

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：34416

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K04036

研究課題名(和文) 球状微生物及びマイクロカプセルに対する超音波キャビテーションのフィルタ効果

研究課題名(英文) Filter effect of ultrasonic cavitation on spherical microorganisms and microcapsules

研究代表者

山本 健 (Yamamoto, Ken)

関西大学・システム理工学部・教授

研究者番号：10370173

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：音響パワーを一定にした数百kHz～数MHzの高周波超音波を球状微生物及びマイクロカプセルに照射し、ナノ粒子径分布測定装置を用いてサイズ分布評価を行い、超音波キャビテーションによる破壊状態を定量的に評価した。また、走査型プローブ顕微鏡のフォースカーブモードにより球状物体の弾性率計測を試み、その値を用いて主に共振による細胞壁または球殻の破壊メカニズムを理論的に検討した。球状微生物及びマイクロカプセルの破壊の周波数依存性を利用して、多分散粒子系において任意のサイズの対象のみを超音波で破壊することに成功した。一方、この特徴を利用すれば任意のサイズ以外を破壊することも可能となる十分な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

数マイクロメートルから数百マイクロメートルの小さな水中の微生物やカプセルを薬品や機械工具等を用いずに超音波で破壊することに成功した。水中に強い超音波を照射すると超音波キャビテーションと呼ばれる数マイクロメートルから数百マイクロメートルの気泡が多数発生する。その気泡は超音波の圧力変化によって激しく振動するが、そのサイズや速度は周波数によって異なる。この性質を用いて、任意のサイズの水中微生物やカプセルを選択的に破壊することに成功した。工具等では小さくて壊しにくいたくさんの物体を、効率良く、しかも任意のサイズの物体だけを破壊することができる技術である。

研究成果の概要(英文)：Spherical microorganisms and microcapsules are irradiated with high-frequency ultrasonic waves of several hundred kHz to several MHz with constant sound power, size distribution is evaluated using a nanoparticle size distribution analyzer, and the state of destruction by ultrasonic cavitation is quantitatively determined. We also attempted to measure the elastic modulus of a spherical object using the force curve mode of a scanning probe microscope, and theoretically investigated the mechanism of cell wall or spherical shell destruction mainly due to mechanical resonance using the values. Using the frequency dependence of the destruction of spherical microorganisms and microcapsules, we succeeded in ultrasonically destroying only objects of arbitrary size in a polydisperse particle system. On the other hand, we have obtained sufficient knowledge that it is possible to destroy other than arbitrary sizes by using this feature.

研究分野：音響科学

キーワード：超音波 キャビテーション マイクロカプセル 水中微生物

1. 研究開始当初の背景

超音波キャビテーションは、気泡内部の高温高圧による熱分解や OH ラジカル等の酸化剤生成等の化学的作用、衝撃波及びずり場による力学的作用を生むため、化学工業的応用が古くから盛んである。一般的に、洗浄、乳化及び細胞破碎等の超音波キャビテーション処理には数十 kHz の超音波を利用することが多い。比較的低周波の超音波の方が、高い音圧及び大きな振動変位が得られ、超音波キャビテーションの発生も容易であり、大きな力学的効果も期待できる。一方、数百 kHz 以上の超音波照射では、OH ラジカル等の化学的作用を利用することが多く、力学的な破碎や破壊には効果が低いとされていた。そのため、藻類の破壊や菌類の殺菌には周波数 20kHz 程度の既製品のホモジナイザーや振動子が用いられている。しかし、我々の浮遊性藍藻類の非活性化や珪藻類の破壊に関する研究では、数十 kHz よりも数百 kHz 又は数 MHz の超音波照射の方が高効率な結果が得られた。また、藻類の種類によってサイズや細胞壁の硬さ(弾性率)が異なり、破壊効率は強い周波数依存性を示すことから、藻類の機械的共振の可能性を報告した。一方、数 μm の大きさの菌類やマイクロカプセル等の球状物体を対象とした超音波破壊実験においてもサイズや球殻の厚みによって異なる周波数依存性が確認された。しかし、超音波キャビテーション気泡を起因とした球状物体の根本的な破壊メカニズムは未だに解明されていない。ここでは、破壊の周波数依存性を一つの鍵として気泡-球状物体破壊メカニズムを解明し、超音波破壊による粒径フィルタ効果の達成へと導く。

