

圧電材料基板上のマイクロ流路を用いた 単分散多相エマルジョン生成法の開発

東京工業大学精密工学研究所

西 迫 貴 志

Monodisperse double emulsions (also referred to as multiple emulsions) have numerous potential applications in various fields, such as cosmetics, pharmaceuticals, food, and colloid science. In conventional two-step mixing technique, however, it is difficult to produce monodisperse double emulsions. Here, we propose a novel microfluidic technique to produce monodisperse double emulsions by applying surface acoustic wave (SAW) streaming. The microfluidic device consists of two planar substrates: a piezoelectric substrate with interdigital transducers (IDTs), and a polymethyl methacrylate (PMMA) plate with microfabricated grooves. The IDTs were fabricated on a planar piezoelectric (LiNbO_3) substrate by conventional lithographical technique. The microgrooves on the PMMA substrate were fabricated by mechanical machining. The microchannel geometry consists of a Y-shaped junction to infuse aqueous and organic phases and to generate a water-in-oil (W/O) emulsion by SAW, and a sheath-flow geometry to form water-in-oil-in-water (W/O/W) double emulsions by shear-rupturing mechanism. First, by generating SAW, we could produce polydisperse W/O emulsion droplets of 1-10 μm in diameter at the Y-junction. Then, at the sheath-flow junction, organic droplets encapsulating fine aqueous droplets (i.e., W/O/W emulsion droplets) could be reproducibly formed in the external aqueous stream. The breakup rate was approximately 200 drops / s^{-1} . The produced W/O/W droplets were highly monodisperse, with a mean diameter of 150 μm and a coefficient of variation (CV) below 5%.

1. 緒 言

これまで、コスメトロジーに関する分野¹⁻⁵⁾に限らず、医学、薬学、食品科学、コロイド科学等を含めた幅広い分野において、多相エマルジョン(図1)の潜在的応用事例について数多くの研究が成されてきた。にもかかわらず、実際に実用化された事例は数少ないと言える。こうした現状の背景としては、従来技術(二段階攪拌法, 図2)では、液滴サイズや内包率が高精度に制御された多相エマルジョンを簡便に調製できなかったという事情が挙げられる。特に、サイズのばらつき(多分散性)に由来する多相エマルジョンの不安定性は、実用化における最も大きな障害であると考えられる。

一方、筆者は近年、マイクロ流路の二段階分岐構造を用いた単分散多相エマルジョン生成法を開発した^{6, 7)}。この手法は、外部液滴と内部液滴をともに単分散状に調製できるほか、内包液滴数を精密に制御できるという長所を有する。しかし本手法には、(a) 流路壁面の局所的な化学修飾が必要であるため装置作製が難しい、(b) 流路の目詰まりや圧力損失の増大といった制限から、1~数 μm の内包滴の生成が困難、といった課題があった。

そこで本研究では、弾性表面波(Surface Acoustic Wave, SAW)の機械振動とマイクロ流路の分岐構造を組み合わせることで単分散多相エマルジョンを生成する手法を提案する。弾性表面波とは基板表面を伝播する超音波振動のひとつであり、圧電材料基板上に配置した櫛型電極(interdigital transducer, IDT)に高周波電圧を印加することで発生させることができる。現在、弾性表面波デバイスは通信用の電子回路素子として広く普及しているが、その一方で、霧化⁸⁻¹⁰⁾、微小液滴や微小物体の搬送¹¹⁻¹⁵⁾、液相の混合^{16, 17)}等、微小液体のハンドリング方法に関する数多くの研究事例が近年報告されている。図3に、water-in-oil-in-water(W/O/W)型の多相エマルジョンを例として、本研究で提案する技術の概要を示す。本技術における多相エマルジョン生成手順は、以下の(1)~(4)から構成される：

- (1) IDTを配置した圧電基板とマイクロ流路基板を図3のように貼り合わせる。
- (2) Y字路に内水相と有機相を導入し、低レイノルズ数($\text{Re} \ll 1$)の二相流を形成する。
- (3) IDTへ高周波電圧を印加してSAWを放射させて二相流に作用させ、W/Oエマルジョンを得る。
- (4) 下流部の分岐路で外水相を合流させて分散相をせん断し、単分散W/O/W液滴を連続的に得る。

