

振動誘起流れを用いたマイクロミキサーの PIV による性能評価

Evaluation of performance of micromixer based on vibration-induced flow with PIV

○学 松井 駿幸 (中央大) 正 鈴木 宏明 (中央大) 正 早川 健 (中央大)

Toshiyuki MATSUI, Chuo University, t.matsui.nano@mnrobo.mech.chuo-u.ac.jp

Hiroaki SUZUKI, Chuo University

Takeshi HAYAKAWA, Chuo University, hayaka-t@mech.chuo-u.ac.jp

In recent years, various micromixers have been reported. However, conventional constant flow-based methods have undesirable dead volume about 10-100 μL in tube connection parts between microfluidic chips and external pumps. Thus, conventional methods are not suitable for mixing of rare samples, such as antibodies, proteins or exosomes. To solve this problem, we propose micromixer based on vibration-induced flow. Vibration-induced flow is the localized flow which is induced around a vibrating microstructure by being applied high-speed vibration to the structure. By using this proposed method, dead volume which exists in tube connection parts of conventional micromixers can be omitted. In this study, we fabricated two types of micromixers having micropillar array with hexagonal configuration or matrix configuration. Then, we quantitatively evaluated mixing performances of proposed micromixers by calculating variance of distance between microparticles and observing flow distribution and vorticity with PIV.

Key Words: microfluidics, vibration-induced flow, micromixer, acoustofluidics, PIV

1. 緒言

近年、マイクロ流体デバイスを用いた化学・生物分野における分析が盛んに行われている。マイクロ流体デバイス中では、これらの分析で行う試料の注入や混合、分離、検出といった一連の作業を集積化できるため、低コスト・高速・省試料化が可能となる。これらの作業の中でも、流体の混合は非常に重要な技術である。しかしながら、マイクロ流体デバイス内は流路の幅が小さいためレイノルズ数が非常に小さくなり、層流環境となるため混合に時間がかかってしまう。そこで、幾何学的効果や電気浸透流、流れのスイッチング等を利用した様々なマイクロミキサーがこれまでに報告されてきた[1-3]。幾何学的効果を用いた方法では、流路内に凹凸を作製し、そこに試料を送液することによって、2つの試料が次々と重ねられていき多数の層を形成していく。そして、その形成された層が流路の下流に送液されるにつれて、薄く引き伸ばされていき、混合されるという方法であり、高い混合効率を達成しているマイクロミキサーである。この方法は試料を送液するだけで混合することが出来る為、実験システムが簡単であるという利点がある。電気浸透流を用いた方法は、流路内部に電極を作製し、電圧を印加することによって電極周辺に電気浸透流を発生させ混合する方法である。この方法は電極の構成や配置の仕方によって流れの制御が可能である。流れのスイッチングを用いる方法では、試料の送液を外部から制御し、2種類の試料を交互に送液することによって混合している。この方法では、試料を交互に送液し、層を重ねた後、その層を薄く引き伸ばすため、試料の粘度が高い場合でも混合することが可能である。

これらのような従来のマイクロミキサーにおいては、試料の送液に外部ポンプを用いることで、チップ内部に流れを発生させ、混合を実現してきた。このように外部ポンプを用いて送液するためには、マイクロ流体デバイスと外部ポンプを接続するチューブが必要になる。しかしながら、チューブを必要とする従来の混合方法では、外部ポンプとして使用しているシリンジポンプの押し子を押し切った際に、チューブ部分に10~100 μL 程度の使いきれない試料が残ってしまうという問題点がある。そのため、タンパク質や抗体試薬といった希少な試料や高価な試薬の混合に適していなかった。

