

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K13627

研究課題名(和文)真空中に生成した液滴の熱力学過程の計測と生体分子解析への展開

研究課題名(英文)Thermodynamic study of liquid droplets in a vacuum and their application to bio-molecular analysis

研究代表者

寺崎 亨 (TERASAKI, Akira)

九州大学・理学研究院・教授

研究者番号：60222147

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):真空中に直径60ミクロン程度の液滴を生成して保持する技術を開発し、水およびエチレングリコールを試料として研究を行った。液体は真空中で急速に蒸発するため、すぐに温度が低下して凍結すると予想される。水液滴では、凍結までの約10ミリ秒間を観察し、過冷却状態の水の凍結核生成速度の温度変化を明らかにした。これに対して、生理環境のような無機塩水溶液では、純水よりも蒸発が遅いことを見出した。一方、蒸気圧の低いエチレングリコールでは、蒸発冷却と輻射加熱が競合し、数十秒もの長時間にわたって液相を保つことを見出した。これら当初予期しなかった現象の発見を含め、真空中での液体利用に向けた価値ある成果を上げた。

研究成果の概要(英文):Liquid droplets of water and ethylene glycol (EG) were investigated by developing a technique to generate and trap a micrometer-sized liquid droplet in a vacuum. In general, it is anticipated that the droplet would freeze immediately due to rapid cooling via fast evaporation of liquid exposed to a vacuum. We evaluated temperature-dependent homogeneous nucleation rate of supercooled water by observing water droplets for about 10 ms until freezing. On the other hand, an aqueous solution of inorganic salt was found to evaporate more slowly than pure water. In contrast, EG, which exhibits vapor pressure much lower than water, was found to survive as liquid for more than tens of seconds because evaporative cooling and room-temperature radiative heating compensate for each other to keep the droplet's temperature constant above freezing point. These findings provide us with novel knowledge useful for exploiting liquid in a vacuum.

研究分野：物理化学

キーワード：液滴 真空 水 エチレングリコール 熱力学 蒸発冷却 輻射加熱 凍結核生成

1. 研究開始当初の背景

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法 (MALDI) は、真空中の質量分析法と組み合わせ、タンパク質などの生体関連分子の分析に威力を発揮し、生命科学の発展に大きく貢献している。ところが、この方法では、本来は水を基本とする生理環境中に存在する分子を、マトリックスと呼ばれる特殊な有機物中に混合した状態で分析を行っている。一方、同様の目的で利用されるエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) では、生体分子を破壊しないソフトなイオン化法ではあるが、多価のイオンなど、やはり生理環境中とは異なる状態での分析が避けられない場合があることが指摘されている。そのため、生理条件を保ったまま分析が可能な手法の開発が望まれている。

その実現には真空中への液体の導入が鍵となるが、液体の蒸発による真空度の悪化や、液体自身の凝固などが問題となっている。この問題を克服する手段の一つとして、液体分子線法が開発されているが、希少な生体試料を大量に必要とする欠点を抱えている。そのため、微量な試料を分析する手法として液滴の利用が目ざされ、 piezo素子で液体を噴射するノズルを利用して大気中に液滴を生成し、段階的な作動排気を経て真空中に引き込む手法が開発されている。液体試料を必要な量だけオン・デマンドに供給することが可能となった一方で、排気装置の大型化に加え、大気の流れに乗って引き込まれる液滴ビームの飛跡が乱流で揺らぐなど新たな問題も生じている。

これらの状況を鑑みて、我々は、piezo素子で液体を噴射するノズルを真空中で使用して、真空中に液滴を直接発生する手法を考案し、近年これに成功した。排気装置の小型化に加え、揺らぎのない液滴ビームの発生が可能となったため、この手法をさらに発展させて信頼性の高い液滴発生システムを構築するとともに、生理条件下での生体試料分析手法の開発に向けて、長時間の捕捉、液相状態の維持などの実現が期待されている。

