

УДК 681.7.024; 666.1.054

© Н. А. Есикова, Г. Е. Рудницкая, А. А. Евстапов

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОВ СОЕДИНЕНИЯ ПЛАСТИН ИЗ ПММА И ЭЛАСТОМЕРОВ (SYLGARD-184, СИЛАСТИК Т-4) ДЛЯ МИКРОФЛЮИДНЫХ УСТРОЙСТВ

Создание неразъемного соединения пластин из ПММА с ПДМС Sylgard-184 и силаситиком Т-4 для герметизации микрофлюидных устройств возможно с использованием химии силанов. В работе показано, что при использовании Т-4 достаточно силанизировать лишь ПММА, в то время как для Sylgard-184 необходимо обработать обе пластины. Устойчивость соединенных деталей проверена при циклическом (45 циклов) изменении температур от 60 до 95 °С. Экспериментально продемонстрировано, что Т-4 не ингибирует ПЦР и может быть применен при создании аналитических устройств для методов молекулярной диагностики.

Кл. сл.: полиметилметакрилат, полидиметилсилоксан, силаситик Т-4, неразъемное соединение, химия силанов, полимерная цепная реакция

ВВЕДЕНИЕ

При создании микрофлюидных устройств (МФУ) широкое распространение находят такие материалы, как полидиметилсилоксан (ПДМС) и полиметилметакрилат (ПММА). Эти материалы отличаются более низкой по сравнению со стеклом стоимостью и низкой теплопроводностью, более просты в обработке, при этом обладают высоким светопропусканием, химически и термически устойчивы. В ПДМС могут быть сформированы микроструктуры методом "мягкой литографии" в условиях исследовательской лаборатории, а герметизация МФУ из ПДМС осуществляется за счет соединения со стеклом после окисления (например, после обработки кислородной плазмой). Однако данный способ не подходит для соединения ПДМС с ПММА, полиимидом или поликарбонатом [1]. ПММА является твердым пластиком, что позволяет формировать более сложные и глубокие микроструктуры методами лазерной абляции, термопрессования, микромеханической обработки и др. По сравнению с ПДМС он менее проницаем для газов и жидкостей. Герметизируют устройства методом термического связывания, который приводит к искажению геометрии и изменению размеров микроструктур [2] и требует специального оборудования. Использование ПДМС в качестве тонкого соединительного слоя для пластин из ПММА позволяет повысить воспроизводимость характеристик изготавливаемых устройств.

Для получения неразъемного соединения ПДМС с термопластами /пластиковыми (ПММА, циклическим сополимером олефина (СОС), поли-

карбонатом (ПК), полиимидом (ПИ)) часто используются силаны: 3-(метоксисилил)пропил метакрилат (ТМСПМА) [3], 3-аминопропилтриэтоксисилан (3-APTES) [4], 3-(глицидопропил)триметоксисилан (GPTMS), тетраэтил ортокремнекислый (ТЕОС). С их помощью на поверхности термопластов формируются амино- или эпоксигруппы [5], обеспечивающие при контакте между собой неразъемное соединение. При этом необходима активация поверхности материала (например, кислородной плазмой) перед нанесением силана. Получаемые соединения выдерживают высокие давления (2.5 МПа) [4]. Обработка силанизированных пластин коронным разрядом [4] ведет к усилению связывания.

Целью работы является апробация и сравнение методов получения неразъемных соединений ПММА с ПДМС и двух пластин ПММА между собой посредством тонкого слоя ПДМС.

МАТЕРИАЛЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, МЕТОДЫ

В работе исследовались следующие материалы: ПДМС Sylgard-184 (Dow Corning, <http://www.dowcorning.com>) и силаситик Т-4 (ООО "Пента Север", Россия); ПММА марки ТОСП (ОАО "Дзержинское оргстекло", Россия), Plexiglass (завод "Rohm", Германия).

Обработку ПДМС проводили на плазменной установке Zepto (Diener electronic) при частоте 13.5 МГц в среде кислорода под давлением 0.6 мбар. Для соединения материалов использовались силаны фирмы Aldrich: APTES и GPTMS (98 %).

Силу связывания пластин оценивали следующим образом (рис. 1): пластины ПММА (1) и ПДМС (2) толщиной 1 мм силанизировались и частично соединялись между собой (площадь контакта 1 см^2). Во избежание изгиба пластины ПДМС с обратной стороны к ней присоединялась пластина ПММА толщиной 2 мм (3). К середине выступающей части пластины ПДМС прикладывалось точечное давление и плавно увеличивалось до разрыва соединения. Полагалось, что сила действует на всю площадь контакта одинаково.