この問題を解決するために、金子らによって振動誘起流れを用いたポンプレスマイクロミキサーが報告されている[4]。

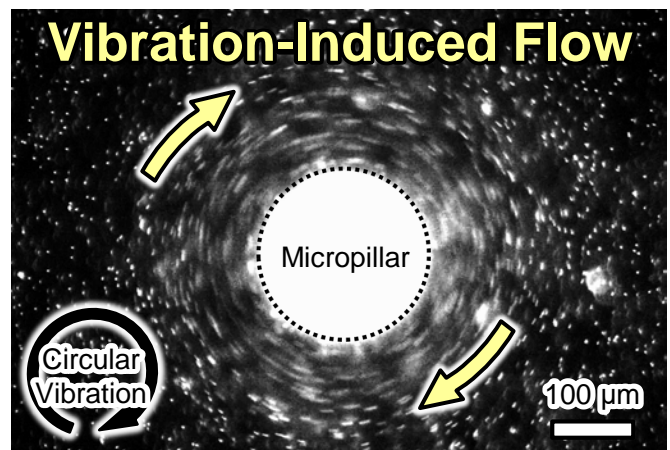


Fig.1 Microscopic image of the vibration-induced flow visualized by fluorescent microparticles.

このマイクロミキサーでは、振動誘起流れという現象を利用することにより、外部ポンプによる送液が必要ない。そのため、マイクロ流体デバイスと外部ポンプを接続していたチューブを取り除くことが可能になり、チューブ部分に試料のロスが生じるという問題点が解決されている。

これまでの報告では、振動誘起流れの数値的解析と実験結果との比較が行われている[5]。しかしながら、流れを誘起するマイクロ構造体の配置についての議論はされていなかった。そこで、本稿では、振動誘起流れを発生させる構造体の配置を変えた際の混合性能の評価を行う。

2. コンセプト

振動誘起流れとは、図1に示すように、微小構造体に高周波数の振動を印加することによって、構造体の表面から数十 μm の局所的な領域に誘起される流れのことである[6]。この現象を用いることにより、ポンプによる試料の送液を必要とせず、チップに試料を導入した後、振動を印加するだけで流れを発生させることができる。そのため、従来方法で生じていた、チューブ部分の試料のロスを省いた混合が可能となる。

図2に提案するマイクロミキサーのコンセプトとチップの概要図を示す。基板上にマイクロピラーアレイを作製し、チッ

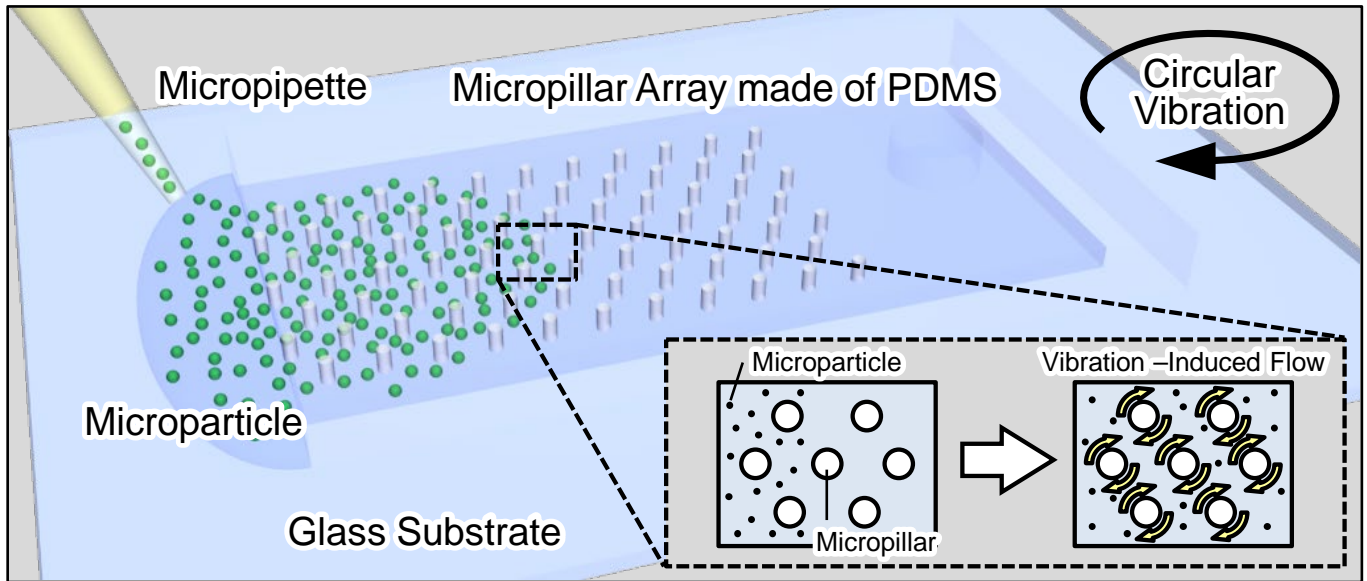


Fig.2 Schematic diagram of proposed micromixer with low dead volume based on vibration-induced flow. Inserted figure is conceptual figure of the proposed micromixer based on vibration-induced flow.

