水中油滴型エマルション調製のための ポリマーマイクロチャネルの親水化

劉 海傑, 中嶋光敏[§], 西 泰治*, 木村俊範**

(独)食品総合研究所

* 株式会社クラレつくば研究所

** 筑波大学生命環境科学研究科

Hydrophilic Modification of Polymer Microchannel for Preparation of Oil-in-Water Emulsions

Haijie Liu, Mitsutoshi Nakajima[§], Taiji Nishi* and Toshinori Kimura**

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

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

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

Microchannel (MC) emulsification is a novel technique for preparing monodispersed emulsions. Recently, we fabricated a new type of MC plate using polymer materials instead of the silicon materials used for conventional MC emulsification, and reported that monodispersed water-in-oil (W/O) emulsions were successfully prepared using an acrylic polymer MC (PMC) plate with hydrophobic properties. In this study, we modified the PMC surface with poly-2-methacryloxyethyl phosphorylcholine butyl methacrylate (Lipidure-PMB) and poly-ethylvinylalcohol (Exceval) coatings by SiO₂ sputtering and SiO₂ vacuum deposition before producing oil-in-water (O/W) emulsions. Experimental results showed that the average droplet diameter and coefficient of variation were 35.7 μm and 27.0% when the emulsion was prepared using a Lipidure-PMB coated PMC plate, with a polydispersed droplet diameter distribution; 24.3 μm and 3.8% when prepared using an Exceval-coated PMC plate, with a monodispersed droplet diameter distribution; and 23.7 μm and 4.2% when prepared using a SiO₂ vacuum deposition PMC plate, also with a monodispersed droplet diameter distribution. When SiO₂ sputtering was used, however, the hydrophilic SiO₂ film came off the plate surface during the emulsification process, and the channel was wetted by the dispersed phase, with the result that preparation of a monodispersed O/W emulsion was impossible. Furthermore, we investigated the resistance to sonic treatment of modified PMC plates, and it was found that the PMC plate modified by SiO₂ vacuum deposition demonstrated the strongest resistance to sonic treatment.

(Received Mar. 28, 2005 ; Accepted Sep. 12, 2005)

10年前に我々は血液レオロジー計測に用いられているシリコンマイクロチャネル(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¹⁾。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作製する方法である。MC乳化法は界面張力により液滴が自発的に形成するので、従来の機械的乳化法と比べて、エネルギーロスが非常に少ない²⁾³⁾。また、エマルション液滴の粒

度分布が狭く、粒径のコントロールが可能であること、単相・多相エマルションのみならず、機能性エマルション(マイクロカプセル、ベシクル、高分子微粒子)の作製も可能であることが注目されている^{4)~7)}。シリコンマイクロチャネルを用いた実験室規模の応用が広がりつつあるが、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がある⁸⁾⁹⁾。そこで、我々は、材料コストが単結晶シリコンの100分の1程度のアクリル樹脂を利用して平板型ポリマーマイクロチャネル(PMC)を作製した。PMCを用いたエマルションの調製、エマルション作製特性に及ぼす各パラメータの影響解析、さらに従来のシリコンMC乳化との比較などについて検討した¹⁰⁾¹¹⁾。そ

〒305-8642 茨城県つくば市観音台 2-1-12

* 〒305-0841 茨城県つくば市御幸が丘 41

** 〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1

[§] 連絡先 (Corresponding author), Tel : 029-838-8014

Fax : 029-838-7996 e-mail : mnaka@affrc.go.jp

の結果、単分散の W/O エマルジョンを調製することが可能で、変動係数がシリコン MC 乳化と同程度であった。また、分散相の圧力、連続相の粘度、チャンネルの深さ、長さが液滴作製に大きく影響を与えることが示された¹⁰⁾¹¹⁾。さらに、PMC 基板は耐アルカリ性を有し、洗浄の際、アルカリ洗剤の使用が可能であることがわかった¹⁰⁾。これは現在問題となっている SPG (シラス多孔質ガラス) 膜を用いた膜乳化やシリコン MC 乳化プロセスでの膜やチャンネル基板の洗浄、再生の問題を解決できることが期待される。

