◇◇◇◇ 原著論文 ◇◇◇◇

ポリマーマイクロチャネルを用いた油中水滴作製に及ぼす 操作パラメータおよびチャネル構造の影響

劉 海傑^{1,2}, 中嶋光敏^{1,2†}, 西 泰治³, 木村俊範²

¹(独)食品総合研究所, ²筑波大学生命環境科学研究科, ³(株)クラレつくば研究所

Effects of Operating Parameters and Channel Structure on Formation of Water-in-Oil Droplets by Polymer Microchannels

Haijie LIU^{1,2}, Mitsutoshi NAKAJIMA^{1,2†}, Taiji NISHI³ and Toshinori KIMURA²

¹National Food Research Institute, 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

²Graduate School of Life and Environment Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1
Tennodai, Tsukuba, Ibaraki 305-8572, Japan

³Tsukuba Research Laboratories, Kuraray Co., Ltd., 41 Miyukigaoka, Tsukuba, Ibaraki 305-0841, Japan

Monodispersed water-in-oil emulsions were prepared successfully using polymer microchannel (PMC) with hydrophobic property, low cost and high anti-alkalinity fabricated by molding injection method. In order to enhance the efficiency of PMC emulsification, it is important to know the critical flow velocity of the dispersed phase, and the critical pressure at which the dispersed phase outflow occurs. In this study, we investigated the effect of the continuous phase flow velocity on the average droplet diameter, coefficient of variation, and the critical pressure during the PMC emulsification process. Furthermore, aiming the optimization of PMC pattern for efficient production of emulsion, various PMC plates with different structures were fabricated, and were used for emulsification. The effects of various parameters on droplet formation characteristics were investigated. The results showed that the continuous phase flow velocity did not affect the average droplet diameter and coefficient of variation, but affected the critical pressure. The critical flow velocity increased slightly, when PMC plates with different structures were used. In particular, the average droplet diameter range became wider, coefficient of variation decreased, and the critical flow velocity increased significantly with the increase of PMC length, which showed higher productivity of the emulsion.

Key words: microchannel emulsification, acrylic polymer microchannel, monodispersed water-in-oil droplets, microchannel structure

1. 緒 言

80年代以降、微細加工技術に基づいて、ガラスやシリコンの基板上に溶液が流れる微小な溝（チャネル）のネットワークを作成し、MEMS（Micro Electro Mechanical Systems）や μ TAS（Micro Total Analysis Systems）と呼ばれるデバイスの開発が目覚ましい発展を遂げ、利用分野はセンサー、光デバイス、プリンターのヘッドなどからバイオ・化学分野へと広範囲に広がりつつある。

DNA単一分子操作、化学リアクター、細胞培養チップなどをマイクロデバイス上で行わせれば、微量、高感度、高速の分析が実現することができる[1-2]。菊池らは、単結晶シリコン基板上に数ミクロンのきわめて均一な流路（マイクロチャネル、MC）を作製し、毛細血管モデルとして使い、血液レオロジー計測により血液循環と健康に関する研究を進めている[3-4]。7年前に筆者らは、この血液レオロジー計測に用いられているシリコンMCを応用して、単分散エマルションを作製することのできるMC乳化法を提案した[5]。MC乳化法とはMCを介して分散相液体を連続相液体中に送り込むことにより、単分散のエマルションを調製する方法である。MC乳化法を用いることで、変動係数が10%以下の単分散の水中油滴（Oil-in-Water, O/W）、油中水滴（Water-in-

(受付 2004 年 8 月 4 日, 受理 2004 年 10 月 20 日)

1 〒305-8642 つくば市観音台 2-1-12

2 〒305-8576 つくば市天王台 1-1-1

3 〒305-0841 つくば市御幸が丘 41

† Fax: 029-838-7996, E-mail: mnaka@affrc.go.jp

Oil, W/O) エマルション, 高分子微粒子, マイクロカプセルなどを調製することが可能である[6–9].

