

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：12608

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20H02512

研究課題名（和文）クロススリット型マイクロ乳化プロセス技術の基盤研究

研究課題名（英文）Fundamental research on cross-slit type microfluidic emulsification process technology

研究代表者

西迫 貴志（Nisisako, Takasi）

東京工業大学・科学技術創成研究院・准教授

研究者番号：10431983

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、マイクロ流路アレイとスリット状流路を組み合わせた単純なクロススリット構造により、液滴の生産量を容易にスケールアップする装置・手法についての基盤研究を行った。三次元流体解析、微細加工、および液滴・粒子生成試験、を組み合わせることで、上記クロススリット構造における液滴生成機構を明らかにし、本プロセスを単分散液滴および粒子の生産技術として展開するための研究基盤の確立を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳化操作は化粧品、医薬品、農薬、食品など、幅広い産業分野において普遍的に用いられており、粒径の任意制御は長年にわたる究極的な目標とされてきた。したがって、本研究の成果をさらに発展させることで、既存の液滴・粒子製品の単分散性向上を望むこれらの分野の研究開発現場に幅広くイノベーションをもたらす一方で、これまで研究室に留まっていたマイクロ流路由来の高付加価値な新奇材料が広く社会に普及することにもつながると期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted fundamental research on a device and method to easily scale up droplet production using a simple cross-slit structure combining a microchannel array and slit-shaped channels. By combining three-dimensional fluid analysis, microfabrication, and droplet and particle generation tests, we elucidated the droplet generation mechanism in the cross-slit structure and aimed to establish a research foundation for developing this process as a production technology for monodisperse droplets and particles.

研究分野：マイクロフルイディクス

キーワード：マイクロナノシステム マイクロフルイディクス エマルション 液滴

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) マイクロ流路の分岐構造を用いた液滴生成法は、マイクロ流路の交差部で液滴となる相（分散相）と液滴の外側となる相（連続相）を合流させ、単分散（一般に直径の CV 値（標準偏差÷平均）が 5% 以下）液滴を連続生成する技術である。近年、次世代 DNA 解析や単一細胞解析などバイオ・医療分野で本手法の利用が進む一方、様々な高機能エマルションや固体微粒子など、新奇ナノ・マイクロ材料の生成事例も数多く報告されてきた（Curr. Opin. Colloid Interface Sci. 2016）。

(2) 本手法では、低レイノルズ数の限られた流量範囲においてのみ単分散液滴が生成されるため、単一流路の生産性は極めて低く（ $< 1 \text{ g h}^{-1}$ ）、生産技術としての応用にはマイクロ流路分岐の多数集積化による生産性の飛躍的向上（ナンバリングアップ）が必須となる。そこで研究代表者をはじめ（Lab Chip 2008, 2012）、多くの研究者がマイクロ流路分岐の集積化装置を報告してきた（Korean J. Chem. Eng. 2016）。

(3) しかし多くの従来装置では、液滴生成部に流量を均等に分配するために、分散相と連続相の供給と生成物回収用の多数の流路と貫通孔を 2 次元、3 次元に複雑に配置する必要があり、(a) 装置作製が困難、(b) 目詰まりし易く扱い辛い、という短所がある。結果、当該マイクロ流路技術および生成液滴・粒子材料が研究室に留まり広く社会に普及しないという問題が生じている。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、上述の従来装置の問題を解決するため、研究代表者が近年提案したクロススリット型マイクロ乳化技術の基盤研究を実施する。クロススリット型とは、並列スリットを橋渡しするようにマイクロ流路アレイを単純に組み合わせた構造を指し、既存技術と異なり複雑な流路配置や多数の貫通孔を含まないため、容易に作製・運用可能である。

(2) 仮説検証用装置として、ステンレス片にワイヤ放電加工によって幅 $100 \mu\text{m}$ 、長さ 2.5 cm のスリットを 0.6 mm ピッチで 3 本加工した。一方、幅と深さが $100 \mu\text{m}$ 、長さ 14 mm の溝を 125 本並べた PDMS 製チップを鋳型転写により作製した。これらの 2 部品を貼り合わせ、分散相として純水、連続相としてコーン油を送液すると、分散相供給スリットとマイクロ流路アレイの結合部で W/O 液滴の連続生成を確認した。また、多重環状スリットを有するステンレス部品と、放射状溝アレイを有する PDMS チップを貼り合わせ、同様に W/O 液滴の連続生成を確認した。