プの片側から試料を導入した後、円振動を印加する。円振動を印加することによって、それぞれのマイクロピラー周囲に局所的な流れが発生し、その流れによって試料の混合を行う。

本研究では、円柱状のマイクロピラーを用いて、配置の異なる2種類のマイクロミキサーを作製する。そして、作製したそれぞれのマイクロミキサーにおいてどのような流れが発生しているのかをPIVを用いて計測し、それぞれの流れ場の差異を確認する。また、その流れ場の違いが混合性能に対してどのような影響を及ぼすのかを考察する。

3. 実験

3.1 チップ作製

提案するマイクロミキサーはフォトリソグラフィーによって作製された。まず初めに、シリコン基板に感光性樹脂であるSU-8 (SU-8 3025, KAYAKU Advanced Materials, Inc.)を塗布した後、露光と現像を行うことによって、モールドを作製した。次に、作製したモールドに熱硬化性樹脂であるPDMS (東レダウコーニング, silpot184)を流し込んだ。PDMSを流し込んだ後、真空脱泡機でPDMS内の空気を脱気し、オープンを使用して焼成した。焼成した後、PDMSをモールドから取り外し、カッティングした。カッティングしたPDMSとガラスをプラズマ接合することによってチップを作製した。

本研究では、図3に示す通り、六角形状と正形状のマイクロピラーアレイを持つ2種類のマイクロミキサーを作製した。作製したマイクロピラーの設計パラメータは、ピラー直径 D とピラー間ピッチ P の2つである。本稿では、ピラー直径 D は $70\ \mu\text{m}$ に固定し、ピラー間ピッチ P は $80, 180, 270\ \mu\text{m}$ の3種類で実験を行った。

3.2 混合実験

実験に用いたシステムは、倒立顕微鏡 (オリンパス, IX-73) の上に構築し、振動を印加する為にピエゾステージ (ナノコントロール, PK2H100-030-N) を用いた。作製したチップはアルミフレームの上に固定し、そのアルミフレームをピエゾステージ上にねじで固定した。ピエゾステージに印加する振動は、周波数を $600\ \text{Hz}$ 、振幅を $30\ \text{V}$ とし、実験に用いた試料は純水と直径 $1\ \mu\text{m}$ の蛍光ビーズである。実験では、初めにチップ内

