

平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書

◆記入に当たっては、「平成18年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究終了報告書記入要領」を参照してください。

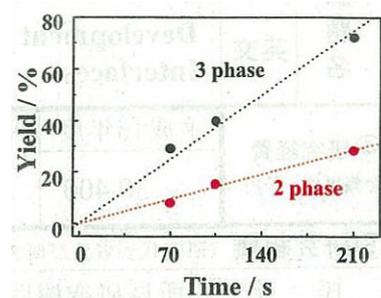
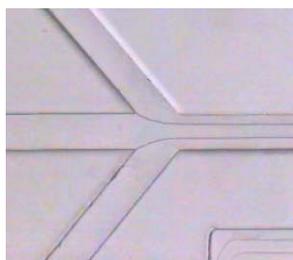
ローマ字		KITAMURA NOBORU					
①研究代表者名 氏名		喜多村 昇			②所属研究機関・ 部局・職		北海道大学・大学院理学研究科・ 教授
③研究 課題 名	和文	微小液/液界面を利用した新規な反応・分析法の展開					
	英文	Development of Reaction and Analysis Systems Based on Liquid/Liquid Interfaces					
④研究経費 金額単位：千円	平成13年度	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	総合計	
	30,400	35,500	10,300	7,200	5,300	88,700	
⑤研究組織（研究代表者及び研究分担者） *平成18年3月31日現在							
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）				
喜多村 昇	北海道大学・大学院理学研究科・教授	分析化学 光化学	マイクロチップを利用した液/液界面化学の研究と研究総括				
石坂 昌司	北海道大学・大学院理学研究科・助手	分析化学 光化学	油/水エマルションおよび単一油滴の光・電気化学反応				
坪井 泰之	北海道大学・大学院理学研究科・助教授	物理化学 レーザー光化学	単一油滴に基づいた新規な液/液界面計測法の開発と応用				
⑥当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）							
<p>本研究においては、代表者らが長年に亘って培ってきた顕微分光法（吸収・蛍光）、単一微粒子のレーザー捕捉法、マイクロ電気化学法、マイクロチャンネルチップ作製技術など、種々のマイクロ化学の手法を駆使し、微小液/液界面過程を新たな反応や分析法へ応用することを目的とした。更に、これをマイクロチャンネル中の液/液界面へ展開することにより、反応・分析の自動化やシステム化を図ることとした。具体的には以下の研究を進めることとした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 油水エマルション系における新規反応の探索と反応機構解析 2) 油/水界面における分子認識・分子間相互作用を利用した界面反応・現象の特徴の解明と新規分析法への展開 3) 単一油滴における上記の反応・現象のサイズ依存性の検討と油滴サイズによる反応の最適化 4) 上記の油/水界面反応のマイクロチャンネルチップへの展開に基づく、マイクロリアクター/マイクロ分析システムの創製 <p>これらの研究を通し、微小液/液界面に特徴的な機能を巧みに利用した新規な反応・分析システムを構築する。</p>							

⑦ 研究成果の概要 (研究目的に対する研究成果を必要に応じて図表等を用いながら、簡潔に記入してください。)