MC の材質であるシリコンは, 材料と加工コストが高く, また, 割れやすく取り扱いに注意を要するなどの問題を有する. この問題の解決手段として, プラスチック材料を用いる検討が行われている. 通常, プラスチックのコストは $0.2\text{--}2$ セント/ cm^2 であり, 単結晶シリコンのコスト ($0.9\text{--}1.2$ ドル/ cm^2) よりはるかに安くなる[10]. Soper らは PMMA (polymethylmethacrylate), Hong らは PDMS (polydimethylsiloxane) を材料としたマイクロチップを作製して, 分子生物学的な実験および分析に必要となる DNA の電気泳動分離, 微量液体操作, 遺伝子増幅反応などの操作を実現した. マイクロチャネルのサイズは通常数 $10\mu\text{m}$ から数 $100\mu\text{m}$ である[11–13].

最近, 筆者らはシリコン MC の代わりに, アクリルポリマーマイクロチャネル (Polymer MC, PMC) を作製して, W/O エマルションの調製に適用した. PMC により調製したエマルションの変動係数はシリコン MC 乳化と比較してほとんど変わらないこと, また, 液滴安定作製領域で, 分散相供給圧力の増大に伴い, 液滴径が増大すること, さらに, 連続相の粘度が高いほど, 液滴径が大きくなり, 液滴作製速度が低くなることについて報告した[14]. PMC 乳化の効率化を図るためには, 分散相の連続流出が起こる際のチャネル内の分散相流速 (臨界流速) および圧力 (臨界圧力) に関する知見が必要である. そこで本研究では, まず PMC 乳化における W/O エマルションの平均液滴径, 変動係数, 臨界圧力に及ぼす連続相流速の影響を調べた. また, MC 形状の最適化をめざして, 構造の異なる PMC の製作と乳化実験を行い, 液滴作製に及ぼす各パラメータの影響を検討した.

2. 実験材料と方法

2.1 実験材料

分散相にはミリ Q 水を用いた. 連続相にはデカン (粘度: 0.88 mPas, 純度 $> 99\%$, 和光純薬, 大阪), デカンとトリオレイン (粘度: 75.2 mPas, 純度 $> 60\%$, 和光純薬, 大阪) を $20:80$ (w/w) の割合で混合したもの (粘度: 21.9 mPas) を用いた. 連続相の粘度は落球式粘度計 (Haake, Karlsruhe, Germany) により測定した. 界面活性剤にはテトラグリセリン縮合レシノール酸エステル (坂本薬品工業, SY グリスター CR310, 大阪) を用いた. 界面活性剤をあらかじめ連続相に 3 wt% 濃度になるように溶解して, スターラーで 2 時間以上攪拌した後, 孔径 $0.8\mu\text{m}$ の精密濾過膜 (材質: CA, Sartorius AG, Goettingen, Germany) で濾過し, また, 気泡を除くため超音波処理 (US-3, アズワン, 大阪) を行った. 実験終了後, PMC 基板はプラスチック用洗剤 (L900, NALGE NUNC International

K. K., Rochester, NY, USA) 5% 水溶液で 20 分, 純水で 20 分, 超音波洗浄機内 (VS-100 III SUNPAR, アズワン, 大阪) で洗浄を行った. その後, 常温乾燥し, 次の実験まで保管した. PMC 基板の構造を走査型電子顕微鏡 (SEM, JSM-5600 LV, 日本電子, 東京) により観察した.

2.2 PMC 乳化

2.2.1 PMC 基板の製造プロセス

PMC 基板の製造プロセスを Fig. 1 に示す. 製造工程は次の三つのステップからなる.

ステップ 1: 基板上にレジストによりパターンを形成する. 具体的には, ガラス基板上へレジスト層塗布, マスクを用いたレジスト層の露光, レジスト層の現像, の三つの処理を含める;

ステップ 2: 基板上に形成されたレジストパターンにしたがって, ニッケルをメッキにより堆積して金属構造体 (Metallic mold insert) を形成する;

ステップ 3: この金属構造体を型として, 射出により樹脂成形品を作製する.