2. 研究の目的

数百 kHz ~ 数 MHz の高周波超音波キャビテーションを用いた球状物体破壊実験では、破壊効率に強い周波数依存性が見られる。この任意の粒径の球状物体を効率良く破壊できる能力を用いれば、幅広い粒径分布を有する球状試料の分布を任意に制御することが可能である。この粒径フィルタ機能の検証が本研究の大きな目的である。段階的な目的は、球状微生物及びマイクロカプセルのサイズ分布評価による破壊過程の解明、球状物体の物性測定及びそれらを用いた破壊メカニズムの理論的解明、及び多分散粒子系における選択的超音波破壊による粒径フィルタ効果の達成である。

3. 研究の方法

未解明な超音波キャビテーションによる藻類・菌類やカプセルの破壊メカニズムを、球状物体の機械的共振に着目し、3手法による実験的アプローチと2手法による理論的アプローチによって多方面から総合的に解明する。実験的には、ナノ粒子径分布測定装置を用いた球状物体破壊過程のサイズ分布評価、走査型電子顕微鏡による破壊状態の可視化、及び走査型プローブ顕微鏡のフォースカーブモードを用いた球状物体の弾性率測定を行う。理論的には、球状物体を球殻と内部液体としてモデル化した shell model によって球状物体の共振周波数、振動による表面積変化率及び Q 値(機械的共振の鋭さ)を解析的に求める。また、有限要素法を用いて高次や楕円の振動モードをシミュレーションする。

実験で使用する超音波の周波数は 20, 400 kHz, 1.0, 2.4, 3.4, 4.3 MHz である。音響パワーはカロリーメトリ法により測定し、全ての実験において 10 W で一定とした。試料温度は、試料槽外部に冷却水を循環させることにより、 15 ± 1 で一定とした。破壊の評価は、レーザ回折式粒子径測定装置を用いた粒子径分布測定で行った。加えて、状態観察のために走査型電子顕微鏡: SEM を用いて撮影を行った。再現性を確保するため実験は全て三回以上行い、平均化した。

4. 研究成果

ここでは、主に球状微小物体として用いたマイクロカプセルの超音波破壊に関して報告する。試料のマイクロカプセルはメラミン樹脂の外膜と、オイルの内容物で構成されている。膜と内容物の体積比は 1 : 4 であり、膜の厚みは半径の約 7.2 % である。図 1 に SEM により撮影した画像を示す。照射前は全てのカプセルが球状であることが分かる。

図 2 に、各周波数における超音波照射前と 30 min 照射後のマイクロカプセルの粒子径分布を示す。縦軸が体積頻度 [%]、横軸が粒子径 [μm] である。照射前では粒子径が約 0.3 ~ 50 μm の間に分布していることが分かる。400 kHz から 4.3 MHz までの結果において、約 10 μm 以上の分布は周波数が低いほど大きく小粒径側へシフトしている。4.3 MHz では粒子径 15 μm 以上において、わずかに増加している。一方 20 kHz の結果においては、他の周波数と比較して粒子径分布に大きな変化が見られない。また、カプセルの形

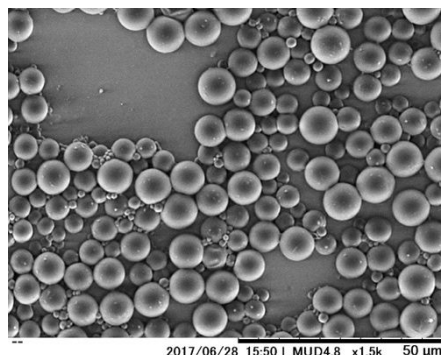


図 1 カプセルの SEM 像

状や破壊の状態を確認するために、SEMで超音波照射後のカプセルを観察した。その結果の一部が、図3である。SEM画像からは、周波数が高い方が粒子径の小さいカプセルが変形する傾向が得られた。また図3に示すような三種類の变形がよく観察された。変形の傾向は周波数によって異なる。以下に粒子系分布の変化の特徴と変改の詳細を示す。