当初の研究目的 1), 3), 4) (前ページ項目⑥に記載)に関連し、以下の研究成果を挙げた。

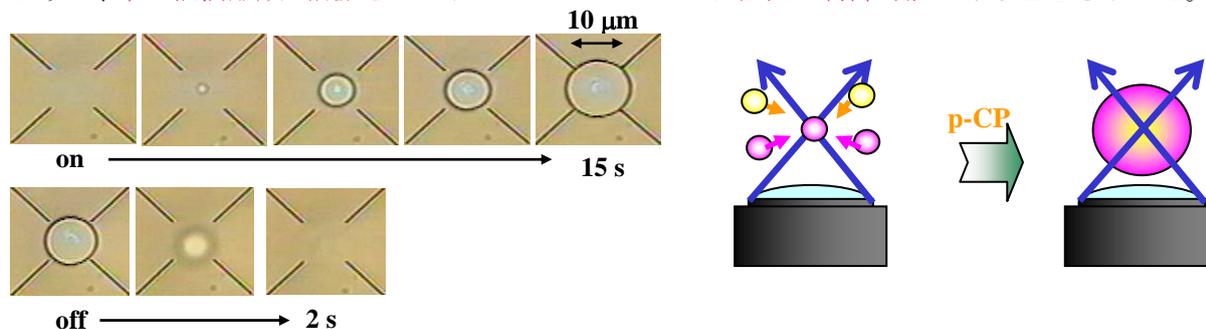
油水エマルションおよび単一油滴系：油水界面を透過するイオン移動反応・電子移動反応に関する分析化学的な研究の背景に基づき、油水エマルション系における芳香族炭化水素 (ArH:ピレン、ペリレン、フェナントレン、カルバゾール誘導体など) の**光シアノ化、光アセトキシ化反応を見出し、その反応機構、収率、特徴を明らかにした**。また、ArHとしてペリレンを例とし、単一油滴レベルにおける光シアノ化反応について検討を行った。その結果、ペリレンの光シアノ化反応収率・速度には油滴サイズ依存性が観測され、**油滴サイズの減少とともに反応収率・速度ともに向上することを初めて実験的に明らかにした**。

油水界面反応のマイクロチャンネルへの展開：上で述べた ArH の光シアノ化反応をマイクロチャンネル中の油水界面系に応用した。油水 2 相あるいは油水油 3 相系マイクロチャンネル (写真参照)を利用することにより、ピレンの光シアノ化反応について反応時間 210 秒、反応収率 72%を達成した。また、生成物



であるシアノピレンはチャンネル出口の油相からのみ得られ、本系においては光反応と生成物抽出がチャンネルの溶液フローの中で同時に進行していることが示され、**光マイクロリアクターとして働くことを明らかにした**。

単一微小油滴のレーザー誘起形成と抽出化学への展開：トリエチルアミン (TEA) 水溶液は約 26°C 以上で相分離を起こすことが知られている。そこで、顕微鏡下において TEA 水溶液の 1064 nm レーザー光による光熱変換相分離を誘起することにより単一 TEA 油滴形成を試みた。その結果、下の写真に示すように、**単一油滴形成・消滅をレーザーのオン/オフにより自在に制御可能**であることを示した。また、



この TEA 油滴形成に伴い、周囲の水相中の**溶質 (p-chlorophenol: p-CP)** が単一油滴中へ**抽出・濃縮**されることを in situ 顕微ラマン分光から明らかにした。微小領域において抽出場を任意に形成するとともに、抽出過程をマイクロ化学法により明らかにすることができる。

当初の研究目的 2) (前ページ項目⑥)に関連し、以下の成果を挙げた。

液/液界面構造・機能の全反射蛍光解析：ピコ秒時間分解全反射蛍光法を駆使することにより、液/液界面の構造と諸機能の関係を解明した。特に、3 点水素結合を介した**油水界面におけるホスト-ゲスト間の分子認識を全反射蛍光ならびに動的蛍光異方性から直接捉え**るとともに、**分子認識機能と油水界面の構造 (厚さ、極性など) の関係を解明した**。なお、本研究は Analytical Chemistry 誌の accelerated paper として選ばれるとともに、その表紙を飾った (右写真)。



⑧特記事項 (この研究において得られた独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、当該研究分野及び関連研究分野への影響等、特記すべき事項があれば記入してください。)

