

令和元年6月26日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03825

研究課題名(和文)空間制限界面の張力波共鳴と分析法

研究課題名(英文)Capillary wave resonance at spatially restricted interface and its analytical applications

研究代表者

火原 彰秀(Hibara, Akihide)

東北大学・多元物質科学研究所・教授

研究者番号：30312995

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：微小スケールの気液界面・液液界面は、化学・バイオ分析の重要なターゲットの一つである。しかしながら、この界面を非接触に計測できる手法はほとんどない。本研究では、独自に見いだした原理である微小空間に制限された界面における毛管張力波共鳴に基づき新しい分光法の基礎から応用までの研究を進めた。この制限空間準弾性レーザー散乱法について、基礎的な研究として散乱ベクトルの一般的表現を導出し、発展的な研究として二次元制限界面の界面張力測定、ミリ秒時間分解測定を実現した。これらにより、マイクロ・ナノ空間における界面計測法として非常に有効であることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マイクロ・ナノ流体デバイスによる化学・バイオ分析の集積化は近年急速に発展している分野である。健康診断や環境分析などの社会的に重要な分野での利用が進められつつある。一方でこのような応用を支える基礎化学、界面化学的現象解明は解析ツールがないためほとんど進んでいない。本研究では、特に解析が困難である気液界面や液液界面といった流体自由界面を解析する独自手法を深く研究した。この分析手法の原理そのものの進展や、手法の適用範囲の拡大など、当初の目論見どおりの成果が得られ、今後分析応用に活かされていくと期待できる。

研究成果の概要(英文)：Microscale air / liquid and liquid / liquid interface is one of the most important targets of chemical and biological analysis. However, there has been little methods to measure these interfaces without contact. In this project, we have investigated a spectroscopic method based on our finding, that is spontaneous capillary wave resonance phenomena at microscale restricted interfaces. The quasi-elastic laser scattering (QELS) method was investigated from the viewpoints of basic science and of analytical applications. For the basic aspect, the light scattering vector in the original light scattering method was successfully derived for the first time. Then, for the extension of the method's analytical application, surface tension measurements at two-dimensional restriction surface and with a millisecond temporal resolution were realized. In conclusion, we have successfully demonstrated the method's potential for an effective interface measurement tool of micro / nanofluidic technology.

研究分野：分析化学

キーワード：レーザー分光法 光散乱 共鳴 表面 界面 マイクロ・ナノ流体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

**一般的背景** 近年、化学・生化学分野において、分析・診断装置の小型化が進行しつつある。これらの研究では、数百マイクロメートルから、小さいものでは百ナノメートル幅程度の流路・ウェル(孤立液相)での生体分子や液体の振る舞いを利用して、高効率・高速な分析を実現している。このような、非常に小さい空間では、検出法が問題となることが多い。

**計測法** ナノサイズの流路に関しては、MITのHanらのグループ(Nat. Nanotechnol. 2010)やUCSFのKwokらのグループ(Nat. Biotechnol. 2012)や名大の馬場らのグループ(Anal. Chem. 2012)などが、分離手法開発などに取り組んでいた。これらの研究では、蛍光ラベル化と高感度蛍光計測を用いており、観察法に制約がある状況であった。蛍光法以外を用いる試みとして、東大の北森らは、吸光検出を指向した微分干渉熱レンズ顕微鏡の開発に取り組んでいた(Analyst 2014ほか)。蛍光ラベル化が必要ない点で重要な進展が期待できる。

微小なアレイという観点では、東大の野地・竹内らは生命科学・分析に重要なリン脂質二重膜をアレイ化する手法を開発し、膜タンパクを介した分子・イオンの出入りを蛍光法や電気化学法で検出していた(例 Nat. Commun. 2014)。膜タンパクの働きに対応した二重膜の運動が計測の一つのターゲットになっているが、これまで計測に成功した例はなかった。

