

2色蛍光を用いた壁面ゼータ電位カラーイメージングによる 表面修飾パターンの定量的評価

Quantitative Evaluation of Surface Modification Patterning by Color Imaging of Wall Zeta-potential Obtained from Two-color Fluorescence

80717744 宮川修 (Shu Miyakawa) Supervisor 佐藤洋平 (Yohei Sato)

1. 緒言

マイクロ流体デバイス内流路壁面に SAMs (Self-assembled monolayers) と呼ばれる有機単分子膜を表面修飾することにより、濡れ性や吸着性あるいは表面の電位(ゼータ電位)を変化させる試みがなされている。SAMs パターンの計測に関して、これまでに電子顕微鏡などを用いた可視化^[1]が行われてきたが、デバイス内における表面修飾を評価することができれば、界面動電駆動流や表面の物質吸着性の制御が可能となる。本研究では蛍光波長の異なる2種の蛍光色素を用いることにより、ゼータ電位の2次元分布の計測手法を提案し、これを表面修飾パターンに適用することにより、表面修飾の定量的評価を行う。

2. 計測原理

図1で示すように、マイクロ流路内の溶液に、表1に示す帯電量の異なる2色の蛍光色素を混入すると、それぞれの色素は壁面近傍においてゼータ電位に依存した濃度分布を形成する。カバーガラス内におけるレーザーの全反射の際に液相側にわずかに染み出すエバネッセント波を用いて、流路壁面近傍の蛍光色素を励起すると、それぞれの色素からゼータ電位に依存した蛍光強度が得られる。これらの強度比は励起光強度に依存せずゼータ電位によって一意に決定されるため、2色の蛍光色素の蛍光強度比からゼータ電位を求めることができる。

3. 計測システム

倒立顕微鏡を用いた計測システムを図2に示す。レーザーより放出された光はプリズムを介してマイクロ流路下面のカバーガラス内で全反射し、液相側にエバネッセント波を発生させる。エバネッセント波によって励起された蛍光色素からの蛍光はレンズを介して総合倍率28倍に拡大され、3CCDカメラによって撮像される。本研究におけるエバネッセント波の染み込み深さは85 nm、また計測領域は直線型矩形流路(断面形状: 50×4000 μm)の中央部236×310 μm である。

4. 結果

4.1. 校正実験

壁面ゼータ電位は流路壁面の材質および溶液の性質に依存するため、壁面材質および溶液のイオン種をパラメータとして変化させた時の蛍光強度比とゼータ電位の計測を行った。壁面材質としてはホウ珪酸ガラス、石英ガラス、およびマイクロコンタクトプリンティング法^[2](μCP 法)によりガラス表面に修飾したOTS(オクタデシルトリクロロシラン)、イオン種としてはNaCl, KCl, CaCl₂を選定した。5mMのHEPES緩衝溶液に上述したイオン(イオン強度2.5mM)および表1で示した2種の蛍光色素を混入し、流路内に送液して流路壁面近傍の蛍光強度を3CCDカメラにより撮像した。取得したR, G画像それぞれの平均強度から蛍光強度比 I_R/I_G を算出した。またその時のゼータ電位を求めるために、蛍光色素に替えて粒子径0.5 μm の蛍光粒子を体積濃度0.05%で混入した溶液に

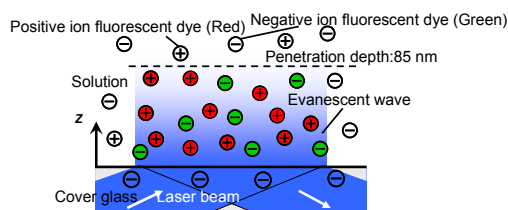


Fig. 1. Schematic of two kinds of near-wall fluorescent dye illuminated by evanescent wave.

