

# 静電微粒子化を用いたエマルション生成

青木 博則\*, 栗田 弘史\*, Thierry PAILLAT\*\*, 高島 和則\*, 水野 彰\*<sup>1</sup>

(2009年8月3日受付, 2010年1月22日受理)

## An Emulsification Method Using Electrostatic Atomization

Hironori AOKI\*, Hirofumi KURITA\*, Thierry PAILLAT\*\*,

Kazunori TAKASHIMA\* and Akira MIZUNO\*<sup>1</sup>

(Received August 2, 2009; Accepted January 22, 2010)

Droplet-based micro-reactor systems have been investigated by many researchers and used for biochemical and combinatorial applications. In these applications, individual water droplets in oil perform as micro-reactors. Magnetic stirrer and homogenizer have been used conventionally to produce water droplets in oil. However these methods have a risk of contamination and require a certain amount of sample volume. In the present study, a method to produce water droplets into oil using electrostatic field has been experimented. Electrostatic atomization was used to produce charged water droplets into oil. Our method can control the size of water droplets by adjusting the applied D.C. high voltage and these water droplets are stable without a surfactant due to electrical charge. In addition, these droplets formed a regular array in oil by the repulsive force due to the electrical charge. Our method will be used for biological and combinatorial tools.

### 1. はじめに

近年、バイオエンジニアリングにおいて油中水滴への関心が高まっている。油中液滴を用いることで、微小な空間で反応を行うことができ、内部の基質濃度が等価的に高濃度となるため化学反応が高効率化される。また個々の液滴をマイクロリアクターと考えることができ、高生産性や省スペース化などの利点<sup>1-3)</sup>がある。この作用を利用した例として、1分子の核酸(DNA, RNA)を增幅させる1分子PCR(polymerase chain reaction)などが挙げられる<sup>4,5)</sup>。

代表的な油中液滴生成法として、エマルション化が挙げられる。エマルションは分散質・分散媒共に液体で、両者を混合することで形成される分散系溶液である。乳化法は、自然乳化と機械的乳化に大別できる<sup>6)</sup>。自然乳化とは、外部からのエネルギーを必要とせずに自発的に乳化が進むことである。それに対して、機械的乳化は外部からエネルギーを加えることによって乳化を行うものある。例えば、マグネットイックスターラーなどを使用した乳化が一般的である。この方法では、ある程度の溶液量(少なくとも1mL)でエマルショ

ンが形成されるが、機材の繰り返し使用によるコンタミネーションが懸念される。それに対して、静電気力を用いた新しい乳化法も開発されている。一般的な電気乳化法は、金属キャビラリーを油相に入れた状態で乳化する方法<sup>7-9)</sup>で、基本的には混合過程を静電気力により駆動するものである。また、金属キャビラリーを用いずに、プラスチックチューブの外部に電極を設置し、交流高電圧を印加することで乳化する方法<sup>10,11)</sup>も開発されている。この方法では、上記のような機械的な方法の欠点を克服している。しかし、いずれの方法でも長時間安定したエマルションを形成するために界面活性剤の使用を避けることができるのが現状である。

本研究では、静電微粒化を用いたエマルションの生成を試みた。静電微粒化とは、溶液に電圧を印加することで、静電気力が表面張力に打ち勝つことにより、表面から小さな液滴へと分裂を起こす現象<sup>12)</sup>で、容易に均一な微小液滴を得ることができる。静電微粒化のほとんどは液-気系で行われている<sup>13,14)</sup>が、液-液系での報告もある<sup>7-9)</sup>。液-気系と比較し、液-液系では比較的低い電圧で微粒化が可能で、生成された液滴の粒径制御が容易かつ粒径分布が狭く正規分布に近いなどの特徴がある<sup>15)</sup>。本研究では、水-油系における静電微粒化を用いてエマルションを形成する方法について検討した。油相の外部と水相間に直流電界を印加することで液滴を生成できたことを報告する。この方法を用いることで、静電微粒化と同様に印加電圧によって液滴の粒径をコントロールでき、また界面活性剤を使用せずに液滴同士の融合が抑制させることができた。