(3) このように新たにクロススリット型マイクロ乳化プロセスを見出したが、その詳しいメカニズム等ははまだ不明である。そこで本研究では、本プロセスを単分散液滴・粒子の生産技術として展開するための学理構築、基礎技術の確立を目的とする。

3. 研究の方法

3.1. 概要

(1) クロススリット型マイクロ乳化プロセスの基盤技術確立および学理構築を目的とし、三次元流体解析、微細加工、液滴・粒子生成試験を適宜連携させて本研究を展開する。以下、それぞれの項目の具体的内容について説明する。

3.2. 三次元流体解析

(1) クロススリット構造製作への反映を目的とし、流量分配が液滴生成に与える影響を可視化するため、三次元流体解析を導入する。解析ソフトウェア ANSYS-Fluent をスタンドアロン PC で動作させ、単一流路および少数流路（8–16 本）の解析から着手する。スリットと流路のサイズ比を幅広く変化させ、マイクロ流路と貫通スリットが交差する三次元構造とその濡れ性が流量分配および液滴生成現象に与える影響を評価する。

(2) スタンドアロン PC に加えて大規模計算機 TSUBAME を用いた三次元流体解析を実施する。スタンドアロン PC を用いて単一、少数流路にて実施したシミュレーションを、より多流路（100–1000 本）モデルに対し、本学の運用するスーパーコンピュータ TSUBAME を用いて実施する。

3.3. 微細加工

(1) PDMS 製チップの作製: スリット部品と組み合わせる PDMS 製の溝アレイチップを作製する。フィルム型マスクとマスクアライナを組み合わせたフォトリソグラフィ、あるいはマスクレス露光装置を用い、ネガ型フォトレジスト SU-8 に適用して鋳型を作製し、幅と深さが 10–100 μm の溝を数 cm 角の PDMS チップ上に一列または放射状に配置する。溝形状・サイズのばらつきを電子顕微鏡と触針式表面形状測定機により評価する。さらに、PDMS 製チップを用いた O/W 液滴生成を目的とし、PDMS 流路の親水化技術を確立する。実績のあるプラズマ処理、ポリビニルアルコール (PVA) や高分子電解質の塗布処理を実施し、親水性と耐久性を比較、評価する。

(2) ガラス製チップの作製: PDMS 製チップに加え、より耐薬品性が高く、将来的に実生産設備として有望視されるガラス製チップを作製する。軸付砥石またはダイシングブレードを用いた機械加工により、最小幅 100 μm 、深さ 10–100 μm の溝を 16–128 本、数 cm 角の合成石英基板上に加工する。一方、上記のガラス製溝加工チップと貼り合わせるガラス製スリット部品を、同様に軸付砥石またはダイシングブレードを用いた機械加工によって作製する。最小幅 100 μm の貫通スリットを厚み 1–2 mm の合成石英基板上に加工し、ガラス製溝加工チップと熱溶着により貼り合せ、スリット・マイクロ流路アレイ一体型チップとして用いる。

(3) ステンレス製スリット部品の作製: PDMS 製チップおよびガラス製チップと組み合わせて用いる、ステンレス製スリット部品をワイヤ放電加工にて作製する。流量分配予測を基に、液滴生成への影響を評価するため、100–500 μm の範囲で様々な幅のスリットを加工する。さらに、高流量、高圧力下にて安定送液を行うために酸素プラズマ処理による PDMS とステンレスの接合技術を確立する。また、多相液滴や機能性粒子の生成用にスリットを 4 本以上に増加させたスリット部品を作製する。

3.4. 液滴・粒子生成試験

(1) W/O 液滴の生成: 分散相として純水、連続相としてオレイン酸をシリンジポンプにより送液し、クロススリット構造において W/O 液滴が生成する様子を顕微鏡と高速度ビデオカメラを組み合わせて観察・記録する。分散相と連続相の流量を幅広く変化させ、液滴が生成する流量範囲、液滴径、液滴生成速度の流量依存性を測定する。また各流路における分散相流量を生成液滴径と生成速度から算出し、上記解析結果と比較した上で、分配流量のばらつきを抑えるためのクロススリット構造の設計指針を獲得する。

