



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	チップ内マルチオンセンシングを目指したセグメントフロー : 多相流形成の基礎検討
Author(s)	久本, 秀明; 堀内, 隆之; 火原, 彰秀 他
Citation	電気学会論文誌E, 123(4), 124-127 https://doi.org/10.1541/ieejsmas.123.124
Issue Date	2003-04
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71688
Type	journal article
File Information	IEEJ.123-124.pdf



チップ内マルチイオンセンシングを目指した セグメントフロー多相流形成の基礎検討

非会員 久本 秀明* 非会員 堀内 隆之* 非会員 火原 彰秀*
正 員 渡慶次 学** 非会員 北森 武彦*,**

Fundamental Study on the Segmented Flow Injection - Multiphase Flow Formation Towards Microchip-Based Multi-Ion Sensing

Hideaki Hisamoto*, Non-Member, Takayuki Horiuchi*, Non-Member, Akihide Hibara*, Non-Member,
Manabu Tokeshi**, Member, Takehiko Kitamori*,**, Non-Member

A new fluid flow inside the microchannel was successfully developed. The flow created here involves segmented flow injection of plural organic phases into a microchannel followed by contact with a single aqueous phase to form stable organic-aqueous two-layer flow inside the microchannel. Fundamental study on the developed flow inside the microchannel was performed by monitoring the dye-doped segmented organic phases by thermal lens microscopy (TLM). Excellent repeatability and very small injection volume in developing segmented flow were realized. The new fluid flow created here is expected to allow us multi-ion sensing, which is not easily demonstrated by conventional ion sensor technology using a solvent polymeric membrane, by combining with neutral ionophore-based ion pair extraction using plural numbers of organic phases containing different ionophore molecules.

キーワード：セグメントフローインジェクション，マイクロチップ，マイクロ TAS，マルチイオン，多相流

Keywords：Segmented flow injection, Microchip, μ -TAS, Multi-ion, Multiphase flow

1. はじめに

様々な化学種を含む水溶液中の特定イオンを高選択的に測定できるデバイスとして、これまでイオン選択性電極、あるいはイオン選択性オプトードといったイオンセンサーの研究が多くなされてきた⁽¹⁾⁻⁽³⁾。しかしながら、イオンセンサーは基本的に1つのデバイスで1種類のイオンのみしか測定できず、しかも通常大きなサイズのポリマー膜を用いるために集積化が困難である。一方、我々は、マイクロチャネルのような液相微小空間が提供する大きな比界面積及び短い分子拡散距離を利用したマイクロチップ内液抽出がイオンセンシングにおいて極めて有効な手法であることを明らかにしてきた⁽⁴⁾⁻⁽¹⁰⁾。中でも高選択性イオノフォア分

子と脂溶性アニオン性色素を利用したイオン対抽出のマイクロチップ集積化では、ポリマー膜ではなく、粘性の低い

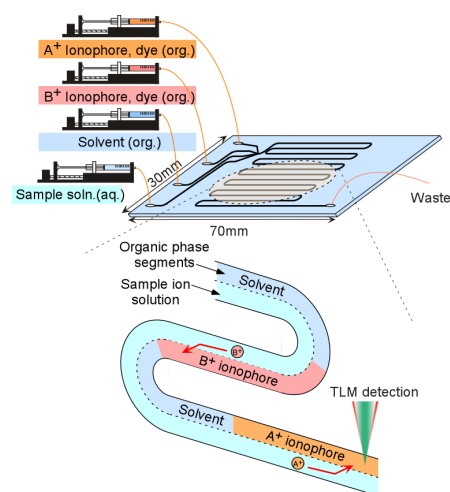


図1 セグメントフローインジェクション・多相流形成に基づくマルチイオンセンシングのコンセプト

Fig. 1. Concept of multi-ion sensing based on segmented flow injection and multi layer flow.