**キーワード:** 液滴, 静電微粒化, エマルション, バイオテクノロジーへの応用

\* 豊橋技術科学大学エコロジー工学系 (441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1)

Department of Ecological Engineering, Toyohashi University of Technology, 1-1 Hibarigaoka, Tenpaku, Toyohashi, Aichi 441-8580, Japan

\*\* Laboratoire d'Etudes Aerodynamiques, University of Poitiers, Boulevard Marie & Pierre CURIE-Teleport 2, BP 30179, F86962 FUTUROSCOPE CEDEX FRANCE

<sup>1</sup> mizuno@eco.tut.ac.jp

## 2. 実験方法

### 2.1 液滴生成装置

図1に実験装置図を示す。内径500 μmのガラスキャピラリー(G-1, ナリシゲ)の内側に、内径100 μmのガラスキャピラリー(外径200 μm, WBV03A, GLサイエンス)または内径50 μmのガラスキャピラリー(外径150 μm, FAP02A, GLサイエンス)を熱融着することで、上端と下端の径が異なるガラスキャピラリーを作製した。図2にガラスキャピラリー先端の断面図のSEM像を示す。シリコーンチューブを介してガラスキャピラリーの上端をパストールピペットに固定した。このパストールピペットの上部からMilli-Q水(超純水、電気抵抗率1.8 GΩm)32 μLを充填し、接地電極としてステンレス線(Φ0.3 mm)を挿入した。また、プラスチック製のシャーレ(Φ30 mm)内にシリコーンオイル(KF96-1-100, 信越シリコーン、粘度100 cSt、電気抵抗率1 TΩm以上)3 mLを入れ、その中心にガラスキャピラリーを挿入した。

### 2.2 電極の位置が液滴生成に与える影響

図3にシャーレ付近の詳細図を示す。図3(a)に外部電極型の構成を示す。シャーレの底面の外部にアルミニウム板を設置し、高電圧電極とした。図3(b)に内部電極型の構成を示す。シャーレの底面の内部にアルミニウム板を設置し、高電圧電極とした。両者を比較することで高電圧電極の位置が液滴生成に与える影響について検討した。また、シャーレの厚さは0.8 mm、キャピラリーの先端から底面までの距離を4 mmとした。電源には直流高電圧电源(HAR-30R10, 松定プレシジョン)を使用した。

### 2.3 液滴が生成される最小電圧

液滴が生成される最小印加電圧について検討を行った。図3(a)の外部電極型の実験装置を用い、印加電圧を0 kVから徐々に上昇させ、液滴が生成される最小電圧を測定した。ここでは、キャピラリー内径50 μmと100 μmの場合についてそれぞれ最小電圧を測定した。

### 2.4 液滴生成の様子

液滴が生成される様子を、デジタルマイクロスコープ(VH-5000, キーエンス)を用いて観察した。図3(a)の外部電極型の実験装置を用いて、キャピラリー内径100 μm、印加電圧-3 kVの場合において液滴生成の様子を観察した。

### 2.5 電圧印加によるシリコーンオイルの挙動

電圧印加によるシリコーンオイルの挙動を観察した。図3(a)の外部電極型の実験装置を用い、シリコーンオイルに微量のナイロンパイルを混合したものをシャーレに入れ、印加電圧を、液滴が生成されない0.8 kVとしたときのオイルの挙動を観察した。

### 2.6 液滴の粒径分布

図3(a)の外部電極型の実験装置を用い、2~8 kVの電圧を印

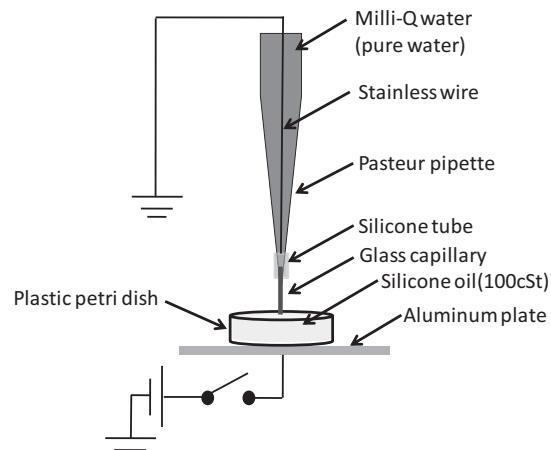


図1 実験装置図 (外部電極型)

Fig. 1 Experimental setup (External electrode type).