Для исследования влияния силаслика Т-4 на эффективность полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовался универсальный набор реагентов (НПФ "Синтол", г. Москва, кат. № М-428). В качестве мишени применяли синтетический фрагмент амплифицированного участка кДНК онкомаркера цитокератина-19 (СК-19) с расчетной концентрацией 10^5 копий/мкл. Реакцию проводили по технологии TaqMan в режиме реального времени на приборе АНК-32 (ИАП РАН). Нуклеотидные последовательности специфичных праймеров и флуоресцентных зондов получены от ООО "ДНК-Синтез", г. Москва. Режим термоциклирования: предварительный нагрев 95°C в течение 5 мин, затем рабочий режим 45 циклов: 95°C в течение 15 с, 60°C в течение 60 с.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе рассмотрены следующие варианты соединений пластин: 1) ПММА / ПДМС, 2) ПММА / силаслик Т-4, 3) ПММА / ПММА с тонким промежуточным слоем ПДМС или силаслика между ними.

Для создания неразъемного соединения пластины ПММА обрабатывались кислородной плазмой в течение 1 мин, затем выдерживались 20 мин в 3 %-м растворе АРТЕS и соединялись либо с обработанными плазмой пластинами ПДМС или силаслика Т-4, либо с пластинами

ПДМС или силаслика Т-4, выдержанными после плазменной обработки в 5 %-м растворе GPTMS при 80°C в течение 20 мин. Силаны разводились дистиллированной водой или 50 %-м раствором этилового спирта в дистиллированной воде.

Неразъемные соединения ПММА / силаслик Т-4 удалось получить при силанизации ПММА 3 %-м раствором АРТЕS и Т-4 3 %-м раствором GPTMS или при силанизации только ПММА — раствором АРТЕS в 50 %-м спирте.

В случае применения Sylgard-184 необходима силанизация как ПММА, так и ПДМС. Кроме того, свойства отвержденного Т-4 приводят к более однородному контакту с поверхностью ПММА (без образования пузырьков воздуха на границе раздела), чем для Sylgard-184.

Отверждение тонкого слоя Т-4 между двух силанизированных АРТЕS (разведенным в дистиллированной воде) пластин ПММА также приводит к образованию неразъемного соединения.

В результате экспериментов образцы были условно разделены на группы: а) с разъемным соединением, для которых произведена оценка силы связывания, и б) с неразъемным. Использование водных растворов силана (по сравнению со спиртовыми) приводит к снижению силы связывания примерно в 3 раза ($(12 \pm 0.5) \cdot 10^4$ до $(4 \pm 0.5) \cdot 10^4 \text{ Н/м}^2$) в случае силанизации обеих пластин, но к повышению прочности соединения в 2 раза ($(3 \pm 0.5) \cdot 10^4$ до $(6 \pm 0.5) \cdot 10^4 \text{ Н/м}^2$) в случае силанизации только ПММА. Прочность связывания неразъемных соединений, несомненно, выше, однако оценки получены не были.

Дополнительная плазменная обработка силанизированных пластин в течение 10–24 с непосредственно перед соединением препятствует связыванию материалов. Уменьшение длительности силанизации приводит к снижению силы связывания материалов. После года хранения при комнатной температуре заметных изменений в соединенных пластинах не выявлено.

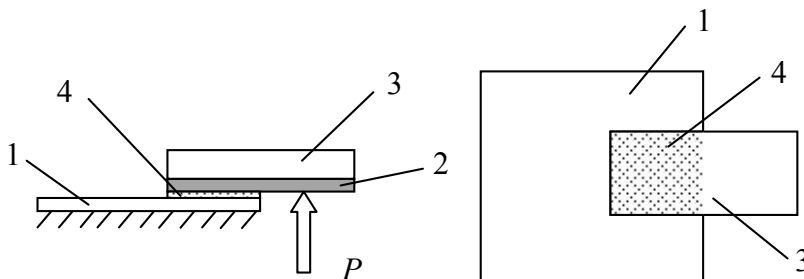


Рис. 1. Схема измерения прочности соединения.
1 — ПММА, 2 — ПДМС, 3 — ПММА (2 мм), 4 — зона контакта ПММА с ПДМС

