マイクロ流路内界面張力波共鳴現象と表面張力測定

火原 彰秀

東京大学生産技術研究所 (〒153-8505 東京都目黒区駒場4-6-1)

Microfluidic Resonance of Capillary Waves and Surface Tension Measurement

Akihide HIBARA

Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, 4-6-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8505

(Received September 4, 2012)

Chemical and biological analysis based on micro- and nanofluidic systems have been investigated intensively because of such favorable properties as sample, reagent, waste, and space reductions. In the systems, two-phase flows were utilized for such chemical/biochemical applications as extractions and reactions. Since the specific interfacial area (surface-to-volume ratio) increases with confinement, the fluid interface between the two phases plays greater roles in the operations in micro/nano confined spaces than in laboratory-scale instruments. Fluid-interface measurement techniques for revealing molecular transport and interfacial properties are necessary for appropriately designing integrated two-phase operation. However, few methods exist for the interface in micro/nano-systems. In this article, we investigated an optofluidic method for measuring the interfacial tension in micro/nano confined spaces based on capillary wave resonance and laser light scattering.

Key Words: Light scattering, Spontaneous resonance, Capillary wave, Microfluidics

1. はじめに

マイクロ・ナノ流体を用いて、分析操作を集積化する手法が盛んに研究されている。この分野での研究の多くは、少量の試料を用いて高速に分析を実現する手法を開発しており、化学・生化学・生命科学・環境モニタ・基礎学術分野での応用が期待されている。Fig. 1のような典型的な分析デバイスでは、ナノリットルからピコリットルの微小試料・試薬を用い、数分程度の短時間分析を、数平方センチメートルの面積で実現している。

先駆的研究として、1979年に発表されたTerry¹⁾らの集積化ガスクロマトグラフィーデバイスがあげられる。また、Manzらは、1990年代初頭、“A look into next century’s technology or just a fashionable craze?”という題目(副題)の論文の中で、分析化学操作の微小化について論じている²⁾。この問いかけから20年を経た現在、マイクロ・ナノ流体を用いた化学・生化学分析システムの研究は、液滴・気泡・細胞・ゲルなどの新しい要素を積極的に取り込みつつますます盛んになり、“Lab-on-a-Chip”³⁾、“Microfluidics and Nanofluidics”⁴⁾、“Biomicrofluidics”⁵⁾などの専門誌も発行され、発展を続けている。

集積化した分析デバイスの検出法に注目すると、分光光度法、蛍光法、ラマン分光法、赤外分光法などの分光法が多く利用されている。マイクロ・ナノ流体では、油

水・気液などの流体間の自由界面を利用することがある。マイクロシステム内の自由界面は、化学計測の場としても重要な性質を備えているが、この界面をデバイス内で測定する手法はほとんど報告されていない。われわれは、100- μm スケールのマイクロ流路内自由界面における光散乱を用いた界面張力計測法を報告してきた⁶⁾が、光学配置上の課題やより小さな界面を計測するための原理上の課題などがあった。

Fig. 1 Chemical / biochemical microchip.

本稿では、最近われわれのグループが開発したマイクロ流路内界面における自由表面共鳴振動現象を利用した新しい界面張力測定法について紹介する⁷⁾。この手法は、空間サイズ、ここでは流路幅を決めれば、光学配置上の制約が極端に軽減されるという特性を持つため、外部からの計測妨害に強くより小さな界面への適用が容易な手法になり、マイクロ・ナノ化学の発展に大きく貢献するツールになると期待している。

2. マイクロ・ナノスケールの自由界面

Fig. 2のような水と油、あるいは水と空気のような互いに不溶な2流体間の界面である自由界面は、溶媒抽出をはじめとした分離場として分析化学的に利用されるだけでなく、相間移動触媒反応を利用した合成など化学反応の場としても重要である⁸⁾。マイクロ・ナノ化学システム内においても、分析^{9,10)}や反応¹¹⁾、細胞の閉じ込め¹²⁾などに頻繁に液滴や多相流体など、自由界面を利用する手法が用いられている。マイクロ流路内の流れの中で互いに不溶な二相を接触させ、二相を平行に流すためには、界面張力が二相間の圧力損失差を補償できる範囲で操作する必要がある¹³⁾。また、この操作を安定化するために一つの流路の壁面を親水/疎水に分けて化学修飾する手法が効果的である¹⁴⁾。

