_3 和 θ_4 分别为相邻交界面的入射光

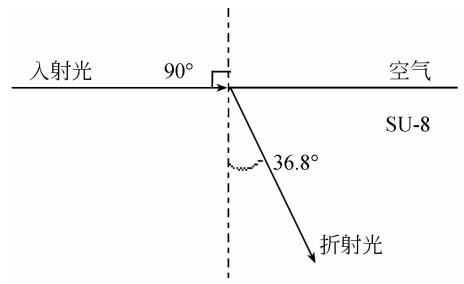
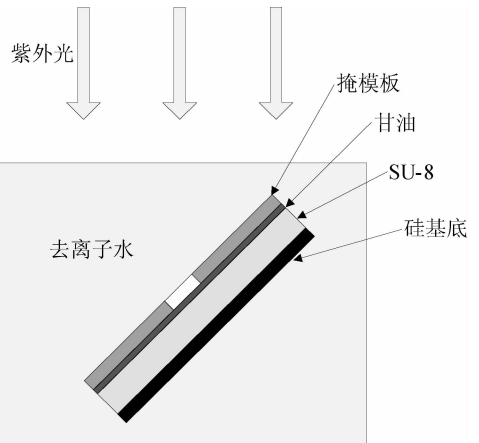
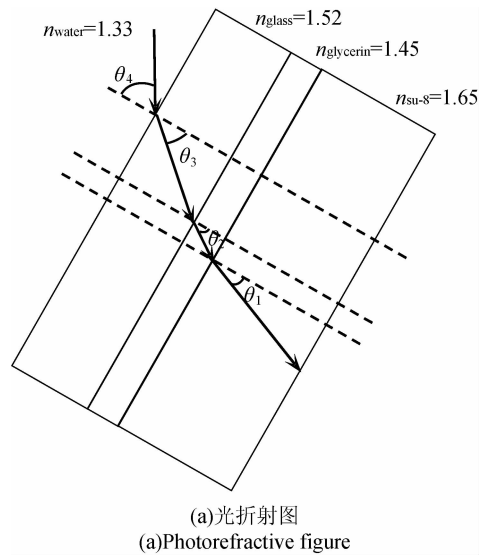


图 2 入射角为 90°的紫外光照射 SU-8 光刻胶产生的折射角

Fig. 2 Refraction angle produced with SU-8 photoresist irradiated by ultraviolet light at incident angle of 90°



(b)实验示意图
(b) Experimental schematic diagram

图 3 斜曝光原理

Fig. 3 Principle diagram of oblique exposure

线与其法线的夹角,如图 3(a)所示。可见要在

SU-8 光刻胶上得一个 θ_1 为 45° 的斜面, 需要保证紫外光在水中入射到掩膜板表面的角度 θ_2 为 61.3° 。

为了弥补 SU-8 光刻胶表面不平整, 减少其与掩膜板接触时产生的空隙, 更好地达到接触式曝光, 首先在涂有一定厚度 SU-8 光刻胶的硅片和掩膜板之间涂覆一层甘油, 然后通过自制夹具固定各个部分, 最后按照与水平面呈 61.3° 的斜度放置在去离子水中(如图 3(b)所示)进行斜曝光, 即可得到所需结构。