上記のように、PMC 基板は疎水性を有し、単分散 W/O エマルジョンの作製が可能であるが、親水化による O/W エマルジョンの作製が課題としてあげられる。PMC 基板への親水化処理は、O/W エマルジョンの作製だけでなく、血液チップ、細胞培養プレートの血液通過性向上、気泡混入防止などにも応用が考えられる。プラスチック表面の濡れ性を改質する技術は、化学的処理技術、物理的処理技術に大別される。化学的処理技術としては、薬品処理、溶剤処理、カップリング剤処理、モノマーコーティング、ポリマーコーティング、蒸気処理、表面グラフト化、電気化学的処理などがあげられる。物理的処理技術としては、紫外線照射処理、プラズマ接触処理、プラズマジェット処理、プラズマ重合処理、イオンビーム処理、機械的処理等があげられる¹²⁾。

本研究ではコーティング、スパッタと真空蒸着の 3 種類の手法により PMC の親水化処理を行い、得られた親水化基板を用いて、O/W エマルジョンの調製を試みた。また、超音波にかけて洗浄を行う必要があると考えて、親水化膜の超音波耐性について検討した。

実験方法

1. 実験材料

コーティング材料は 2 種類を選んだ。細胞膜を構成するフォスファチジルコリンの極性基と同一の構造をもつ 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン (以下 MPC と略、親水性) とブチルメタクリレート (疎水性) を共重合した水溶性ポリマー Lipidure-PMB (日本油脂、東京)、ビニルアルコールとエチレンを共重合した水溶性ポリマーエクセバール (クラレ、倉敷) を用いた。Lipidure-PMB とエクセバールの構造を Fig. 1 に示す。O/W エマルジョン調製の乳化実験において、連続相には純水を、分散相には大豆油 (和光純薬、大阪) を、界面活性剤には 1.0 wt % ドデシル硫酸ナトリウム (SDS、純度 > 95%、和光純薬、大阪) を用いた。

基板における水滴の接触角は全自動界面張力計 (PD-W、協和界面科学、埼玉) により測定した。各測定は常温で、滴下 30 秒後に行った。

スパッタ装置は SV (アルバック、東京) を、真空蒸着装置は HP-1010F (アルバック、東京) を用いた。基板の超音

Fig. 1 A) Chemical structure of Lipidure-PMB (poly-2-methacryloxyethyl phosphorylcholine butylmethacrylate). B) Chemical structure of Exceval (poly-ethylvinylalcohol)

波処理は超音波洗浄機 US-3 (アズワン、大阪) を用いた。

2. 実験方法

コーティング処理はスピンコート法 (円盤上に設置した基板に原料溶液をのせ、円盤を回転させることにより均一な膜を形成する技術) にしたがって行った (スピンコーター: 1H-360S, ミカサ、東京)。親水化度は基板に対する水滴の接触角により評価した。予備実験において、Lipidure-PMB 濃度が 0.5 wt%, エクセバール濃度が 5.0 wt% であるとき、それぞれの接触角が最も低かったので、コーティング液濃度を 0.5 wt% (Lipidure-PMB), 5.0 wt% (エクセバール) にした。

スパッタと真空蒸着による親水化処理の手順を Fig. 2 に示す。SiO₂ をターゲット物質に用いた。親水化処理品は、表面の光量をアップさせるべく、また、SiO₂ とアクリル表面の接着性を改善するため、アルミニウム (Al, 200 nm) を蒸着した上に、スパッタや真空蒸着を行った。スパッタ処理、真空蒸着による SiO₂ 膜の膜厚については、それぞれ、平坦なガラス板の一部をテープでマスキングをしておき、その表面に SiO₂ 膜を堆積させ、膜堆積面とマスキング剥離部分に精密接触針を走らせ、その段差の測定より求めた。

乳化実験が終了後、PMC 基板の洗浄は次の 2 種類の方法にしたがって行った。

① 超音波未処理: MC 基板を洗剤 (クリーンエース、アズワン、大阪) の入った純水に 1 時間以上浸漬して、それから純水に 1 時間浸漬した。その後、常温乾燥し、次の実験まで保管した。