本研究課題では、上記の手法により、内包滴の平均径が1-10 μm 程度であり、且つ外部液滴径の変動係数(=標準偏差÷平均径, CV値)が5%以下である、単分散多相エマルジョンの調製を目標とした。



Preparation of monodisperse double emulsions in microfluidic channels on a piezoelectric substrate

Takasi Nisisako

Precision and Intelligence Laboratory,
Tokyo Institute of Technology

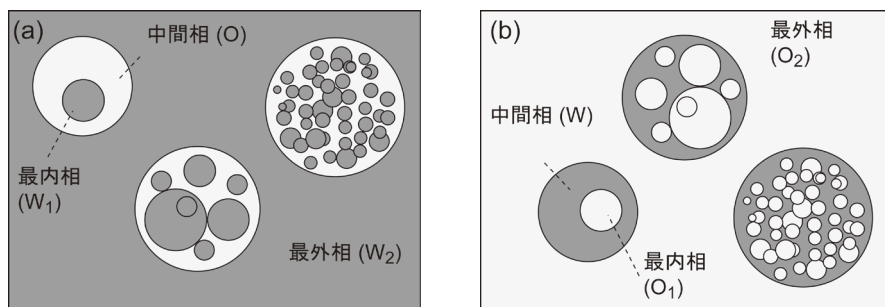


図1 多相エマルション概念図. (a) water-in-oil-in-water (W/O/W) 型. (b) oil-in-water-in-oil (O/W/O) 型.

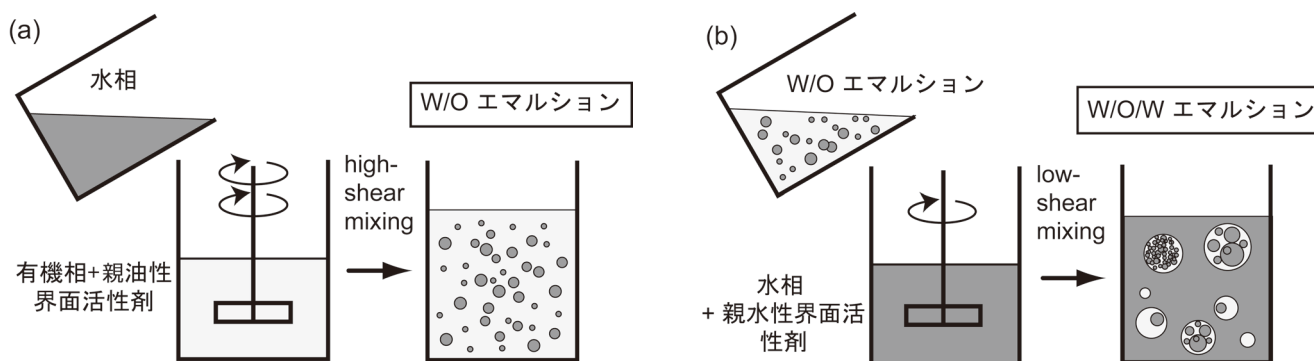


図2 二段階攪拌による多相エマルション生成法の概念図.

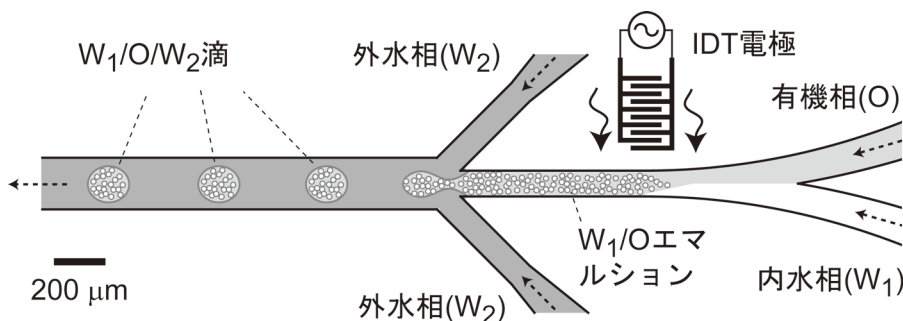


図3 弾性表面波 (SAW) を用いた多相エマルション生成法の概念図.