(2) O/W 液滴の生成: ガラス製チップおよび親水化した PDMS-ステンレス装置に、分散相としてアクリルモノマー、連続相として PVA の 2 wt% 水溶液を送液し、O/W 液滴生成試験を行い、単分散 O/W 液滴を生成する。さらに、上記の試験においてアクリルモノマーに光または熱開始剤を添加して単分散 O/W 液滴を生成し、装置外にて UV 光照射または湯浴により硬化させ、単分散アクリル粒子を生成する。

(3) 機能性液滴・粒子生成: 上記手法により作製したデバイスを用いた各種液滴生成試験を行う。4 スリットを有する PDMS-ステンレスデバイスに、第 1 分散相としてアクリルモノマー、第 2 分散相としてシリコンオイル、連続相として PVA 水溶液を導入し、サイズの揃った二相ヤヌス液滴あるいは二相コアシェル滴が並列流路で生成し、重合処理を介して非球形粒子あるいはカプセル状の粒子が得られることを確認する。さらに、分散相としてアルギン酸ナトリウム水溶液、連続相としてコーン油を送液するのに加え、塩化カルシウム水溶液とコーン油中に分散した油中水型エマルジョンを送液し、スリット内部でイオン交換反応により、アルギン酸カルシウムゲル粒子を作製する。

4. 研究成果

4.1. 三次元流体解析

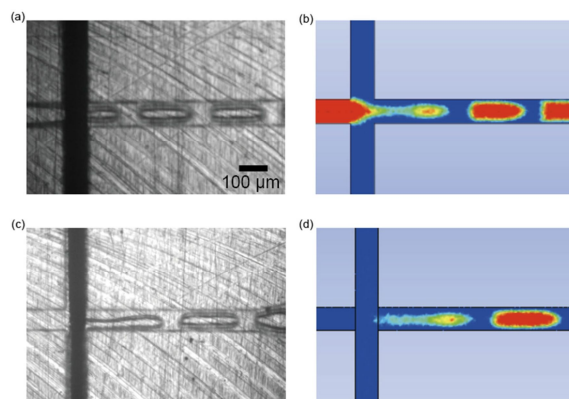


図 1. 単一流路クロススリット構造の三次元シミュレーションと実験結果の比較。

(1) 三次元流体解析ソフトウェア ANSYS-Fluent をスタンドアロン PC で動作させ、少数流路(1-32本)の解析を実施した。中央スリットに分散相を供給する場合と連続相を供給する場合の両方において、スリット近傍の三次元形状を幅広く変化させ、流量分配と液滴生成現象に与える影響を評価し、実験結果との比較を行った(図1,2)。

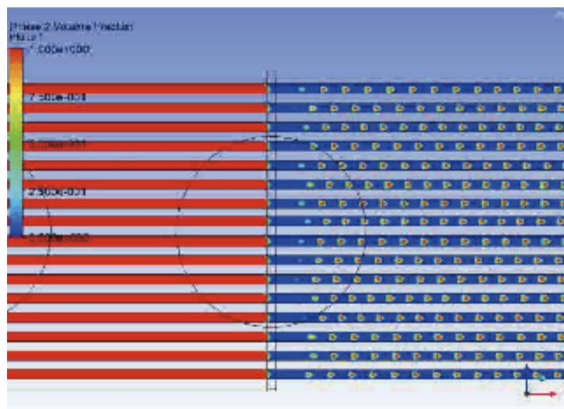


図2. 複数流路クロススリット構造の三次元シミュレーションの例。

(2) スタンドアロン PC に加えて大規模計算機 TSUBAME を用いた ANSYS-Fluent による三次元流体解析を多流路(100-1000本)モデルに対して実施した。マイクロ流路と貫通スリットが交差する三次元構造およびその近傍の表面濡れ性がどのように液滴生成挙動に影響を及ぼしているのかをより理解するため、単一流路および並列流路構造のモデルにおいて検討を進めた結果、液滴生成部の三次元形状の違い、平行スリット型の両端部形状、および分散相、連続相の入力方法が液滴生成に与える影響について、実験データと程よく一致する解析結果が得られた。

