

毛細管をつかった

極微量液体(5 μ L以下)粘度の簡便迅速な測定法

産業医科大学 医学部

名誉教授 大野宏毅

2024年11月19日

背景

従来、液体粘度の測定には実験室レベルの機器とmL単位の試料が必要であった。一方、医療分野では体液の粘度と病気との関係が議論されている。例えば血液粘度の大きな被験者グループは、後年糖尿病を発症するリスクが大きいという疫学調査がある。また、唾液粘度と歯周病の重症度との間に相関があることが指摘されている。しかし既存の方法では、粘度を現場で簡便・迅速に測定することができないため研究が進んでいない。このような事情から、微量な試料の粘度などの流動特性を、シンプルな装置で短時間に計測することのできる技術が求められていた。

本発明の目的

微量の液体試料(体液等)の流動特性(粘度等)
を簡便に測定する方法を提供する。

本発明の概略

微量液体の粘度測定：50 μ L以上の液体試料をつかうことができれば、その試料の粘度と表面張力を同時に決定することができる。

極微量液体の粘度測定：3～5 μ Lの液体試料をつかって、その試料の粘度および動粘度を決定することができる。

従来技術とその問題点

従来技術は、生体試料粘度の簡便測定に適さない。
それは、

- ①粘度測定に数mL以上の試料を必要とする
- ②迅速な測定ができない
- ③粘度測定プローブを密封することができない
- ④試料に接触した部品 of 安全廃棄が難しい
- ⑤測定装置が高額である

など、いずれかの困難のためである。

従来の粘度測定技術と本方法の比較

粘度測定法	必要な試料	迅速な測定	微量体液試料
回転粘度計	>5mL	×	×
細管粘度計	>5mL	×	×
振動粘度計	>1mL	×	×
EMS粘度計	>90 μ L	△	△
RSM粘度計	>3 μ L	△	△
本発明の方法	3 ~ 70 μ L	○	◎

粘度測定従来法は、

- ①装置が大がかりで実験室や検査室レベルであり、
 - ②極微量の試料の迅速な測定が難しい
- という課題がある。

背景となった発表者らの研究

特許第7134430号

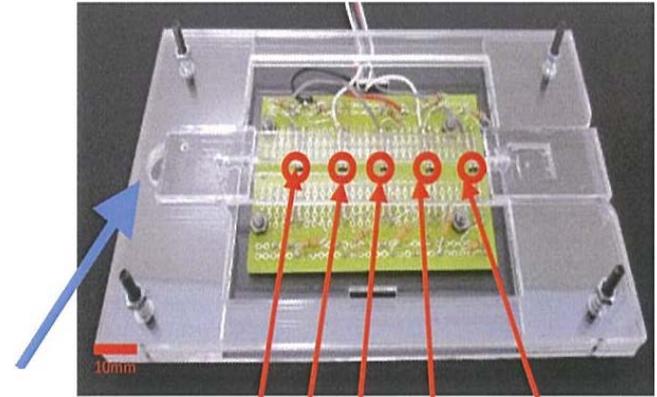
- 毛細管内の流動時間から粘度指標を算出する基本原理

特許第7371850号

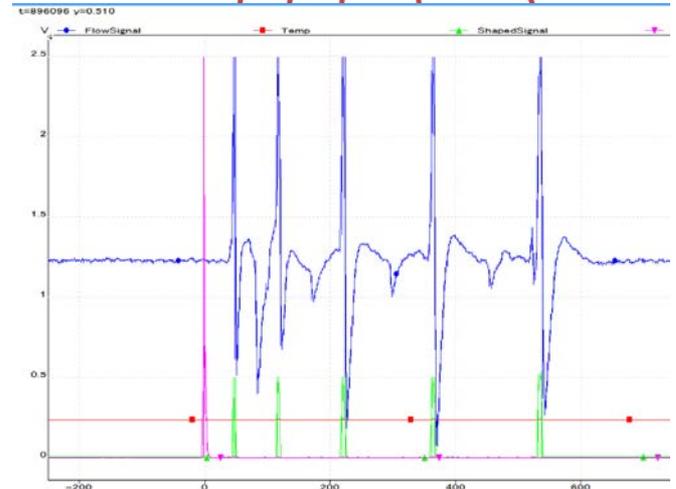
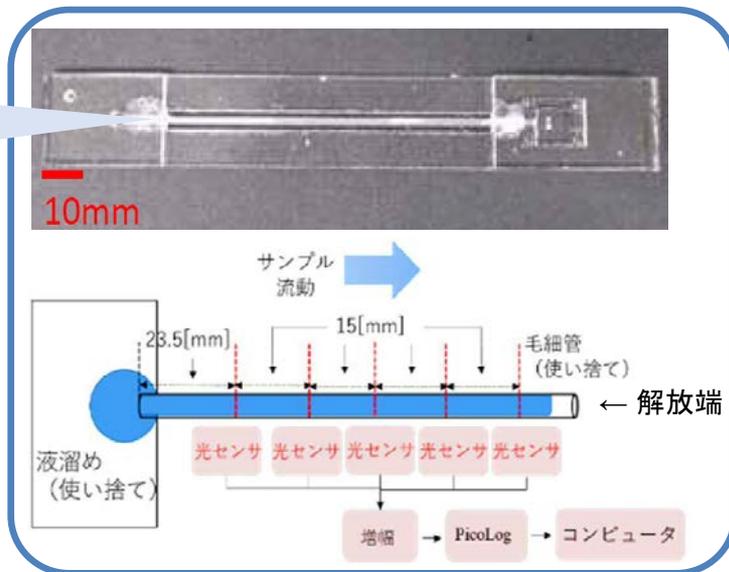
- 電磁弁を用いた流動(開始/停止)制御