2.2.2 PMC 基板

作製した PMC 基板は基本タイプ (PMC-1), サイズと形状が異なる微細造形タイプ (PMC-2 ~ 7) とチャネル長さが異なるタイプ (PMC-8 ~ 10) の 10 種類である. 各 PMC 基板のサイズを Table 1 に, MC 乳化の概念図, PMC 基板の電子顕微鏡写真およびチャネル部の拡大図を Fig. 2 に示した. Fig. 2a に示すように, PMC 基板は, 連続相の流れとチャネルを通過する分散相の流れが垂直であるクロスフロー型である[15]. 形状は長方形 ($22.5\text{ mm} \times 8\text{ mm}$) で, 厚さは 1.3 mm である. 中央部に縦 16.5 mm , 横 3.7 mm と深さ 0.2 mm の長形状の連続相流路が掘られている. 二つの穴 (直径 $\phi 1.5\text{ mm}$) はそれぞれ連続相の供給口と流出口である. Fig. 2c ①に示すように, 土手の上に溝が掘られ, 残り部分が MC 壁である. MC 壁に挟まれた部分がマイクロチャネルとなる. 土手の縁から MC 壁までの部分をテラスと呼ぶ.

PMC-2 ~ 7 を構造影響の実験に用いた. それぞれは微細造形がなく, チャネルとテラスの角度を 90° とした対照パターン (PMC-2), 微細造形がなく, チャネルとテラスの角度を 65° と鋭角としたパターン (PMC-3), チャネルの真ん中に凸が付いているパターン (PMC-4), チャネルの両端に凸が付いているパターン (PMC-5) と凸の数が増えたパターン (PMC-6), また, チャネル両端の出口幅を $6\mu\text{m}$ まで狭めたパターン (PMC-7) である.

2.2.3 PMC 乳化システムおよびビデオ顕微システム

PMC 乳化システムおよびビデオ顕微観察システムを Fig. 3 に示す. PMC を同材質のアクリル板に圧着さ

Fig. 1 PMC fabrication process.

Table 1 PMC dimensions and structures.

PMC Plates	PMC dimensions (μm)				PMC structures
	Channel width	Channel depth	Channel length	Terrace length	Detail structure in channel
PMC-1	20	10	120	30	Channel end: 90°
PMC-2	20	10	500	30	Channel end: 90°
PMC-3	20	10	500	30	Channel end: 65°
PMC-4	20	10	500	30	Channel end: 90° ; a pair of small rectangular-shaped convexes in channel center, length-width: $20\text{-}10\ \mu\text{m}$
PMC-5	20	10	500	30	Channel end: 90° ; two pairs of small rectangular-shaped convexes near the channel end, length-width: $20\text{-}10\ \mu\text{m}$
PMC-6	20	10	500	30	Channel end: 90° ; four pairs of small rectangular-shaped convexes near the channel end, length-width: $20\text{-}10\ \mu\text{m}$
PMC-7	20	10	500	30	Channel end: 90° ; small rectangular-shaped convexes at the channel end, length-width: $20\text{-}7\ \mu\text{m}$
PMC-8	10	5	50	15	Channel end: 65°
PMC-9	10	5	150	15	Channel end: 65°
PMC-10	10	5	500	15	Channel end: 65°

Fig. 2 a) Schematic diagram of cross-flow MC module; b) SEM photographs of PMC used in this study; c) Enlargement of channels: ①, PMC-1; ②, PMC-2, ③, PMC-3, 8, 9, 10; ④, PMC-4, 5, 6; and ⑤, PMC-7.

Fig. 3 MC emulsification and microscope video system.

せ、乳化専用のステンレス鋼製モジュールに固定する。分散相を供給するリザーバーと連続相を供給するシリジンプ (Model 11, Harvard Apparatus, Inc., Massachusetts, USA) はそれぞれシリコンチューブでモジュールにつながる。CCD カメラ (HV-C20M, 日立電子, 東京) あるいはハイスピードカメラ (FAST-

CAM-ultima1024, フォトロン, 東京) は倒立金属顕微鏡 (TS-V, 中央精機 東京) につながる。アクリル板を介して、乳化の様子はモニターで直接的観察できる。また、ビデオ (HM-DR10000, JVC, 横浜) によって画像を録画してさらにパソコンに取り込むことにより液滴径, 変動係数の算出を行う。