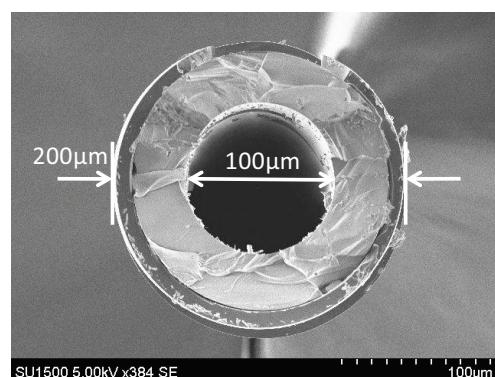


図2 ガラスキャピラリー先端の断面図

Fig. 2 SEM image of cross-section view of top of the glass capillary.

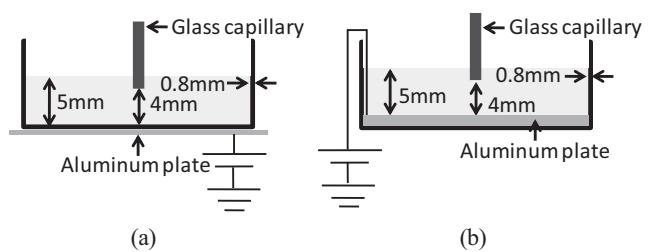


図3 シャーレ付近の詳細図

(a) 外部電極型, (b) 内部電極型.

Fig. 3 Details of each adjacent petri dish.

(a) External electrode type, (b) Internal electrode type.

加したときの液滴の粒径を測定した。また、生成した液滴の粒径に及ぼす印加電圧とキャピラリー内径の影響も調べた。液滴の粒径分布の測定は、デジタルマイクロスコープを用いて、任意の液滴100個の粒径を測定することにより行った。

### 2.7 液滴の回収方法の検討

図3(a)の外部電極型を用いて、-2 kVの電圧を印加し液滴を生成した。電圧印加後にシャーレを高電圧電極から離

することで移動する液滴の挙動を観察し、液滴の回収への応用を検討した。

### 3. 結果・考察

#### 3.1 電極の位置が液滴生成に与える影響

図4に生成された液滴の拡散の様子を示す。図4(a)に示すように、外部電極型の実験装置を用いた場合、生成された液滴がキャピラリーを中心として放射状に拡散し、シャーレの底面に規則的に配置され、油中には液滴は存在しなかった。一方、内部電極型の実験装置を用いた場合(図4(b))、キャピラリーから生成された液滴が高電圧電極に触れた後、キャピラリー方向へ移動し、その大部分は油相中で流動していた。また、これらの液滴の一部が互いに融合し大きな液滴を形成する様子も観察された。

外部電極型の場合は、生成した液滴は電荷を保持しているため、液滴間の静電気的斥力と高電圧電極への静電気的引力によって液滴がシャーレの底面上に等間隔で分布した状態を維持していると考えられる。しかし、内部電極型の場合は、液滴が内部に設置された電極に触れることで電荷を失い、油相中で静電気的斥力が働くために、液滴が油相中を流動し、液滴の融合が生じるものと考えられる。

#### 3.2 液滴が生成される最小電圧

キャピラリー内径が50 μmの場合と100 μmの場合について液滴が生成される最小電圧を測定した。それぞれのキャピラリーに対し、4回の計測を行った結果、内径100 μmの場合液滴が生成される平均最小電圧は0.95 kV、内径50 μmの場合には0.94 kVであった。