課題 : 流れは粘度 η と表面張力 σ で決まる。
流動時間測定だけではそれぞれの寄与を分離できない。

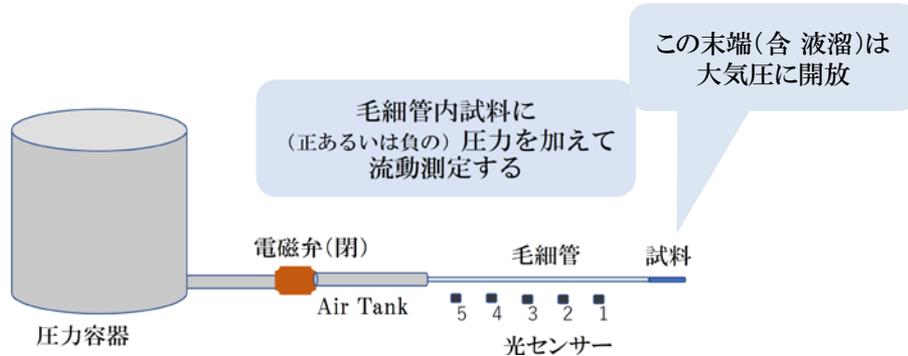
➡ 毛細管内試料に圧力を加えて流動測定する方法を開発した。
(次頁: WO2022/201485)



毛細管
内径 0.68 mm
長さ 100 mm

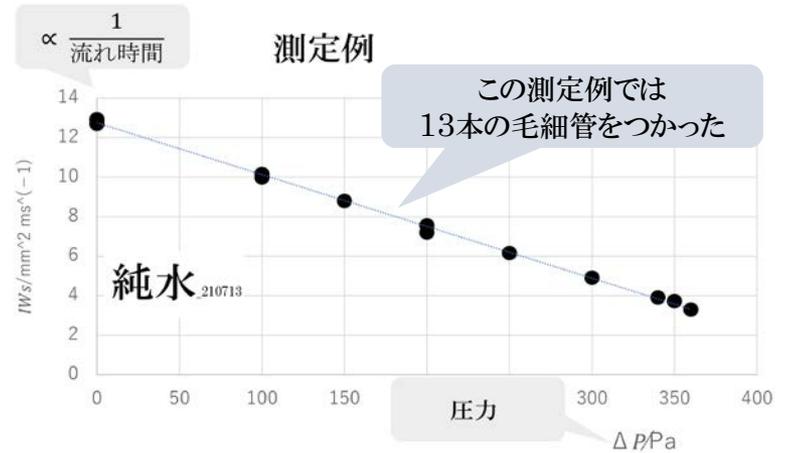
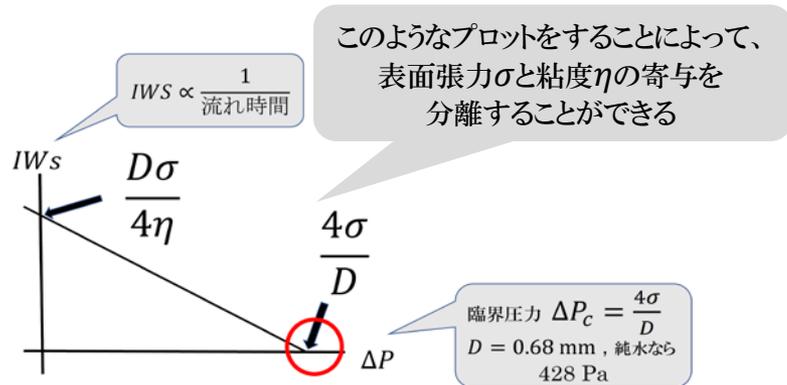