2.2.4 PMC による液滴の作製手順

モジュール内を連続相で満たしておき, リザーバーを上昇させてヘッド差によって加圧し, 分散相をモジュール内に供給する。圧力を加えることで分散相はチャンネルを通過し, テラス上で膨張し, 連続相の入った井戸部に流れ込み, 液滴が自発的に形成される。液滴安定作製領域で, 圧力を上げて液滴が安定的に作製される。供給圧力が臨界圧力になると連続流出が起こる。シリコン MC 乳化において, シリコン MC 基板をガラス板に圧着させるが, PMC 乳化においては, PMC 基板を同材質のアクリル板に圧着させた。なお, ガラス板に比べアクリル板の平面度は若干低くなるが, 実験結果から密着性が良好で漏れはなかった[14]。

2.3 液滴径、変動係数および分散相流速の算出

パソコンに取り込まれた液滴の画像から画像分析処理ソフト（Winroof, 三谷商事, 福井）により液滴径の測定を行った。測定数は200個とした。変動係数は粒度分布を評価するパラメータであり、下記の式により求められる。

$$CV = \frac{\sigma}{d_{av}} \times 100 \quad (1)$$

ここで、 CV は変動係数（%）で、 σ は標準偏差（m）であり、 d_{av} は平均液滴直径（m）である。

ハイスピードカメラを用いて1秒間に作製される液滴の個数を測定した。また、チャネルを流れる分散相の流速は次式で与えられる。

$$v = \frac{\pi d_{av}^3 N}{6A} \quad (2)$$

ここで、 v はチャネル内の分散相流速（m/s）、 d_{av} は液滴平均直径（m）、 A はチャネル流路断面積（m²）、 N は単位時間に作製される液滴の個数（s⁻¹）である。なお、分散相流出直前の液滴化が可能な最大分散相流速を分散相の臨界流速と呼んでいる。

3. 実験結果および考察

3.1 液滴径、変動係数および臨界圧力に及ぼす連続相流速の影響

PMC 乳化によるエマルジョンの調製において、液滴調製特性がいろいろなパラメータに影響される。ここでは連続相流速が液滴径と変動係数に及ぼす影響について検討した。PMCは基本タイプ（PMC-1）を用いて、実験系は水/デカン-CR310である。分散相圧力を1.66 kPaに設定し、連続相流速が0から18.8 mm/sまでの範囲で、平均液滴径と変動係数を調べた。Fig. 4aに示すように、連続相流速の増大によらず、液滴径は29.4–30.5 μm、変動係数は2.8%–3.5%、いずれもほぼ一定の値を取っていることがわかった。すなわち、連続相流速が液滴径と変動係数にほとんど影響を及ぼさないことが確認された。川勝らもシリコン MC 乳化法による O/W エマルジョンの調製において油滴径が連続相流速に依存しないことを報告している[15]。

さらに、臨界圧力（分散相の連続流出が起こる圧力）に及ぼす連続相流速の影響を界面活性剤濃度3 wt%の条件で検討した。連続相流速を4条件の一定値に設定して、それぞれの連続相流速下で、分散相供給圧を上げ、臨界圧力を求めた。Fig. 4bに示すように、連続相流速の増大に伴い臨界圧力が徐々に高くなることがわかった。すなわち、連続相流速を上げることにより、分散相の臨界圧力を高めることが可能である。この理由として、分散相流速が高くなると、単位時間に作製される液滴数が増大することにより、新たに形成される界面に吸着す

Fig. 4 a) Effect of flow velocity of the continuous phase on average diameter and coefficient of variation (CV) in the system: water/decane with 3 wt% CR310. Applied pressure of the dispersed phase was 1.66 kPa.

b) Critical pressures against the different flow velocities of the continuous phase. Experimental systems were water/decane with 3 wt% and 6 wt% CR310.

る界面活性剤の量が不足し、分散相の流出を導いたとまず考えた。そこで、界面活性剤の濃度を倍の6 wt%の条件で乳化実験を行い、連続相流速と臨界圧力の関係を調べた。その結果も Fig. 4b に示した。図からわかるように、3 wt%の場合と同様、連続相流速の増大に伴い臨界圧力が増大している。また3 wt%の場合と比べて、臨界圧力はわずかに高くなったが、顕著な差ではない。すなわち、連続相流速に伴う臨界圧力の増大に対して界面活性剤の影響はほとんどないと考えられる。