微小空間におけるサイズ依存化学の実証：微小空間においては種々の現象が容器サイズに依存することが予測されているが、これを実験的に実証した例は殆んど無かった。本研究において、油滴/水界面を経由するArHの光シアノ化反応を対象とし、単一油滴のレーザー捕捉・顕微分光法を駆使することにより、図1に示すような反応量子収率に対する油滴サイズ依存性を初めて実験的に証明した。この結果は『**微小空間化学の特徴**』を明確に示した例として意義は大きい。なお、本研究を行うにあたり、顕微鏡下の単一油滴レベルにおける光量、量子収率決定の実験法を考案・報告した。顕微鏡下における定量的な光実験方法に関する報告はこれまでほとんど無かったが、本研究によりそれを確立することができた。したがって、本研究成果は**マイクロ分析化学法の基礎実験法を確立した**点でも意義は大きい。

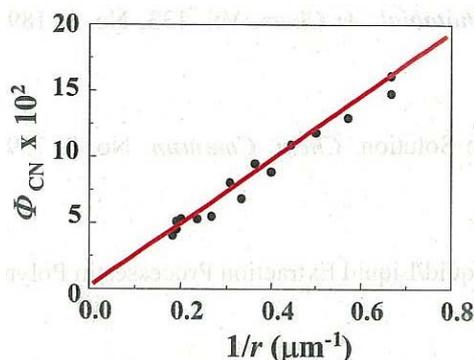


図1 光反応の油滴サイズ依存性

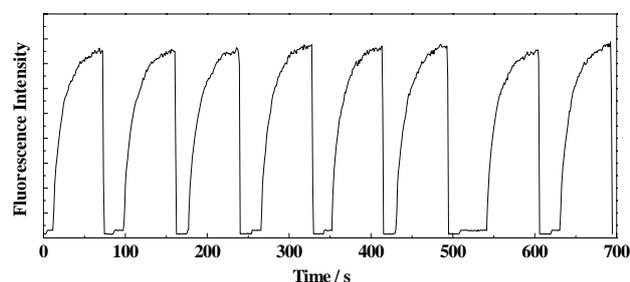


図2 マイクロチップ中における単一油滴形成・抽出

単一微小液滴に基づく分離化学の新展開：⑦項で述べたように、単一液滴のレーザー誘起形成と、その抽出・濃縮分析への応用に成功した。この方法では、**数μLの試料溶液中にpLの微小単一油滴を任意に形成させることにより、溶液中の溶質を単一油滴中に効率よく抽出することができる**。また、**抽出挙動・濃縮率などを単一油滴のレーザー捕捉・顕微分光(蛍光・ラマン)によりin situ計測することができる**。さらに、油滴にはレーザー光(1064 nm)の放射圧が加わることで溶質が油滴中に濃縮される結果、バルク系に比べ抽出率が高くなることを明らかにした。すなわち、『**放射圧による油滴へのin situ高濃度濃縮**』が可能になり、これまでの液/液抽出概念とは異なる新規な展開を果たすことができた。このレーザー誘起単一油滴形成・分析法をマイクロチャンネルに応用することにより、その有用性を実証することにも成功している。すなわち、マイクロチャンネル中に試料溶液を送液しながら、1064 nm光を照射することにより**チャンネル中に単一油滴を形成させ、試料溶液の流れの中で油滴中に溶質を抽出・濃縮することができる**。図2はその一例であり、レーザーのオン/オフにより高再現性かつ連続的に油滴形成・抽出(図2では抽出効率が蛍光強度として表されている)が可能になった。放射圧による高効率濃縮の特徴を含め、本手法は、今後、新規な自動分析法として発展させることが可能である。

液/液界面反応型マイクロリアクター：項目⑥で述べたように、マイクロチャンネルチップ中におけるArHの液/液界面経由光シアノ化反応を明らかにした。この系においては、バルク系と比べ、収率や反応時間を大幅に向上させることができるという観点の他、**液/液界面反応系をマイクロチャンネルに応用した点で極めて大きな意義がある**。すなわち、チャンネル中における液/液界面を利用した抽出実験はこれまで広く行われてきたが、化学反応に応用して例は極めて少なかった。本研究においては、**自ら見出した油水界面を経由する光反応をマイクロチップ系に応用し、光反応と生成物抽出をチャンネル中の流れの中で連続して行うことができることを初めて示した**。これはマイクロチャンネル中の液/液界面は様々な系や反応に利用可能であることを示しており、研究成果の意義は大きい。実際に、本研究結果はマイクロリアクター関連の総説や書籍などで頻りに引用され始めている。