界面を通した物質の移動や化学反応などの速度論の理解や、界面の物理的性質に依存した流体挙動の理解のためには、マイクロ・ナノ空間内で界面計測できる手法が必須である。油水の二相流体を考えると、実験室スケールではビーカー内で攪拌して油滴(あるいは水滴)を形成することで、比界面積(界面積/体積)を大きくして、物質移動や化学反応を促進することがよく行われる¹⁵⁾。マイクロ・ナノ空間の中での二相接触を考えると、液体体積が非常に小さなため接触するだけで大きな比界面積を達成することができ、溶媒抽出や化学反応を効率よく行うことができる。言い方を変え、マイクロ空間における二相(気液、液液など)接触は、体積に対して表面積が大きいため、界面を通した物質移動・分配は高速に平衡に至る。また、界面吸着がある場合には、溶液中の

Fig. 2 Illustration of two-phase contact in a lab-scale instrument, and partition equilibrium between the two phases. Adapted with permission from Bunseki 378 (2006) 242.⁸⁾ Copyright (2006) The Japan Society for Analytical Chemistry.

分子に対する吸着分子数の割合が高くなる。

マイクロ・ナノ空間における二相接触は化学システム集積化に大きな役割を果たしてきた。さらに詳細に化学現象を理解するため、あるいは界面そのものを化学計測の場に利用するには、界面の張力・粘度などを直接計測することが重要であるが、マイクロ・ナノ空間に適用可能な界面計測手法はほとんどない。

3. 準弾性レーザー散乱法

界面に溶液中から溶質が吸着する場合の界面吸着濃度の決定には、界面張力(表面張力)測定がよく用いられる。界面張力 γ は、界面過剰濃度 Γ とGibbsの吸着等温式

$$\Gamma = -\frac{1}{RT} \frac{d\gamma}{d \ln C} \quad (1)$$

で結びつけられる¹⁶⁾。ここで R は気体定数、 T は温度、 C は液相濃度である。Eq.(1)より、界面張力がわかれば、吸着した溶質濃度を知ることができる。実験室レベルで界面張力を測定する方法としては、懸滴法(ペンダントドロップ法)などが一般的である。

レーザーを用いて界面張力を測定する有力な方法に準弾性レーザー散乱法(Quasi-Elastic Laser Scattering Method: QELS法)がある^{17,18)}。この方法では、気液界面や液液界面などの自由表面に発生している界面張力波(英語ではcapillary wave)による光散乱を測定する方法である。界面張力波は、熱的に様々な波数・振動数の波がランダムに発生・伝搬・減衰する横波であり、純溶媒の場合の振幅は数オングストローム程度である。界面張力波を測定すれば原理的に、界面から1 nm程度の空間の情報を選択的に得ることが可能である。

低粘度での界面張力波の波数 k と振動数 f との分散関係式は、ナビエ・ストークスの式から導かれるラムの式により与えられる¹⁹⁾。

$$f = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\gamma k^3}{\rho_1 + \rho_2}} \quad (2)$$

ここで ρ_1 および ρ_2 は界面を形成する流体1および2の密度である。

2流体界面に波数 K (波長 $2\pi/K$)のレーザー光を入射すると、光は界面張力波により散乱を受ける。この散乱は、運動量 $\hbar k$ の界面張力波の準粒子(リプロン)による運動量 $\hbar K$ の光子の散乱(あるいは、波数 k の界面張力波による波数 K の光の回折)と見ることができる。この場合の散乱(回折)の条件は、

$$k = K \sin \theta \quad (3)$$

である。このとき入射光(波数 K)の光周波数を F とすると、界面張力波周波数 f によりドップラーシフトを受け、散乱光の周波数は、 $F \pm f$ となる。よって、散乱光の光周波数を測定することで、Eq.(2)とEq.(3)から界面張力を知ることができる。

可視光を用いる場合、光周波数は数百THzであり、こ

の中の数kHz～数MHzのドップラーシフトを直接測定することは困難である。そこで、周波数既知の参照光と散乱光を混合することで発生するうなり(ビート)を測定する光ヘテロダイン法により、ドップラーシフトスペクトルを得る。この時、Eq.(3)に示されるように、参照光と入射光の角度を規定する必要がある^{20,21)}。Fig. 3のように、回折格子を用いて散乱角を決定し、ビーカー中の水/ニトロベンゼン界面を測定したドップラーシフトスペクトルの例をFig. 4に示す。6.5 kHzに中心周波数をもつスペクトルが得られ、この周波数を f として、Eqs. (2), (3)より界面張力が得られる。