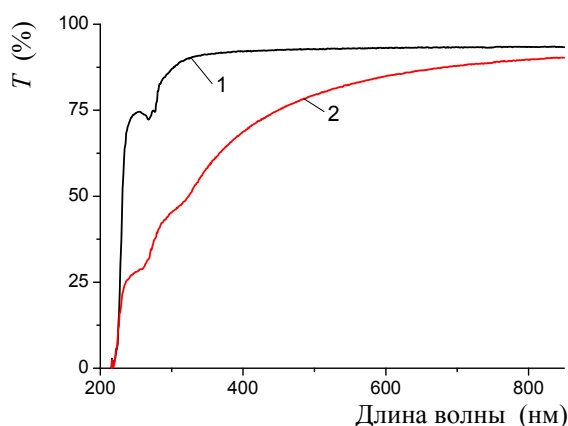


Рис. 2. Спектры пропускания
1 — Sylgard-184, 2 — T-4 толщиной 1 мм

Проведены работы по соединению пластин Plexiglass толщиной 0.36 мм. Поскольку данный материал неустойчив к ряду растворителей, в частности к этиловому спирту, то использовался водный раствор силана. Удалось получить прочное соединение пластин при силанизации в 3 %-м растворе APTES и последующем отверждении между ними тонкого слоя T-4 при температуре 60 °C в течение 4 ч.

Так как возможной областью применения силастика T-4 является создание МФУ для медико-биологических исследований (в частности, для постановки ПЦР), то была проведена оценка его влияния на пороговый цикл ПЦР. Для этого образцы отвержденного материала поместили в пробирки с 25 мкл реакционной смеси для ПЦР (объемное соотношение 1:1) и провели термоциклирование. Пороговые циклы для реакции в присутствии образцов силастика T-4 и без него (контрольные) практически одинаковы: 26.53 ± 0.23 ($CV = 0.9\%$, $n = 3$) и 26.42 ± 0.27 ($CV = 1.0\%$, $n = 3$) соответственно, что свидетельствует об отсутствии ингибирующего влияния на ход ПЦР.

ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку свойства поверхности микроструктур оказывают существенное воздействие на происходящие в них процессы, предпочтительно создавать МФУ полностью из одного материала. Традиционно устройства из ПММА герметизируют термическим связыванием, однако этот метод приводит к изменению сечения структур [2]. Сохранить геометрические и размерные характеристики можно за счет герметизации устройства

тонким слоем промежуточного материала при использовании химии силанов.

Соединение ПММА с ПДМС или силастиком T-4 за счет формирования на их поверхностях амино- и эпоксигрупп показало себя надежным методом. Однако с точки зрения простоты технологии создания МФУ и однородности поверхностных свойств получаемых микроструктур представляется предпочтительным использование одного силана.

Применение T-4 от ООО "Пента Север" позволяет герметизировать МФУ из ПММА. Он может быть использован в качестве материала как тонкого соединительного слоя (ПММА / силастик T-4 / ПММА), так и защитной пластины (ПММА / силастик T-4). Неразъемное соединение T-4 с ПММА можно получить только с применением 3 %-го водного раствора APTES. Кроме того, присутствие T-4 не оказывает ингибирующего действия на ПЦР, что дает возможность применять его в качестве связующего тонкого слоя для герметизации аналитических МФУ.

К недостаткам T-4 можно отнести высокую вязкость неотвержденного материала, затрудняющую дегазацию материала после смешивания компонент и ограничивающую толщину получаемых деталей. Светопропускание у T-4 ниже, чем у Sylgard-184, и монотонно возрастает с увеличением длины волны в УФ и видимой области (рис. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные исследования показали возможность создания неразъемных соединений

ПММА с ПДМС и силистиком Т-4 при помощи химии силанов, что может быть использовано для герметизации МФУ. Рассмотрен вариант связывания пластин ПММА и отвержденных ПДМС или силистика Т-4, а также двух пластин ПММА (ТОСП и Plexiglass) с образованием промежуточного слоя.

Полученные данные показали пригодность применения силистика Т-4 для аналитических МФУ. Этот материал позволяет получить неразъемное соединение пластин ПММА при использовании только одного силана (APTES).