背景となった発表者らの研究 WO2022/201485



課題 : 一つの条件での測定に一本の毛細管を使う(毎回交換する)ので、測定条件を変更しながら迅速に測定することができない。

➡ 圧力調整により試料の「押し戻し」を可能とし、毛細管内の試料を往復させて流動測定する方法を開発した : **(本発明)**



本発明の技術内容 (I) : 試料の液溜めへの押し戻し

50 μ L以上の試料が使えるとき

毛細管内の流れ



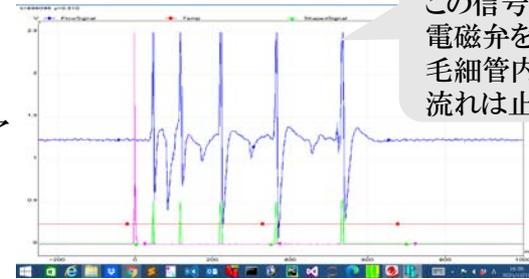
流動終了

押し戻し動作

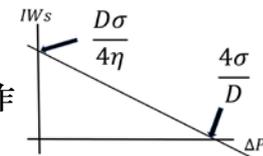
押し戻し終了

動作の流れ

- ① 流動測定を行う
- ② 毛細管内の試料に圧力を加えて液溜めへ押し戻す
- ③ 初期位置に戻った試料で再度流動測定を行う
- ④ ②に戻る



この信号を検出したら、
電磁弁を閉じる。
毛細管内圧が上り、
流れは止まる。



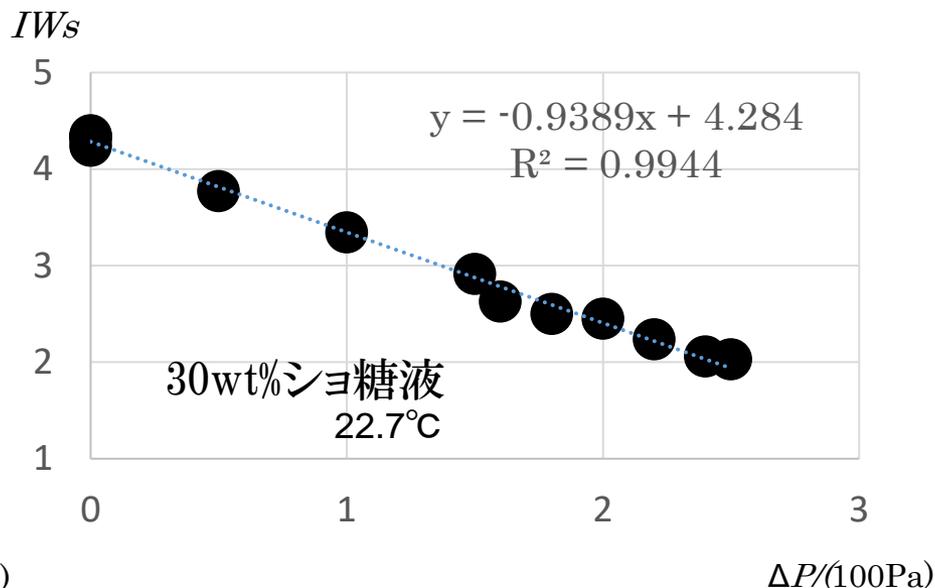
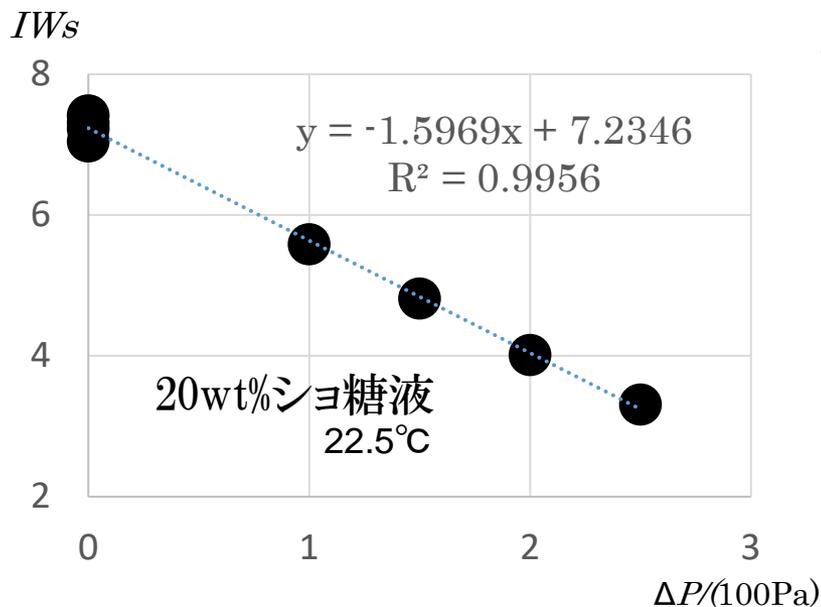
臨界圧力 $\Delta P_c = \frac{4\sigma}{D}$
より大きな圧力を加えて
押し戻す