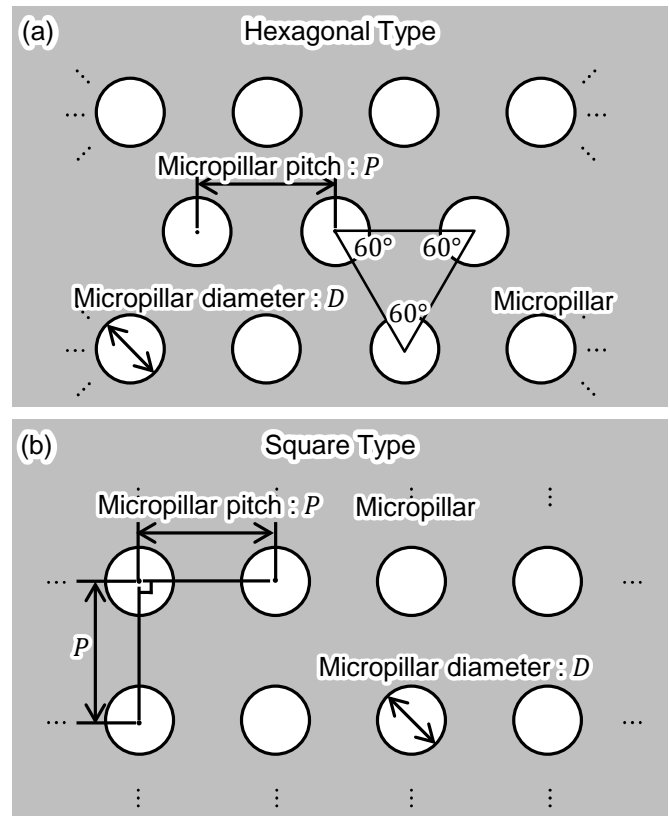


Fig.3 Design of micropillar array for micromixer. Design parameters are micropillar pitch and diameter. (a) hexagonal configuration, (b) square configuration

部を純水で満たし、その後にチップの片側から蛍光ビーズを導入し、振動を印加することにより、混合実験を行った。混合実験では蛍光ビーズが振動誘起流れによって、どれだけ分散されるかを確認した。観測した現象は、C-MOSカメラ (Advan Vision, Advan Cam E3R) を用いて撮影した。撮影は振動を印加してから5分おきに行い、その都度振動を止めて撮影した。

4. 結果

4.1 混合実験

混合実験では、まず初めに振動誘起流れによって混合されているのか否かの確認を行った。図4はチップに円振動を印加しなかった場合の画像であり、画像左半分に存在する白い点群は蛍光ビーズである。チップに蛍光ビーズを導入した直後の画像と、30分後の画像を比較して、蛍光ビーズの状態がほとんど同じであることが確認できた。一方で、図5に示すように、チップに振動を印加した場合、蛍光ビーズが分散していることがわかる。これらの結果から、振動誘起流れが混合に有用であることが確認できた。

次に、作製した2種類のマイクロミキサーで混合実験を行った。図5-(a)、図5-(b)はそれぞれ、六角配置マイクロミキサーと正方配置マイクロミキサーで行った混合実験の結果である。どちらのマイクロミキサーも、振動を印加することによって、蛍光ビーズを分散させることができた。

しかしながら、このままではどちらのマイクロミキサーが高い混合性能を有しているのか結論づけることができない。そこで、次に我々は、これらのマイクロミキサーの混合性能を定量的に評価した。

4.2 定量評価

混合性能の定量評価には、次式を用いた。

$$\text{Variance of distance: } V_d = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (d_i - \bar{d}_R)^2 \quad (1)$$

ここで、 N は画像内に存在する蛍光ビーズの総数である。また、 d_i は隣接する粒子間の距離であり、 \bar{d}_R は全ての蛍光ビーズが等間隔に分散されたと仮定した場合の隣接した粒子間の距離を表している。つまり、 V_d の値が0に近づけば近づくほど、蛍光ビーズが均一に分散されているということを表している。

式(1)を用いてプロットした結果を図6に示す。本評価では、 V_d の値は粒子の位置に依存しており、その初期位置を全く同じ状態に揃えるのは難しい為、 V_d の値を直接比較することはできない。そのため、 V_d の初期値である V_0 で V_d を割って求めた変化率 V_d/V_0 の値をプロットし、混合性能の評価を行った。振動を印加しなかった場合、 V_d/V_0 の値はほとんど変化しないことがわかる。一方で、六角配置マイクロミキサーと正方配置マイクロミキサーのどちらも、振動を印加しなかった場合に比べて V_d/V_0 の値が大幅に小さくなるのが定量的にも確認できた。また、どちらのマイクロミキサーも $P = 180 \mu\text{m}$ の時に混合性能が最も良い結果を示している。その中でも、正方配置マイクロミキサーの V_d/V_0 の値が約40%であるのに対して、六角配置マイクロミキサーの V_d/V_0 の値は約10%となり、六角配置マイクロミキサーの方が高い混合性能を有することが確認できた。