2. 研究の目的

第一に、これまでに開発した真空中での液滴生成技術を発展させ、真空中で液滴を捕捉するトラップ技術を確立する。第二に、この技術を適用して、液滴が蒸発、冷却、凍結する一連の熱力学過程を計測し、これらを再現する数値モデルを構築する。さらに、このモデルに基づいて、赤外光照射による加熱など、液滴を液相状態に保持する手法を検討する。

3. 研究の方法

(1) 真空中での液滴生成

真空中での液滴生成にはガラス製のキャピラリーを piezo (圧電) 素子で圧縮し、液体をパルス状に吐出するノズルを用いた。このノズルを図 1(a) に示すように真空槽に差

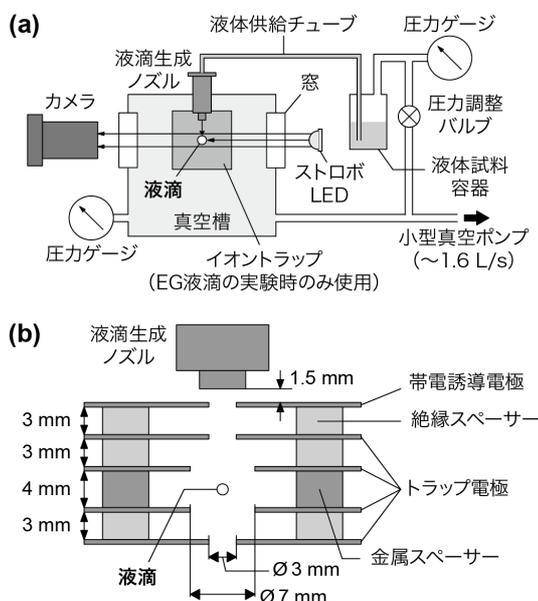


図 1. 実験装置の構成。(a)液滴発生に用いた真空装置と観察用光学系、(b)液滴を捕捉するイオントラップ部。

し込み、使用した。液滴の生成過程は、ノズルの動作と同期したストロボ LED と CMOS カメラで観察した。真空槽に差し込まれたノズルは液体供給チューブで試料容器と結ばれ、真空槽のみを減圧すると試料容器内との圧力差で液体が連続的に引き込まれた。そのため、真空槽と試料容器を同時に減圧する機構とした。また、減圧下では液体中の溶存気体が気泡となり、ノズル内部に溜まって液滴の生成を阻害した。この問題を、予め液体試料を脱気して抑制した。

液体試料には、純水とエチレングリコール (EG) を用いた。純水では、室温付近での蒸気圧が高く (293 K での蒸気圧: 2.3 kPa)、真空槽内部の圧力が 1-2 kPa (蒸気圧程度) を下回るとノズル内部で沸騰が起き、液滴の生成が阻害された。この問題は、ノズル、液体供給チューブ、試料容器を 278 K 程度に冷却して純水の蒸気圧を下げると緩和され、1 Pa 以下でも 10,000 滴以上の液滴生成が可能となった。一方、蒸気圧の低い EG (293 K での蒸気圧: ~10 Pa) では沸騰の問題は無く、1 Pa 以下の真空中で最長 30 時間にわたって連続した液滴生成が可能であった。

本研究で用いた piezo素子で駆動する液滴生成ノズルは、液体試料を必要に応じてオン・デマンドに真空中に導入することを可能とした。標準的な液滴生成条件 (直径 60 μm の液滴を 5 Hz で生成) の場合、液体流入量は僅か 0.6 nL/s であり、従来の 1/100 以下に相当する。そのため、排気量 1.6 L/s の小型ロータリーポンプでも、容易に 1 Pa 以下の真空度に到達できた。また、液滴の大きさや射出速度の制御、パルスレーザーとの同期が可能となり、液滴のトラップや蒸発・凍結過程の時間分解測定を実現できた。