この信号を検出したら、
電磁弁を閉じて、
陽圧を解除する。

発明の実証例①: ショ糖液の入れ替えと粘度測定

まず20wt%ショ糖液について0~250Pa（大気圧との圧力差）の陽圧を順次加えながら流動を測定した（左図）。次いで試料を30wt%ショ糖液に入れ替えて共洗いした後、0~250Paの陽圧を加えながら流動を測定した（右図）。一連の測定（測定点 20）で使用した“消耗品”は、毛細管 1 本、20wt%ショ糖液 70 μ L、30wt%ショ糖液 140 μ L であった。



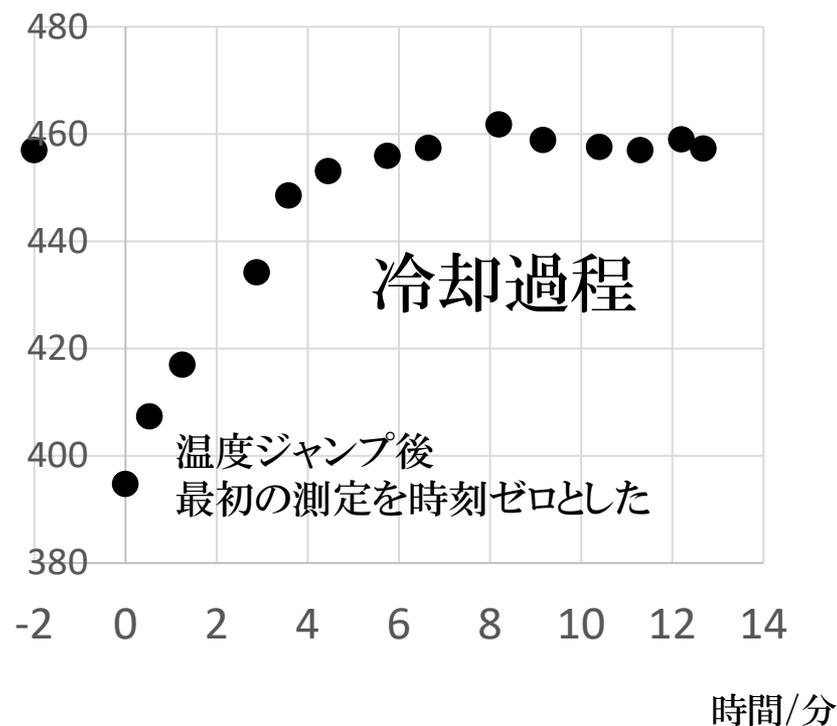
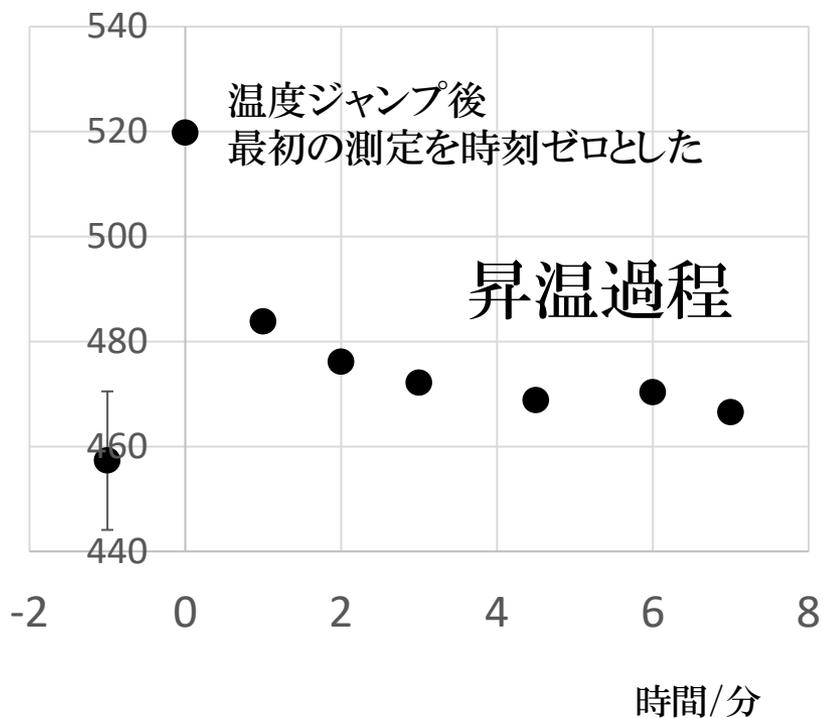
発明の実証例②：高分子稀薄液の粘度と表面張力測定