いずれのキャピラリーを用いた場合も、液滴が生成される最小電圧はほぼ同じ値を示したが、この結果は、キャピラリーの断面における電界集中とキャピラリー内壁から受ける表面張力の影響に関係していると考えられる。キャピラリー内径を小さくすると表面張力の影響は増加するが、断面積が減少することで、強い電界集中が起こり水の界面を垂直方向

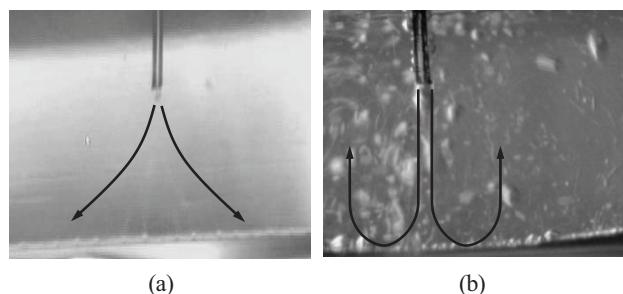


図4 生成した液滴の拡散の様子

(a) 外部電極型、(b) 内部電極型。

Fig. 4 Movement of the generated droplets.

(a) External electrode type, (b) Internal electrode type.

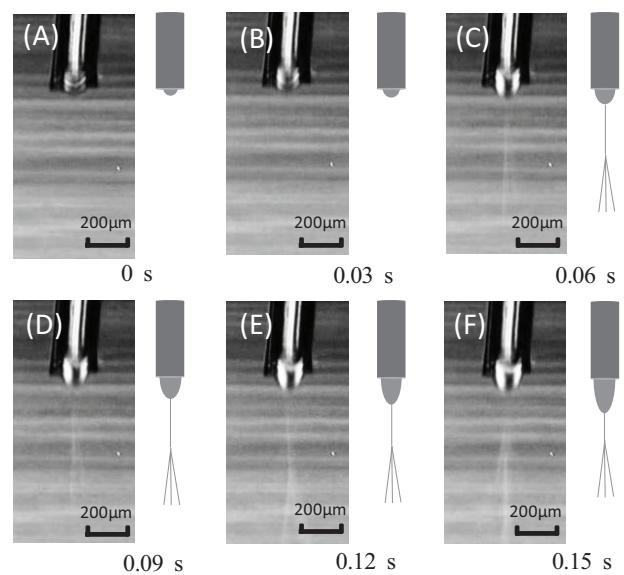


図5 液滴が生成される様子と模式図

キャピラリー内径: 100 μm.

Fig. 5 Generation process of droplets and pattern diagram.

Inner diameter of capillary: 100 μm.

に引く静電気力が増加する。逆に、内径が大きくなると断面積が大きくなり、電界が弱まるが同時に表面張力の影響も減少する。このため、本実験の条件では、キャピラリーの内径50 μmの場合と100 μmの場合でほぼ等しい最小液滴生成電圧を示したものと思われる。

#### 3.3 液滴生成の様子

図5に液滴が生成される様子を示す。電圧を印加した瞬間を(A)とし、0.03 sごとの写真と模式図を示している。(A)においては、表面張力によって界面が安定していることがわかる。電圧を印加することで、界面が垂直方向に引かれ、テイラーコーンが形成される(B)、テイラーコーンが(C)において約120 μmの長さまで成長すると、先端より液滴が生成された。また、(D)、(E)においては液滴が噴霧していることが確認できる。コーン先端より長さ約200 μmの水柱が形成され、コーンの水柱が回転しながら水柱先端が分裂することによって液滴を噴霧していることがわかる。

(A)においては、液滴に対して重力と表面張力が釣り合っているため、自然落下せずに界面が安定している。電圧を印加すると電界が集中し、液面を垂直方向に引く静電気力が発生することで界面が不安定な状態となり、テイラーコーンが形成される。さらに印加電圧を上昇させると静電気的な力が表面張力の影響を上回ることによって液滴が噴霧されたと考えられる。これらの液滴生成の様子は、大気中の静電噴霧の様子に近いと考えられる。