* 東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻
〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1
Department of Applied Chemistry, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656

** (財) 神奈川科学技術アカデミー
インテグレート・ケミストリープロジェクト
〒213-0012 神奈川県川崎市高津区坂戸 3-2-1
Integrated Chemistry Project, Kanagawa Academy of Science
and Technology, 3-2-1 Sakado, Takatsu-ku, Kawasaki, Kanagawa
213-0012

有機溶媒をセンシング相として用いる多数のメリットを報告した⁽¹⁰⁾。

我々は、このようなマイクロチップ内液抽出を 1 枚のマイクロチップ中でのマルチイオンセンシングに有効に活用していくために、図 1 に示すコンセプトを発想した。これは、異なるイオノフォア分子を含有する複数の有機相を独立したセグメントとしてチップ中に導入し、多数のサンプルイオンを含む 1 種類の水相と接触させるものであり、1 枚のチップを用いた多種類イオン連続測定を可能とする。これを実現するためには、「有機相のセグメント導入・水相との 2 相流形成」という新しいチャンネル内微小流体開発を実現する必要がある。

そこで我々は、上記を実現するための基礎検討として色素分子を含有する有機相を用い、有機相のセグメントフローインジェクション及び水相との 2 相合流の実現と、チャンネル内に形成される有機相セグメントの挙動について検討した。

2. マイクロチップの作製

図 2 に作製したマイクロチップの写真を示す。フォトリソグラフィ・ケミカルエッチングにより、既報の方法によって作製した⁽⁹⁾。チャンネル幅・深さはそれぞれ、100 μ m、45 μ m である。ここでは複数の有機相と 1 つの水相の合流を想定し、有機相導入口を 4 つ (Org.1-4)、水相導入口を 1 つ (Aq.1) 有するマイクロチャンネルをデザインした。シリンジポンプの ON-OFF スwitchングによって、4 本の有機相導入口が最初に合流する部位で、一定体積の有機相がセグメント状に切り取られる。このセグメント化された有機相が下流の導入口 (Aq.1) から導入された水相とさらに合流することによって、図 1 に示した流体制御が実現できると考えた。ここでは 4 つある有機相導入口のうち、Org.2、Org.3 は使用せず、Org.1 及び Org.4 を用いて以下の基礎検討を行った。

3. チャンネル内微小流体開発の基礎検討

〈3・1〉 有機相のセグメント導入 まず、有機相のセグメント導入の基礎検討として、Org.1 から色素 (KD-A3 : 参考文献(10)参照) のブタノール溶液、Org.4 から溶質を含まないブタノールを導入し、シリンジポンプの ON-OFF 制

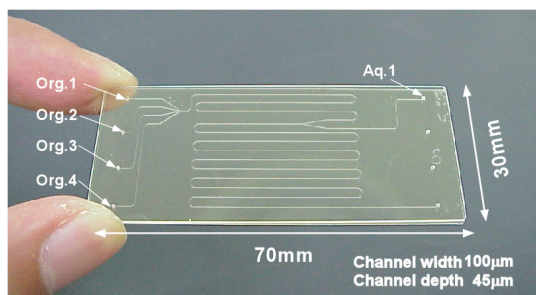


図 2 作製したマイクロチップ
Fig. 2. Microchip.

御に基づくセグメント導入を試みた。図 3 に実験の模式図を示す。ここでは 1 μ l/min の流量で Org.1 (色素含有有機相) を 30 秒、Org.4 (溶質を含まない有機相) を 60 秒導入するサイクルを繰り返し、有機相合流点から下流 23mm の地点において、熱レンズ顕微鏡検出を行った。この際、Org.2,3 のチャンネルには有機相のみを導入して穴を塞いだ。

結果を図 4 に示す。熱レンズ信号挙動から、色素を含有する有機相が切り取られている様子がわかる。このピーク強度から計算される相対標準偏差は 2.5% 以下であり、再現性の高いセグメント導入が可能であることがわかった。

次に、この色素含有有機相セグメントの導入時間を検討した。ここでは Org.4 の導入時間を 60 秒に固定し、Org.1 の導入時間を 5 秒から 120 秒まで変化させ、図 4 に示すような形状で得られる信号のピーク強度を調べた。結果を図 5 に示す。導入時間は有機相体積にほぼ比例するため、導入時間を短くすることができれば、将来、高価なイオノフォア分子や脂溶性 pH 指示薬の使用量を微量化することが可能である。

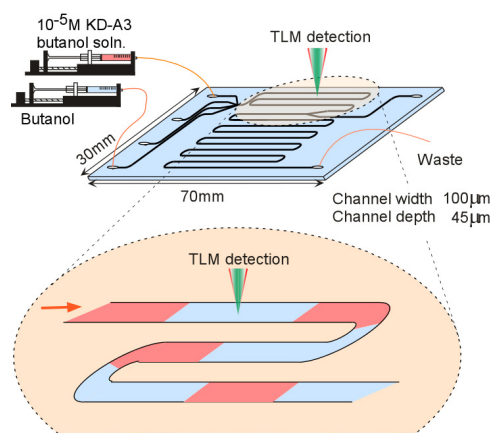


図 3 有機相セグメント導入実験の模式図
Fig. 3. Schematic illustration of experimental setup for segmented flow injection of organic phase.