4.2. 微細加工

(1) PDMS 製チップの作製：フィルム型マスク(解像度 25400 dpi)を用いたフォトリソグラフィ、あるいはマスクレス露光装置(DDB-701-DL, ネオアーク)を用い、ネガ型フォトレジスト SU-8 製の鋳型を作製し、幅と深さが 10-100 μm の溝を数 cm 角の PDMS チップ上に最大 1250 本、一列に配置した(図3)。溝形状・サイズのばらつきを電子顕微鏡と触針式表面形状測定機により、形状・サイズの揃った溝アレイが作製できていることを確認した。さらに、酸素プラズマ処理の他、PVA や高分子電解質である poly(allylamine hydrochloride)(PAH, $M_w = 17,500 \text{ g mol}^{-1}$)および poly(sodium 4-styrenesulfonate)(PSS, $M_w = 70,000 \text{ g mol}^{-1}$)の水溶液で繰り返し塗布処理を行うことにより、表面の濡れ性を親水性に改質できることを確認し、O/W 液滴生成に用いた。

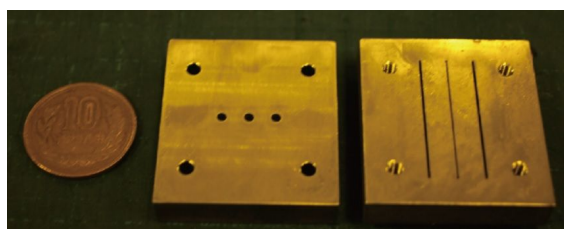
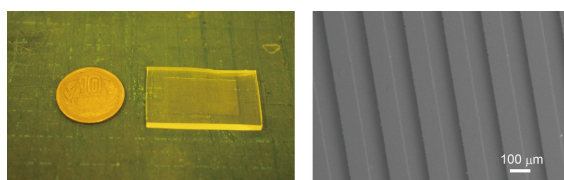


図3. PDMS 製チップとステンレス製スリット部品。

(2) ガラス製チップの作製：軸付砥石を用いた機械加工により、最小幅 100 μm 、深さ 100 μm の溝を 1-16 本、数 cm 角の合成石英基板上に加工した。一方、ダイシングブレードを用いた幅 200 μm 、深さ 100 μm の溝の加工も実施した。さらに、上記のガラス製溝加工チップと貼り合わせるガラス製スリット部品を、同様にダイシングブレードを用いた機械加工によって作製した。最小幅 200 μm の貫通スリットを厚み 1 mm の合成石英基板上に加工し、ガラス製溝加工チップと熱溶着により貼り合せ、スリット-マイクロ流路アレイ型チップとして使用した(図4)。

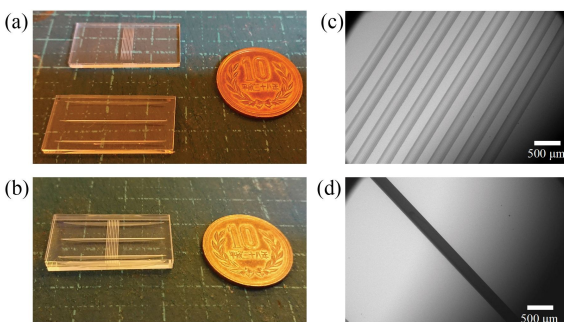


図4. ガラス製溝アレイとスリット。

(3) ステンレス製スリット部品の作製：ステンレス(SUS304)製スリット部品をワイヤ放電加工にて作製した。液滴生成への影響を評価するため、幅 100, 250, 500 μm のスリットをさまざまなピッチで配置したものを加工した。さらに、PDMS 製チップと強固に接合するための酸素プラズマ処理条件について検討を行い、その接合強度をインライン圧力センサ(XL, Fluigent)を用いたバースト試験により評価した。また、多相液滴や機能性粒子の生成用にスリットを 4 本以上に増加させたスリット部品を作製して用いた。

4.3. 液滴・粒子生成試験

(1) W/O 液滴の生成：分散相として純水，連続相としてオレイン酸をモデル材料としてシリンジポンプを用いて送液し，クロススリット構造において直径の CV 値が 5% 以下の単分散 W/O 液滴が生成する様子を顕微鏡と高速度ビデオカメラを用いて確認・記録した (図 5)。