次に、テラス部での連続相と分散相の動的挙動を考察してみる。杉浦らの報告[16]で示したように、MC 乳化において、分散相は圧力に伴いチャネルを通過してテラス部に移動し、円盤状に広がる。分散相の先端が井戸部に流れ込むと、分散相は界面張力により自発的に球状に変形し、液滴として離脱する[16]。この液滴化の過程において、テラス部の分散相が離脱する直前、細い流れになる際、連続相が流れ込むことが必要となる。分散相の連続的流出を抑えるため、連続相が速やかに流れ込まなければならない。連続相流速を上げることにより、連続

相の移動が促進され、分散相の連続的流出を遅延させることができ、すなわち、分散相臨界圧力が高くなると考えられる。これは、前報[14]で報告した連続相粘度が分散相臨界圧力に及ぼす影響の結果（連続相の粘度が高いほど、連続相の移動速度が遅く、液滴作製に要する時間が長くなり、分散相流出がはやく起こった）と一致する。

3.2 チャンネル断面に微細構造が付いた PMC を用いた液滴作製

次にチャンネルの断面に微細造形が付いた PMC を用いて、エマルション液滴径、変動係数、および臨界流速を調べた。分散相の連続流出が起こるまでデータを取得した。連続相はデカン/トリオレイン (20: 80, w/w) であり、連続相流量は 2 mL/h (0.75 mm/s) とした。Fig. 5 に示すように、PMC-7 での液滴径が他と比べわずかながら小さい値を取った。全体としては、液滴径の差は大きくなかった。この結果は、以前報告したシリコン MC 乳化において液滴径がチャンネル深さに大きく影響され、チャンネル幅にほとんど影響されないという結論と良好に一致する[17]。液滴安定作製領域において、いずれも変動係数は 10% 以下で、単分散性を示した。そのうち、他の PMC と比べて、PMC-3 基板での変動係数がわずかであるが、最も低い値を示した。これは、チャンネルとテラスの角度を鋭角にすることにより、わずかながら、起こりうる濡れに伴うテラス上での分散相の横への広がりや抑えられ、より安定した液滴化となり、液滴径が均一になったと考えられる。また、チャンネル別の臨界流速は、微細造形がない PMC-2, 3 での臨界流速がもっとも低く、PMC-4, 5, 6 での臨界流速が順次高くなり、PMC-7 での臨界流速がもっとも高いことが観察された。このように、MC 断面に微細造形をつけることにより、エマルション液滴径と変動係数はほとんど影響されないが、臨界流速の増大が認められた。すなわち、液滴生産性の向上に役立つことがわかった。

Fig. 5 Average diameters and coefficient of variations (CV) at different flow velocities of the dispersed phase using PMC-2-7 with different structures.

3.3 チャンネル長さの異なる PMC を用いた液滴作製

これまで、液滴作製特性に対するチャンネルサイズの影響については報告されている[17-19]。しかしながら、チャンネル長さの影響についてはあまり検討されなかった。そこでチャンネル長さの異なる PMC を用いて液滴作製特性に及ぼす影響を調べた。テラス上で分散相の横への広がりや抑えることのできるチャンネルとテラスの角度が 65° と鋭角の基板を用いた。チャンネル長さは 50, 150, 500 μm で、チャンネル幅は 10 μm 、チャンネル深さは 5 μm である。連続相はデカン/トリオレイン (20: 80, w/w) 混合物で、連続相流量は 2 mL/h (0.75 mm/s) とした。Fig. 6 に示すように、液滴安定作製領域において、エマルション液滴径と変動係数はそれぞれ 24.4-37.2 μm , 5.6-7.7% (PMC-7, L-50 μm), 25.2-42.0 μm , 5.1-6.7% (PMC-8, L-150 μm), 27.2-53.9 μm , 4.6-5.5% (PMC-9, L-500 μm) であり、チャンネル長さが長いほど作製できる液滴径範囲が広くなり、液滴径が均一になることが明らかになった。また、臨界流速を見てみると、チャンネル長さが長いほど分散相臨界流速が顕著に高くなった。これらの結果からチャンネル長さを長くすることにより、エマルションの生産性および単分散性の向上が図れることが示された。杉浦らは、シリコン MC 乳化により O/W エマルションの調製の基礎的検討において、チャンネル長さが長いほど臨界流速が高くなる基礎データを報告しており[19]、今回、PMC 乳化の場合もチャンネル長さの影響が顕著であることが示された。以下、この理由について考察する。

