122 PIVによるマイクロチャンネル内電気浸透流の可視化計測* — マイクロPIVシステムの開発とその応用 —

木下晴之[○](東大院), 大島まり(東大生研), 洪ジョンウク(カリフォルニア工科大学),
藤井輝夫, 佐賀徹雄, 小林敏雄(東大生研)

PIV Measurement of Electrokinetically Driven Flow in a Microchannel

—Development and application of micro PIV system—

Haruyuki KINOSHITA, Marie OSHIMA, Jong Wook HONG,
Teruo FUJII, Tetsuo SAGA and Toshio KOBAYASHI

ABSTRACT

The micro PIV system has been developed as a new diagnostic tool for microscale flow and applied to the measurement of microchannel flow in order to investigate the properties of electroosmotic flow. The field of view of the PIV system is $580\ \mu\text{m} \times 580\ \mu\text{m}$ and velocity vector fields can be measured at $9.3\ \mu\text{m}$ vector-to-vector intervals using two-frame cross-correlation method with 32×32 pixels interrogation spot. In this study, two different types of microchips, which are developed for genetic analyses, are employed: PDMS (polymethylmethacrylate) microchip and PMMA (polydimethylsiloxane) microchip. The size of flow channel of each chip is $100\ \mu\text{m} \times 30\ \mu\text{m}$. The electroosmotic flow shows flat velocity profiles independently of electric field intensity except near the side wall. The effects of ζ -potential of tracer particles and channels on electroosmotic flow have been evaluated based on the results of ζ -potential measurements and PIV measurements.

Keywords: Micro PIV, Electrokinetic Flow, Electroosmosis, Electrophoresis, ζ -potential

1. 緒論

マイクロマシン技術の発展によって、電気、電子・情報のみならず、機械、化学や生物学などさまざまな分野で、マイクロ流体デバイスが開発され利用されるようになってきた。なかでも最近注目されているのが、 μTAS (micro total analysis systems)である¹⁾。 μTAS とは、複数のマイクロ流体デバイスを組み合わせることによって、総合的な化学分析をマイクロチップ上で実現するシステムのことであり、例えば、マイクロチップドラッグデリバリーシステム、マイクロチップDNAシーケンス解析システム、化学物質や生物物質のセンシングチップなどの応用例がある²⁾。これらのデバイスには、マイクロチャンネル、マイクロポンプ、マイクロバルブなどさまざまな流体をハンドリング・コントロールするための基本的な流体コンポーネントが含まれている。このようなマイクロ流体デバイスでは、圧力の代わりに、電場、つまり電気的な体積力を流体駆動力として利用している場合が多い。

固液界面では、壁面の格子欠損や溶液中イオンの吸着によって、電気二重層と呼ばれる帯電した薄い層が形成されている。この電気二重層に電場が加えられると、電気二重層内部にその位置での電位に応じた外力(Electrokinetic force)が発生し、

その力の作用によって流れが生じる³⁾。マイクロチャンネルやキャピラリーなどのマイクロスケールの流路内では、電気二重層の占める割合が相対的に大きくなり、電気二重層に発生する流れによって流路全体の流体が輸送される。この現象は電気浸透流と呼ばれ、機械的に動作する機構を含まないポンピング手法として利用できるため、マイクロ分析チップでは生体高分子や試薬の輸送などに多用されている現象である。その一方、流れは複雑かつ特殊な流動現象となり、その詳細はいまだ解明には至っていない。

本研究では、マイクロ流体システムのもっとも重要な基本コンポーネントの一つであるマイクロチャンネル内の電気浸透・電気泳動現象に着目し、マイクロ流路内での流動現象を明らかにすることを目指す。そこでまず、マイクロスケールの流れを計測するためのツールとしてマイクロPIVシステムを構築する。そして次に、マイクロPIVをマイクロチャンネル流れに応用し、電気浸透流の計測を行い、電気浸透流の流速分布、チャンネルやトレーサ粒子のゼータ電位の影響の評価を行う。

2. マイクロPIVシステム

マイクロ流れの速度計測法に求められる条件としては、“空間分解能が高いこと”，流れ場を乱さないように“非侵襲であ

ること”，マイクロ流れに多い非ニュートン流体の流れ，混相流，電氣的に駆動される流れなど“特殊な流れに適用できること”などが挙げられる⁴⁾。このような条件を満足する測定手法は現在のところ確立されていない。しかし今のところもっとも有望な計測手法が“PIV”であることから⁵⁾，本研究では速度計測手法として PIV を用いる。