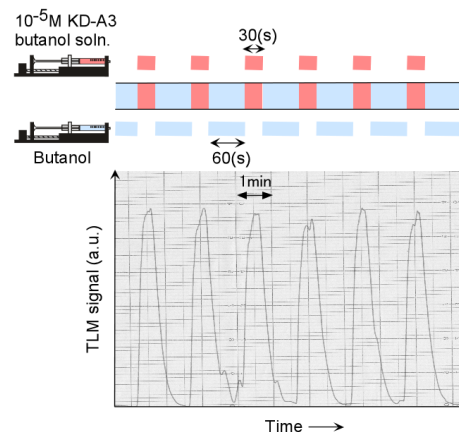


図 4 有機相セグメント導入時の熱レンズ信号
Fig. 4. TLM signal obtained under segmented flow injection.

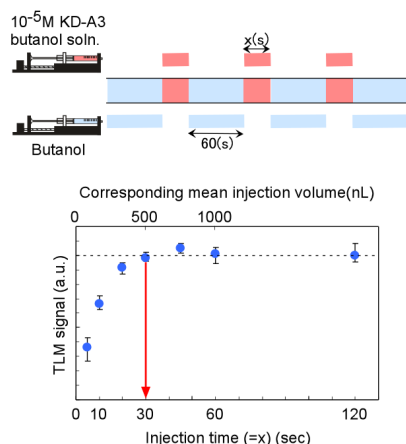


図5 有機相セグメント導入時間と熱レンズ信号強度変化の関係

Fig. 5. Relationship between TLM signal and injection time of segmented flow.

図5より、セグメント導入時間が30秒以上であれば、有機相セグメント間の希釈などの影響を受けないことがわかった。セグメント導入時間30秒における有機相導入体積は約500nlであり、以前に我々が検討したイオン対抽出実験における実験条件を適用した場合⁽¹⁰⁾、1セグメントに含まれるイオノフォア及び脂溶性 pH 指示薬量はそれぞれ、2.8ng及び1.7ngとなる。通常のイオンセンサーでは数mgの高価な試薬を用いてセンサー膜を作製するが、その膜を繰り返して使用するために測定毎に応答が劣化してくる、という欠点があった。しかしながら、今回のシステムにおいては同じ量の試薬を用いれば 10^6 セグメントにも及ぶ新鮮な有機相をチャンネル内に導入することができ、試薬の劣化を考慮する必要は一切ない。したがって、センサー応答の点からも飛躍的な応答性向上を達成できることが期待される。

現在限界となっている500nlの試料量は、キャピラリー接続部のデッド・ボリュームの溶液入れ替え体積に起因していると考えられる。実際、今回用いたマイクロチップの導入穴(直径500 μ m、深さ700 μ m)、及びOリング(直径740 μ m、深さ1000 μ m)の内容積の和は約400nlとなっており、今回得られた限界値とよく一致する。このことは、キャピラリー接続部の形状を工夫することで、より少ない有機相の切り取りが実現できる可能性があることを示しており、今後の改善によって、さらに少ない量での分析が可能になると考えられる。

〈3・2〉 セグメント状有機相-水相の2相合流

ここではセグメント状有機相-水相の2相合流と、それに伴う有機相セグメントの流路に沿った形状変化を検討した。マイクロチップ内流路において、有機相・水相が流れる流路と合流後の流路のチャンネル幅が同じ場合、体積減少に伴って、切り取った有機相セグメントのピーク挙動が変化すると考えられる。実際にこの有機相セグメントを抽出や反応へ応用する場合、セグメント形状が流路に沿ってどのように変化していくかを知ることは必要不可欠である。そこで、