2.3 SU-8 微流沟道的制作

SU-8 微流沟道的制作分两步进行套刻加工, 具体工艺流程如图 4 所示。

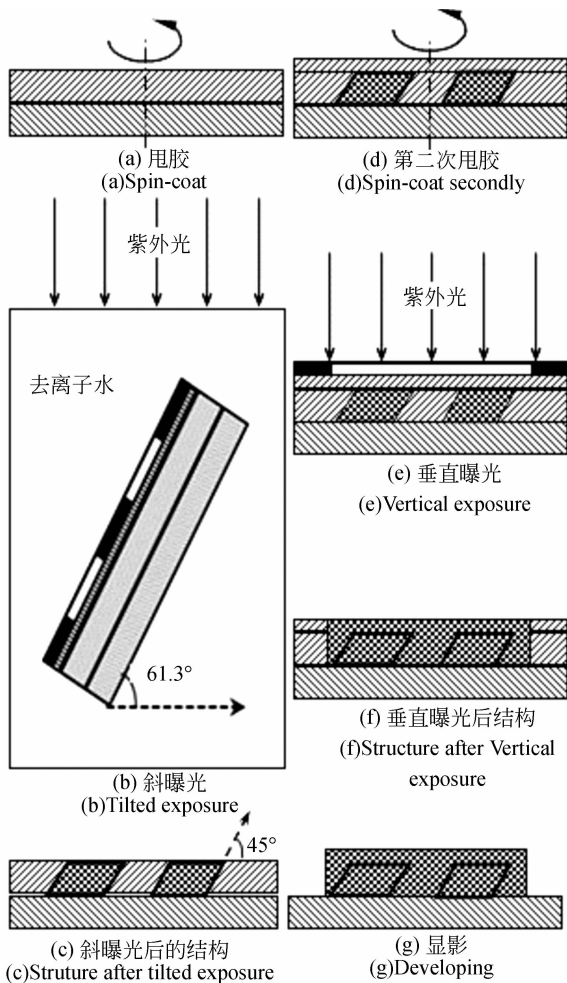


图 4 SU-8 微流沟道制作工艺流程示意图

Fig. 4 Process flow diagram of SU-8 microfluidic channel

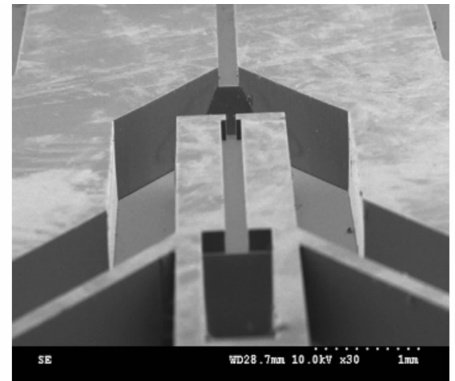
第一步根据 SU-8 光刻胶斜曝光原理, 在清洗好的硅片上甩一层 SU-8 光刻胶, 经前烘后, 将甘油涂覆在 SU-8 光刻胶和掩膜板之间, 并用自

制夹具固定, 然后将夹具倾斜 61.3° 置入去离子水中, 进行倾斜曝光, 得到用于聚焦样本流和鞘流的 45° 斜坡。

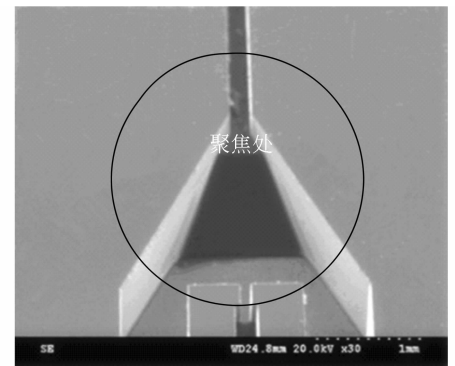
第二步是在第一步已曝光、后烘过而未显影的 SU-8 胶上进行 SU-8 二次甩胶, 再前烘后将掩膜板与第一次曝光的对准标记对准, 采用传统的直光刻法进行垂直曝光。经后烘和显影完全后, 得到微流沟道的通道及垂直边墙, 形成与图 1 所示结构一致的 SU-8 微流沟道。

2.4 SU-8 微流沟道的扫描电镜分析

对采用上述方法制作的 SU-8 微流沟道进行扫描电镜观察, 可以清楚地看到微流沟道结构(如图 5(a)所示)和聚焦处的 3 个斜面(如图 5(b)所示), 同时为了比较二次倒模后 PDMS 正模微流沟道的结构变化情况, 表 1 给出了微流沟道的各个部分的尺寸。



