

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26790033

研究課題名(和文) オンサイト分析に向けたポンプ融合型新規分離媒体の開発

研究課題名(英文) Development of pump-integrated separation medium for on-site analysis

研究代表者

内藤 豊裕 (Naito, Toyohiro)

京都大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：10711806

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年の液体クロマトグラフィー(LC)の固定相開発では、高分離能を達成するために粒子の微細化が進められている。一方で、試料採取現場で分析を行うオンサイト分析の需要は年々高まっており、オンサイト分析可能なLCカラムの開発が必須である。本研究では、ポンプ(EOP)融合型のLCカラムの開発を目指し、EOPの内部構造と構造表面の化学的性質がEOPの性能に与える影響を調べた。

シリカモノリス型と微小流路型のEOPを作製し、圧力特性を評価したところ、スルホ基を導入したシリカモノリスで未修飾EOPの20 kPa高い吐出圧を示し、微小流路内の構造体充填率と構造体長が吐出圧に影響を与えていることがわかった。

研究成果の概要(英文)：The main stream of the studies related to LC has been pursuance of high separation performance. On the other hand, the demand for an on-site analysis has been increased recently. One of the ways to develop on-site LC device is employing an electroosmotic pump (EOP). We developed novel separation medium based on microfabricated structure and monolithic materials, which have pumping function and separation performance. The sulfonate-modified monolithic material generated 73.5 kPa, which was 20 kPa higher than that of the non-treated silica monolithic materials. To evaluate the effect of the internal microstructure on discharged pressure. Packing ratio of the structures in the channel and length of the long side of structure were controlled. Discharged pressure of EOP was proportional to the packing ratio of microstructure. Length of the of the microstructure was also related to pressure discharge.

研究分野：マイクロ・ナノ化学

キーワード：電気浸透ポンプ

1. 研究開始当初の背景

液体クロマトグラフィー (LC) は対象物質が非常に広く、医療分野、食品分野、環境分野、国家安全等において汎用的に利用されている。近年は、分離能の向上や、省試料、質量分析計との結合のため、カラムのダウンサイジングや充填剤の細孔微細化が進んでいる。しかし、こうしたカラムの圧力損失は高く、カラムに送液するための大型で高出力なポンプが必要である。

一方で、土壌の汚染物質調査や、緊急を要する医療現場での診断、出入国における検疫や薬物検査など、その場・その時での分析を可能とするオンサイト分析の需要は高まっており、汎用性の高い LC のオンサイト化が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、液体クロマトグラフィーの分離支持体および電気浸透流ポンプの機能を併せ持つ新規材料を開発し、携帯可能なポンプ融合型のオンサイト分析用小型液体クロマトグラフィーデバイスを目指した。

オンサイト分析デバイスを実現するのに十分な送液能と分離能を達成するためには、支持体材料・表面官能基の最適化とデバイスデザインの最適化が不可欠である。支持体材料・表面官能基の最適化では、モノリスを構成する材料や、ガラスやポリマー表面への修飾の違いによる送液能と分離能について評価を行った。デバイスデザインの最適化では、微細加工技術を用いて微細流路・構造体を作製し、圧力損失および試料拡散拡散を抑制したカラムの構造を検討した。これらの検討を通じて、化学的および幾何学的見地から、送液能、分離能、カラム内圧力損失について明らかにし、様々な化学種について適用可能な小型デバイス用カラムの開発に関する基盤技術を確認し、安全保障のための薬剤および感染症の検査、環境汚染物質調査、医療における早期診断等の幅広い分野への貢献を目指し、現場で定性・定量できる液体クロマトグラフへの基礎的な研究を行った。

3. 研究の方法

内部構造が電気浸透ポンプの最大吐出流量および最大吐出圧に与える影響を調べるために、構造体の形状と配置の異なる微小構造を持つ微小流体デバイスを、ソフトリソグラフィ法を用いて polydimethylsiloxane (PDMS) 作製した。

また、内部構造表面の化学的性質が、電気浸透ポンプの最大吐出流量および最大吐出圧に与える影響を調べるために、シリカモノリスにスルホ基を導入した多孔質材料型電気浸透ポンプを作製した。内径 100 μm の