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

原著論文

1. K. Nakatani, M. Sudo and N. Kitamura.
A Study on Liquid-Liquid Extraction into Single Picoliter Droplets and In Situ Electrochemical Microanalysis. *Anal. Chem.* Vol. 72, No. 2, 339-342 (2000).
2. H. Yao, F. Kitagawa and N. Kitamura.
Photoisomerization of DODCI at Solid/Liquid Interfaces Studied by Steady-State and Time-Resolved Total-Internal-Reflection Fluorescence Spectroscopy. *Langmuir* Vol. 16, No. 7, 3454-3461 (2000).
3. S. Habuchi, H.-B. Kim and N. Kitamura.
Chemical-Size Effects on Fluorescence Lifetime of Rhodamine 6G in Ethylene Glycol/Water Microdroplets Dispersed in Polydimethylsiloxane Matrix. *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.* Vol. 133, No. 3, 189-196 (2000).
4. H. Yao, M. Omizo and N. Kitamura.
Mesoscopic String Structures of Thiocyanine J Aggregates in Solution. *Chem. Commun.* No. 9, 739-740 (2000).
5. H.-B. Kim, K. Ueno, M. Chiba, O. Kogi and N. Kitamura.
A Spatially-Resolved Fluorescence Spectroscopic Study on Liquid/Liquid Extraction Processes in Polymer Microchannels. *Anal. Sci.* Vol. 16, No. 8, 871-876 (2000).
6. O. Kogi, H.-B. Kim and N. Kitamura.
Microinjection-Microspectroscopy of Single Oil Droplets in Water: An Application to Liquid/Liquid Extraction under Solution-Flow Conditions. *Anal. Chim. Acta* Vol. 418, No. 2, 129-135 (2000).
7. K. Ueno, F. Kitagawa, H.-B. Kim, T. Tokunaga, S. Matsuo, H. Misawa and N. Kitamura.
Fabrication and Characteristic Responses of Integrated Microelectrodes in Polymer Channel Chip. *Chem. Lett.* No. 8, 858-859 (2000).
8. N. Terui, K. Nakatani and N. Kitamura.
Kinetic Analysis of Electrochemically-Induced Ion Transfer across a Single Microdroplet/Water Interface. *J. Electroanal. Chem.* Vol. 494, No. 1, 41-46 (2000).
9. S. Habuchi, H.-B. Kim and N. Kitamura.
Water Structures in Ion-Exchange Resin Particles: Solvation Dynamics of Nile Blue A. *Anal. Chem.* Vol. 73, No. 2, 366-372 (2001).
10. S. Ishizaka, H.-B. Kim and N. Kitamura.
Time-Resolved Total Internal Reflection Fluorometry Study on Polarity at Liquid/Liquid Interface. *Anal. Chem.* Vol. 73, No. 11, 2421-2428 (2001).
11. M. Chiba, K. Ogawa, K. Tsuge, M. Abe, H.-B. Kim, Y. Sasaki and N. Kitamura.
Ruthenium(II) Complex Having Crown-Ether Moiety at 3,3'-Positions on 2,2'-Bipyridine Ligand: Spectroscopic Responses upon Ion Recognition. *Chem. Lett.* No.7, 692-693 (2001).
12. N. Kitamura, Y. Suzuki, M. Chiba, N. Sakata and H.-B. Kim.
Spectroscopic Evidence of Cooperative Binding of a Host in Molecular Hinge. *Chem. Lett.* No.7, 720-721 (2001).
13. F. Kitagawa, M. Murase and N. Kitamura.
Photocyanation of Pyrene in an Oil-in-Water Emulsion System. *Chem. Lett.* No.8, 786-787 (2001).

- ⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)
14. S. Ishizaka and N. Kitamura.
Time-Resolved Total Internal Reflection Fluorometry Study on Chemical and Structural Characteristics at Water/Oil Interfaces. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* Vol. 74, No. 11, 1983–1998 (2001).
 15. O. Kogi, K. Yuya, H.-B. Kim and N. Kitamura.
Auto-Oscillated Vibration of Single Micrometer-Sized Oil Droplets in Aqueous Surfactant Solution. *Langmuir* Vol. 17, No. 24, 7456–7458 (2001).
 16. F. Kitagawa and N. Kitamura.
Laser Trapping-Picosecond Fluorescence Microspectroscopy of Single Microdroplets under High Pressure: Droplet-Size and Pressure Effects. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* Vol. 74, No.4, 705–709 (2002).
 17. R. Y. Lai, M. Chiba, N. Kitamura, and A. J. Bard.
Electrogenerated Chemiluminescence 68. Detection of Sodium Ion with a Ruthenium(II) Complex with Crown-Ether Moiety at 3,3'-Positions on the 2,2'-Bipyridine Ligand. *Anal. Chem.* Vol. 74, No. 3, 551–553 (2002).
 18. M. Chiba, H.-B. Kim, and N. Kitamura.
Photochemical Ion Receptor Based on Structurally-Distorted Ruthenium(II) Complex Having Crown-Ether Moiety at 3,3'-Positions on 2,2'-Bipyridine Ligand. *Anal. Sci.* Vol. 18, No. 4, 461–466 (2002).
 19. F. Kitagawa, M. Murase, and N. Kitamura.
A Mechanistic Study on Photocyanation of Pyrene in Oil-in-Water Emulsion System. *J. Org. Chem.* Vol. 67, No. 8, 2524–2531 (2002).
 20. M. Chiba, H.-B. Kim, and N. Kitamura.
Spectroscopic and Photophysical Responses of Ruthenium(II) Dication – Calix[4]arenetetrasulfonate Hybrid Complex upon Ion Binding. *J. Photochem. Photobiol. A. Chem.* Vol. 151, No. 1-3, 67–74 (2002).
 - ②1 F. Kitagawa and N. Kitamura.
A Laser Trapping – Spectroscopy Study on Photocyanation of Perylene across Single Micrometer-Sized Oil Droplets/Water Interface: Droplet-Size Effects on Photoreaction Quantum Yield. *Phys. Chem. Chem. Phys.* Vol. 4, No. 18, 4495–4503 (2002).
 22. O. Kogi, H.-B. Kim, and N. Kitamura.
Chemical Responses of Single Yeast Cells Studied by Fluorescence Microspectroscopy under Solution-Flow Conditions. *Analyst* Vol. 127, No. 7, 967–971 (2002).
 23. K. Ueno, F. Kitagawa, and N. Kitamura.
Photocyanation of Pyrene across an Oil/Water Interface in a Polymer Microchannel Chip. *Lab. Chip* No. 4, 231–234 (2002).
 24. K. Ueno, H.-B. Kim, and N. Kitamura.
Channel Shape Effects on Solution-Flow Characteristics and Liquid/Liquid Extraction Efficiency in Polymer Microchannel Chips. *Anal. Sci.* Vol. 19, No. 3, 391–394 (2003).
 25. K. Ueno, H.-B. Kim, and N. Kitamura.
Characteristic Electrochemical Responses of Polymer Microchannel-Microelectrode Chips. *Anal. Chem.* Vol. 75, No. 9, 2086–2091(2003).
 26. N. Kitamura, Y. Hosoda, C. Iwasaki, K. Ueno, and H.-B. Kim.
Thermal Phase Transition of an Aqueous Poly(N-isopropylacrylamide) Solution in a Polymer Microchannel- Microheater Chip. *Langmuir* Vol. 19, No. 20, 8484–8489 (2003).