2. 実験

2・1 IDT 電極の作成

圧電材料基板として 128° Y カットのニオブ酸リチウム (LiNbO_3) (伝播方向: X 軸方向, 厚さ 1.0 mm, 山寿セラミックス) 基板を用い, 表面にフォトリソグラフィにより 10 対の IDT を作成した (図 4). この IDT に交流電圧を印加することにより, 基板表面に弾性表面波の一種であるレイリー波を励振, 電波させることができる. 電極サイズは, 電極幅 0.2 mm, 電極間距離 0.2 mm, 電極交差幅 4 mm とした. 電極はスパッタリングにて Ti を 100 nm, Au を 100 nm を順に堆積させることで作製した.

2・2 マイクロ流路加工

アクリル樹脂 (PMMA) 基板上に, エンドミル (刃径: $100\mu\text{m}$) を用いた機械加工によってマイクロ流路の分岐構造を作成した. 加工溝の断面は矩形状であり, 流路の幅は最小部で $100\mu\text{m}$, 深さは一様に $100\mu\text{m}$ とした. 加工溝の密封は透明粘着テープによって行い, IDT 電極を作成した圧電基板と互いに貼り合せた状態で使用した.

2・3 材料

W/O/W エマルションの内水相としてイオン交換水 ($18.0\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$), 中間相としてデカン (和光純薬工業) に脂溶性界面活性剤 (CR-310, 阪本薬品工業) を 1.0 wt%

添加したものを、外水相として超純水にポリビニルアルコール (PVA) を 2.0 wt% 添加したものをを用いた。

2・4 その他の機材

IDT への高周波電圧の印加には、RF 発生源であるアマチュア無線機 (IC-703, アイコム) を使用した。スペクトラムアナライザ (U3751, アドバンテスト) を用いて SAW 基板の周波数特性を測定し、その結果から駆動周波数として主に 50MHz を選択した。

マイクロ流路内の観察は、光学式顕微鏡 (BX-51, オリンパス) に高速度ビデオカメラ (フォトロン, Fastcam-1024PCI) を組み合わせて行った。流路内への各液体の送液および流量制御にはシリンジポンプ (KDS200, KD Scientific) およびガラスシリンジ (Hamilton) を組み合わせて用いた。生成液滴径の測定は、デジタルデータの画像処理によって行った。

3. 結果

3・1 W/O/W 多相エマルションの生成

図 5 に、SAW による二液混合とマイクロ流路分岐構造での液滴生成を組み合わせた W/O/W エマルション生成の様子を示す。まず印加電圧を 25V_{pp} にし、内水相と中間相の流量をともに 0.5mL h⁻¹ としたところ、Y 字路近傍で内水相と中間相が粗く混合し、直径 10–150μm 程度でばらつきの大きい水滴が有機相中に生成される様子が観察された。この状態で 2つの外水相流の流量をともに 4.0mL h⁻¹ としたところ、合流箇所にて、水滴を内包した有機相滴が外

水相流中に高速で連続生成される様子が観察された (図 5a)。高速度ビデオカメラによる映像で確認したところ、液滴生成周期は毎秒 200 個程度であった。ただし内水相液滴サイズのばらつきが大きく、且つ分岐路への供給が不規則に行われたため、内包液滴個数にも大きなばらつきがあった。

印加電圧を 35V_{pp} とした際の W/O/W 液滴生成の様子を図 5b に示す。印加電圧を上昇させることでより強力な SAW を発生させ、より径の小さい 1–10μm 程度の W/O エマルション滴が生成される様子を確認することができた。ただし、SAW によるミキシングは連続的ではなく間欠的に生じたため、W/O エマルションに密な部分と疎な部分が生じる様子が観察された。下流部の液滴生成地点では外水相流中に毎秒 200 個程度の速度で W/O/W エマルション滴が連続生成される様子を確認することができた。ただし、生成される W/O/W 液滴には、内包率のばらつきが観察された。