フューズドシリカキャピラリーに poly(ethylene glycol) ($M_n = 10000$) 1.20 g, urea 0.90 g, tetramethylorthosilicate 5.6 mL, 10 mM acetic acid 10 mL を混合した溶液を通し、加熱することで、シリカモノリスキャピラリーを作製した。作製したシリカモノリス表面をピニル化した後、アリルスルホン酸 (AS)、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸 (AMPS)、スチレンスルホン酸 (SS) を用いたポリマー修飾によって修飾した。

作製した材料に電極を埋め込んでポンプとし、ポンプ方端に圧力抵抗管を接続した。ポンプ入り口側に接続したインジェクタからフルオレセインを導入後、材料両端に電圧を印加した。電圧印加による電気浸透流の発生によって試料が導入され、蛍光顕微鏡を用いて試料の移動を計測することで、圧力抵抗管内の流量を計測した。Hagen-Poiseuille の式から圧力抵抗管での圧力損失を計算し、各抵抗管接続時のポンプの吐出圧を求めた。

4. 研究成果

初期検討として、微小構造体の形状を柵状、縦長六角柱、横長六角柱を用いて吐出圧測定を行った。柵状構造体と縦長六角柱では、最大流量と最大吐出圧にあまり変化はなかったが、横長六角柱において吐出圧が極めて低いことが確認された。縦長六角柱と横長六角柱では、充填率および単位体積あたりの表面積が同じであることから、構造体の形状や配列がポンプの最大吐出圧に影響を与える可能性が確認された。

内部構造のパラメータを制御しやすい四角柱型の構造体を用いて、充填率、構造体の流れ方向の長さ、流れ垂直方向の長さ、構造体間の配列間隔などが異なる微小流体デバイスを作製し、同様の評価を行った (図 1)。

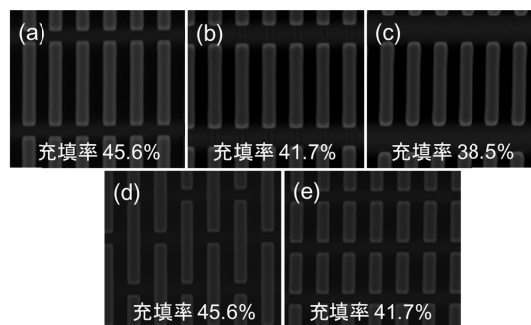


図 1 微小構造体の SEM 画像

充填率 (中空流路体積に対する構造体の総体積) の異なる構造体の送液性能を比較したところ、充填率が大きくなるほど最大吐出圧が高く、最大吐出流量が小さくなることがわかった (図 2)。最大吐出圧が向上した理由は、

電気浸透流の駆動源が固液界面にあり、充填率が高いほど流路容積あたりの固液界面が大きくなるためである。その一方で、流路内の電場が一定だとすると、構造体ごとに電気浸透移動度は変わらないため、流路容積が小さい(充填率が高い)構造体では最大吐出流量が小さくなった。

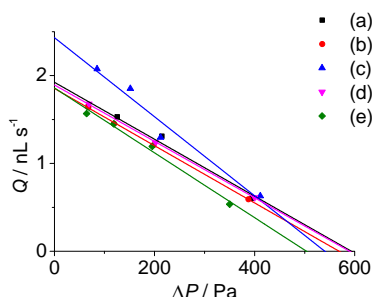


図2 各構造体での流量 - 圧力特性

一方で、充填率と同じ構造体(b)と構造体(e)において最大吐出流量が同じで最大吐出圧が変化した。構造体内の抵抗や、構造体による電場の局在化などの原因が考えられるが、原因の解明にはさらなる検討が必要である。しかし、この結果は充填率以外のパラメータが最大吐出圧に影響を与えることを示しており、今後の送液能向上が期待できる。

シリカモノリスの修飾を評価するために、元素分析、各 pH における電気浸透移動度測定、ゼータ電位計測などで評価したところ、AS を用いてポリマー修飾したシリカモノリスがもっともスルホ基が導入されていることが確認された。イオン吸着クロマトグラフィーを用いてスルホ基導入量を求めたところ、1 cm あたりに 3.07×10^{14} でありイオン吸着能を有することを確認した。