以下，本研究で新しく構築したマイクロ PIV システムについて述べる。

2.1 光学系セットアップ

マイクロ PIV 装置の概略図を Fig.1 に，装置の外観を Fig.2 に示す。画像の記録には CCD テレビカメラ“PIVCAM 10-30”(TSI, Inc.)を用いた。プログレッシブスキャンインターライン CCD で，解像度は 1024 pixels(H)×1024 pixels(V)，フレームレートは最大で 30 fps である。照明光源として 150 W の白色連続光コールドライト“HL150”(HOYA SCHOTT Corp.)を用いているため，PIV 画像は CCD カメラのフレームレート時間間隔(1/30 秒)の連続画像となっている。

顕微鏡レンズ系は，対物レンズ“M Plan NIR 20×”(ミツトヨ)，結像レンズ，鏡筒から構成されている。視野領域は約 $580\text{ }\mu\text{m}\times 580\text{ }\mu\text{m}$ (画像解像度 $0.58\text{ }\mu\text{m}/\text{pixel}$)である。本装置の特徴は，カメラ等を水平にしつつ対象を垂直方向に観察するために，光路がミラーによって 90° 曲げられているところである。

Fig. 1 Schematic View of Micro PIV

2.2 トレーサ粒子

PIV 計測のためのトレーサ粒子として 2 種類の異なる蛍光粒子，“Red Fluorescent Microspheres R0100”(Duke Scientific Corp.)と“Fluoresbrite™ YO Carboxylate Microspheres - $1.00\text{ }\mu\text{m}$ ”(Polysciences, Inc.)を用いた(以下，それぞれ“R1.0”，“YO1.0”と呼ぶ)。粒径はともに $\phi 1.0\text{ }\mu\text{m}$ で，蛍光のピーク励起波長が 530 nm (R1.0, YO1.0)，ピーク蛍光波長が 610 nm (R1.0)， 570 nm (YO1.0)である。顕微鏡レンズ系および光学フィルターの配置と光路を Fig.3 に示す。ショートパスフィルターとダイクロイックミラーによって， 530 nm の波長の光のみで対象を照明し，ロングパスフィルターによって，粒子

Fig. 2 Experimental Set-up

からの散乱光 (610 nm または 570 nm) のみを CCD へ導く仕組みになっている。

Fig. 3 Optical Set-up

2.3 計測対象

計測対象として材質の異なる 2 種類のマイクロチップ，PMMA(polymethylmethacrylate)チップ(アクリルチップ)と PDMS(polydimethylsiloxane)チップを用いた⁶⁾。チップおよび電極の配置を Fig.4 に示す。どちらのチップにも幅 $100\text{ }\mu\text{m}\times$ 深さ $30\text{ }\mu\text{m}\times$ 長さ 50 mm のマイクロチャンネルが形成されている。また流体の注入と電極($\phi 0.5\text{ mm}$ の白金線)の挿入のためにアクセスポートを設けている。電極はアクセスポート内でチャンネル内の流体と接触しており，電極に電圧が付加されるとチャンネル内には一様な電場が発生する。

Fig. 4 Microchip Design and Set-up

3. 計測結果

トレーサ粒子やチャンネル壁面のゼータ電位がマイクロチャンネル内の電気浸透流に与える影響を評価するために、本研究ではPIV計測に加えて、トレーサ粒子とチャンネル壁面のゼータ電位計測も行った。以下にそれぞれの計測実験の結果を述べる。

3.1 ゼータ電位計測

レーザーゼータ電位計“ELS-6000”(大塚電子)を用いて、トレーサ粒子(R1.0, YO1.0)とマイクロチャンネル(PMMA, PDMS)の壁面のゼータ電位測定を行った。固液界面に発生する電気二重層と呼ばれる帯電領域に電場による電気力が加えられることで、ある滑り面を境にして固体と流体に相対速度が生じる。この滑り面での電位がゼータ電位(ζ)であり、固体表面の電気的状態が電気泳動や電気浸透などの流動現象に与える影響を示す重要なパラメータである³⁾。

ゼータ電位測定の結果とそこから見積もられる電気泳動速度(v_{ep})をTable 1に示す。溶媒(流体)としてTE緩衝液(pH8.0)を使った。Table 1より、粒子R1.0は負のゼータ電位をもち、陽極側へ電気泳動される。一方、粒子YO1.0のゼータ電位はほぼゼロで、電場によってほとんど泳動されないことがわかる。またPMMAチャンネル、PDMSチャンネルともにゼータ電位は負の値になっており、陰極側へ電気浸透流が発生する。本来PDMS表面は電気的に完全にニュートラルと言われているが、この結果によると負のゼータ電位を示しており、PMMAと同程度の電気浸透流が発生することが予想される。