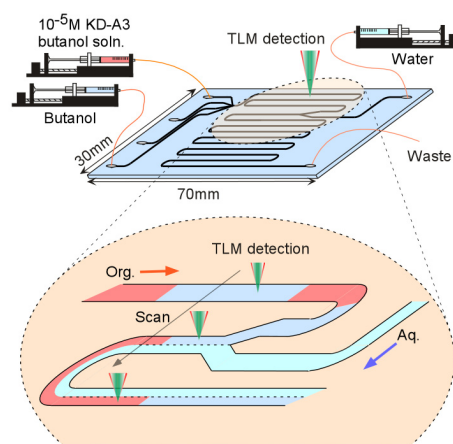


図6 有機相セグメント導入・2相合流実験の模式図

Fig. 6. Schematic illustration of experimental procedure for segmented flow injection - two phase confluence.

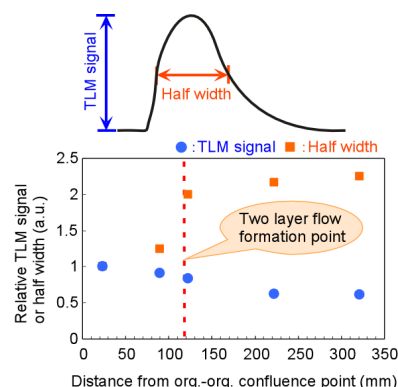


図7 熱レンズ信号強度及び半値幅の測定位置依存性

Fig. 7. position dependence of relative TKM signal intensity and half width.

ここでは得られるピーク形状と合流点からの距離の関係を検討した。

実験の模式図を図6に示す。Aq.1から純水を導入し、熱レンズ顕微鏡の焦点位置(検出点)をチャンネルに沿ってスキャンし、有機相におけるピーク状信号挙動の、信号強度及び半値幅を検討した。色素含有有機相の導入時間(導入体積)は、前項の検討において、飽和信号強度の得られた最短時間の30秒(約500nl)を選択した。

図7に結果を示す。横軸に有機相合流点からの距離をとり、縦軸には有機相合流点の下流23mmでのピーク形状を基準とした場合の、信号強度及び半値幅を相対値で示した。測定点が下流になるにしたがって、半値幅は増加し、ピーク信号強度は減少する傾向が見られる。

半値幅に関しては油水界面形成地点を境に約2倍に増加しているが、これは油が混じり合わないために、有機相、水相それぞれの流れる領域体積が約半分まで減少したことによる。信号強度が徐々に下がっているのは、色素含有有機相セグメントの前後を流れる、溶質を含まない溶媒からの希釈効果を受けているためと考えられる。しかしながら、油水合流後の強度は最下流の300mm付近まできてもまだ約

90%程度を保っており、有機相セグメントとしての形状を十分に維持している。最下流における油水接触時間は線流速(約 8.5mm/sec)から考えて約 24 秒にも及び、幅 100 μ m のチャンネル中央に形成される液液界面から分子が他相へ移動するために必要な拡散時間が約 10 秒程度と見積もられることから、十分な物質移動・反応時間を得ることができる。

今回開発した「有機相のセグメント導入・水相との 2 相流形成」という新しいチャンネル内流体は、セグメント状有機相として、異なるニュートラルイオノフォアと脂溶性色素を含有する有機相を用いれば、これまでのイオンセンサーでは実現が困難であったマルチイオンセンシングを、1 枚のチップ上で実現できると考えられる。

4. まとめと今後の展望

有機相のセグメントフローインジェクション及び多相流形成が可能なマイクロチップをデザインし、基礎検討を行った。ここでは多数の有機相セグメントの切り取り及び、1 種類の水相との接触という新しいチャンネル内流体開発に成功した。

今回実現した再現性の高い微量有機相セグメントの切り取り及び 2 相合流技術は、多数の試薬を 1 種類の試薬と連続的に反応させる技術と見ることができる。したがって、上記のようなマルチイオンセンシングのみならず、マイクロチップリアクターを用いた合成反応における最適組成探索や、最適反応経路探索などへの適用も期待できる。