(2) O/W 液滴の生成：ガラス製チップおよび上記手法により親水化した PDMS-ステンレス装置に，分散相としてアクリルモノマー又はシリコンオイル，連続相として PVA の 2 wt% 水溶液を送液し，O/W 液滴生成試験を行った結果，平均径約 100 μm ，CV 値 5% 以下の単分散 O/W 液滴が得られた。さらに，単分散アクリルモノマー滴を装置外にて UV 照射または湯浴により硬化させたところ，CV 値 5% 以下の単分散球状アクリル粒子を生成できた。

(3) 二相液滴の生成：4 スリットを有するスリットデバイスに，16–128 本のマイクロ流路が並列化された PDMS チップを貼り合わせた。さらに，Layer-by-layer 法により高分子電解質を流路壁面に塗布し，流路全域の親水化を行って用いた。このデバイスに，第 1 分散相としてアクリルモノマー，第 2 分散相としてシリコンオイル，連続相として PVA 水溶液を導入することにより，先ずアクリルモノマーとシリコンオイルの二相並行流がアクリルモノマーが流れるマイクロ流路と第 2 分散相供給スリットの交差部にて形成された。さらに，その二相並行流が連続相供給スリットと交差する箇所にて，サイズの揃った二相液滴が並列流路で連続生成される様子を確認した (図 6)。またシリコンオイルに添加する界面活性剤の濃度調整により，サイズの揃った二相ヤヌス液滴あるいは二相コアシェル滴が本デバイスで生成できることを確認した。さらに重合処理を介し，非球形粒子あるいはカプセル状の粒子が得られることを確認した。

(4) アルギン酸カルシウムゲル粒子の生成：4 スリットを有する PDMS-ステンレスデバイス (流路数 16–128 本) に，分散相としてアルギン酸ナトリウムの 2 wt% 水溶液，連続相としてコーン油を送液するのに加え，塩化カルシウム水溶液をコーン油中に分散した平均径数 μm の W/O エマルジョンを送液したところ，サイズの揃ったアルギン酸ナトリウム水滴が生成され (平均径 101 μm ，CV 値 2.7%)，カルシウムイオンを含む W/O エマルジョンと排出スリットで合流し，スリット内部でイオン交換反応により，直径 83 μm ，CV 値 4.6% の単分散アルギン酸カルシウムゲル粒子が得られた (図 7)。さらに，生細胞 HEK-293 をあらかじめアルギン酸ナトリウム水溶液に $4.0 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ の濃度で分散させておくことで，細胞をカプセル化した単分散ゲル粒子が得られた。ゲル粒子に担持された細胞に対し Live/dead assay を行ったところ，細胞の生存率は 85% であった。