② 超音波処理: MC 基板は洗剤 (クリーンエース、アズワン、大阪) の入った純水で 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。

3. PMC 基板と MC 乳化装置

PMC 基板の概念図、電子顕微鏡写真および MC 乳化装置の構成を Fig. 3 に示す。基板の材質はアクリル（グレード：パラペット GH-S, MFR-10, クラレ、倉敷）であり、サイズが 22.5 mm（長さ）× 8 mm（巾）× 1.3 mm（厚さ）である（Fig. 3 A）。チャンネル幅は 10 μm 、深さ 5 μm 、長さ 150 μm 、テラス長さ 15 μm である（Fig. 3 B）。Fig. 3 C に示す

Fig. 2 Flowchart of sputtering or vacuum deposition treatment

ように、基板を光学研磨のガラス板に圧着させ、乳化専用のステンレス鋼製モジュールに固定した。分散相はリザーバーを用いて、また連続相はシリンジポンプ（Model 11, Harvard Apparatus, Inc., Massachusetts, USA）を用いて、それぞれシリコンチューブをとおしてモジュールに供給された。倒立金属顕微鏡（TS-V, 中央精機、東京）と CCD カメラ（HV-C20M, 日立電子、東京）を利用することで、乳化の様子はモニターでリアルタイムの観察が可能である。ビデオ（HM-DR10000, JVC, 横浜）によって画像を録画してさらにパーソナルコンピュータに取り込むことにより液滴径、変動係数の算出を行った。

実験結果および考察

1. コーティング PMC 基板を用いた O/W エマルジョンの調製

Table 1 に示すように、0.5 wt% の Lipidure-PMB でコーティングした PMC 基板に対する水滴の接触角は 16.8° で、5.0 wt% のエクセパールでコーティングした PMC 基板の接触角は 56.3° であった。

分散相には大豆油、連続相には水、界面活性剤には SDS を用いて O/W エマルジョンの調製を行った。分散相をリ

Fig. 3 Experimental installation

ザーバー, 連続相をシリンジポンプ (流量 2 mL h^{-1}) により供給した. Lipidure-PMB でコーティングした PMC を用いた乳化の様子を Fig. 4 A に示す. 分散相がチャンネルを出てテラスに入り, 井戸部に流れ込もうとしたところ, 一部のチャンネル内の分散相が切断して液滴を形成するが, いくつかのチャンネルが分散相により濡れてしまい, 巨大な液滴が形成された. 作製したエマルションの平均液滴径が

$35.7 \mu\text{m}$, 変動係数が 27.0% であり, 単分散のエマルションが得られなかった (Fig. 4 B).

Lipidure-PMB と同じ条件下で 5.0 wt% エクセバールコーティングした PMC を用いて O/W エマルションを調製してみた. 乳化の様子と作製した液滴 (大豆油滴) を Figs. 4 C, D に示す. 液滴が規則正しく形成し, チャンネル濡れは見られなかった. 作製したエマルションの平均液滴径

Table 1 Contact angles of water droplets on PMC plate in air after hydrophilic modification

Hydrophilic modification methods	Concentration or film thickness	Contact angles (deg)	
		After hydrophilic treatment	After emulsification
PMB coating	0.5 wt%	16.8	70.1
Exceval coating	5.0 wt%	56.3	56.7
Sputtering	SiO_2 , 100 nm	14.5	—
	SiO_2 , 500 nm	14.5	—
Vacuum deposition	SiO_2 , 100 nm	35.9	—

Fig. 4 Microscope photographs of PMC emulsification process. A, B) PMC surface was modified by PMB coating. C, D) PMC surface was modified by Exceval coating. E, F) PMC surface was modified by SiO_2 vacuum deposition. A, C, E) Emulsification processes observed at real time. B) Prepared polydispersed oil droplets. D, F) Prepared mono-dispersed oil droplets.