まず純水について0～250Pa の範囲で圧力を変えながら流動を測定した（測定点7）。次いで、試料をポリアクリル酸稀薄溶液に入れ替えて0～250Paの範囲で圧力を変えながら流動を測定した（測定点9）。前頁に示したグラフと同様なプロットをし、純水の粘度と表面張力を基準にしてポリアクリル酸稀薄溶液の粘度と表面張力を算出した。ポリアクリル酸溶液の粘度は、従来型粘度計で測定した値とよく一致した。

試料	粘度 (mPa・s)	表面張力 (mN/m)	温度/°C
純水	0.890	72.0	25
ポリアクリル酸 A45 (2.5mg/mL)	2.38	66.2	25

発明の実証例③：粘度の時間変化の追跡

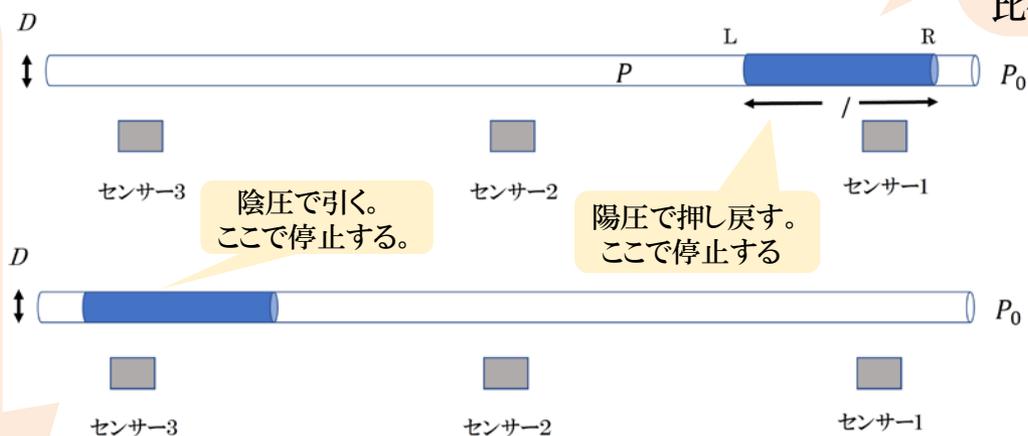
純水の流れ時間を室温で8回測定した後、氷冷した純水70 μ Lと入れ替えた。即座に①大気圧下での流動測定と②陽圧による押し戻しを繰り返して、昇温に伴う流れ時間（粘度）の減少を記録した（左図）。次いで同様に、室温での純水の流れ時間を8回測定した後、約50 $^{\circ}$ Cに熱した純水と入れ替えた。その後の冷却に伴う流れ時間（粘度）の増加を記録した（右図）。「流れ時間/ms：縦軸」は距離60mm離して設置した2つの光センサーを通過する時間（大気圧下）として定義した。



本発明の技術内容(Ⅱ) : 極微量液体試料の粘度測定

試料が3~5 μ Lのとき

毛細管内を
①陰圧 ($P < P_0$) にすると、液柱は左方に運動する。末端に達したことを検知したら、陰圧を解除して停止させる。
②陽圧 ($P > P_0$) に設定して押し戻す。右末端に達したら圧力を解除して停止させる。
動作①②は交互に繰り返すことができる。試料を押し出して交換することもできる。



試料をすべて毛細管内に収容する。 $D = 0.68\text{mm}$ の毛細管に $5\mu\text{L}$ の試料を充填すると、 $l = 13.6\text{mm}$ となる。圧力差 ΔP の下での移動速度 v は粘度 η に反比例する(式1)。