(2) 液滴の捕捉

真空中に噴射された液滴の観察時間は発生後 11 ms までと短かったが、生成時に帯電させた液滴をイオントラップで捕捉し、50 s 以上にわたる長時間の観察を可能にした。帯電用の誘導電極を含むイオントラップ部の構成を図 1 (b) に示す。誘導電極で液体中の電離したイオンをノズル出口付近に引き寄せ、射出時に液滴を帯電させた。また、捕捉した液滴を観察しやすくするため、イオントラップの形状を工夫し、4 枚の円盤状の電極で構成した。

液滴のトラップは以下の手順で行った。まず、誘導電極に常時+750 V の電圧を印加した状態でノズルから液体を噴射し、負に帯電した液滴を生成した。次に、トラップに入射した帯電液滴を最上部と最下部の電極が作る静電場で減速した。この時、液滴がイオントラップの中央付近で静止するよう電位を調節した。液滴が静止するタイミングを狙って中央の 2 枚の電極に±2 kV、250 Hz の交流電圧を印加し、発生した四重極電場により捕捉した。最後に、最上部と最下部の電極の電圧を調節して液滴にかかる重力を打ち消し、液滴の運動を安定させた。

捕捉後の液滴を静止させるためには、入射時の液滴の運動エネルギーを奪って減速する必要がある。大気中では、周囲の気体分子との衝突で、液滴は捕捉中に減速されて次第に静止するが、真空中ではその効果が働かず、捕捉前に液滴を減速する機構が重要な役割を果たした。完全に静止させることは難しかったが、液滴を直径 1 mm の空間内に留めることに成功した。

(3) 液滴の蒸発速度の測定

液滴の蒸発速度は、液滴直径の時間変化を測定して算出した。直径の測定には、ストロボ LED を照明として CMOS カメラで撮影した液滴の静止画像を用いた。ストロボ LED の発光時間は 2 μ s であり、飛行速度 1 m/s 以下の液滴がこの間に移動する距離は 2 μ m 以下である。これはカメラの分解能に相当する 1 画素あたりの実視野 2 μ m よりも小さく、したがって液滴を静止画像として捉えることができた。解析では、液滴の両端間の画素数を計測して、液滴の直径を算出した。

(4) 液滴の凍結過程の観察

液滴の凍結は、液滴に連続レーザー光（レーザー強度：4.5 mW、スポット径：3 mm）を照射し、散乱の様子をカメラで垂直方向から観察して判断した。液相状態の液滴では、液滴の両端からの散乱光だけが明るく見えた。一方、凍結した液滴では、凹凸のある表面の様々な箇所からレーザー光が散乱され、液滴全体が明るく見えた。このような散乱光の変化から液滴の凍結を判定した。

これと相補的に、図 2 に示すレーザー偏光解消法も用いた。この方法は、凍結した液滴

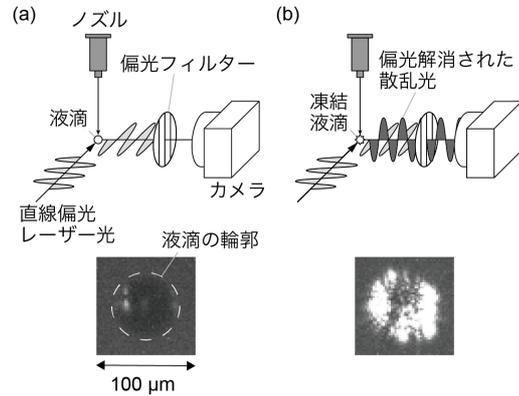


図 2. レーザー偏光解消測定法。入射面と平行に直線偏光したレーザー光を液滴に照射すると、表面が平滑な液相状態の液滴では、散乱光も偏光が保たれ、偏光フィルターで遮断されて検出されない(a)。一方、凍結した液滴では、表面に凹凸が生じて散乱光が偏光解消を起し、入射光の偏光と直交する散乱光の偏光成分が偏光フィルターを透過して明るく観測される(b)。