Fig. 5 Microscope photographs of PMC emulsification process (PMC surface was modified by SiO₂ sputtering). A) Before setting PMC plate in the continuous phase. B, C) Emulsification processes observed at real time. D) PMC plate after one run of emulsification.

が24.3 μ m, 変動係数が3.8%で単分散性に優れていた。

乳化後, PMC基板での水滴の接触角を測定したところ, Table 1に示されるように, Lipidure-PMBでコーティングした基板の接触角は70.1°となり, ほぼ未処理時の値に戻った。一方, エクセパールでコーティングした基板の接触角は56.7°でほとんど変化がみられなかった。Fig. 1のLipidure-PMBの構造式からわかるように, 疎水性のブチルメタクリレートが疎水性のアクリル表面に付着し, 親水性のMPCがその上に並んで, 基板に親水性を与えるわけである。乳化実験中, ブチルメタクリレートとアクリル基板の結合の程度が十分ではなく, 親水化膜が連続相(1.0 wt% SDS)へ溶出し, 基板表面が疎水性に戻ったため, 分散相により濡れてしまったと考えられる。それに対して, エクセパールは融点が高い(70°C以上)ので, 基板との結合力が強く, 連続相への溶出がほとんど起こらないと考えられる。

2. スパッタ PMC 基板を用いた O/W エマルジョンの調製

Table 1に示すように, スパッタ処理したPMC基板の接触角は14.5°であり, 最も低い値を示した。まずスパッタ膜厚が100 nmのPMCを用いた。チャンネル部が分散相により濡れてしまい, 油滴作製が不可能であった。これは, スパッタ法による製膜において, SiO₂は, 主に平らな表面に付着し, チャンネルとテラスの側面への付着が十分ではなく, チャンネルの濡れが起こったと考えられる。

そこで, 膜厚を500 nmにして乳化実験を行った。スパッタ処理後, 乳化実験の前のPMCと乳化実験中の

PMCの画像をFig. 5Aに示す。実験開始前にすでにチャンネル部にSiO₂膜の剥離, また外端部にクラックが生じている。これは, SiO₂の膜厚を厚くしたことで, PMCとSiO₂膜の熱膨張係数の違いに基づく応力が顕在化して, 金属膜の剥離, 平坦部のクラックが生じたと考えられる。この状態の基板を用いた乳化の様子をFigs. 5B, Cに示す。液滴作製が可能であったが, 実験中にスパッタ膜の剥離が見られた。また, 剥離した膜の破片が連続相中に残っていた画像も撮られた。乳化実験終了後のPMCの様子をFig. 5Dに示す。ほとんどのスパッタ膜が剥がれ, スパッタ処理したPMCはO/Wエマルジョンの作製に不適であることがわかった。

3. 真空蒸着 PMC 基板を用いた O/W エマルジョンの調製

真空蒸着法により処理したPMCを用いて, 上記と同一実験条件下で乳化実験を行った。蒸着したPMC基板の接触角は35.9°であった(Table 1)。スパッタ処理基板と比べると接触角が高い。これは, スパッタ処理では, SiO₂が分子レベルで緻密に蒸着するのに比べて, 真空蒸着では, SiO₂が分子集合体として大きな単位で, ランダムに付着するため, 親水性の程度が低く, 接触角は高くなったものと思われる。乳化実験の画像をFig. 4Eに示す。濡れや膜の剥離はみとめられず, ほとんどのチャンネルにおいて液滴形成が規則正しく, 単分散のO/Wエマルジョンの作製が可能であった。作製した液滴は平均粒径が23.7 μ m, 変動係数が4.2%であった(Fig. 4F)。前述したように, エクセパールコーティング基板の接触角は56.3°で, 真空蒸着基板と

大きく異なったが、作製したエマルション液滴径はいずれも約 24 μ m であり、ほとんど差が見られない。すなわち、基板の表面がある程度の親水性を有し、分散相による濡れが起こらない条件であれば、液滴径は基板の接触角にほとんど依存しないことがわかった。