Table 1. Property of two color fluorescent dye

		Ru(Phen)	Alexa 488
Molecular weight	[g/mol]	712	643
Concentration	[μM]	50	5
Excitation wavelength	[nm]	449	488
Emission wavelength	[nm]	582	519

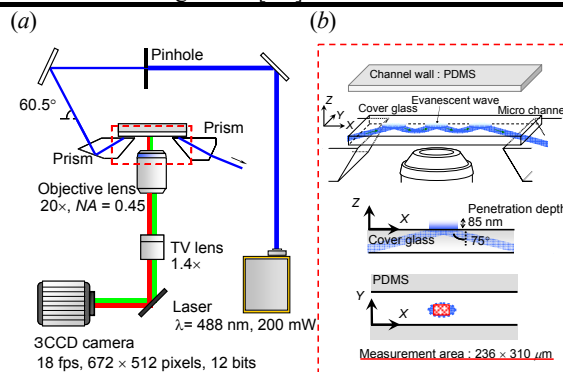


Fig. 2. (a) Measurement system and (b) detail view of evanescent wave illumination area.

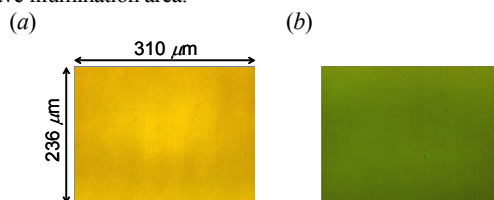


Fig. 3. 3CCD images of fluorescence on (a) the silica glass and (b) OTS-modified glass.

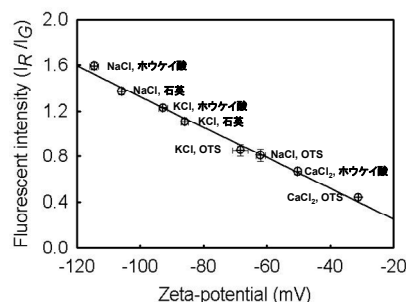


Fig. 3. The relationship between the fluorescent intensity and zeta-potential obtained by calibration experiments.

入れ替え、電界印加により発生させた電気浸透流の速度を計測した。ゼータ電位が一様に分布している流動場において成り立つ(1)式を用いて、得られた電気浸透流速度 U_{eof} からゼータ電位 ζ を算出した。

$$U_{eof} = -\frac{\epsilon\zeta}{\eta} E \quad (1)$$

但し、 ϵ は誘電率、 η は粘性係数、 E は電界を示す。図3に溶液中のイオン種がNaClである時の石英(a)およびOTS(b)における蛍光画像を示した。ゼータ電位が -106 mVと算出された石英(a)においては、赤色蛍光を有する陽イオンの Ru(Phen) が、ゼータ電位が -62 mVと算出された OTS(b)においては緑色蛍光を有する陰イオンの Alexa 488 がそれぞれ壁面近傍において相対的に多く存在すると考えられる。各壁面材質およびイオン種において計測した蛍光強度比およびゼータ電位の関係を図3にまとめた。また最小二乗法により近似曲線を求め、ゼータ電位と蛍光強度の校正曲線とした。

4. 2. 表面修飾パターンの定量的可視化

本手法を用いて、直線型矩形流路中央付近(図4(a))の石英ガラスに μ CP法によって形成させた $100 \mu\text{m}$ 間隔のOTSタイルパターン(図4(b), (c))の定量的評価を行った。送液した溶液の組成は校正実験の際に用いたものと同様にした。イオン種にNaClを用いた時の3CCDカメラによって撮像した蛍光画像(図5(a))および得られた蛍光画像に校正曲線を適用することによって求めたゼータ電位二次元分布(図5(b))を示した。OTSタイルパターンを2色の蛍光を用いて可視化することができたと同時に、ゼータ電位によって定量的に評価することができた。図5(b)において、石英ガラスの領域では概ね様なゼータ電位であるのに対し、OTSパターンの領域では局所的なゼータ電位の分布が生じているが、これはOTS単分子膜のむらに起因するものである。

4. 3. 計測法の妥当性の検証

4. 3. 1. 電気浸透流速度による評価

本計測手法の妥当性を検証するために $100 \mu\text{m}$ 間隔のOTSタイルパターンにおける電気浸透流速度を計測した。校正実験の際と同様に粒子溶液を用いて電気浸透流を発生させた時のエバネッセント波によって照射される壁面近傍の電気浸透流速度分布を図6に示す。(1)式より電気浸透流速度はゼータ電位に依存しているが、OTSパターンと同様な $100 \mu\text{m}$ 間隔のタイル状の速度分布が形成されていることから、本計測手法によりOTSパターンの可視化が有効であることが確認できた。