Fig. 3では参照光を事前に分割したが、入射光そのものを参照光として用い、散乱光と参照光を入射光の光路内で混合する方法をFig. 5に示す²²⁾。この方法の装置構成は、Fig. 5に示す通り非常に単純でレーザー光を界面を透過させた後にピンホールを設置し、光検出器でビート信号を検出するだけである。レーザー共振器から出射するレーザー光は、完全な平行光ではなく数ミリラジアン程度拡がりながら伝搬する。レーザー光周辺部の拡がりながら伝搬する光が界面で散乱され、その散乱光のうち、レーザー中心部の直進成分と平行な成分のみをピンホールにて選択する。この配置により、レーザー中心部の直進成分が参照光の働きをして、ドップラーシフトをヘテロダイン法により検出できる。測定したスペクトルの例をFig. 6に示す。ここでは、約1ミリラジアン拡がり

ながら伝搬する光を用い、ビーカー中の水/ニトロベンゼン界面を測定した結果、0.95 kHzに中心周波数をもつスペクトルが得られた。以上の従来のバルクスケールの液液界面測定法を用いて、界面活性剤の吸着現象^{20,21)}、油水界面の密度評価²³⁾、化学振動現象^{24,25)}などが解析されている。

界面張力波を測定する光散乱法を微小界面測定に用いるには、顕微鏡下での入射光と参照光の角度決定の問題

Fig. 4 Power spectrum of QELS measurement for a water /nitrobenzene interface. Adapted with permission from Bunseki 378 (2006) 242.⁸⁾ Copyright (2006) The Japan Society for Analytical Chemistry.

Fig. 3 Setup of quasi-elastic laser scattering (QELS) method with an optical grating. Adapted with permission from Bunseki 378 (2006) 242.⁸⁾ Copyright (2006) The Japan Society for Analytical Chemistry.

Fig. 5 Setup of QELS method with single beam configuration. Adapted with permission from Bunseki 378 (2006) 242.⁸⁾ Copyright (2006) The Japan Society for Analytical Chemistry.

Fig. 6 Power spectrum of single-beam QELS measurement for a water/nitrobenzene interface. Adapted with permission from Bunseki **378** (2006) 242.⁸⁾ Copyright (2006) The Japan Society for Analytical Chemistry.

Fig. 8 Power spectrum of microscopic QELS measurement for a water/nitrobenzene interface. Adapted with permission from Journal of the American Chemical Society **125** (2003) 14954.⁶⁾ Copyright (2003) American Chemical Society.

点を解決する必要がある。この問題点を解決した顕微装置をFig. 7に示す⁶⁾。レーザー射出光を音響光学素子(AOM, 周波数80 MHz)にて2つに分ける。レーザーの光周波数を F とすると、1次回折光の光周波数は、超音波周波数分だけドップラーシフトを受け、 $F + 80 \text{ MHz}$ となる。この光を参照光として用いる。入射光と参照光を平行に調節し、入射光を対物レンズの軸にあわせて集光すると参照光の入射角 θ を調整できる。入射光の散乱光のうち、 θ 方向に散乱された光のみを光検出器に導き、ヘテロダイン検出する。このとき、散乱光の周波数は $F \pm f$ であり、参照光の周波数は $F + 80 \text{ MHz}$ であるので、ビート信号は $80 \text{ MHz} \pm f$ に得られる。ドップラースペクトルの例をFig. 8に示す。幅 $300 \mu\text{m}$ 深さ $200 \mu\text{m}$ の円管状マイクロ流路内を平行に流れる水/ニトロベンゼン界面を測定した。入射光はこの界面に垂直に入射した。

Fig. 7 Setup of microscopic QELS method. Adapted with permission from Journal of the American Chemical Society **125** (2003) 14954.⁶⁾ Copyright (2003) American Chemical Society.

Fig. 9 Illustration of capillary-wave resonance in a microfluidic channel, and optical setup of QELS method utilizing the resonance. Adapted with permission from Analytical Chemistry **84** (2012) 2557.⁷⁾ Copyright (2012) American Chemical Society.