液柱の速度

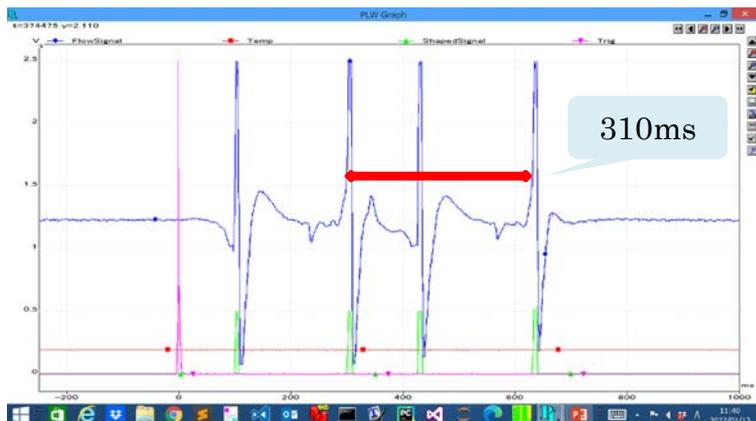
$$v = \frac{\Delta P D^2}{32 \eta l} \quad (1)$$

P_0 : 大気圧

発明の実証例④：極微量溶液試料の粘度測定

毛細管に純水5 μ Lを充填して陰圧（97Pa）を加えて運動させ、信号を記録した（下左図）。次いで、純水試料に陽圧（600～700Pa）を加えて管外に排出したのち30wt%シヨ糖液 5 μ Lを充填した。液を2回往復させて管内を共洗いしたのち排出した。改めて30wt%シヨ糖液 5 μ Lを充填し、陰圧（97Pa）を加えて運動させて信号を記録した（下右図）。濃度30wt%シヨ糖液の流動時間は、純水の～3.1倍であった。シヨ糖液の粘度から期待される値に合致する。

純水



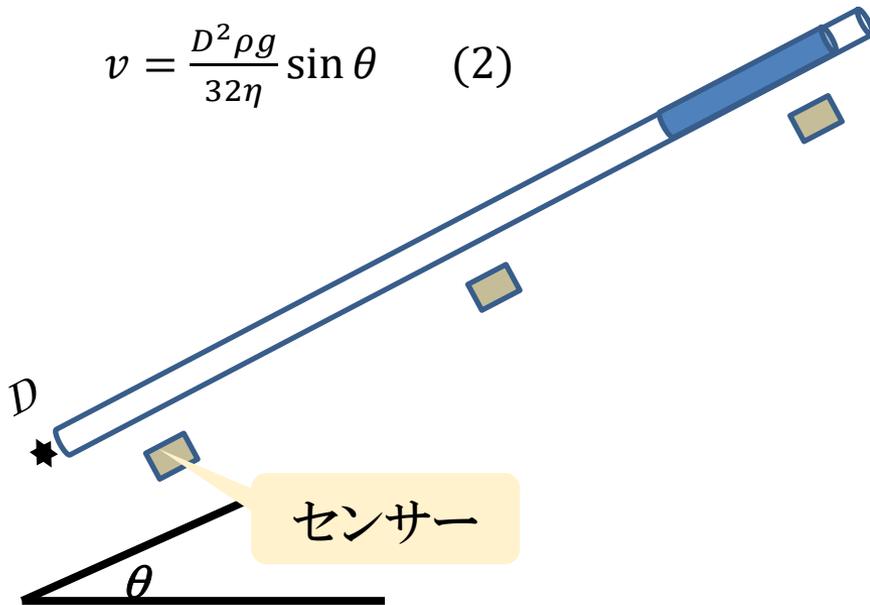
30wt%シヨ糖液



本発明の技術内容(Ⅲ)：極微量試料の傾斜測定

試料が3～5 μ Lのとき

$$v = \frac{D^2 \rho g}{32\eta} \sin \theta \quad (2)$$



- 毛細管を傾斜させ、水平となす角を θ とする。
- 毛細管の下端に電磁弁を接続し、閉じておく。
- 毛細管の上端から試料($\sim 5\mu\text{L}$)を注入する。
- 試料はすべて毛細管内に侵入し、内圧と釣り合った位置で静止する。
- 電磁弁を開いて毛細管内を大気圧に開放すると、試料液柱は重力にしたがって管内を落下する。
- 液柱の“落下”速度 v は左上の式(2)で表される。
- つまり、液柱の“落下”速度は粘度と密度の比 η/ρ (動粘度)に反比例する。
- 試料が最下端に達したら、電磁弁を閉じて停止させる。
- 最下端に達した試料に陽圧を加えて初期位置まで押し戻し、測定を繰り返すことができる。
- さらに、試料を開放端から押し出して交換することもできる。