われわれのグループは、流体界面を光計測する準弾性レーザー散乱法(QELS法)を微小空間に適用し、界面の張力(および吸着状態)を計測する手法を独自に開発してきた。QELS法は、千葉大の藤浪らも研究している(例 J. Phys. Chem. B 2013)が、微小空間計測を指向した研究では、当グループの制限空間共鳴法が適用可能性が最も高い方法であると考えた。

**マイクロ・ナノサイズの流体界面** マイクロ・ナノ化学デバイスでは、油水二相の平行流や液滴が多用され、二相間の物質分配や界面吸着などが輸送速度などを決定するため、その界面物理・化学特性解析が望まれていた。

われわれの研究グループでは、マイクロ・ナノスケールでの界面計測を目指して、「熱ゆらぎ」により生じる表面張力波(界面張力波)をレーザー光散乱法により計測し、表面張力(界面張力)を解析する手法である準弾性レーザー散乱(QELS)法を研究してきた。この方法では、振幅が1 nm以下の界面張力波による光散乱過程での運動量保存より波の波数 $k$ と散乱角 $\theta$ と結びつけられていること( $k = K \sin \theta$ ,  $K$ は光の波数、図1)および散乱過程でドップラーシフトを受ける周波数が波数により決定されること( $f = (2\pi)^{-1} \times (\gamma k^3 / \rho)^{0.5}$ ,  $f$ は波数 $k$ での界面張力波周波数、 $\gamma$ は界面張力、 $\rho$ は密度)を利用する。図2のような装置により、ローカル光を一定角度から入射することにより、300  $\mu\text{m}$ 幅程度の流路内での張力測定に成功した。

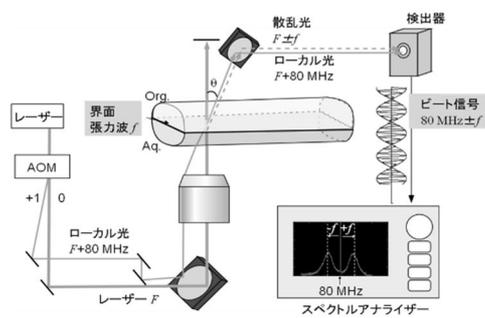
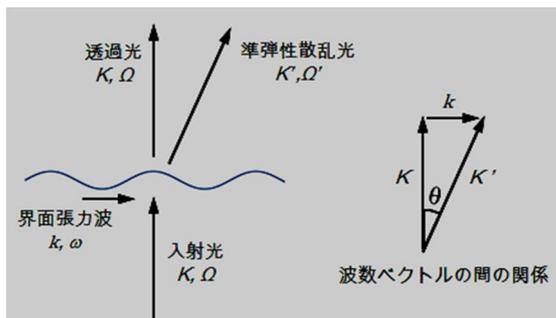


図1 QELS法における界面張力波と光散乱。 図2 QELS法の装置の例 J. Am. Chem. Soc. 2003.

2012年には、顕微鏡対物レンズによる集光レーザー光により多波数の散乱を一齐に測定する比較的単純な光学系により、熱ゆらぎにより発生する様々な波数の界面張力波のうち、流路幅がその波長の半整数倍となる共鳴条件の波が、選択的に計測されることを見いだした。例えば図3のように、70  $\mu\text{m}$ 幅の流路内のメタノール表面において、流路幅が1波長・1.5波長・2波長に相当する界面張力波の共鳴ピークを計測することに成功した。

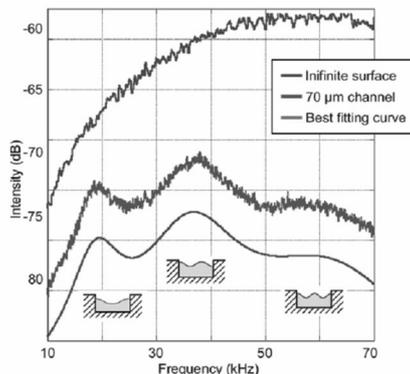


図3 空間制限による自発的系面張力波共鳴を利用するQELS測定の例。 Anal. Chem. 2012.