#### 3.4 電圧印加によるシリコーンオイルの挙動

微小なナノパイプを用いてオイルの動きを可視化し

た。図6(a)にオイル内のナイロンパイルの挙動の模式図を示す。電圧印加することによって、キャピラリー近傍のナイロンパイルは引き付けられ、キャピラリーに接触すると同時にキャピラリーより反発した。図6(b)にナイロンパイルの動きから推定したシリコーンオイルの対流の模式図を示す。電圧を印加することによって、キャピラリー先端からシャーレの底面方向に向かう強い流れに伴う対流が発生したと考えられる。また、印加電圧の極性を変化させた場合でも同様な結果が得られた。

電圧を印加することでナイロンパイルが分極しグラディエント力によってキャピラリーに引き寄せられることも考えられるが、オイルの対流からナイロンパイルが受ける力がグラディエント力よりも十分に大きくなると思われる。従って、グラディエント力の影響はほぼ無視できると考えられる。また、十分に遠方のナイロンパイルも移動していたことからもオイルの流れが存在したと判断できる。接触した後の動きは帶電したナイロンパイルが受ける静電反発力と、シリコーンオイルの対流による可能性が考えられるが、キャピラリーより十分遠方でもナイロンパイルの動きがあったこと、電気力線とは異なる向きの上向きの流れが観察されたことを考慮すると、ナイロンパイルの動きは大部分の領域でオイルの流れを可視化していたと考えられる。

### 3.5 液滴の粒径分布

図3(a)の外部電極型の実験装置を用いて、内径50 μmと100 μmのキャピラリーについてそれぞれ生成した液滴粒径の測定を行った。

#### 3.5.1 内径100 μmのキャピラリーを用いた液滴生成

図7に外部電極型を用いて、印加電圧+4 kV、印加時間10 sの条件において生成した液滴の様子を示す。生成した液滴同士が約400 μm程度の間隔で規則的に配列した。また、生成された液滴は24時間放置後も形や位置を保っていた。

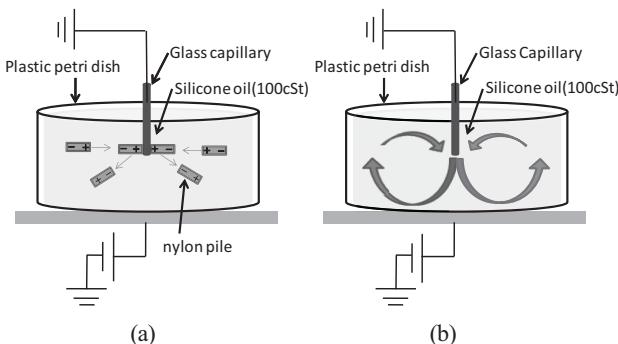


図6 シリコーンオイルの挙動

(a) ナイロンパイルの挙動、(b) シリコーンオイルの対流。

Fig. 6 Effect of electrostatic field in oil phase.

(a) Motion of individual nylon piles, (b) Vortex induced by electrostatic field.

図8に生成した液滴の粒径分布を示す。図8より液滴の粒径は81–85 μmが最も多く、3回の試行に対して粒径の分布が狭く正規分布を得ることができた(平均粒径±標準偏差=81 ± 6 μm)。

図9に印加電圧と平均粒径の関係を示す。また、図中プロットで平均粒径を、バーで標準偏差をそれぞれ示す。図9のように、印加電圧を増加させると液滴の粒径が小さくなつた。また、印加電圧が負極性の場合は粒径のバラつきが少なく、正極性の場合ではバラつきが大きくなつた。同一極性間の比較では印加電圧が低い場合と高い場合に粒径のバラつきが大きく、中程度の印加電圧のときには均一な粒径の液滴が生成される。また、正極性においては印加電圧が低い場合における粒径のバラつきが顕著である。