4.3 流線観察

次に我々は、六角配置マイクロミキサーと正方形マイクロミキサーの混合性能に差が出た理由を考察するために、それぞれのマイクロミキサーで流線観察を行った。

図7-(a)は六角配置のマイクロミキサーで観察した流線である。六角配置マイクロミキサーでは、円振動を印加することによって、マイクロピラーの周囲を旋回するような流れが発生していた。加えて、隣接するマイクロピラー同士の流れがお互いに干渉して、中心に渦流れが発生していることが確認できた。一方で、正方配置マイクロミキサーで流線を観察したところ、図7-(b)に示す通り、マイクロピラーの周囲を旋回する流れは確認できたが、隣接するマイクロピラー同士の干渉による渦流れはほとんど確認できなかった。

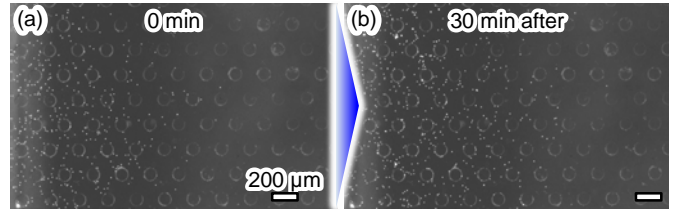


Fig.4 Fluorescent images of mixing without vibration-induced flow at $P=180 \mu\text{m}$, $D=70 \mu\text{m}$. (a) After introduction of fluorescent microparticles, (b) 30 min after (a).

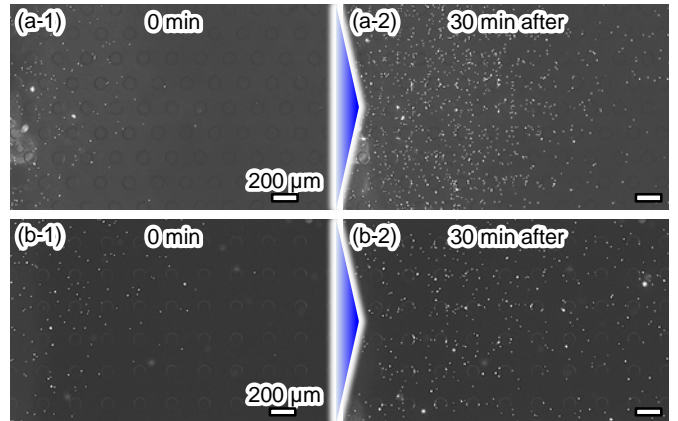


Fig.5 Fluorescent images of mixing with vibration-induced flow at $P=180 \mu\text{m}$, $D=70 \mu\text{m}$. (a) Hexagonal type, (b) Square type.

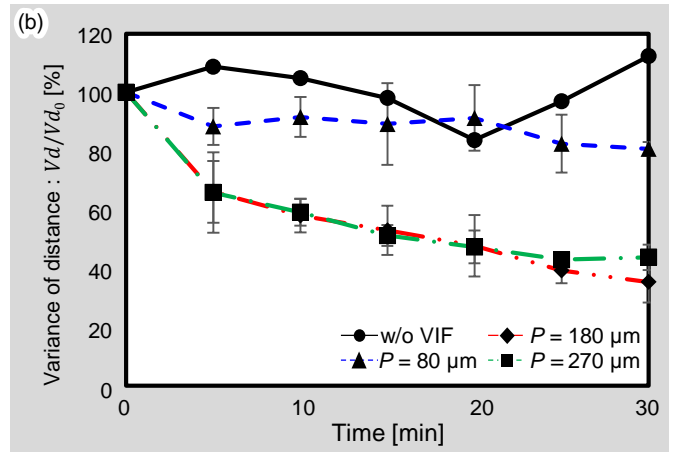
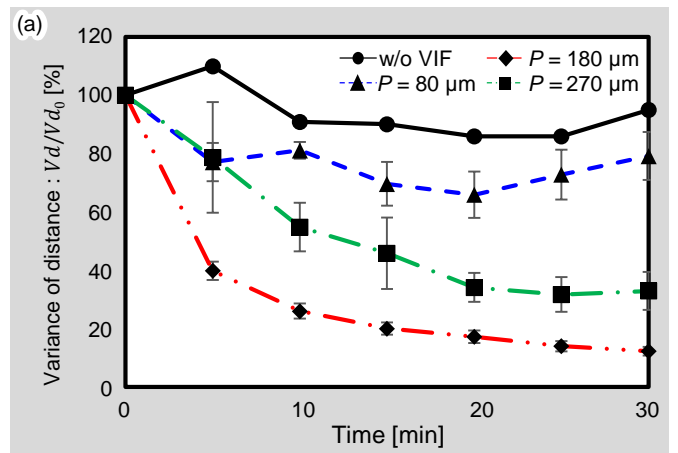