⑨研究成果の発表状況(続き) (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを
含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、
及び国際会議、学会、特許等の発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3
件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

27. [N. Kitamura](#) and F. Kitagawa.
Optical Trapping-Chemical Analysis of Single Microparticles in Solution. *J. Photochem. Photobiol.: C* Vol. 4, No. 3, 227-247 (2003).
- ②8 [S. Ishizaka](#), [S. Kinoshita](#), [Y. Nishijima](#), and [N. Kitamura](#).
Direct Observation of Molecular Recognition Mediated by Triple Hydrogen Bonds at a Water/Oil Interface: Time-Resolved Total Internal Reflection Fluorometry Study. *Anal. Chem.* Vol. 75, No. 22, 6035-6042 (2003).
29. [K. Ueno](#) and [N. Kitamura](#).
A Study on Perylene Cation Radical in Polymer Microchannel-Microelectrod Chip. *Analyst* Vol. 128, No. 12, 1401-1405 (2003).
30. [N. Kitamura](#), [Y. Hosoda](#), [K. Ueno](#), and [S. Iwata](#).
An Application of Plastic Microchannel-Microheater Chip to a Thermal Synthetic Reaction. *Anal. Sci.* Vol. 20, No. 5, 783-786 (2004).
31. [S. Ishizaka](#), [Y. Ueda](#), and [N. Kitamura](#).
Time-Resolved Total Internal Reflection Fluorescence Study on Hybridization of Complementary Single-Strand DNAs at a Water/Oil Interface. *Anal. Chem.* Vol. 76, No. 17, 5075-5079 (2004).
32. [K. Ueno](#), [F. Kitagawa](#), and [N. Kitamura](#).
One-Step Electrochemical Cyanation Reaction of Pyrene in Polymer Microchannel-Electrode Chips. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* Vol. 77, No.7, 1331-1339 (2004).
33. [S. Ishizaka](#) and [N. Kitamura](#).
Photoinduced Redox Cycle of Riboflavin at a Water/Oil Interface. *Anal. Sci.* Vol. 20, No.11, 1587-1592 (2004).
34. [N. Kitamura](#), [A. Kita](#), and [F. Kitagawa](#).
Reductive Photocyanation of 1,10-Phenanthroline in Aqueous Media. *J. Photochem. Photobiol. A:Chem.* Vol. 174, No. 2, 149-155 (2005).
35. [石坂 昌司](#), [上田 雄一](#), [西島 喜明](#), [喜多村 昇](#)
時間分解全反射蛍光法を用いた液/液界面における分子間相互作用に関する研究, *分析化学* Vol. 54, No. 5, 339-346 (2005).
- ③6 [N. Kitamura](#), [M. Yamada](#), [S. Ishizaka](#), and [K. Konno](#).
Laser-Induced Liquid-to-Droplet Extraction of Chlorophenol: Photo-Thermal Phase Separation of Aqueous Triethylamine Solutions. *Anal. Chem.* Vol. 77, No. 18, 6055-6061 (2005).
37. [石坂 昌司](#), [荒木 武志](#), [西島 喜明](#), [喜多村 昇](#)
水/1,2-ジクロロエタン界面における6-ヒドロキシピレン-スルホン酸の励起状態プロトン移動ダイナミクス, *分析化学* Vol. 54, No. 6, 473-478 (2005).

書籍

1. [F. Kitagawa](#) and [N. Kitamura](#).
Photoredox Chemistry of Single Microdroplets in Water. *Single Organic Nanoparticles*, H. Masuhara, H. Nakanishi, and K. Sasaki Eds., Springer-Verlag, Berlin, 267-284 (2003).
2. [喜多村 昇](#)
単一微粒子の分光分析, *先端化学シリーズ VI, 界面・ナノテクノロジー・分子エレクトロニクス・ナノ分析*, 日本化学会編, 丸善, pp. 289-297 (2004).