3・2 生成された W/O/W エマルション滴

図 6a に生成された W/O/W 多相エマルションの顕微鏡写真を示す。外部液滴サイズのほぼ均一な W/O/W 液滴が得られていることがわかる。外部液滴の平均径は約 149 μm, CV 値は 4.2% であった (図 6b)。一方、内包されている水滴のサイズは直径 1 μm 以下から 10 μm 程度の間でばらついており、多分散状であった。さらに、内水相と中間相の比率が 1:1 になるように流量条件を設定したものの、外部液滴によっては水滴をあまり含まず明らかに内水



図 4 作成した IDT 電極の顕微鏡写真。

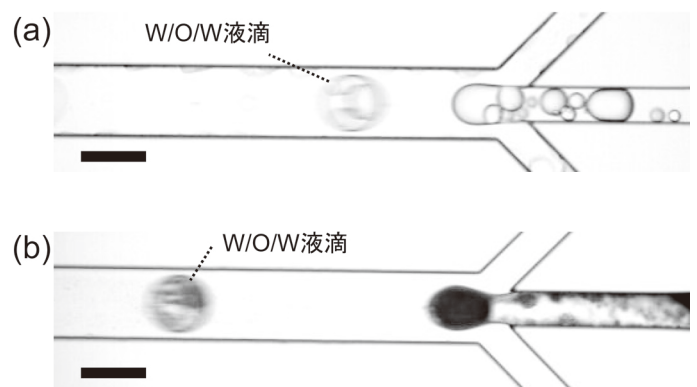


図 5 W/O/W エマルション生成の様子. (a) 印加電圧 25V_{pp} の場合. (b) 印加電圧 35V_{pp} の場合. 流量条件は、内水相と中間相がともに 0.5 mL h⁻¹, 外水相が 8.0 mL h⁻¹ (4.0 mL h⁻¹ × 2). スケールバーは 200μm.

相の体積分率が50%を下回るものも観察され、各外部液滴の水滴内包率には大きなばらつきがあった。なお、生成したエマルションを1時間程度放置して後に観察したところ、合一による多分散化は確認されず、単分散性を保っていた。

4. 考 察

印加電圧が小さい場合、サイズおよびばらつきの大きいW/Oエマルションが生成されたが、印加電圧を上昇させることで、これを改善することが可能であった。しかし印加電圧を上昇させるとIDT電極周囲の温度上昇につながり、これによるマイクロ流路の変形、破損や液体材料成分の変性等が懸念される。この問題を解決するためには、SAW励振のための入力波を単純なサイン波ではなく、高周波と低周波の2つを組み合わせたものにする（パースト駆動）こと、およびペルチェ素子等の冷却機構を装置に組み込むことが有効であると予想される。また、印加電圧を上昇させた場合においてもW/Oエマルションに疎、密な部分が生じたが、これはSAWによるミキシングが連続的ではなく間欠的で不安定であったためと考えられる。これを改善するには、SAW励振の入力波の条件検討とともに、マイクロ流路内にPassiveな混合を行える構造を設けることも有効と考えられる。

W/O/Wエマルションの外部液滴に関しては、CV値4%程度の液滴径分布を確認することができた。このCV値は、既存の多相エマルション生成法による値（数十%）に比べると格段に良い値であり、生成物は十分に単分散であ

ると言える。しかしながら一方では、マイクロ流路分岐構造を用いた液滴生成法で一般的なCV値（1 - 3%）に比べると、やや大きな値となっている。これは、SAWによって生成されてマイクロ流路分岐に供給されるW/Oエマルションの濃度が流れの中で一様ではなく、そのため流れに見かけ上の粘度のむらが生じ、外部液滴の生成をやや不安定にしたためと考えられる。