に直線偏光したレーザー光を照射すると偏光解消して散乱される現象を利用する。偏光フィルターを通して散乱光を観測し、入射光の偏光と直交する偏光成分を検出して、液滴の明暗の差から凍結前と凍結後を区別した。測定にはパルスレーザー（パルス幅：10 ns、パルスエネルギー：300 μ J、スポット径：5 mm）を使用し、液滴発生からレーザー照射までの遅延時間を調節して時間変化を追った。液滴の凍結時間には 1 ms ほどの分布が見られたため、遅延時間を変えながら各時間で 200 個の液滴を観察して、凍結した液滴の割合を算出し、その時間変化（凍結曲線）を得た。

(5) 液滴の直径と温度の時間変化のシミュレーション

液滴の直径と温度の時間変化は、蒸発冷却を考慮した蒸発速度式（Knudsen の式）を差分法で解いて求めた。まず、差分の時間間隔を設定し、初期の直径と温度に対して、その間の液体の蒸発量を計算した。次に、蒸発量と蒸発エンタルピーから蒸発で失われた熱量を算出し、これを液滴の体積、密度、比熱容量で除して温度低下量を得た。さらに、蒸発量と温度低下量から新たな液滴直径と温度を計算し、以後これを繰り返して時間発展のシミュレーションを行った。純水の場合は 10 ns 毎に液滴発生後 12 ms まで、エチレングリコールの場合は 100 ns 毎に液滴発生後 50 s まで、それぞれ計算を繰り返した。なお、液滴内部の熱伝導のほか、密度や比熱容量など各物理量の温度依存性も考慮した。

4. 研究成果

(1) エチレングリコール液滴の蒸発速度

まず、比較的蒸気圧の低いエチレングリコール（以下 EG）について実験を行った。EG 液滴は 0.6 Pa の真空中で 50 s 間トラップして

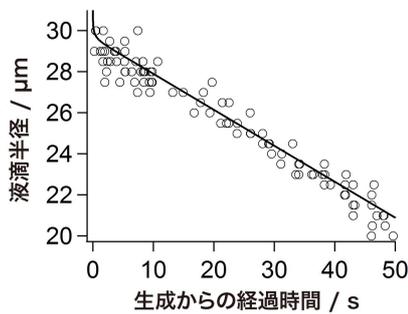


図3. 0.6 Paの真空中でトラップしたエチレングリコール液滴の半径の時間変化の測定結果（白丸）。実線は蒸発冷却効果に熱輻射と熱伝導による加熱効果を加えて計算したシミュレーション結果。

も凍結しておらず、長時間にわたって液相を保っていた。また、半径の時間変化を測定した結果は、図3の白丸のように直線状になった。この直線的な半径の時間変化は、単位表面積あたり一定の速度で蒸発が進むことを意味しており、一定の温度に保たれた液滴から分子の蒸発が続いていることを示唆する。つまり、液滴の温度が一定に保たれるためには何らかの加熱効果があるはずであり、熱輻射と熱伝導による加熱効果を蒸発冷却モデルに加え、数値計算により半径の時間変化をシミュレーションした。その結果、図3中の実線のように測定結果がよく再現され、この現象を説明できた。また、熱輻射の効果が熱伝導よりも6倍大きいことも分かった。以上から、主に室温からの熱輻射が蒸発冷却を打ち消し、液滴温度をEGの融点(260 K)以上に保っていると結論した。

このように熱輻射による加熱効果が予想外に大きかったことから、EGと同程度まで蒸発冷却速度の小さい液体であれば、赤外レーザー等で積極的に加熱せずとも真空中で液相を保持可能なことが明らかとなった。

(2) 水液滴の凍結過程

続いて水液滴の捕捉を試みたが、成功確率は1000回に1回程度と非常に低く、また運良く捕捉されても、水液滴は既に凍結していた。このように、イオントラップで捕捉するよりも速く凍結する水液滴の凍結時間を測定するために、真空中に噴射された水液滴を発生後11 msまで観察した。直径49.2 (1.0) μm (括弧内は測定誤差)の液滴について、各時間で200個の液滴を観察して得た凍結割合の時間変化(凍結曲線)を図4に示す。発生後7.0 msには5%しか凍結していなかったが、その後急激に凍結割合が増加し、7.9 msでは全体の98%が凍結していた。