Table 1 ζ -potential of Particles and Microchannels

	ζ [mV]	v_{ep} [$\mu\text{m/s}$]
particle : R1.0	-70.7	-115.6
particle : YO1.0	-0.5	-1.5
channel : PMMA	-34.5	-
channel : PDMS	-38.1	-

3.2 電気浸透流のPIV計測

チャンネルのストレート部分と90°曲がり部分での電気浸透流の粒子画像をFig.5に、PIV解析によって得られた速度ベクトルをFig.6とFig.7にそれぞれ示す。加電場が14 V/cmと20 V/cmの場合を示す。流体はTE緩衝液(pH=8.0)、トレーサ粒子としてR1.0(濃度0.03%)を用いている。PIV解析には、検査領域32 pixels×32 pixelsの2フレーム相互相関法を用いた。流れは陽極に向かって流れ、ストレート部分では、流速が80.0 $\mu\text{m/s}$ のほぼ一様な流れになっている。

次に、チャンネル主流方向速度分布をFig.8に示す。10 V/cmから20 V/cmまで電場強度を変化させて計測を行った。流速は計測できない壁面近くを除いて一様な分布を示し、また電場強度に比例して流速は増加している。次に、加電場は20 V/cmで、チャンネルと粒子の組合せを変えた4ケースをFig.9に示す。電気泳動されない粒子YO1.0を用いた場合の結果より、PMMA、PDMSともに電気浸透流が発生していることが

わかる。PIVでは、電気泳動による粒子自身の泳動速度と界面電気現象による電気浸透流速の合わさった速度を粒子移動速度として計測しているため、ゼータ電位測定の結果から見積もった粒子の泳動速度を差し引くことで電気浸透流速を算出できる。この方法で求めた電気浸透流速分布をFig.10に示す。電気浸透流はチャンネル壁面の界面電気現象により起きる流れなので、同じチャンネル、同じ流体であれば同じ流速分布を示すはずである。ところがチャンネルおよび粒子の組合せの違いにより流速は異なるという結果を得た。これはトレーサ粒子を付加することによって流体のイオン濃度、電気二重層の電位分布に変化が起こり、結果的に電気浸透流速にも影響していると考えられる。

(a) Straight channel

(b) Curved channel

Fig. 5 PIV Images

4. 結論

マイクロ流路内流れを計測するツールとしてマイクロPIVシステムを構築した。マイクロPIVを用いてマイクロチャンネル内電気浸透流のPIV計測を行い、以下の結論を得た。1) マイクロチャンネル内を流れる電気浸透流は一様な速度分布を持つ。2) 表面電位がニュートラルで電気浸透流が発生しないと考えられていたPDMSチャンネルでも電気浸透流が発生する。3) チャンネルおよび付加するトレーサ粒子の組合せにより、ゼータ電位の違いが生じ、電気浸透流は変化する。

参考文献

(a) $E=10$ V/cm

(b) $E=20$ V/cm

Fig. 6 Velocity Vectors (Straight Channel)

(a) $E=10$ V/cm

(b) $E=20$ V/cm

Fig. 7 Velocity Vectors (Curved Channel)

Fig. 8 Streamwise Velocity Profiles

Fig. 9 Velocity Profiles of Electrokinetic Flow

Fig. 10 Velocity Profiles of Electroosmotic Flow

- 1) 藤井輝夫：集積型マイクロアクターチップ，ながれ，20 巻，第 2 号 (2001)，pp.99-105.
- 2) Service, R. F. : DNA Analysis: Microchip Arrays Put DNA on the Spot, Science, Vol.282 (1998), pp.396-399.
- 3) Santiago, J. G. : Electroosmotic Flows in Microchannels with Finite Inertial and Pressure Forces, Analytical Chemistry, Vol.73, No.10 (2001), pp.2353-2365.
- 4) 西野耕一：マイクロ流れの速度場計測，ながれ，20 巻，第 2 号 (2001)，pp.83-91.
- 5) Meinhart, C. D., Wereley, S. T., and Santiago, J. G. : PIV Measurements of a Microchannel Flow, Experiments in Fluids, Vol.27 (1999), pp.414-419.
- 6) Hong, J. W., Fujii, T., Seki, M., Yamamoto, T., and Endo, I. : Integration of Gene Amplification and Capillary Gel Electrophoresis on a Polydimethylsiloxane-Glass Hybrid Microchip, Electrophoresis, Vol.22 (2001), pp.328-333.