4. 親水化膜の超音波耐性

上記の結果に基づき、単分散 O/W エマルションの作製に適用可能なエクセバールコーティングと真空蒸着処理の 2 種類の親水化 PMC 基板の超音波耐性を調べた。エクセバールコーティングの場合、乳化実験が終了後、PMC 基板を実験方法 2 ②に述べたように、洗剤の入った純水で 20 分、純水で 20 分、超音波洗浄機内で洗浄を行った。洗浄済みの基板を用いて、乳化実験を行ったところ、分散相によるチャンネルの濡れが観察され、単分散液滴の作製ができなかった。一方、真空蒸着の場合、超音波処理 400 分間行った後の乳化実験においても、単分散液滴の安定的な作製が可能であり、超音波耐性を有し、安定性に優れていることがわかった。

要 約

アクリル PMC 基板に対して親水化処理と O/W エマルションの作製を試みた。高分子コーティング、スパッタと真空蒸着の 3 種類の親水化法を実施した。その結果、高分子コーティング法の中で、エクセバールコーティングを施した PMC を用いた場合、単分散の O/W エマルションの作製が可能であった。また、スパッタ法により処理した PMC は膜応力による剥離が生じて、エマルションの調製に不適であった。さらに、SiO₂ 真空蒸着法により処理した PMC 基板を用いて単分散の O/W エマルションの作製が可能であり、また、エクセバールコーティングと比べ、超音波耐性に優れていることが示された。

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た。

文 献

- 1) Kawakatsu, T., Kikuchi, Y. and Nakajima, M., Regular-sized cell creation in microchannel emulsification by visual microprocessing method, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **74**, 317-321 (1997).
 - 2) Sugiura, S., Nakajima, M., Iwamoto, S. and Seki, M., Interfacial tension driven monodispersed droplet formation from microfabricated channel array, *Langmuir*, **17**, 5562-5566 (2001).
 - 3) Sugiura, S., Nakajima, M., Kumazawa, N., Iwamoto, S. and Seki, M., Characterization of spontaneous transformation-based droplet formation during microchannel emulsification, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 9405-9409 (2002).
 - 4) Kobayashi, I., Nakajima, M., Tong, J., Kawakatsu, T., Nabetani, H., Kikuchi, Y., Shohno, A. and Satoh, K., Production and characterization of monodispersed oil-in-water microspheres using microchannels, *Food Sci. Technol. Res.*, **5**, 350-355 (1999).
 - 5) Sugiura, S., Nakajima, M., Ushijima, H., Yamamoto, K. and Seki, M., Preparation characteristics of monodispersed water-in-oil emulsions using microchannel emulsification, *J. Chem. Eng. Japan*, **34**, 757-765 (2001).
 - 6) Sugiura, S., Nakajima, M., Tong, J., Nabetani, H. and Seki, M., Preparation of monodispersed solid lipid microspheres using a microchannel emulsification technique, *J. Colloid Interface Sci.*, **227**, 95-103 (2000).
 - 7) Sugiura, S., Nakajima, M., Itou, H. and Seki, M., Synthesis of Polymeric Microspheres with narrow size distributions employing microchannel emulsification, *Macromol. Rapid Commun*, **22**, 773-778 (2001).
 - 8) Soper, S.A., Henry, A.C., Vaidya, B., Galloway, M., Wabuyele, M. and McCarley, R.L., Surface modification of polymer-based microfluidic devices, *Anal. Chim. Acta*, **470**, 87-99 (2002).
 - 9) Becker, H. and Locascio, L.E., Polymer Microfluidic Devices, *Talanta*, **56**, 267-287 (2002).
 - 10) Liu, H.J., Nakajima, M. and Kimura, T., Production of monodispersed water-in-oil emulsions using polymer microchannels, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **81**, 705-711 (2004).
 - 11) 劉 海傑, 中嶋光敏, 西 泰治, 木村俊範, ポリマーマイクロチャン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ンネル構造の影響; 日本食品工学会誌, **5**, 259-266 (2004).
 - 12) 井手文雄, 高分子表面改質, 近代編集社, 東京 (1987).
- (平成 17 年 3 月 28 日受付, 平成 17 年 9 月 12 日受理)