(a) 20 kHz: 数十 μm 以上のカプセルに破壊の傾向が見られたが、それ以下のサイズには大きな変化はない。粒子径 $8\mu\text{m}$ 以上において凹型のみ少量観測された。

(b) 400 kHz: 十数 μm のサイズが効率よく破壊されている。粒子径 $5\mu\text{m}$ 以上において裂傷型 > 凹型の順によく観測され、穴型はほとんど観測されなかった。

(c), (d) 1.0~3.4 MHz: 破壊されたカプセルを含んだピークが小径へ移動した。粒子径 $5\mu\text{m}$ 以上で全種類の变形がよく観測された。

(e) 4.3 MHz: 十数 μm のカプセルを選択的に破壊していることが分かる。この周波数のみ、粒子径 $5\mu\text{m}$ 以下の粒子においても变形(裂傷型・凹型)が認められ、 $5\mu\text{m}$ 以上で全種類の变形が見られた。反対に $15\mu\text{m}$ 以上では裂傷型、穴型の割合が極端に減少し、凹型の变形が多く見られた。

粒子径と周波数の関係を議論するため、Shell-model を用いてマイクロカプセルの共振周波数の計算を行った。共振周波数は、半径、膜の弾性率、厚み、ポアソン比及び内部液体の密度を用いて計算できる。また、弾性率には走査型プローブ顕微鏡のフォースカーブモードで測定した値を使用した。計算結果から、粒子径が小さいほど共振周波数が高いことが分かった。 $2\mu\text{m}$ では、約 8MHz 、 $10\mu\text{m}$ では、 $10\mu\text{m}$ 以上では、数百 kHz に共振を有する。これは実験による粒子径分布の結果と同様の傾向を示している。SEM画像においても、裂傷型の变形が見られる粒子径及び周波数の傾向がよく一致している。従って、裂傷型の变形の要因は、マイクロカプセル自身の機械的であると考えられる。この裂傷は、共振に伴う表面積変化に膜が耐え切れずに裂けたと推測される。また 20kHz において有意な破壊が認められなかったが、マイクロカプセルの粒子径が共振径より遥かに大きいことから説明できる。一方、共振し難い粒子径においても凹型の变形がよく観察されていることから、マイクロカプセルの破壊には機械的共振以外の要因が考えられる。また、穴型の变形については、理論的には共振していると予想される粒子径と周波数で観察されたが、これも共振に伴う表面積変化によって生じたとは考えにくい。この原因としてマイクロジェットが考えられる。マイクロジェットは固体近傍に存在する気泡の収縮が流体力学的に非対称となることで発生する。固体側では、液体の流れが制限されるため気泡に向かう流れが弱く、反対側では液体の流れが制限されずに気泡に向かって強く流れ込む。この非対称性によって局所的な液体の流れ(マイクロジェット)が固体に向かって打ちつける。その結果、固体表面に小さな穴(ピット)が生成される。この効果を検証するために、馬鈴薯由来の澱粉粒子であるスターチを使用して、超音波照射実験 (26 、 200 、 430kHz 、 1.6 及び 3.6MHz) を行った。 $10\sim 20\mu\text{m}$ のスターチ表面に生成された粒子あたりのピット数を計測したところ、ピット数は 1.6MHz まで周波数増加に伴い増加し、 3.6MHz は 1.6MHz に比べて減少した。超音波周波数の増加は、気泡サイズ分布に影響を及ぼしスターチへの超音波ピッチング効果を向上させた。一方、更なる周波数の増加はマイクロジェット応力を低下させピット数を減少させた。一連の結果は、微細粒子に対する超音波ピッチング効果は気泡と微細試料のサイズ関係及びマイクロジェット応力と降伏強度に依存する可能性を示唆するものであることが分かった。これらより、球状物体の超音波破壊効率の周波数依存性を積極的に用いることで、幅広い粒径分布を有する球状試料の分布を任意に制御すること(粒径フィルタ機能)が可能であることが分かった。