杉浦らがシリコン MC 乳化における液滴形成機構に関する解析で示したように、液滴化には系の圧力バランスが大きく関与する[16]。テラス部では、油水界面の形状に依存するラプラス圧（界面曲率半径の逆数と界面張力の積で与えられる）がかかる。一方、井戸部では、流れ込んだ分散相は球状で、その大きさに依存するラプラ

Fig. 6 Average diameters (open symbols) and coefficient of variations (CV, solid symbols) at different flow velocities of the dispersed phase using PMC-8-10 with different channel lengths (L-50, L-150 and L-500 μm).

ス圧もかかる。井戸部での界面の曲率半径はテラス部での界面の曲率半径より大きいことから、テラス部の界面に生じるラプラス圧が井戸部のラプラス圧よりも大きくなる。このラプラス圧の差により分散相がテラス部から井戸部に向かってすみやかに押し出されるとともに液滴が作製される[16]。チャネル内流れ方向での圧力分布を見ると、チャネル入口には供給圧力が加えられ、チャネル出口においては流速に従う圧力損失が生ずるため、その分だけ低下した圧力となる。チャネル長さが長い場合は、チャネル入口圧が高くなり、チャネル内圧力はテラスにおける圧力変動の影響を相対的に受けにくく、より安定的な流れが形成される。チャネル長さが短い場合、分散相の切断に伴い大きな圧力変動がチャネル内流れに影響を及ぼし、流れが不安定化となる。すなわち、チャネル長さの長いほうがより安定した規則的な圧力変動パターンと液滴化をもたらすことより、安定液滴作製圧力範囲が広くなり、分散相臨界流速も高くなると推察される。現在、CFD (Computational Fluid Dynamics) を用いて MC 乳化における液滴作製挙動についてのモデル化とシミュレーションを進めており、今後詳細なメカニズムが解明されると考えられる[20]。

PMC とこれまで MC 乳化に用いられてきたシリコン MC の違いについてまとめる。シリコン MC はフォトリソグラフィとエッチング法により製造され、チャネルの造形精度が変動係数<2%と高く、最小加工サイズが0.5~1 μm 程度である。一方、フォトリソグラフィと射出成形法により製造した PMC は造形精度が変動係数2~5%、最小加工サイズが2~5 μm 程度であり、シリコン MC に比べて加工精度は劣るものの、作製されたエマルジョンはいずれも変動係数が10%以下であり、良好な単分散性を示した。また、PMC は、耐アルカリ性がシリコンより強く、たとえば、pH 10 の条件でシリコンは数日で MC が崩壊したのに対して、PMC は1ヶ月以上にわたって安定であった。空気中における PMC に対する水滴の接触角が74°と疎水性を示し、そのまま使用することで、W/O エマルジョンを安定的に作製できる。シリコン MC の場合は W/O エマルジョン調製には表面改質処理(疎水化)が必要となる。PMC の親水化については現在検討中である。

4. 結 論

射出成形により様々な構造の PMC を製作した。PMC 乳化により調製したエマルジョンの液滴径と変動係数は連続相流速の影響をほとんど受けなかったが、臨界圧力は連続相流速に依存することがわかった。PMC 断面に微細造形をつけることによって、臨界流速をある程度増大することができた。チャネル長さが長いほど作製できる液滴径範囲が広く、変動係数が小さく、また、