4. 界面張力波共鳴と新規計測法

マイクロ流路の制限された空間における流路幅方向の界面張力波の伝搬を考えた⁷⁾。界面張力波が流路壁面で反射する場合には、その波長と空間サイズ(流路幅)の関係が重要である。空間サイズに対して非共鳴の波は素早く減衰するのに対して、波の半波長の整数倍が流路幅に一致する共鳴条件を満たす波は伝搬条件を満たすと考えた。この関係を波数 k 、流路幅 w 、自然数 n を用いて表すと

$$wk = n\pi \quad (4)$$

となる。実際に共鳴を起こすためには、もう一つ伝搬距離の問題がある。流体の伝搬距離とマイクロ流路の幅の関係を調べたところ、チャンネル幅100 μm 以下では十分共鳴が観測可能であり、その共鳴周波数が数百kHz程度以下となることがわかった。

Fig. 9のように、単一ビームのQELS装置の光路に対物レンズを入れた光学系を組み、ポリジメチルシロキサン(PDMS)製流路中心付近の流体界面を通過したレーザー光のうち、光軸から若干流路方向にずれた点にピンホールを設置して測定した。このピンホール配置により流路幅方向に伝搬する波からの散乱を計測できる。幅27~70 μm のマイクロ流路内のメタノール/空気界面を測定した結果をFig. 10に示す。また、それぞれの幅で複数得られた中心周波数の値を、流路幅の関数としてFig. 11に示

Fig. 10 Power spectra of resonant QELS measurements for methanol /air interface in 70- μm , 43- μm , and 27- μm wide channels. For comparison, power spectrum on infinite (lab-scale) surface is presented as well. Adapted with permission from Analytical Chemistry **84** (2012) 2557.⁷⁾ Copyright (2012) American Chemical Society.

す。図中の破線は、Eq.(4)そのものではなく、共鳴次数に定数 c (ここでは0.7)を加えた式

$$wk = (n+c)\pi \quad (5)$$

およびEq.(2)から計算される共鳴周波数の理論値を示す。経験的に導入した定数 c を含むものの、理論値と実験値がよい一致を示すことから、この測定から確かに界面張力波の共鳴を利用した散乱スペクトルが得られることを示している。ここで経験値として導入した定数 c は、今回PDMSという比較的柔らかい材料を用いたことによる、壁面の非弾性的な反射に起因すると考えている。今後定数と材料の関係などを検討していく必要がある。

上記の議論とは別に、測定した中心周波数から界面張力の値を得る方法について検討した。Eq.(4)のような理想的な条件の場合には、単一の中心周波数、その共鳴次数Eq.(2)およびEq.(4)から界面張力を求めることができる。Eq.(5)のような状況であっても、 c が次数に依存しなければ、2つの連続する中心周波数 f_{n+1} および f_n から

$$\gamma = \frac{4(\rho_1 + \rho_2)w^3}{\pi} \left(f_{n+1}^{\frac{2}{3}} + f_n^{\frac{2}{3}} \right) \quad (6)$$

と界面張力を求めることができる。Eq.(6)を用いて、幅70 μm のメタノール/空気界面の実測値から界面張力を求めたところ、21.2 mN/m(文献値22.07 mN/m)²⁶⁾が得られた。以上のように、連続する2つのピークから界面張力が得られることが示された。

3節で示した従来のQELS法では、二つの平行ビームの交差配置をとるか、平行に近い単一ビームを用いていた。単一ビームのQELS法において、空間分解能を求めて顕微鏡対物レンズによる集光を用いると、ビームの発散角が大きくなり、単一の特定波数を測ることができなくなり、広い波数幅の計測となってしまふ。また、ビー

Fig. 11 Resonant-mode frequencies as a function of the channel width. Reprinted with permission from Analytical Chemistry **84** (2012) 2557.⁷⁾ Copyright (2012) American Chemical Society.

ムの発散角やピンホール位置などの光学条件により、測定する中心波数が容易に変わってしまうので、単一ビーム法は適用できなかった。一方、本節で示した方法では、光学的には広い波数幅の計測であっても、計測する波の共鳴を用いるために空間サイズにのみ依存したピークが得られるという特徴がある。言い換えると、従来法では光学的精密さが求められていたが、新規手法では光学的セットアップはある程度ルーズに設定しても、界面張力波の共鳴という物理現象によりピーク位置がきまるためより簡便な手法が実現したと言える。