この凍結過程を解析するために、まず蒸発冷却に基づいて液滴の温度変化(冷却曲線)を計算した結果、7.0 msで234.8 K、7.9 msで233.5 Kと推定され、過去に報告された水液滴の均質凍結温度235–238 Kと非常に近い温度で凍結が起きていることが分かった。ま

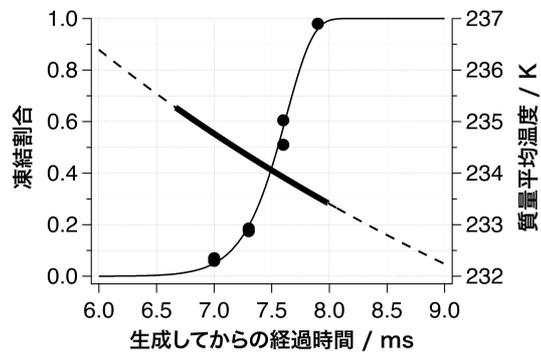


図4. 直径49.2 μmの液滴の凍結曲線(黒丸および実線)と冷却曲線(破線)。黒丸は凍結割合の時間変化の測定結果。実線は、数値解析で得た冷却曲線をもとに、既報の均質凍結核生成速度を用いて再現した凍結曲線を示す。冷却曲線は質量で重みづけした平均温度の時間変化を示しており、液滴の表面と中心には約2 Kの温度差がある。なお、太実線部分は、凍結割合が1%から99%まで増加した温度範囲を示す。

た、均質凍結核生成速度は1 Kの温度低下で10倍以上増加することが知られており、これは234.8–233.5 Kでの急激な凍結割合の増加とも符合した。そこで、既報の235–238 K領域のデータを外挿して232 Kまでの均質凍結核生成速度を推定し、計算で得た冷却曲線と合わせて、凍結曲線の再現を試みたところ、図4の実線で示すように実験で得られた凍結曲線をよく再現した。

同様の実験と解析を、直径58.0 (1.2)、60.2 (1.1)、65.6 (1.0)、71.0 (1.6) μmの水液滴についても行った。実験では、直径が49から71 μmまで増加するに伴って、凍結時間が3 msほど遅れることが見出された。一方、凍結時の液滴温度を計算すると、直径49.2 μmの液滴と同様に、いずれも温度が236から233 Kに低下する間に急速に凍結割合が増加していた。また、いずれの直径の実験結果も、数値解析で得た冷却曲線と既報の均質凍結核生成速度の外挿値とに基づいて計算した凍結曲線で、よく再現できた。以上の結果から、真空中で蒸発冷却された水液滴は、凍結核生成が律速段階となって凝固点に達した後にすぐには凍結せず、短時間の間、過冷却状態で液相を維持すると結論した。

一方で、凍結時に液滴が分裂する現象が多く観察された。液滴内部の温度は、中心よりも表面がおよそ2 K低く、凍結核生成速度の強い温度依存性により、温度の低い表面近傍での凍結核生成確率が高いと考えられる。従って、表面が優先して凍結し、閉じこめられた液滴内部が凍結する際の体積膨張が、液滴の分裂を引き起こしたと結論した。この分裂により、凍結後の水液滴は様々な方向へ飛散した。このことが、真空中で水液滴のトラップが困難だった理由であると考えている。

現在、これらの成果をまとめ、国際学術誌への投稿準備を進めている。

(3) 塩化カリウム水溶液の液滴の蒸発速度
 上述の2つの真空中での実験に加え、0.1 Mの KCl 水溶液の液滴を大気中でトラップし、蒸発速度を測定した。純水の液滴の結果と比較したところ、3割ほど蒸発速度が減少していた。生理条件を保ったまま生体試料を分析する場合、上記と同程度の塩濃度を持つ水液滴が真空中に導入されると考えられるため、純水の場合と比べて蒸発冷却効果が抑制されると期待される。また、無機塩の添加により水液滴の凍結温度が低下する事例も報告されている。従って、生理条件を保った水液滴の場合、純水の液滴よりもさらに長く真空中で液相状態を保持すると期待される。