液滴が規則的に配置されたことは、前述のようにシャーレ内に電極が存在せず、シリコーンオイルの導電率が非常に小さいため、液滴が電荷を保持すると考えられ、同極性に帶電している液滴同士が静電気的斥力により互いが融合せず、液滴間の距離を保っていると考えられる。また、生成した液滴の粒径がほぼ一定であること、液滴間の距離がほぼ等しいことは、それぞれの液滴が持つ電荷量がほぼ等しいことを示唆している。以上のことから、液滴同士の静電気的斥力により互いの距離を保ち、高電圧電極への静電気的引力によって、シャーレの底面に平面上に分布したと考えられる。

#### 3.5.2 内径50 μmのキャピラリーを用いた液滴生成

図10に外部電極型の実験装置を用いて、印加電圧+5 kV、印加時間8 sの条件において生成した液滴の様子を示す。図7の内径100 μmの場合と比較して、液滴間の距離にバラつきがあることがわかる。また、液滴の粒径に大きなバラつきがあることもわかる。内径50 μmのキャピラリーを用いた場

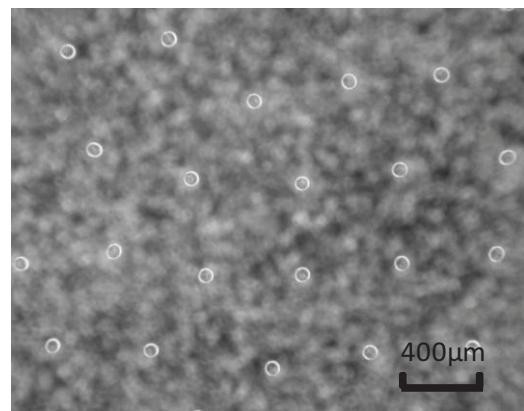


図7 生成した液滴の様子

印加電圧: +4 kV, キャピラリーの内径: 100 μm.

Fig. 7 Generated droplets.

Applied voltage: +4 kV, Inner diameter of capillary: 100 μm.

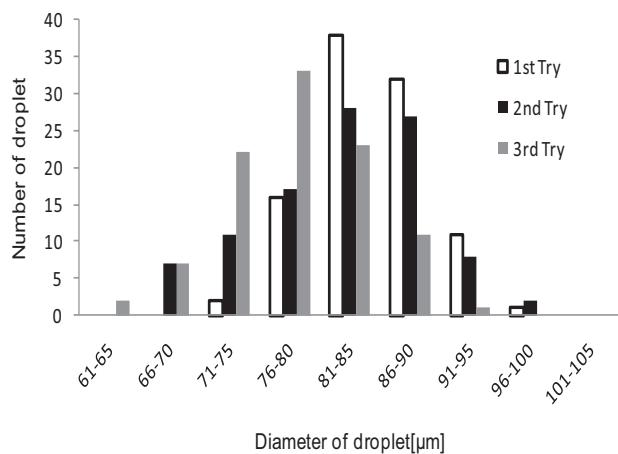


図 8 生成した液滴の粒径分布

印加電圧: +4 kV, キャピラリーの内径: 100 μm.

Fig. 8 Distribution of diameter of the generated droplets.

Applied voltage: +4 kV, Inner diameter of capillary: 100 μm.

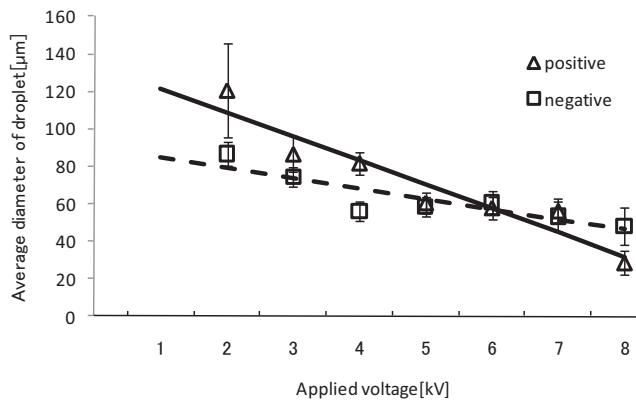


図 9 生成した液滴の平均粒径

キャピラリーの内径: 100 μm.