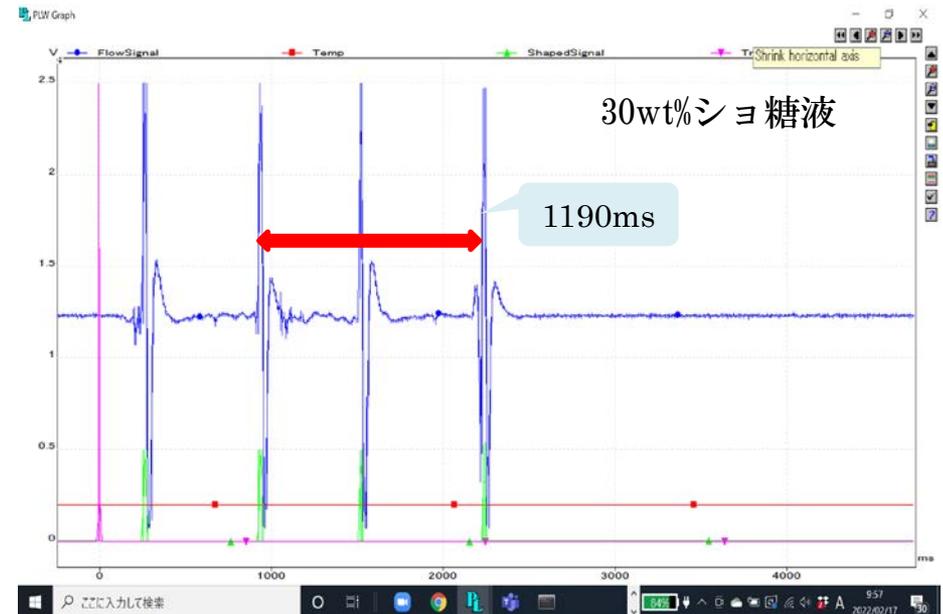
発明の実証例⑤：極微量溶液の傾斜測定

文献値：30wt%シヨ糖液の密度は純水の1.127倍である（20°C）、また、30wt%シヨ糖液の粘度は純水の3.17倍である。よって、30wt%シヨ糖液の動粘度は純水の2.81倍である。