Fig.6 Quantitative evaluation by calculating variance of distance between microparticles. (a) Hexagonal type, (b) Square type.

4.4 PIV による解析

さらに我々は、それぞれのマイクロミキサーに対して PIV を用いて流れ場の観測を行った。図 8 に示すように、六角配置マイクロミキサーでは、隣接するマイクロピラーの中心に小さな渦流れが発生していることが確認できた。一方、正方形マイクロミキサーでは、4本のマイクロピラーの中心に大きな渦流れが発生していることが確認できた。

また、それぞれのマイクロミキサーで発生している渦流れに、どのような違いがあるのかを渦度を計測することによって確認した。渦度とは流体の回転運動を表しており、この渦度の値が大きければ大きいほど、発生している渦流れの回転が強く、マイクロミキサーの混合性能に大きく影響すると考えられる。

図 9 は、それぞれのマイクロミキサーで計測した渦度のカラーマップである。図の赤い部分と青い部分が渦度の値が大きい領域である。また、青い部分は反時計回りの流れを表しており、赤い部分は時計回りの流れを表している。図 9 に示す通り、六角配置マイクロミキサーでは、隣接するマイクロピラーの中心に赤い領域が存在していることから、強い渦流れが発生していたことが確認できる。一方で、正方配置マイクロミキサーでは、六角配置マイクロミキサーで生じていた赤い領域がほとんど存在せず、強い渦流れが発生していないことが確認できる。

流線観察と PIV を用いた計測から、円振動を印加することによって、マイクロピラー周りを旋回する流れと隣接するマイクロピラーの中心に渦流れが発生していることが確認できた。これらの流れによって蛍光ビーズが隣接するマイクロピラーに次々と移動していき、混合されると考えられる。また、六角配置マイクロミキサーでは、隣接しているマイクロピラーの中心に特に強い渦流れが発生しており、この流れが 2つのマイクロミキサーの混合性能に違いが生じた大きな理由であると考えられる。

5. 結言

本研究では、六角配置のマイクロピラーアレイを持つマイクロミキサーと正方配置のマイクロピラーアレイを持つマイクロミキサーの、2種類のマイクロミキサーを作製した。混合性能を定量的に評価したところ、六角配置マイクロミキサーの方が混合性能が高いことが確認できた。また、流線観察と PIV を用いた流れ場と渦度の計測結果から、マイクロピラー周囲を旋回する流れに加えて、ピラー間に生じる渦流れが、混合に重要な要素であることが確認できた。今後は印加する振動の周波数と電圧の最適化を行う予定である。

謝辞

本研究は、三豊科学技術振興協会研究助成の援助を受けて行われた。

参考文献

- [1] Abraham D. Stroock, *et al. Science*, vol.295, issue 5555, pp. 647-651, 2002.
- [2] Sasaki, Naoki, Takehiko Kitamori, and Haeng-Boo Kim. *Lab on a Chip*, vol.6, issue 4, pp. 550-554, 2006.
- [3] Coleman, Jeffrey T., Jonathan McKechnie, and David Sinton. *Lab on a Chip*, vol.6, issue 8, pp. 1033-1039, 2006.
- [4] K. Kaneko. *et al. proceedings of the MicroTAS(2017)*, pp.255-256.
- [5] Kaneko, Kanji, *et al. Micromachines*, vol.9, issue 12, no.668, 2018.
- [6] Hayakawa, Takeshi, Shinya Sakuma, and Fumihito Arai. *Microsystems & nanoengineering* vol.1, no.15001, 2015.
- [7] Aubin, Joelle, David F. Fletcher, and Catherine Xuereb. *Chemical Engineering Science* vol.60, issues 8-9, pp.2503-2516, 2005.