Fig. 9 Average diameter of the generated droplets.

Inner diameter of capillary: 100 μm.

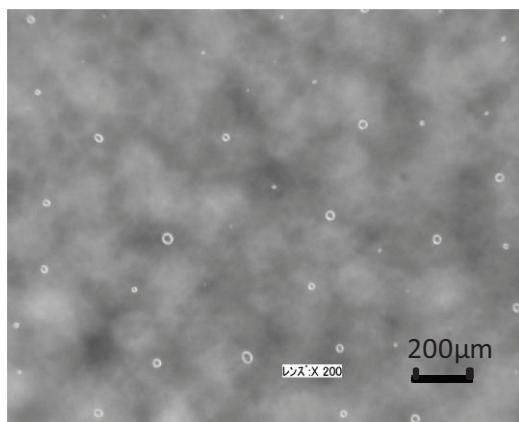


図 10 生成した液滴の様子

印加電圧: +5 kV, キャピラリーの内径: 50 μm.

Fig. 10 Generated droplets.

Applied voltage: +5 kV, Inner diameter of capillary: 50 μm.

合、前述の内径 100 μm の場合と比較してキャピラリーの断面積が小さいため電界が集中し、界面を引く静電気力が内径 100 μm の場合よりも強かったと考えられる。内径 50 μm のキャピラリー内部では、内径 100 μm の場合と比較して相対的に表面張力の影響が大きい。ここで、静電気力と表面張力のバランスについて考えると、キャピラリー先端内部では、ガラス表面と水との強い相互作用による力(表面張力)と静電気力がバランスして安定であったと考えられる。しかし、キャピラリー先端より露出しているテイラーコーン部では、ガラス表面と水との相互作用がなくなり、水とシリコーンオイルの相互作用による弱い力と静電気力しか働かない。そのためテイラーコーン部では、表面張力と静電気力とのバランスが崩れ、テイラーコーンの状態が不安定になるものと考えられる。この両者の差が大きいほど不安定性が高く、そのため静電気力がより大きな内径 50 μm のキャピラリーで生成した液滴粒径のバラつきが大きくなったものと考えられる。このことは、図 9 の内径 100 μm のキャピラリーを用いた場合においても印加電圧が高い場合に粒径のバラつきが増加することと対応している。また、それにより各液滴が保持している電荷量に違いが生じ、液滴間距離のバラつきにつながったものと考えられる。

### 3.6 液滴の回収方法の検討

液滴生成後、シャーレをアルミニウム板(電圧印加終了後は接地)から離した時の液滴移動の軌跡を図 11 に示す。写真是シャーレを上から撮影したものであり、アルミニウム板をシャーレから離すためにシャーレ側面(写真では下側)を手で持ち上げた。ここで、△, □は同一の液滴を示し、0.3 sおきに撮影した 6 枚の画像を重ね合わせたものである。

手で持ち上げる前は、静電気的力によって液滴が互いの位置を保っている。シャーレを持ち上げることによって液滴(△, □)が側面に向かって移動していることが確認できる。また、再び接地された高電圧電極にシャーレを近づけるとシャ

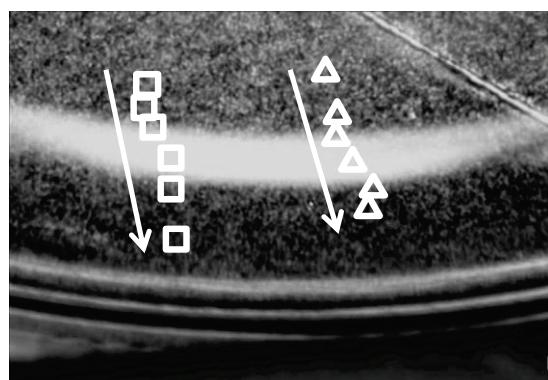


図 11 シャーレを持ち上げた直後の液滴移動の軌跡

Fig. 11 Trajectory of the droplets by picking up the Petri dish.