分散相臨界流速が顕著に高くなることがわかった。すなわち、チャネル長さはエマルジョン生産性の制御に有効なパラメータであることが示された。

謝 辞

本研究は、農林水産省ナノテクノロジープロジェクトの助成を受けて行われた。

文 献

- 1) Lyshevski, S. E., Nano- and Microelectromechanical Systems, CRC Press, Boca Raton, USA (2001).
- 2) 川合知二, ナノテクノロジーのすべて, 工業調査会, (2001).
- 3) Kikuchi, Y., K. Sato, H. Ohki, and T. Kaneko, Optically Accessible Microchannels Formed in a Single-Crystal Silicon Substrate for Studies of Blood Rheology, *Microvasc. Res.*, **44**: 226-240 (1992).
- 4) Kikuchi, Y., H. E. Kikuchi, Measurement of Oxyradicals from Leukocytes Lodged in a Microchannel Array, *SPIE*, **4265**: 14-19 (2001).
- 5) Kawakatsu, T., Y. Kikuchi, and M. Nakajima, Regular-sized Cell Creation in Microchannel Emulsification by Visual Microprocessing Method, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**: 317-321 (1997).
- 6) Kobayashi, I., M. Nakajima, J. Tong, T. Kawakatsu, H. Nabetani, Y. Kikuchi, A. Shohnho, and K. Satoh, Production and Characterization of Monodispersed Oil-in-Water Microspheres Using Microchannels, *Food Sci. Technol. Res.*, **5**: 350-355 (1999).
- 7) Sugiura, S., M. Nakajima, H. Ushijima, K. Yamamoto and M. Seki, Preparation Characteristics of Monodispersed Water-in-Oil Emulsions Using Microchannel Emulsification, *J. Chem. Eng. Japan*, **34**: 757-765 (2001).
- 8) Sugiura, S., M. Nakajima, J. Tong, H. Nabetani, and M. Seki, Preparation of Monodispersed Solid Lipid Microspheres Using a Microchannel Emulsification Technique, *J. Colloid Interface Sci.*, **227**: 95-103 (2000).
- 9) Sugiura, S., M. Nakajima, H. Itou, and M. Seki, Synthesis of Polymeric Microspheres with Narrow Size Distributions Employing Microchannel Emulsification, *Macromol. Rapid Commun.*, **22**: 773-778 (2001).
- 10) Becker, H., and L. E. Locascio, Polymer Microfluidic Devices, *Talanta*, **56**: 267-287 (2002).
- 11) Soper, S. A., S. M. Ford, Y. Xu, S. Qi, S. McWhorter, S. Lassiter, D. Patterson, and R. C. Bruch, Nanoliter-scale Sample Preparation Methods Directly Coupled to Polymethylmethacrylate-based Microchips and Gel-filled

- Capillaries for the Analysis of Oligonucleotides. *J. Chromatogr. A*, **853**: 107–120 (1999).
- 12) Hong, J. W., K. Hosokawa, T. Fujii, M. Seki, and I. Endo, An inexpensive PDMS (Polydimethylsiloxane) Microchip for Capillary Gel Electrophoresis, Int. Conf. on Solid-State Sensors and Actuators (Transducer '99), 10th, Sendai, Japan, 760–763 (1999).
- 13) Stone, H. A., and S. Kim, Microfluidics: Basic Issues, Applications, and Challenges, *AIChE J.*, **47**: 1250–1254 (2001).
- 14) Liu, H. J., M. Nakajima, and T. Kimura, Production of Monodispersed Water-in-Oil Emulsions Using Polymer Microchannels, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **81**: 705–711 (2004).
- 15) Kawakatsu, T., H. Komori, M. Nakajima, Y. Kikuchi, and T. Yonemoto, Production of Monodispersed Oil-in-Water Emulsion Using Crossflow Type Silicon Microchannel Plate, *J. Chem. Eng. Japan*, **32**: 241–244 (1999).
- 16) Sugiura, S., M. Nakajima, S. Iwamoto, and M. Seki, Interfacial Tension Driven Monodispersed Droplet Formation from Microfabricated Channel Array, *Langmuir*, **17**: 5562–5566 (2001).
- 17) Sugiura, S., M. Nakajima, N. Kumazawa, S. Iwamoto, and M. Seki, Characterization of Spontaneous Transformation-Based Droplet Formation during Microchannel Emulsification, *J. Phys. Chem. B*, **106**: 9405–9409 (2002).
- 18) Sugiura, S., M. Nakajima, and M. Seki, Prediction of Droplet Diameter for Microchannel Emulsification, *Langmuir*, **18**: 3854–3859 (2002).
- 19) Sugiura, S., M. Nakajima, and M. Seki, Effect of Channel Structure on Microchannel Emulsification, *Langmuir*, **18**: 5708–5712 (2002).
- 20) Kobayashi, I., S. Mukataka, and M. Nakajima, CFD Simulation and Analysis of Emulsion Droplet Formation from Straight-through Microchannels, *Langmuir*, accepted (2004).