Силистик Т-4 не оказывает влияния на ПЦР, что может быть использовано при создании МФУ для молекулярной диагностики.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Li P.C.H.* Microfluidic Lab-on-a-Chip for Chemical and Biological Analysis and Discovery. CRC Press, 2005. 528 p. doi: [10.1201/9781420027457](https://doi.org/10.1201/9781420027457).
2. *Евстрапов А.А., Лукашенко Т.А., Горный С.Г. и др.* Микрофлюидные чипы из полиметилметакрилата: метод лазерной абляции и термического связывания // Научное приборостроение. 2005. Т. 15, № 2. С. 72–81.
3. *Gu P., Liu K., Chen H. et al.* Chemical-assisted bonding of thermoplastics/elastomer for fabricating microfluidic valves // Anal Chem. 2011. Vol. 83, no. 1.

P. 446–452. doi: [10.1021/ac101999w](https://doi.org/10.1021/ac101999w).

4. *Kim K., Park S.W., Yang S.S.* The optimization of PDMS-PMMA bonding process using silane primer // BioChip J. 2010. Vol. 4, no 2. P. 148–154. doi: [10.1007/s13206-010-4210-0](https://doi.org/10.1007/s13206-010-4210-0).
5. *Tang L., Lee N.Y.* A facile route for irreversible bonding of plastic-PDMS hybrid microdevices at room temperature // Lab Chip. 2010. Vol. 10. P. 1 274–1 280. doi: [10.1039/b924753j](https://doi.org/10.1039/b924753j).

**Институт аналитического приборостроения РАН,
г. Санкт-Петербург** (Есикова Н.А., Рудницкая Г.Е.,
Евстрапов А.А.)

Университет ИТМО, Санкт-Петербург (Евстрапов А.А.)

Контакты: *Есикова Надежда Александровна*,
elpis-san@yandex.ru

Материал поступил в редакцию: 29.07.2015

THE RESEARCH OF PMMA BONDING WITH ELASTOMER (SYLGARD-184, SILASTIK T-4) FOR MICROFLUIDIC DEVICES

N. A. Esikova¹, G. E. Rudnitskaja¹, A. A. Evstrapov^{1,2}

¹*Institute for Analytical Instrumentation of RAS, Saint-Petersburg, Russia*

²*ITMO University, Saint-Petersburg, Russia*

Irreversible bonding of PMMA with PDMS Sylgard-184 and silastic T-4 for microfluidic devices may be created by silane chemistry. Silastic T-4 usage gives an opportunity to silanise only PMMA to seal plates. For Sylgard-184 application the treatment of both plates is necessary. Bonding stability was tested by cyclic (45 cycles) temperature changing between 60 and 95 °C. It was experimentally shown that silastic T-4 didn't have an influence on PCR. So this material may be used in analytical devices invention for molecular diagnosis.

Keywords: polymethylmethacrylate, polydimethylsiloxane, silastic T-4, irreversible bonding, silane chemistry, polymerase chain reaction

REFERENCES

1. Li P.C.H. *Microfluidic Lab-on-a-Chip for Chemical and Biological Analysis and Discovery*. CRC Press, 2005. 528 p. doi: [10.1201/9781420027457](https://doi.org/10.1201/9781420027457).
2. Evstrapov A.A., Lukashenko T.A., Gornyy S.G. et al. [Microfluid chips from polymethyl methacrylate: method of a laser ablation and thermal binding]. *Nauchnoe Priborostroenie* [Science Instrumentation], 2005, vol. 15, no. 2, pp. 72–81.
3. Gu P., Liu K., Chen H. et al. Chemical-assisted bonding of thermoplastics/elastomer for fabricating microfluidic valves. *Anal Chem.*, 2011, vol. 83, no. 1, pp. 446–452. doi: [10.1021/ac101999w](https://doi.org/10.1021/ac101999w).
4. Kim K., Park S.W., Yang S.S. The optimization of PDMS-PMMA bonding process using silane primer. *Bio-Chip J.*, 2010, vol. 4, no 2, pp. 148–154. doi: [10.1007/s13206-010-4210-0](https://doi.org/10.1007/s13206-010-4210-0).
5. Tang L., Lee N.Y. A facile route for irreversible bonding of plastic-PDMS hybrid microdevices at room temperature. *Lab. Chip*, 2010, vol. 10, no. 10, pp. 1 274–1 280. doi: [10.1039/b924753j](https://doi.org/10.1039/b924753j)

Contacts: Esikova Nadezhda Aleksandrovna,
elpis-san@yandex.ru

Article received in edition: 29.07.2015