5. まとめ

マイクロ・ナノ空間を利用した分析法集積化の研究分野では、いかに化学・生化学操作を実現するかが議論の中心である。その中で、微小体積・流量ゆえに検出方法にも工夫が必要となる局面が多く現れる。本稿で紹介した手法のように、マイクロ・ナノ流体の特性そのものを利用した光学計測法は、今後のマイクロ・タス、Lab-on-Chipの発展に大きな寄与をするとともに、極微小液滴の張力測定法としても広く応用されることが期待される。

謝 辞

本研究の実験・解析で中心的役割を果たしたChristian Pigot博士(元東京大学特別研究員)に感謝する。また、本研究の物理的側面について御助言頂いた東京大学生産技術研究所酒井 啓司教授, Ecole Centrale Paris (LIMMS) のSebastian Volz教授に深く感謝する。本研究は、科研費(基盤研究(B)24350038, 特別研究員奨励費22・00727), 旭硝子財団研究奨励費などの支援を受けたものである。

参考文献

- 1) S. C. Terry, J. H. Jerman, and J. B. Angell: IEEE Trans. Electron Devices **26** (1979) 1880.
- 2) A. Manz, J. C. Fetting, E. Verpoorte, H. Ludi, H. M. Widmer, and D. J. Harrison: Trends in Anal. Chem. **10** (1991) 144.
- 3) A. Manz and H. Minhas: Lab Chip **1** (2001) 1N-2N.
- 4) D.-Q. Li: Microfluidics and Nanofluidics **1** (2004) 1.
- 5) H.-C. Chang: Biomicrofluidics **1** (2007) 010901.
- 6) A. Hibara, M. Nonaka, M. Tokeshi, and T. Kitamori: J. Am. Chem. Soc. **125** (2003) 14954.
- 7) C. Pigot and A. Hibara: Anal. Chem. **84** (2012) 2557.
- 8) 火原 彰秀, 北森 武彦: ぶんせき **378** (2006) 242.
- 9) A. Hibara, M. Tokeshi, K. Uchiyama, H. Hisamoto, and T. Kitamori: Anal. Sci. **17** (2001) 89.
- 10) M. Fukuyama and A. Hibara: Anal. Sci. **27** (2011) 671.
- 11) H. Hisamoto, T. Saito, M. Tokeshi, A. Hibara, and T. Kitamori: Chem. Commun. (2001) 2662.
- 12) S. Y. Teh, R. Lin, L. H. Hung, and A. P. Lee: Lab on a Chip **8** (2008) 198.
- 13) A. Aota, A. Hibara, and T. Kitamori: Anal. Chem. **79** (2007) 3919.
- 14) A. Hibara, M. Nonaka, H. Hisamoto, K. Uchiyama, Y. Kikutani, M. Tokeshi, and T. Kitamori: Anal. Chem. **74** (2002) 1724.
- 15) J. I. Yoshida, A. Nagaki, and T. Yamada: Chem. A Euro. J. **14** (2008) 7450.
- 16) 近藤 正敏, 田嶋 和夫: 界面化学(丸善, 東京, 2001).
- 17) R. H. Katyl and U. Ingard: Phys. Rev. Lett. **19** (1967) 64.
- 18) D. Langevin: *Light Scattering By Liquid Surfaces and Complementary Techniques* (Marcel Dekker, New York, 1992).
- 19) P.-G. de Gennes, F. Brochard-Wyart, and D. Quere: *Gouttes, bulles, perles et ondes* (Belin, Paris, 2004); 奥村 剛 訳: 表面張力の物理学-しずく, あわ, みずたま, さざなみの世界-(吉岡書店, 京都, 2003).
- 20) Z.-H. Zhang, I. Tsuyumoto, T. Kitamori, and T. Sawada: J. Phys. Chem. B **102** (1998) 10284.
- 21) A. Trojanek, P. Krtil, and Z. Samec: J. Electroanal. Chem. **517** (2001) 77.
- 22) I. Tsuyumoto and H. Uchikawa: Anal. Chem. **73** (2001) 2366.
- 23) I. Tsuyumoto, N. Noguchi, T. Kitamori, and T. Sawada: J. Phys. Chem. B **102** (1998) 2684.
- 24) 由井 宏治, 澤田 嗣郎: 分析化学 **54** (2005) 427.
- 25) T. Takahashi, H. Yui, and T. Sawada: J. Phys. Chem. B **106** (2002) 2314.
- 26) D. Lide Ed., Handbook of Chemistry and Physics; CRC Press, Boca Raton, FL, 2008.