(a) 微流沟道
(a) Microfluidic channel



(b) 聚焦斜坡处
(b) Focusing face on the slope

图 5 SU-8 微流沟道和聚焦斜坡处的扫描电镜图
Fig. 5 SEMs of microfluidic channel and focusing face on slope for SU-8

3 PDMS 微流沟道的制作

由于采用 SU-8 光刻胶制作的微流沟道加工周期长、难度大,为了缩短加工周期,降低加工难度,以第一部分制作的 SU-8 微流沟道为模具,使用 PDMS 对其进行二次倒模复制加工。

3.1 PDMS 微流沟道的一次倒模

首先将 PDMS 预聚体和固化剂按质量比 10:1 配置,放置在真空烘箱中进行 30 min 的脱泡处理以确保预聚物中不含气泡。然后将其浇注在已制好的 SU-8 微流沟道上,放入 75 °C 的干燥箱中保持 90 min。待预聚物充分固化后,将 PDMS 从 SU-8 上剥离,得到微流沟道的负模

结构。

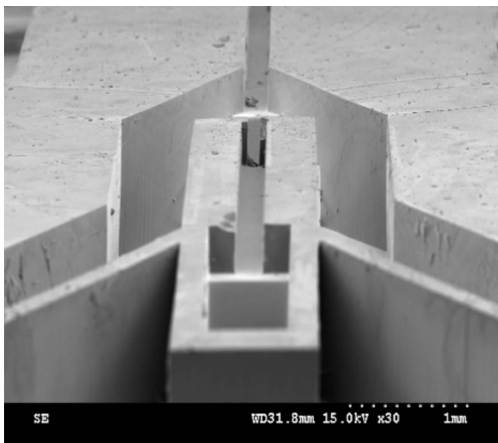
3.2 负模结构的表面处理与二次倒模

直接用 PDMS 对负模结构进行倒模,脱模时会出现粘连和撕裂,因此需要对制得的负模结构进行表面处理。采用质量分数为 1% 的羟丙基甲基纤维素^[18-19]与 pH=3 的磷酸缓冲液按质量比为 1:1 配置的混合液作为处理液。首先将负模结构浸泡在混合液中 30 min,然后采用与 3.1 一样的方法进行二次倒模,得到如图 6 所示的 PDMS 微流沟道,微流沟道的各个部分的尺寸如表 1 所示。通过比较表 1 数据可以发现 PDMS 微流沟道各部分的结构尺寸与 SU-8 微流沟道的尺寸相差很小,保形性较好,误差范围最大的在 1.4%,不会影响微流沟道的聚焦结果。

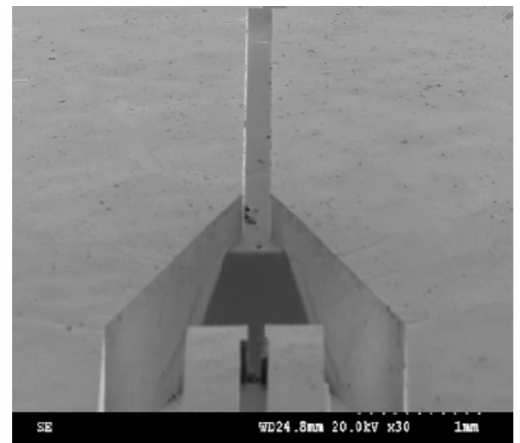
表 1 SU-8 结构与 PDMS 正模结构关键尺寸比较

Tab. 1 Comparison of critical dimensions of microfluidic structure of SU-8 with PDMS replica (μm)

材料	样本流入口宽度	鞘流入口宽度	样本流沟道宽度	鞘流沟道宽度	样本流出口宽度	出口沟道宽度	出口沟道深度
SU-8	602.48	859.11	202.79	560.44	101.13	199.7	225.6
PDMS	602.48	860.13	202.79	560.44	101.96	202.42	233.4