実測：一方、測定（下図）によれば30wt%シヨ糖液の流動時間は純水の2.7倍であった。

結論：2種の極微量（5 μ L）液体試料の動粘度を5%以下の精度で比較することができた。

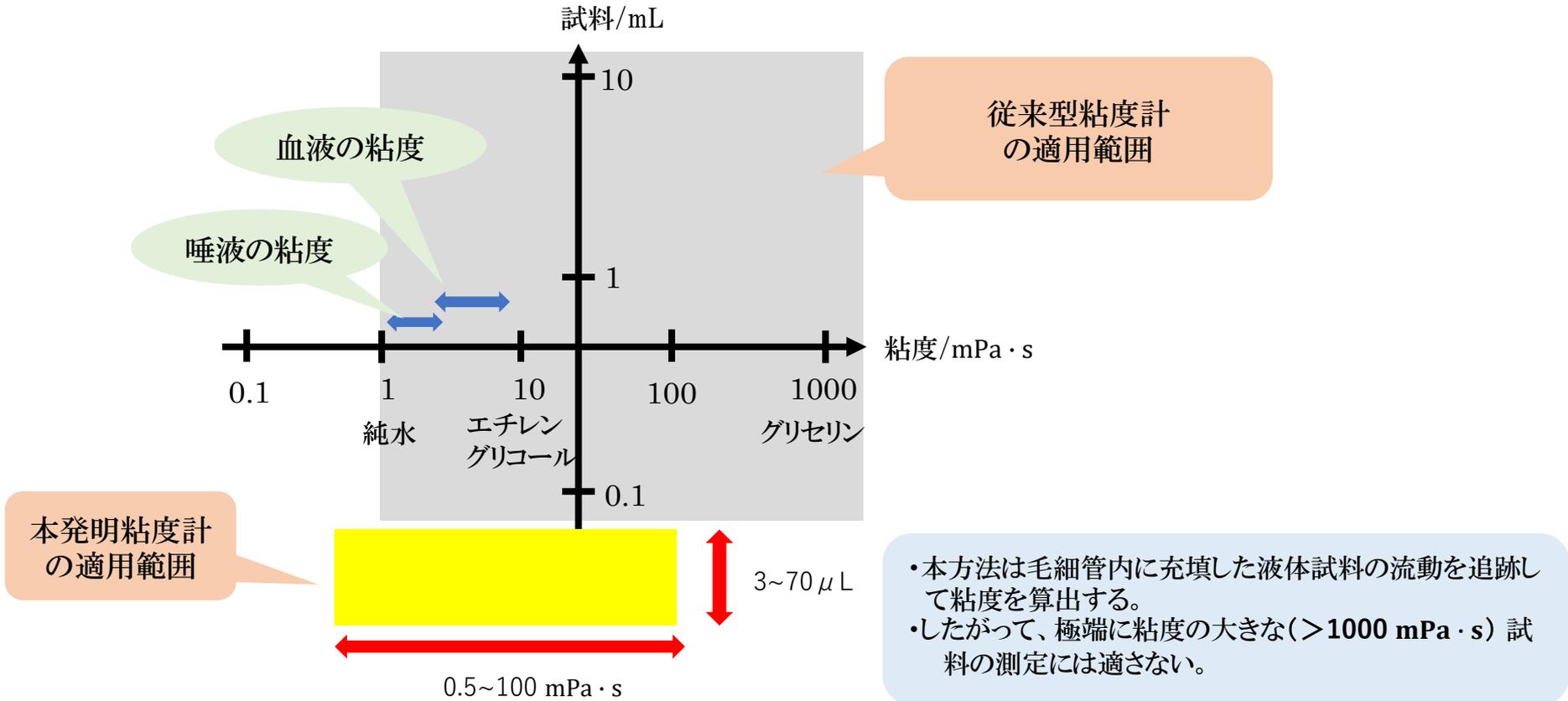
いずれも $\sin \theta = 0.57$ サンプル量5 μ Lとした



新技術の特徴・従来技術との比較

- 本方法では、液体試料のガラス毛細管内での移動速度を測定して粘度を算出する。大量生産品のガラス毛細管を採用することで、再現性の良い測定を実現することができる。
- 本方法では、微量 ($> 50 \mu\text{L}$) の試料で粘度と表面張力を同時に決定することができる。これは、従来技術では実現できないことである。
- 試料を毛細管内で往復させることによって粘度の時間変化を追跡することができる。「押し戻し」も「流動測定」も2秒以下で終了するので、圧力設定や電磁弁の制御を機械化することによって時間分解5秒以下での粘度追跡が可能である。このような時間分解での「微量液体の粘度変化追跡」は、従来技術では実現することができない。
- 極微量 ($< 5 \mu\text{L}$) の試料を毛細管内にすべて収容して流動測定することにより、その試料の粘度や動粘度を決定することができる。よって本方法は、採取量の限られる生体試料(体液等)や希少(高価)な試薬の簡便迅速な粘度測定に適用することができる。

新技術の特徴・従来技術との比較



想定される用途

- 希少高価な試薬等の粘度および表面張力の測定
- 体液（血液、唾液その他）の粘度測定
- 微量の血液をつかった「血液凝固時間」の測定

実用化に向けた課題

- (1) 極微量 ($\sim 5\mu\text{L}$) 液体試料を迅速・確実に毛細管内に充填する方法の開発
- (2) 微小圧力 ($\pm 100 \sim \pm 1000\text{Pa}$) を簡便迅速に生成する方法および装置の開発

企業への期待

- 簡便な「微小圧力作成法」の共同開発
- 極微量試料の迅速充填が可能な「毛細管ホルダー」の共同開発
- ソフトウェア開発：(試料充填・交換以外の)測定操作の自動化
- 測定対象に特化した検査器の開発

企業への貢献、PRポイント

- ・本方法は測定原理も装置も単純なので持ち運び可能な粘度検査器として実現することができる。例えば体液粘度測定ならば、クリニックや小規模施設への展開が可能である。
- ・消耗品はガラス毛細管と毛細管ホルダーのみである。安価に提供することができる、かつ安全に廃棄することができる。

本技術に関する知的財産権

発明の名称	液の流動特性を測定する方法および測定器
発明者	大野 宏毅、佐藤 寛晃、梅原 敬弘、塚田 順一、坂本 憲児
出願人	学校法人産業医科大学、国立大学法人九州工業大学
出願番号(国内)	特願2024-509253
出願番号(日本以外)	US 18/849,564, EP 準備中

お問い合わせ先

学校法人産業医科大学
研究支援課産学連携係

T E L 093-603-1611

e-mail chizai@mbox.pub.uoeh-u.ac.jp