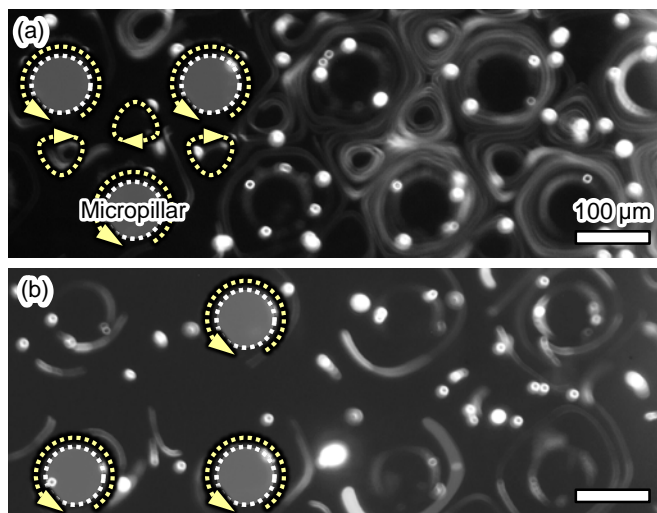


Fig.7 Streamline around micropillar array at $P=180 \mu\text{m}$, $D=70 \mu\text{m}$. (a) Hexagonal type, (b) Square type.

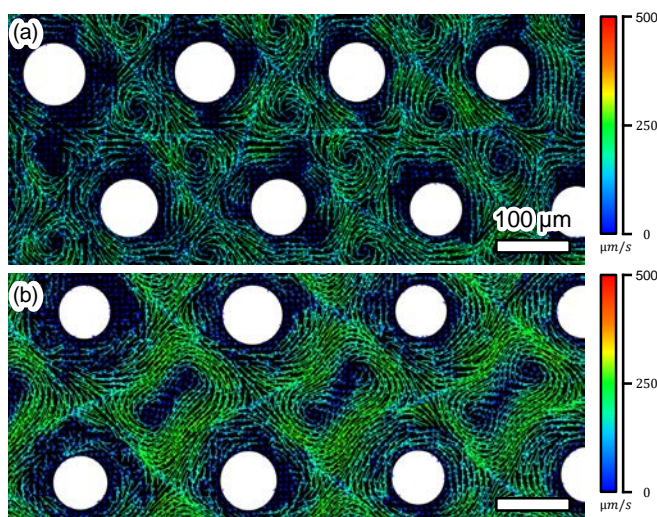


Fig.8 Observation of flow distribution by PIV at $P=180 \mu\text{m}$, $D=70 \mu\text{m}$. (a) Hexagonal type, (b) Square type.

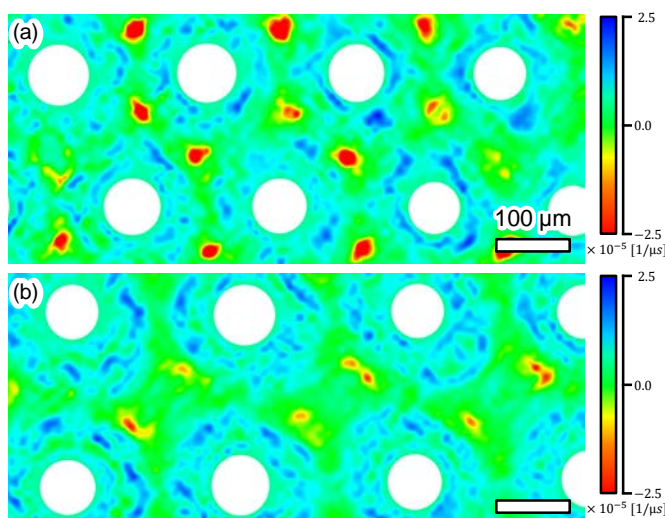


Fig.9 Measurement of vorticity by PIV at $P=180 \mu\text{m}$, $D=70 \mu\text{m}$. (a) Hexagonal type, (b) Square type.