5. 総 括

以上のように、弾性表面波による二液体の混合技術と、マイクロ流路の分岐構造を用いた液滴生成法を組み合わせ、単分散多相エマルションの生成が可能であることを明らかにした。本研究の手法では、マイクロ流路の二段分岐構造を用いた単分散多相エマルション生成法に比べ、容易に内包液滴を著しく小さくすることができ、また流路内の表面処理も要さないという長所がある。また、本手法により生成される多相エマルションは単分散性に優れるため、従来手法による多分散の生成物に比べて、経時安定性の大幅な改善が見込まれる。また本手法では、外部液滴サイズ、内部液滴サイズ、および内包率を容易且つ高精度に制御できるため、不安定薬剤の安定化、内包成分の徐放特性、経時安定性やレオロジー特性等を評価するためのモデル系の調製手段としても有効と考えられる。

今後、諸条件の検討により、SAW発生における発熱や安定性の問題を解決することで、より簡便な多相エマルション生成法として本技術が利用可能になることが期待される。また、現状の装置では1流路素子での生産量は最大で

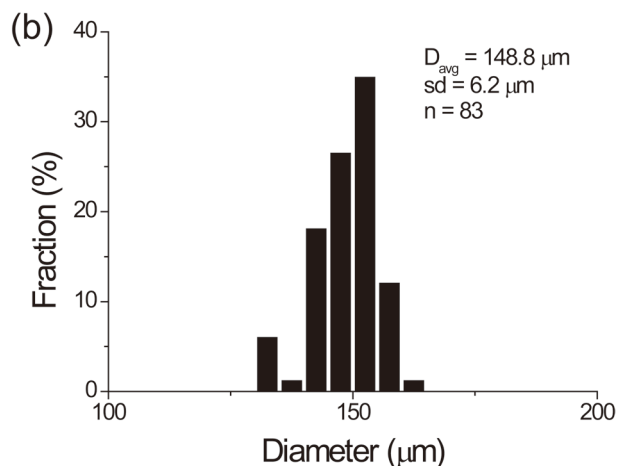
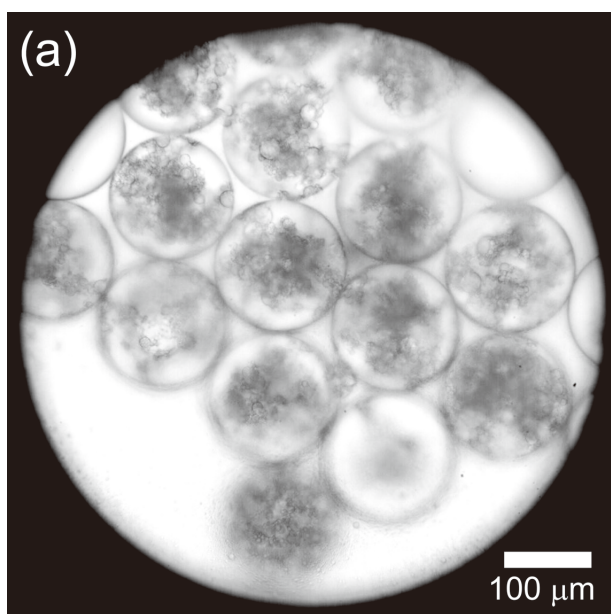


図6 生成されたW/O/W多相エマルション滴と液滴径分布。(a)W/O/Wエマルション滴の顕微鏡写真。生成流量条件は内水相と中間相がともに0.5 mL h⁻¹、外水相が8.0 mL h⁻¹ (4.0 mL h⁻¹ × 2)。(b)外部液滴径分布。平均径149μm, CV値4.2%。