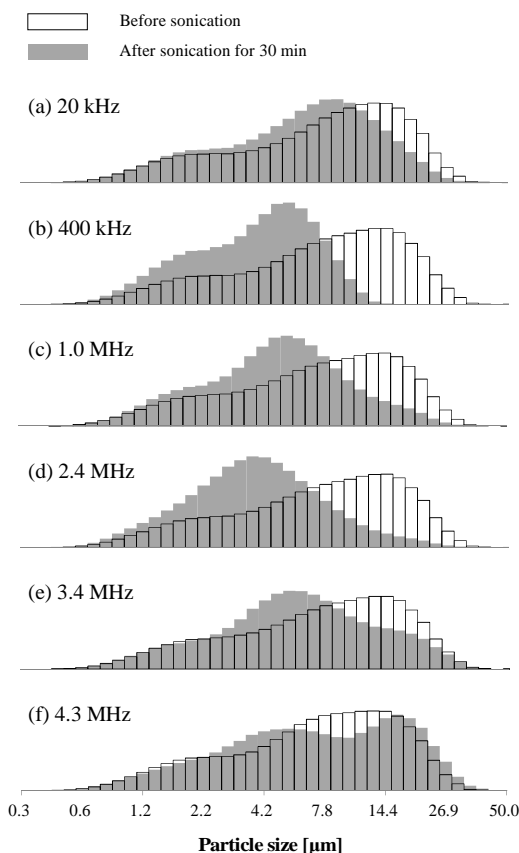


図2 周波数ごとの粒子系分布変化

プローブ顕微鏡のフォースカーブモードで測定した値を使用した。計算結果から、粒子径が小さいほど共振周波数が高いことが分かった。 $2\mu\text{m}$ では、約 8MHz 、 $10\mu\text{m}$ では、 $10\mu\text{m}$ 以上では、数百 kHz に共振を有する。これは実験による粒子径分布の結果と同様の傾向を示している。SEM画像においても、裂傷型の变形が見られる粒子径及び周波数の傾向がよく一致している。従って、裂傷型の变形の要因は、マイクロカプセル自身の機械的であると考えられる。この裂傷は、共振に伴う表面積変化に膜が耐え切れずに裂けたと推測される。また 20kHz において有意な破壊が認められなかったが、マイクロカプセルの粒子径が共振径より遥かに大きいことから説明できる。一方、共振し難い粒子径においても凹型の变形がよく観察されていることから、マイクロカプセルの破壊には機械的共振以外の要因が考えられる。また、穴型の变形については、理論的には共振していると予想される粒子径と周波数で観察されたが、これも共振に伴う表面積変化によって生じたとは考えにくい。この原因としてマイクロジェットが考えられる。マイクロジェットは固体近傍に存在する気泡の収縮が流体力学的に非対称となることで発生する。固体側では、液体の流れが制限されるため気泡に向かう流れが弱く、反対側では液体の流れが制限されずに気泡に向かって強く流れ込む。この非対称性によって局所的な液体の流れ(マイクロジェット)が固体に向かって打ちつける。その結果、固体表面に小さな穴(ピット)が生成される。この効果を検証するために、馬鈴薯由来の澱粉粒子であるスターチを使用して、超音波照射実験 (26 、 200 、 430kHz 、 1.6 及び 3.6MHz) を行った。 $10\sim 20\mu\text{m}$ のスターチ表面に生成された粒子あたりのピット数を計測したところ、ピット数は 1.6MHz まで周波数増加に伴い増加し、 3.6MHz は 1.6MHz に比べて減少した。超音波周波数の増加は、気泡サイズ分布に影響を及ぼしスターチへの超音波ピッチング効果を向上させた。一方、更なる周波数の増加はマイクロジェット応力を低下させピット数を減少させた。一連の結果は、微細粒子に対する超音波ピッチング効果は気泡と微細試料のサイズ関係及びマイクロ