(a) 微流沟道
(a) Microfluidic channels



(b) 聚焦斜坡处
(b) Focusing face on slope

图 6 PDMS 微流沟道聚焦斜坡处的扫描电镜图

Fig. 6 SEMs of PDMS microfluidic channel and focusing face on slope

4 PDMS 微流控芯片的封装与测试

将 PDMS 微流沟道与 PDMS 盖片进行 180

mTorr 气压、30 W 功率、60 s 的氧等离子体处理后,用 PDMS 预聚物将二者键合,放入 100 °C 的烘箱中保持 4 h,得到如图 7 所示的微流控芯片。

将 3 个注射器放置在微注射泵 (Kdscientific



图 7 封装后的微流控芯片照片

Fig. 7 Photo of packaged microfluidic chip

Model 200 Series) 上, 使用含有 $7\ \mu\text{m}$ 荧光微球 ($488\ \text{nm}$ 的激发光, $522\ \text{nm}$ 的绿色散色光) 的去离子水溶液作为样本流, 去离子水作为左右两边的鞘流, 用荧光显微镜进行观察。通过改变样本流与左右两边鞘流的流速观察其封装和聚焦效果, 得到不同流速比下的样本流聚焦宽度, 结果如图 8 所示。

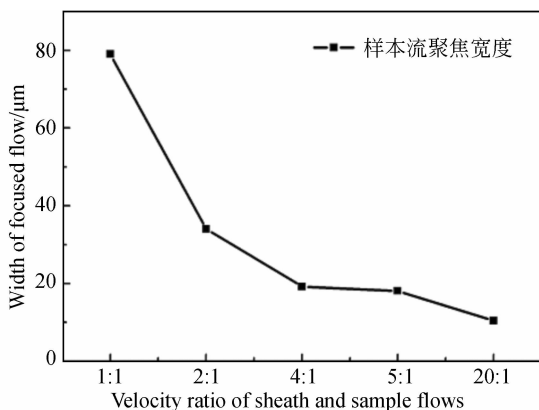


图 8 鞘流、样本流速比与聚焦流宽度的关系图

Fig. 8 Velocity ratio of sheath flow and sample flow vs the width of focused flow

显微镜观察结果表明样本流与鞘流从入口注入后, 可沿沟道顺利流过, 沟道通畅, 无堵塞, 沟道周围也无液体泄漏, 证明所封装的微流体结构接触紧密。同时样本流经 45° 斜坡处发生了明显的聚焦, 样本流在出口沟道聚焦成一条绿线 (如图 9 所示, 彩图见文章电子版)。由此可见, 所设计的微流控芯片可以根据实际需求调节样本流与鞘流的流速比来满足进一步的流体中微粒分类与计数检测的要求。