## 2. 研究の目的

上記の「制限空間における張力波共鳴の発見と計測」という独自の成果をもとに、本研究では、マイクロ・ナノサイズ流体の新しい検出法として QELS 法の基礎過程の定式化、時間分解測定や二次元制限空間測定などの手法の拡張を目的とした。

## 3. 研究の方法

従来の QELS 法では、散乱条件である  $k = K\sin\theta$  を用いて「光学条件から測定する波数  $k$  を特定する」ために、入射光から  $\theta$  の方向からローカル光を入れ、ローカル光の伝播方向に散乱された光とローカル光の光ビートを解析して  $f$  を得る光学配置を用いていた。この方法では、光学配置（二光束の交差角）を精密に設定する必要があり、微小界面への適用に限界があった。

本研究で用いる単一光束型 QELS 法では図 4 に示すように発散しながら（あるいは収束しながら）界面に入射する単一光束を用いる。このうち、界面に垂直に入射し散乱せずに透過する光をローカル光とし、界面に斜めに入射した光のうち界面垂直方向に散乱された光とローカル光のビートを解析する。光軸から離れるにしたがって大きな散乱角をもつ成分を解析する光となり、原理的に多数の散乱成分の畳み込みのスペクトルが得られる。つまり、多数の波数の情報をもつスペクトルが得られる。しかし、この方法では、波数  $k$  と周波数  $f$  の関係を導くことが容易でない。

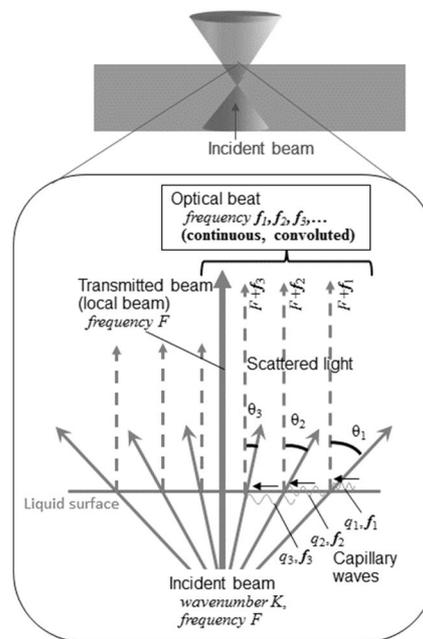


図 4 単一光束型 QELS 法の測定原理

空間制限を受けた表面・界面では、熱的に生成する表面張力波が互いに干渉し、非共鳴成分は素早く減衰し、共鳴成分が長時間振動維持すると考えた。この仮説は一次元的な制限空間であるマイクロ流路中気液界面にて立証された（Anal. Chem. 2012）。本研究ではこれを二次元的空間制限界面にも適用する。

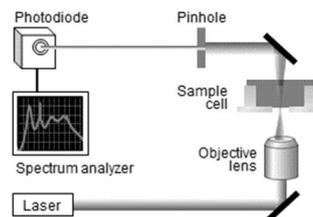


図 5 QELS 装置図

上記の原理を用いると光学系は非常に単純になる。本研究では、波長 532 nm の LED 励起固体レーザーの連続光を光源に用いた。対物レンズにて光を集光し、焦点付近に界面がくるように設定した。その透過光の一部をアバランシェ光ダイオードにて検出し、スペクトルアナライザーにて、散乱スペクトルを得た。

#### 4. 研究成果

**QELS 法の基礎理論** 単一光束型の QELS 法では連続的な広がりをもつ入射角の散乱光を検出するため、これまでとは異なる基礎理論が必要となる。近似的に考えれば簡単な解も求まるが、本研究では将来的な応用のことも考え、一般的な散乱ベクトルの定式化を行うこととした。