(4) 結論

以上のように、真空中の液体の蒸発冷却過程について、時間を追って液滴の画像観察を行う実験と、熱輻射や凍結核生成速度までを取り込んだ理論解析を行った。その結果、水液滴の凍結過程を正確に予測する手法を構築したほか、単純な予測に反して長時間にわたって液相を保持するエチレングリコール液滴を見出した。また、水液滴への無機塩の添加効果を調べ、蒸発速度を低下させる効果を明らかにした。これらは、真空中での液体利用という新しい分野を切り拓く研究成果と位置づけられる。

これらの成果は国内外の学术界において極めて高く評価され、この研究に従事した研究協力者・安東航太(九州大学大学院理学府化学専攻博士後期課程)が、本成果で博士の学位を取得した。特筆すべき事項として、同君は、平成27年9月の第9回分子科学討論会において優秀ポスター賞受賞し、また同年12月の国際会議 Pacificchem 2015 では学生ポスター賞の最終審査対象に選出されるなど、若手研究者の育成としても成果を上げた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

1. K. Ando, M. Arakawa, and A. Terasaki
 “Evaporation processes of a liquid droplet of ethylene glycol in a vacuum”, Chem. Lett. **45**, 961–963 (2016). 査読有
 DOI: 10.1246/cl.160381

〔学会発表〕(計8件)

1. 安東航太, 荒川 雅, 寺寄 亨:「真空中で蒸発冷却された水液滴の凍結時間のサイズ依存性」
 第11回分子科学討論会 2017年9月15–18日(宮城県・仙台市)
2. 安東航太, 荒川 雅, 寺寄 亨:「真空中で蒸発冷却された水液滴の凍結過程」
 日本化学会第97春季年会 2017年3月16–19日(神奈川県・横浜市)

3. 安東航太, 荒川 雅, 寺寄 亨:「真空中で蒸発冷却された液滴の温度測定」
 第10回分子科学討論会 2016年9月13–15日(兵庫県・神戸市)
4. K. Ando, M. Arakawa, and A. Terasaki:
 “Liquid droplets in a vacuum for wet chemistry of gas-phase clusters”
 18th International Symposium on Small Particles and Inorganic Clusters (ISSPIC 18) 2016年8月14–19日(フィンランド・ユヴァスキュラ)
5. K. Ando, M. Arakawa, and A. Terasaki:
 “Freezing process of a supercooled water droplet in a vacuum”
 International Symposium on Recent Progress in Molecular Spectroscopy and Dynamics 2016年7月7–9日(福岡市)
6. A. Terasaki, K. Ando, and M. Arakawa:
 “Characterization of liquid micro-droplets in a vacuum: evaporative cooling and freezing”
 The 13th Trombay Symposium on Radiation & Photochemistry incorporating 6th Asia-Pacific Symposium on Radiation Chemistry (TSRP-APSRC 2016) 2016年1月5–9日(インド・ムンバイ)
7. K. Ando, M. Arakawa, and A. Terasaki:
 “Trapping a liquid micro-droplet in a vacuum toward wet chemistry of gas-phase clusters”
 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (Pacificchem 2015) 2015年12月15–20日(アメリカ・ホノルル)
8. 安東航太, 荒川 雅, 寺寄 亨:「真空中で発生・捕捉した液滴の蒸発速度・凍結時間の測定」
 第9回分子科学討論会 2015年9月16–19日(東京都・目黒区)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

寺寄 亨 (TERASAKI, Akira)
 九州大学・理学研究院・教授
 研究者番号: 60222147

(2) 連携研究者

荒川 雅 (ARAKAWA, Masashi)
 九州大学・理学研究院・助教
 研究者番号: 10610264

(3) 研究協力者

安東 航太 (ANDO, Kota)