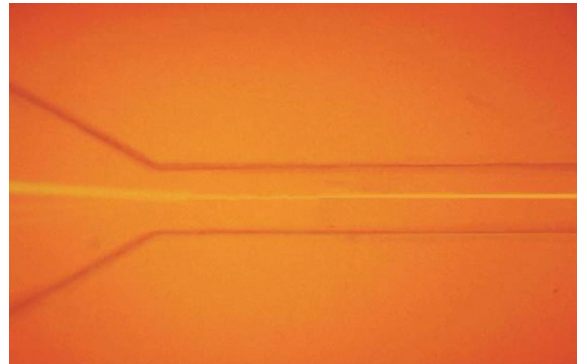


图 9 荧光颗粒的样本流聚焦效果图

Fig. 9 Test figure of focusing effect of packaged chip

5 结 论

设计了一种能真正实现三维方向上流体聚焦的微流控芯片, 通过沉浸式光刻技术和斜曝光技术制作了该 SU-8 微流沟道, 然后通过二次倒模技术制作了 PDMS 微流沟道, 最后对 PDMS 微流沟道进行了封装, 制得微流控芯片, 并对其沟道聚焦性能进行了检测。当样本流与左右两边鞘流的流速比不同时, 得到不同的样本流聚焦。当样本流与左右两边鞘流的流速比为 $1:20:20$ 时, 得到的样本流聚焦平均宽度为 $10.4\ \mu\text{m}$ 。由于血红细胞的直径约为 $7.5\ \mu\text{m}$, 因此该聚焦宽度可用于检测血红细胞数目。同时聚焦效果测试表明该芯片结构可靠, 可以满足不同的流体聚焦检测要求, 从而可以进一步满足检测分类与计数微小颗粒的要求。

参考文献:

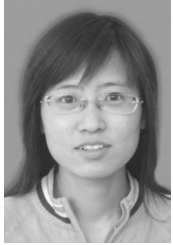
- [1] ARNAU B, HEIMGARTNER S, COUSSEAU P. Static micromixers based on large-scale industrial mixer geometry [J]. *Lab on a chip*, 2001, 1(1): 56-60.
- [2] 孙长敬, 褚家如. 基于 MEMS 技术的微流体混合器及相关技术 [J]. *微纳电子技术*, 2004(5): 28-32.
SUN CH J, CHU J R. Microfluidic mixer based on MEMS and related technologies [J]. *Micronano-electronic Technology*, 2004(5): 28-32. (in Chinese)
- [3] 杨静, 杨军, 许蓉, 等. 一种微流控细胞分离芯片及其流场分析 [J]. *仪器仪表学报*, 2009, 30(7): 1508-1511.
YANG J, YANG J, XU R, *et al.*. Microfluidic cell sorting chip and its flow field simulation [J]. *Chinese Journal of Scientific Instrument*, 2009, 30(7): 1508-1511. (in Chinese)
- [4] 张平, 胡亮红, 刘永顺. 主辅通道型微混合器的设计与制作 [J]. *光学精密工程*, 2010, 18(4): 872-879.
ZHANG P, HU L H, LIU Y SH. Design and fabrication of micromixer with main—assist channels [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2010, 18(4): 872-879. (in Chinese)
- [5] 刘冲, 梁勇, 李经民, 等. 微流控芯片操作机器人碰撞保护装置的设计 [J]. *光学精密工程*, 2009, 17(1): 138-145.
LIU CH, LIANG Y, LI J M. Design of collision protection system of handling robot for microfluidic chip [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2009, 17(1): 138-145. (in Chinese)
- [6] 雒文伯, 梁智创, 蔡建雄, 等. 具有三维聚焦之微型流式细胞/颗粒计数器 [J]. *功能材料与器件学报*, 2008, 14(2): 436-440.
LUO W B, LIANG ZH CH, CAI J X, *et al.*. Micro flow cytometer with 3-D focusing for cell/particle detection [J]. *Journal of Functional Materials and Devices*, 2008, 14(2): 436-440. (in Chinese)
- [7] ANTHONY T. *Design of a Microfluidic Chip for Three Dimensional Hydrodynamic Focusing in Cell Cytometry Applications* [D]. Concordia University, 2011.
- [8] 于海霞, 栗大超, 刘同坤, 等. 基于微流体技术的组织液透皮抽取装置 [J]. *光学精密工程*, 2011, 19(3): 651-656.
YU H X, LI D CH, LIU T K, *et al.*. Interstitial fluid transdermal extraction tool based on microfluidics technology [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2011, 19(3): 651-656. (in Chinese)
- [9] NEBEVONCARONA G, STEPHENS P J, HEWITTC C J, *et al.*. Analysis of bacterial function by multi-colour fluorescence flow cytometry and single cell sorting [J]. *J. Microbiol Methods*, 2000, 42(1): 97-114.
- [10] LEE G B, HWEI B H, HUANG G R. Micromachined pre-focused M×N flow switch for continuous sample injection [J]. *J. Micromech Microeng*, 2001, 11(6): 654-661.
- [11] LIN C H, LEE G B. Micromachined flow cytometers with embedded etched optic fibers for optical detection [J]. *J. Micromech Microeng*, 2003, 13(3): 447-453.
- [12] FU L M, YANG R J, LIN C H, *et al.*. Electrokinetically driven micro flow cytometers with integrated fiber optics for on-line cell/particle detection [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2004, 507(1): 163-169.
- [13] YANG S Y, HSIUNG S K, HUNG Y C, *et al.*. A cell counting/sorting system incorporated with a microfabricated flow cytometer chip [J]. *Measurement Science and Technology*, 2006, 17(7): 2001-2009.
- [14] SHAO G CH, WANG W J. Design, fabrication, and test of an on-chip micro flow cytometer with integrated out-of-plane microlenses [J]. *Microsyst Technol.*, 2010, 16(8-9): 1569-1576.
- [15] SATO H, YAGYU D, ITO S, *et al.*. Improved inclined multi-lithography using water as exposure medium and its 3D mixing microchannel application [J]. *Sensors and Actuators A: Physical*, 2006, 128(1): 183-190.
- [16] 夏飞. PDMS 微流控芯片的制备工艺研究 [D]. 南京: 南京理工大学, 2010.
XIA F. *Studies on the Fabrication Technology of PDMS Microfluidic Chips* [D]. Nanjing: Nanjing University of Science & Technology, 2010.
- [17] 刘文亮. 具有细胞计数功能的光微流控芯片制备工艺研究 [D]. 武汉: 华中科技大学, 2009.
LIU W L. *Studies on the Fabrication Technology of opto-Microfluidic Chip with the Function of Cell Count* [D]. Wuhan: Huazhong University of