マイクロチップ上に作製したマイクロチャンネルは基板上に作製した「キャピラリー」と見ることができる。実際、マイクロチップ・ケミストリーの黎明期はキャピラリー電気泳動技術のマイクロチップ集積化が主流であった。しかしながら、今後のマイクロチップ・ケミストリーで重要となるのはマイクロチャンネルの特徴・微小流体の特徴を最大限に活用することであると筆者らは考える。筆者らは今回開発した「有機相のセグメント導入・水相との 2 相流形成」という新しい微小流体操作技術が、イオンセンシングのみにとどまることなく、様々な分野へ応用されていくことを期待している。

(平成 14 年 7 月 24 日受付, 平成 14 年 11 月 12 日再受付)

文 献

- (1) E.Bakker, P.Buhlmann, E.Pretsch : "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics", *Chem. Rev.* **97**, pp.3083-3132 (1997)
- (2) P.Buhlmann, E.Pretsch, E.Bakker : "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors", *Chem. Rev.* **98**, pp.1593-1687 (1998)
- (3) H.Hisamoto, K.Suzuki : "Ion-selective optodes: current developments and future prospects", *Trends Anal. Chem.* **18**, pp.513-524 (1999)
- (4) M.Tokeshi, T.Minagawa, T.Kitamori : "Integration of a Microextraction System on a Glass Chip: Ion-Pair Solvent Extraction on Fe(II) with 4, 7-Diphenyl-1, 10-phenanthroline disulfonic Acid and Tri-n-octylmethylammonium Chloride", *Anal. Chem.* **72**, pp.1711-1714 (2000)
- (5) K.Sato, M.Tokeshi, T.Sawada, T.Kitamori : "Molecular Transport between Two Phases in a Microchannel", *Anal. Sci.* **16**, pp.455-456 (2000)

- (6) M.Tokeshi, T.Minagawa, T.Kitamori : "Integration of a Microextraction System: Solvent Extraction of Co-2-Nitroso-5-dimethylaminophenol Complex on a Microchip", *J. Chromatogr. A* **894**, pp.19-23 (2000)
- (7) T.Minagawa, M.Tokeshi, T.Kitamori : "Integration of a Wet Analysis System on a Glass Chip: Determination of Co(II) as 2-Nitroso-1-Naphthol Chelates by Solvent extraction and Thermal Lens Microscope", *Lab on a Chip*, **1**, pp.72-75 (2001)
- (8) M.Surmeian, A.Hibara, M.N.Slyadnev, K.Uchiyama, H.Hisamoto, T.Kitamori : "Distribution of Methyl Red on Water-Organic Liquid Interface in Microchannel", *Anal. Lett.*, **34**, pp.1421-1429 (2001)
- (9) A.Hibara, M.Tokeshi, K.Uchiyama, H.Hisamoto, T.Kitamori : "Integrated Multilayer Flow System on a Microchip", *Anal. Sci.* **17**, pp.89-93 (2001)
- (10) H.Hisamoto, T.Horiuchi, M.Tokeshi, A.Hibara, T.Kitamori : "On-Chip Integration of Neutral Ionophore-Based Ion Pair Extraction Reaction", *Anal. Chem.* **73**, pp.1382-1386 (2001)

久 本 秀 明 (非会員) 1969 年 1 月 4 日生まれ。1996 年 3 月慶應義塾大学大学院理工学研究科応用化学専攻博士課程修了。1996 年慶應義塾大学理工学部応用化学科助手。化学センサーの開発に従事。1999 年より東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻講師、化学システムのマイクロチップ集積化に従事。工博。



堀 内 隆 之 (非会員) 1975 年 2 月 14 日生まれ。2001 年 3 月東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻修士課程修了。工学修士。



火 原 彰 秀 (非会員) 1972 年 7 月 27 日生まれ。東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻博士課程中退。1999 年より東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻助手、新規光熱変換分光法の開発、液相微小空間化学の研究に従事。



渡 慶 次 学 (正員) 1966 年 5 月 27 日生まれ。1997 年 3 月九州大学大学院総合理工学研究科分子工学専攻博士課程修了。神奈川科学技術アカデミー北森「インテグレートド・ケミストリー」プロジェクト副研究室長、マイクロ化学システムの開発に従事。工博。



北 森 武 彦 (非会員) 1955 年 6 月 1 日生まれ。1980 年東京大学教養学部基礎科学科卒業。1998 年東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻教授。神奈川科学技術アカデミー北森「インテグレートド・ケミストリー」プロジェクト研究室長、マイクロ化学システムの開発に従事。工博。