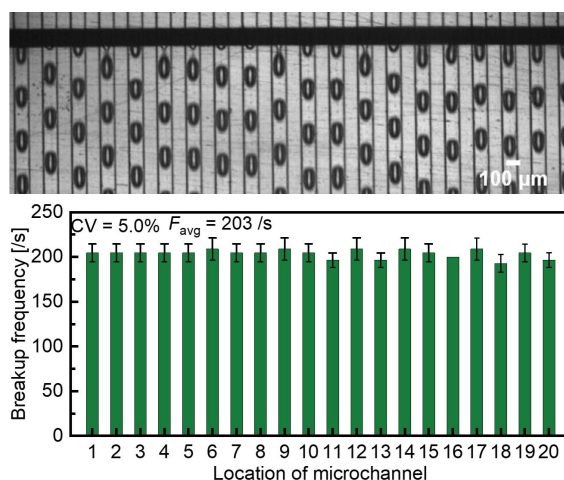


図 5. クロススリット構造を用いた W/O 液滴並列形成の様子と生成レート分布。

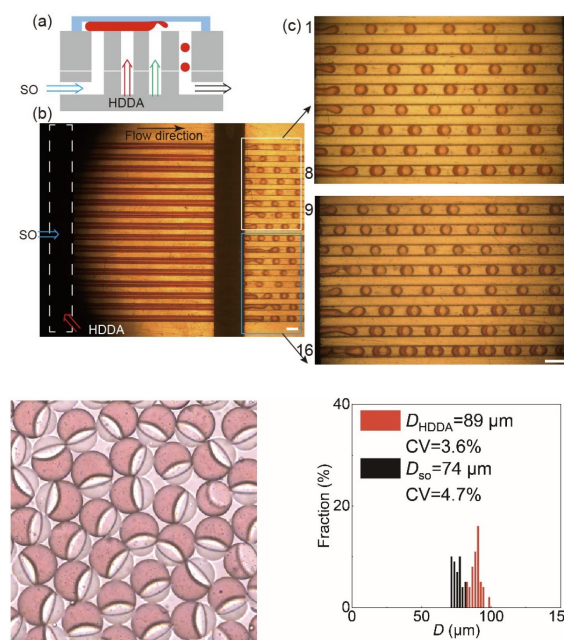


図 6. 単分散二相 Janus 液滴の 4 スリットデバイスを用いた生成例。

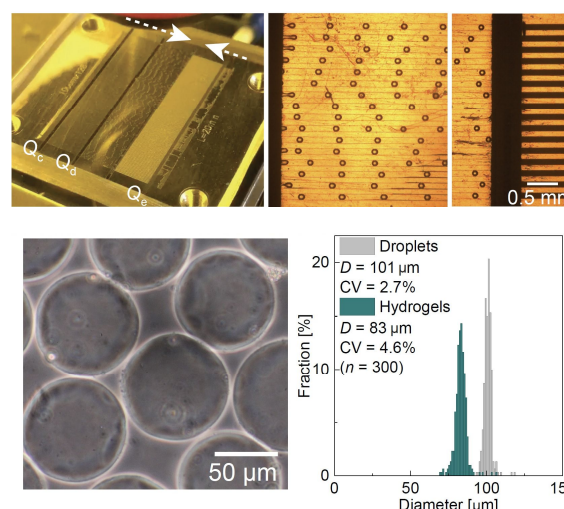


図 7. 単分散 Ca-Alginate ハイドロゲル粒子の 4 スリットデバイスを用いた生成。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 西迫貴志	4. 巻 87
2. 論文標題 マイクロ流路を利用した乳化技術とスケールアップ	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 化学工学	6. 最初と最後の頁 211-214
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chunqi Zheng, Shuzo Masui, Yusuke Kanno, Takasi Nisisako	4. 巻 -
2. 論文標題 Microfluidic Step Emulsification with Parallel Nozzles on a Vertical Slit	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Industrial & Engineering Chemistry Research	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.iecr.4c00542	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 西山昌孝, ZHENG Chunqi, 菅野佑介, 西迫貴志
2. 発表標題 スリット型液滴量産デバイスにおける液滴の微細化検討
3. 学会等名 2024年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Chunqi Zheng, Shuzo Masui, Yusuke Kanno, Takasi Nisisako
2. 発表標題 A microfluidic step-emulsification device with nozzles arrayed on a slit
3. 学会等名 The 10th International Conference of Asian Society for Precision Engineering and Nanotechnology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chunqi Zheng, Guangchong Ji, Shuzo Masui, Yusuke Kanno, Takasi Nisisako
2. 発表標題 Microfluidic step emulsification via paralleled generators on slits
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第47回研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Chunqi Zheng, Guangchong Ji, Shuzo Masui, Yusuke Kanno, and Takasi Nisisako
2. 発表標題 Microfluidic step emulsification via parallel nozzles crossing a slit
3. 学会等名 2023年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yingzhe Liu, Takasi Nisisako
2. 発表標題 Parallel Synthesis of Cell-Laden Calcium-Alginate Microspheres in Microfluidic Droplet Generators on Slits
3. 学会等名 26th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 劉英哲, 西迫貴志
2. 発表標題 Paralleled microfluidic droplet generators on slits for mass-producing calcium-alginate microparticles
3. 学会等名 2022年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古山侑, 菅野佑介, 西迫貴志
2. 発表標題 クロススリット型液滴生成デバイスの3次元流路構造の検討
3. 学会等名 2022年度精密工学会春季大会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 印藤健輔, 西迫貴志
2. 発表標題 スリット型液滴生成デバイスにおける3次元流体シミュレーション
3. 学会等名 化学とマイクロナノシステム学会第44回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 印藤健輔, 西迫貴志
2. 発表標題 スリット型液滴量産デバイスにおける数値流体シミュレーション
3. 学会等名 2021年度精密工学会秋季大会学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Siyuan Xu, Takasi Nisisako
2. 発表標題 Parallel generation of biphasic droplets in microfluidic channels arrayed on slits
3. 学会等名 The 18th International Conference on Precision Engineering (ICPE2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------