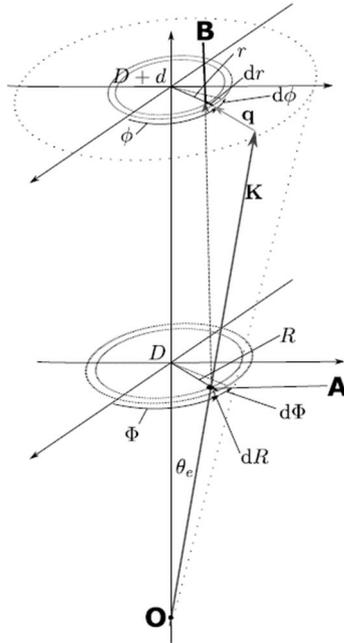


図 6 散乱ベクトルを考える光学の配置

図 6 に光が発散しながら界面に入射し、その一部が検出器方向に散乱される光学配置を示す。光の収束点 O から光軸上に D の距離に界面があり、D+d の距離に検出器がある状況を考える。O から界面上の点 A (光軸の中心を原点として、(R, Φ) の点) に向かう光が界面にて検出器平面の B (光軸の中心を原点として、(r, φ) の点) に向かって散乱されるとき散乱ベクトル q は以下のように表されることを示した。

$$\mathbf{q} = |\mathbf{K}| \left( \frac{R \cos \Phi}{\sqrt{R^2 + D^2}} - \frac{r \cos \phi - R \cos \Phi}{\sqrt{d^2 + r^2 + R^2 - 2rR \cos(\phi - \Phi)}}, \frac{R \sin \Phi}{\sqrt{R^2 + D^2}} - \frac{r \sin \phi - R \sin \Phi}{\sqrt{d^2 + r^2 + R^2 - 2rR \cos(\phi - \Phi)}} \right)$$

**二次元制限空間測定** 厚膜レジストを用いた光リソグラフィーによりモールドを作製し、そのモールドを元にポリジメチルシロキサン (PDMS) 膜に開口構造を作製した。図 7 のようにチャンバー構造を組み、二次元に空間限定された界面を形成した。

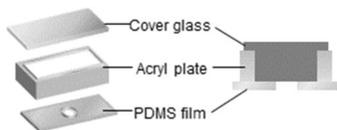


図 7 二次元制限界面測定試料セル

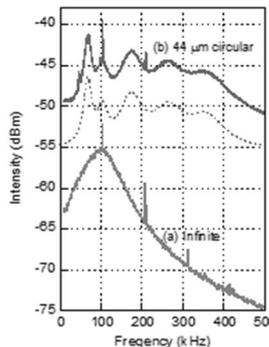


図 8 円形開口水面測定結果

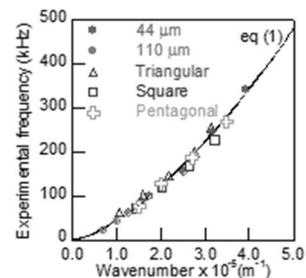


図 9 波数と周波数の関係

ガラス上に滴下した直径 1 mm の水滴と、直径 44 μm の円形開口水面で QELS 測定した結果を図 8 に示す。直径 1 mm の水滴ではパワースペクトルに特徴的なピークが現れないのに対して、直径 44 μm の円形開口水面で測定した場合、複数のピークが現れた。破線はローレンツ関数によるフィッティング結果である。空間制限から計算した共鳴振動の波数とピーク周波数の関係は流体力学式 (Lamb の式) により表される。直径 44 μm と 110 μm の円形開口、三角形、四角形、五角形の開口で測定した時の、波数と周波数の関係を図 9 に示す。図から明らかなように理論と実

験はよく一致しており、二次元制限空間において表面張力が測定出来ることを立証できた。

**時間分解測定** マイクロ・ナノ流路デバイスの一つの大きな分野に疑似生体膜(リン脂質二重膜、BLM)を用いた生命科学研究や薬剤アッセイ法開発がある。イオンチャネルなどは膜貫通電流を測定することで、生体機能を時間分解測定する方法があるが、電流検出以外の方法はほとんどない。QELS法により膜運動を時間分解測定することで新しい非標識生体分子解析法を提案できる可能性がある。そこで、QELS法の時間分解能を高めること検討を行った。図10に時間分解QELS法の結果を示す。スペクトル処理法に検討の余地があり精度は低い、少数スペクトルの平均化、スムージング、フィッティングの流れで、時間分解数十ミリ秒の計測できることが分かった。