Science and Technology, 2009.

- [18] GITLIN L, SCHULZE P, BELDER D. Rapid replication of master structures by double casting with PDMS [J]. *Lab on a Chip*, 2009 (9): 3000-3002.

- [19] TAN H Y, LOKE W K, NGUYEN N T. A reliable method for bonding polydimethylsiloxane (PDMS) to polymethylmethacrylate (PMMA) and its application in micropumps [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2010, 151(1): 133-139.

作者简介:



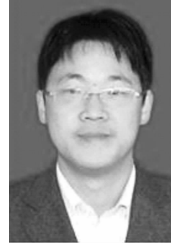
杨璐霞(1979—),女,山西阳城人,博士研究生,讲师,2002年于太原理工大学获得学士学位,2008年于山西大学获得硕士学位,主要从事微纳技术与仪器、微流控芯片和微光学器件的制作与测试。E-mail: ylxlyz328@163.com



郝晓剑(1985—),男,山西吕梁人,硕士研究生,主要从事微电子和微流体方面研究。E-mail: hxjhxq@qq.com



王春水(1988—),男,河北保定人,硕士研究生,主要从事微电子和微流体方面的研究。E-mail: wangchunshui_123@126.com



张斌珍(1974—),男,山西岚县人,博士后,教授,硕士生导师,主要从事恶劣环境动态测试理论与技术在航空航天领域中的应用,包括数据记录仪、自动测试平台和传感器方面的研究。E-mail: zhangbinzhen@nuc.edu.cn

导师简介:



王万军(1957—),男,陕西省渭南人,博士,终身教授,博士生导师,1982年毕业于西安交通大学机械工程系,1989年于美国德克萨斯(奥斯汀)大学获博士学位,美国路易斯安那州立大学机械工程系终身正教授,主要从事微纳机电系统(微纳米加工技术,微光学,微流体,微生物医学系统等)、微制造技术(紫外光刻技术)和微传感器技术方面的研究。E-mail: wangwanjun@nuc.edu.cn

(版权所有 未经许可 不得转载)