4. 3. 2. 電気浸透移動度による評価

4.2節のゼータ電位分布より得られる電気浸透移動度と4.3.1節の速度分布より得られる移動度を比較することにより、本計測法の妥当性の検証を行った。 $y = 114 \mu\text{m}$ における電気浸透移動度 μ_{eof} を以下の式により求め、図7に示した。

$$\mu_{eof} = -\frac{\epsilon}{\eta} \zeta \quad (2)$$

$$\mu_{eof} = -\frac{U_{eof}}{E} \quad (3)$$

速度計測より算出された電気浸透移動度は粘性の影響が見られるが、ゼータ電位より算出された移動度と概ね一致することから本計測手法の妥当性が検証された。

5. 結言

帯電量の異なる2色の蛍光色素を用いて表面修飾パターンの可視化およびゼータ電位による定量的な評価を行った。粒子を用いた電気浸透流速度計測および電気浸透移動度の比較より本計測法の妥当性を検証した。

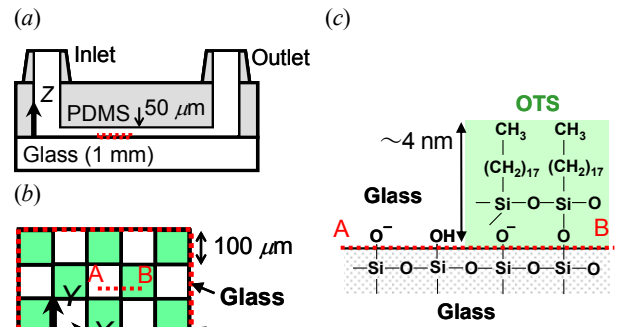


Fig. 4. Schematic of (a) I-shaped microchannel with $50 \mu\text{m}$ depth and (b) top view and (c) cross-sectional view of OTS-modified tile pattern with a scale of $100 \mu\text{m}$.

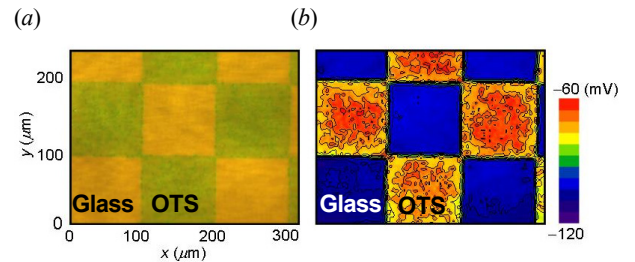


Fig. 5. (a) 3CCD image of fluorescence on the OTS-modified tile pattern and (b) zeta-potential distribution obtained using the calibration curve.

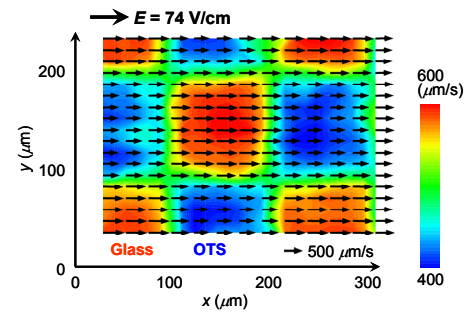


Fig. 6. Velocity vector map obtained from the measurement of electroosmotic velocity on the glass with OTS-modified tile pattern.

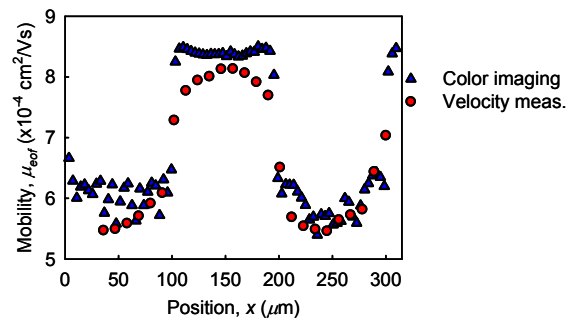


Fig. 7. Comparison of electroosmotic mobility in X-direction at Y value of $114 \mu\text{m}$ obtained by the color imaging and that by the velocity measurement.

参考文献

- [1] López, G. P., ほか2名, *Langmuir*, **9** (1993), 1513–1516.
- [2] Whitesides, G.M., ほか1名, *Appl. Phys. Lett.*, **63** (1993), 2002.