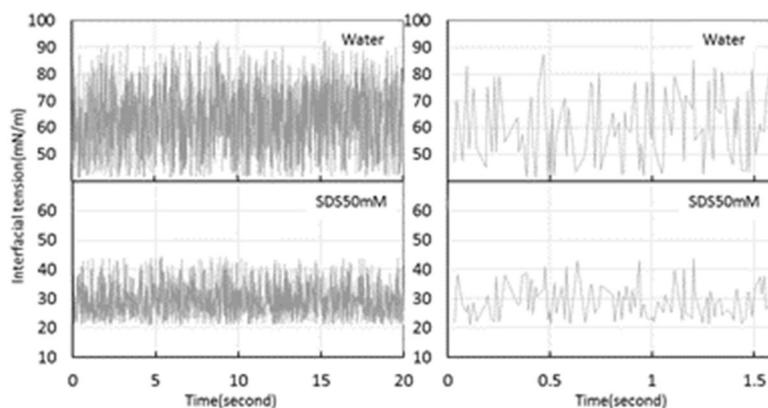


図10 時間分解QELSスペクトルの測定例

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計10件)

1. M. Fukuyama, M. Tokeshi, M. A. Proskurnin and A. Hibara, "Dynamic wettability of polyethylene glycol-modified poly(dimethylsiloxane) surfaces in an aqueous/organic two-phase system", *Lab on a Chip* **2018**, *18*, 356-361. 10.1039/C7LC01121K 査読有
2. M. Chung, C. Pigot, S. Volz and A. Hibara, "Optical surface tension measurement of two-dimensionally confined liquid surfaces", *Analytical Chemistry* **2017**, *89*, 8092-8096. 10.1021/acs.analchem.7b01611 査読有
3. Y. Kazama, E. T. Carlen, A. van den Berg and A. Hibara, "Top-and-side dual-view microfluidic device with embedded prism", *Sensors and Actuators B: Chemical* **2017**, *248*, 753-760. <http://doi.org/10.1016/j.snb.2017.04.013> 査読有
4. S. Yamaoka, Y. Kataoka, Y. Kazama, Y. Fujii and A. Hibara, "Efficient thermal lens nanoparticle detection in a flow-focusing microfluidic device", *Sensors and Actuators B: Chemical* **2016**, *228*, 581-586. 10.1016/j.snb.2016.01.072 査読有
5. O. Wakao, Y. Fujii, M. Maeki, A. Ishida, H. Tani, A. Hibara and M. Tokeshi, "Fluorescence polarization measurement system using a liquid crystal layer and an image sensor", *Analytical Chemistry* **2015**, *87*, 9647-9652. 10.1021/acs.analchem.5b01164 査読有

### 〔学会発表〕(計56件)

1. T. Endo, K. Ishikawa, M. Fukuyama, A. Hibara, Millisecond time-resolved surface tension measurement of microscale interfaces, MicroTAS2017, 2017.
2. 遠藤拓也, 火原彰秀, 福山真央, 制限空間準弾性レーザー散乱法のマイクロ液液界面測定への応用, 日本分析化学会第66年会, 2017
3. 遠藤拓也, 火原彰秀, アレイ型マイクロ流体デバイスにおける界面張力測定, 日本分析化学会第65年会, 2016.
4. 遠藤拓也, 火原彰秀, 制限空間準弾性レーザー散乱法によるリン脂質二重膜測定の検討, 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第34回研究会, 2016.
5. A. Hibara, Spontaneous and forced resonance of liquid surface in micrometers-sized confined geometry, Pacificchem 2015, 2-15.
6. A. Hibara, M. Chung, Microwell Liquid Surface Analysis by Light Scattering, PT-27, 7th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM2015), 2015.

### 〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<https://researchmap.jp/hibara>

<http://www2.tagen.tohoku.ac.jp/lab/hibara/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：岡田 哲男

ローマ字氏名：OKADA, Tetsuo

所属研究機関名：東京工業大学

部局名：理学院

職名：教授

研究者番号（8桁）：20183030

### (2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。