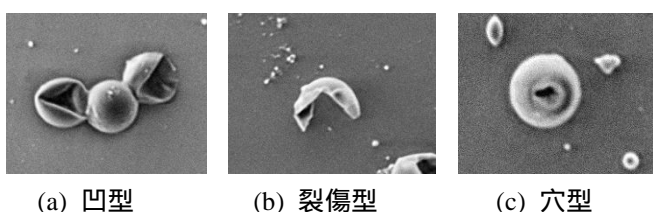


図3 マイクロカプセルの代表的な変形状態

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Inui Ayaka, Honda Atsushi, Yamanaka Shohei, Ikeno Takashi, Yamamoto Ken	4. 巻 70
2. 論文標題 Effect of ultrasonic frequency and surfactant addition on microcapsule destruction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ultrasonics Sonochemistry	6. 最初と最後の頁 105308 ~ 105308
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ultsonch.2020.105308	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Yuko, Otani Yuto, Yabunaka Atsushi, Ikeuchi Ryosuke, Yamamoto Ken	4. 巻 41
2. 論文標題 Inactivation of Escherichia coli, Saccharomyces cerevisiae and Bacillus subtilis by ultrasonic cavitation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acoustical Science and Technology	6. 最初と最後の頁 877 ~ 884
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1250/ast.41.877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sugino Fumiya, Yamamoto Ken	4. 巻 60
2. 論文標題 Mechanism for ultrasonic pitting of starch particles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Applied Physics	6. 最初と最後の頁 SDDD08 ~ SDDD08
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.35848/1347-4065/abef09	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Fumiya Sugino, Ken Yamamoto
2. 発表標題 Study of ultrasonic pitting mechanism on starch particle
3. 学会等名 The 41st Symposium on UltraSonic Electronics（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西口慶, 上畑峻也, 橋本柚子, 山本健
2. 発表標題 超音波によるE.coli及びS.cerevisiaeの選択的不活性化
3. 学会等名 日本音響学会2021年春季研究発表会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 乾綾華, 山本健
2. 発表標題 マイクロカプセルの超音波破壊に対するキャビテーション気泡サイズの影響
3. 学会等名 第29回ソノケミストリー討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 本多敦, 杉野史弥, 小河慎二, 今坂尚志, 西俊一, 山本健
2. 発表標題 超音波キャビテーションによる海洋プランクトンの破壊
3. 学会等名 第29回ソノケミストリー討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 杉野史弥, 山本健
2. 発表標題 超音波ピッチング効果に対する音響パワー及び界面活性溶質添加の影響
3. 学会等名 第29回ソノケミストリー討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 橋本 柚子, 大谷 勇登, 杉野 史弥, 小河 慎二, 今坂 尚志, 西 俊一, 山本 健
2. 発表標題 Vibrio cholera 及び Enterococcus faecalis に対する超音波の影響
3. 学会等名 日本ソノケミストリー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本多 敦, 山本 健
2. 発表標題 複数周波の超音波による多分散マイクロカプセルの破壊
3. 学会等名 日本ソノケミストリー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yuko Hashimoto, Ken Yamamoto
2. 発表標題 Inactivation of Escherichia coli and Saccharomyces cerevisiae by ultrasonic cavitation
3. 学会等名 International Congress on Ultrasonics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ayaka Inui, Shohei Yamanaka, Kota Shiba, Ken Yamamoto
2. 発表標題 Observation of sonoluminescence during sonication to destruct microcapsules
3. 学会等名 International Congress on Ultrasonics (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山中翔平, 山本健
2. 発表標題 マイクロカプセルの超音波破壊における有機化合物添加の影響
3. 学会等名 第27回ソノケミストリー討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 数中惇, 山本健
2. 発表標題 スターチ粒子に対する超音波ピッチング効果の周波数依存性
3. 学会等名 第27回ソノケミストリー討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 乾綾華, 山中翔平, 芝航汰, 山本健
2. 発表標題 マイクロカプセル破壊時のソノルミネッセンス
3. 学会等名 日本音響学会2019年春季研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本多敦, 山中翔平, 山本健
2. 発表標題 超音波によるマイクロカプセルの解凝集
3. 学会等名 日本音響学会2019年春季研究発表会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------