1 g/h 程度にすぎないため、産業界における大量生産の要望に応えるためには生産量の大幅なスケールアップが求められる。これには、リソグラフィ技術の利用による、流路および電極の集積化が有効であると考えられる。たとえば 100 - 1000 本の流路の集積化により数百 g/h ~ 数 kg/h の生産量が見込まれるが、この生産量は数~数十トン/年の生産量に相当し、パイロットプラント用装置として十分なスループットであると考えられる。なお現時点で、流路の集積化によるエマルション生成のスケールアップに関しては実証済みである¹⁸⁾。今後、電極を集積化した圧電基板上への 100 - 200 流路の配置により、上記の生産量を達成することが可能と考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するに当たり、ご支援をいただきました財団法人コスメトロジー研究振興財団に深く感謝いたします。

(引用文献)

- 1) Bonina F, Bader S, Montenegro L, et al., : Three phase emulsions for controlled delivery in the cosmetic field, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 14, 65-74, 1992.
- 2) Yoshida K, Sekine T, Matsuzaki F, et al., : Stability of vitamin A in oil-in-water-in-oil-type multiple emulsions, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76, 195-200, 1999.
- 3) Sekine T, Yoshida K, Matsuzaki F, et al., : A novel method for preparing oil-in-water-in-oil type multiple emulsions using organophilic montmorillonite clay mineral, *J. Surfactants Deterg.*, 2, 309-315, 1999.
- 4) Miyazawa K, Yajima I, Kaneda I, Yanaki T., : Preparation of a new soft capsule for cosmetics, *J. Cosmet. Sci.*, 51, 239-252, 2000.
- 5) 関根知子, : 第3章 マルチプルエマルションの調製法と特徴, 角田光雄監修: 機能性エマルションの技術と評価, シーエムシー出版, 東京, 34-45, 2002.
- 6) Okushima S, Nisisako T, Torii T, Higuchi T, : Controlled production of monodisperse double emulsions by two-step droplet breakup in microfluidic devices, *Langmuir*, 20, 9905-9908, 2004.
- 7) Nisisako T, Okushima S, Torii T, : Controlled formation of monodisperse double emulsions in a multiple-phase microfluidic system, *Soft Matter*, 1, 23-27, 2005.
- 8) Kurosawa M, Watanabe T, Futami A, Higuchi T, : Surface acoustic wave atomizer, *Sens. Actuator A-Phys.*, 50, 69-74, 1995.
- 9) Chono K, Shimizu N, Matsui Y, et al., : Development of novel atomization system based on SAW streaming, *Jpn J. Appl. Phys.*, 43, 2987-2991, 2004.
- 10) Kim JW, Yamagata Y, Takasaki M, et al., : A device for fabricating protein chips by using a surface acoustic wave atomizer and electrostatic deposition, *Sens. Actuator B-Chem.*, 107, 535-545, 2005.
- 11) Wixforth A, Strobl CJ, Gauer C, et al., Acoustic manipulation of small droplets, *Anal. Bioanal. Chem.*, 379, 982-991, 2004.
- 12) Guttenberg Z, Müller H, Habermüller H, et al., : Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump, *Lab Chip*, 5, 308-317, 2005.
- 13) Yamamoto A, Nishimura M, Ooishi Y, et al., : Atomization and stirring of droplets using surface acoustic wave for integrated droplet manipulation, *J. Robotics Mechatronics*, 18, 146-152, 2006.
- 14) Renaudin A, Tabourier P, Zhang V, et al., : SAW nanopump for handling droplets in view of biological applications, *Sens. Actuators B-Chem.*, 113, 389-397, 2006.
- 15) Smorodin T, Beierlein U, Ebbecke J, Wixforth A, : Surface-acoustic-wave-enhanced alignment of thiolated carbon nanotubes on gold electrodes, *Small*, 1, 1188-1190, 2005.
- 16) Sritharan K, Strobl CJ, Schneider MF, et al., : Acoustic mixing at low Reynold' s numbers, *Appl. Phys. Lett.*, 88, 054102, 2006.
- 17) Guttenberg Z, Rathgeber A, Keller S, et al., : Flow profiling of a surface-acoustic-wave nanopump, *Phys. Rev. E*, 70, 056311, 2004.
- 18) Nisisako T, Torii T, : Microfluidic large-scale integration on a chip for mass production of monodisperse droplets and particles, *Lab Chip*, 7, 287-293, 2008.