The hand is located bottom of the photographs.

レの側面に移動した液滴が元の位置に分散した。このときに液滴同士は融合することなく移動をした。

シャーレの側面を掴み手で持ち上げることにより、液滴と接地された高電圧電極との間で働いていた静電気的引力が弱まり、側面付近の液滴がシャーレの側面にある手(接地電位)との間で静電気的引力を生じシャーレ側面に向かって移動した。側面付近の電荷の移動に伴い、液滴同士の静電気的斥力によってシャーレ中心の液滴が側面方向へ移動し、最終的に、生成した液滴の大部分が側面へ移動したと考えられる。

このように新たなポテンシャルを与えることで、任意の場所への液滴の移動が可能であることが示唆された。液滴の回収や液滴の操作などへの応用が期待される。

#### 4. まとめ

本方法では、直流高電圧を印加することで油中に挿入したキャピラリーから微小な液滴が生成され、液滴を規則的に配置することが可能であることを示した。以下に得られた主な知見を示す。

- (1) 印加電圧・キャピラリー内径によって液滴の粒径が変化した。印加電圧などによって粒径をコントロールすることが可能であると考えられる。
- (2) 外部電極型を用いて生成した液滴は、電荷を保持しているため静電気的斥力により互いが融合することなく規則的に配列した。また、界面活性剤を用いずに長時間安定に存在できる液滴を生成することができた。
- (3) 外部電極型を用いて生成した液滴は、長時間にわたって電荷を保持しているため、電界によって任意の場所への

液滴の移動が可能であることが示唆された。

本方法で生成した液滴は、自発的に配列するので、これをマイクロリアクターとして活用する際、分析や分取・融合などの液滴操作を効率化できると期待される。

#### 参考文献

- 1) 北森武彦, 庄子習一, 馬場嘉信, 藤田博之(編), 化学とマイクロ・ナノシステム研究会(監修):マイクロ化学チップの技術と応用, 丸善(2004)
- 2) 樋口俊郎(編集委員長):マイクロマシン技術総覧編集委員会(編), マイクロマシン技術総覧編, 産業技術サービスセンター(2003)
- 3) ブッカーズ(編集):マイクロリアクタテクノロジー, エヌ・ティー・エス(2005)
- 4) M. Nakano, J. Komatsu, S. Matsuura, K. Takashima, S. Katsura and A. Mizuno: *J. Biotechnol.*, **102** (2003) 117
- 5) M. Nakano, N. Nakai, H. Kurita, J. Komatsu, K. Takashima, S. Katsura, and A. Mizuno: *J. Biosci Bioeng.*, **99** (2005) 293
- 6) 北原文雄, 古澤邦夫: 分散・乳化系の化学, 工学図書(1988)
- 7) 森 康夫, 土方邦夫, 長崎考夫: 日本機械学会論文集(B編), **47** (1987) 1881
- 8) 高橋優介, 金沢誠司, 野本幸治: 静電気学会誌, **30** (2006) 8
- 9) J. Abu-Ali and S..A Barringer: *J. Electrostat.*, **63** (2005) 361
- 10) 中野道彦, 國谷 彩, 高島和則, 桂 進司, 水野 彰: 静電気学会誌, **30** (2006) 26
- 11) M. Nakano, K. Takashima, S. Katsura, and A. Mizuno: *J. Electrostat.*, **66** (2008) 45
- 12) W. Balachandran and A.G. Bailey: *J. Electrostat.*, **10** (1981) 189
- 13) J.L. Li and A. Tok: *Int. J. Mass. Spectrom.*, **272** (2008) 199
- 14) J.M. Lopez-Herrera, A. Barrero and A. Boucard: *Am. Soc. Mass Spectrom.*, **15** (2004) 253
- 15) 静電気学会: 静電気ハンドブック, オーム社(1998)