AS 修飾シリカモノリスと未修飾シリカモノリスの流量 - 圧力特性を比較したところ、AS 修飾によって最大流量および最大吐出圧が向上した(図3)。AS 修飾によって表面の負電荷が強くなり、電気浸透流が高くなったためと考えられる。

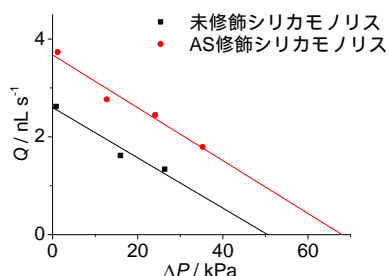


図3 各シリカモノリスの流量 - 圧力特性

内部構造の形状の評価は充填率以外のパラメータの影響について、化学的性質の評価では官能基数の制御等に課題が残っているが、電気浸透ポンプの性能向上と、ポンプ融合型の新規分離媒体の開発を促進させる結果が得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Naito, T.; Kaji, N.; Tokeshi, M.; Kubo, T.; Baba, Y.; Otsuka, K.: Hydrodynamic Nonadhesive Cell Retaining in a Microfluidic Circuit for Stress-less Suspension Culture, 査読有, *Anal. Methods* 2015, 7 (17), 7264-7269.

Naito, T.; Nakamura, M.; Kaji, N.; Kubo, T.; Baba, Y.; Otsuka, K.: Three-dimensional fabrication for microfluidics by conventional techniques and equipment used in mass production, 査読有, *micromachines*, accepted.

[学会発表](計38件)

Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Takao Yasui, Noritada Kaji, Yoshinobu Baba, Koji Otsuka: A three dimensional fabrication by standard soft lithography equipment (Keynote), 6th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM2014), Singapore; 30 July-01 August 2014.

Makoto Nakamura, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Fabrication of 3D Micro Fractal Structures for a Liquid Chromatography Device, 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (mTAS2014), San Antonio, TX, USA; 26-30 October 2014.

Toyohiro Naito, Makoto Nakamura, Takuya Kubo, Takao Yasui, Noritada Kaji, Yoshinobu Baba, Koji Otsuka: Additive Manufacturing Based on Injection Molding for Three Dimensional Microfluidics, 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS2014), San Antonio, TX, USA; 26-30 October 2014.

Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Takao Yasui, Noritada Kaji, Yoshinobu Baba Koji Otsuka: Simple Fabrication Method for Three Dimensional Microfluidics, 14th Asia-Pacific international Symposium on Microscale Separations and Analysis (APCE2014), Kyoto

Univ, Kyoto; 7-10 December 2014.

Toyohiro Naito, Akihiro Kunisawa, Shunta Futagami, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Development of Miniaturized LC Columns Concerning On-Site Analysis (Invited), PITTCON 2015, New Orleans, LA, USA; 8-12 March 2015.

内藤豊裕*, 中村 誠, 久保拓也, 大塚浩二: 3次元構造体の汎用装置による作製とLC分析への応用, 日本分析化学会第64年会, 九州大学伊都キャンパス, 福岡; 2015年9月9-11日. ポスター賞受賞

Toyohiro Naito, Akihiro Kunisawa, Shunta Futagami, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Electroosmotic Pump Based on Separation Media for Miniaturized LC Device, 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2015), Gyeongju, Korea; 25-29 October 2015.

Makoto Nakamura, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Evaluation of Column Performance of Microfabricated 3D Structures for LC Separations, 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2015), Gyeongju, Korea; 25-29 October 2015.

Yukiko Yoshida, Toyohiro Naito, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Control of Sample Focusing Behaviors Using Ion Concentration Polarization, 19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2015), Gyeongju, Korea; 25-29 October 2015.

Toyohiro Naito, Akihiro Kunisawa, Shunta Futagami, Takuya Kubo, Koji Otsuka: Development of electroosmotic pumps based on materials for LC columns, 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacifichem 2015), Honolulu, HI, USA; 15-20 December 2015.

内5件は速報論文として掲載されている。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:

種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

<http://anchem.mc.kyoto-u.ac.jp/indexj-r.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

内藤 豊裕 (NAITO, Toyohiro)
京都大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号: 10711806