

令和 2 年 6 月 18 日現在

機関番号：14303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18823

研究課題名（和文）電場と音場を用いた水溶液中の生物由来物質の運動促進による氷成長の制御

研究課題名（英文）Control of ice growth by the enhancement of movement of bio-inspired substances in water using an electric field and an acoustic field

研究代表者

萩原 良道（Hagiwara, Yoshimichi）

京都工芸繊維大学・機械工学系・特定教授

研究者番号：50144332

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,400,000円

研究成果の概要（和文）：2枚のカバーガラスの狭い隙間と微細円管内における、不凍ペプチドとセルロースナノファイバーを含む水の凍結の実験を行った。隙間における一方向凍結の結果は、電場の付与により不凍ペプチド水溶液の氷成長速度が減少したことを示した。セルロースナノファイバーを含む水については、界面温度が低下したが電場印加の効果はなかった。微細円管内の場合には、水に不凍ペプチドの場合のみ流速にかかわらず過冷却温度が低下した。微細円管に電場を印加しても、不凍ペプチドおよびセルロースナノファイバーを含む水流の過冷却は促進しなかった。最後に、純水の流速にかかわらず、円管内面を不凍ペプチドで覆うことにより氷の成長が遅れた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物の優れた機能・物質から着想を得た新しい機能・物質を見出すこと、それらを用いて新しい手法・技術を開発・確立することを柱とする「生物から着想を得た工学」の発展に大いに寄与する。食材と食品の保存、幹細胞と移植用組織・臓器の保存の分野において、高い安全性を保ちつつ省（減）エネルギー化を実現できる。

研究成果の概要（英文）：We carried out experiments on the freezing of water with antifreeze peptide and cellulose nanofibers in a narrow space between two cover glasses and inside a mini pipe. The results in the case of unidirectional freezing showed that by adding electric fields the ice growth rate in the antifreeze peptide solutions decreased. Although the interface temperature decreased in water with the cellulose nanofiber, there was no effect of electric field addition. In the case of mini pipe flow, irrespective of the flow velocity, the supercooling temperature decreased only for the peptide solutions. Even if the electric fields were imposed, the supercooling was not enhanced for the water flow with antifreeze peptide and cellulose nanofibers. Finally, irrespective of the flow velocity of pure water, the ice growth was delayed by coating the antifreeze peptide on the inner surface of the pipes.

研究分野：熱工学

キーワード：凍結 生物由来物質 不凍ペプチド セルロースナノファイバー 電場

1. 研究開始当初の背景

省(減)エネルギー化の取り組みが遅れている分野の例として、食材の保存・輸送と冷凍・冷蔵食品の製造・保存、幹細胞あるいは移植用の組織・臓器の保存がある。これらの分野では、急速な冷却・加熱、および低温に保つ温度管理に膨大なエネルギーを消費している。水の凍結の結果生じる氷の成長により、細胞や組織が破壊されることを避けるため、また人体への影響を最小限にするためである。ゆえに、高い安全性を保ちつつ省(減)エネルギー化を実現することが、喫緊の課題である。

このことに鑑み、冬カレイ由来不凍タンパク質水溶液の冷却実験を行ってきた。その結果、静止水溶液および微細流路内水溶液流において、氷成長抑制効果を明らかにした。このうち、不凍タンパク質の合成コストや熱変性の問題を避けるために、代替物質として不凍ペプチドとセルロースナノファイバーに注目した。各々を含む静止水の凍結の場合には、不凍タンパク質と類似の結果を得た。反面、微細流路内の氷粒子・水混合体流の場合には、静止水凍結のような効果は得られなかった。

その後の検討により、何らかの外力を用いて、強制的にこれらの物質を氷の表面に近づけることが必要であると確信した。過去の不凍タンパク質水溶液の実験結果などをもとに、外力として電場あるいは音場が効果的であると考えた。

2. 研究の目的

熱工学、流体力学、生化学、低温生物学などの学問は、上記の高い安全性を保ちつつ省(減)エネルギー化を実現する課題の解決には不十分である。熱工学や流体力学では、氷の成長や温度場・速度場が細胞、組織、および生体に与える影響を扱わない。生化学や低温生物学には、温度場・速度場の概念が無い。

したがって、上記の学問を横断的にまとめる新しい学問の発展が必要不可欠である。この発展の核心として、生物の優れた機能・物質から着想を得た新しい機能・物質を見出すこと、それらの応用を実現することを挙げる。本研究では、上記の保存に使われる氷・水混合体の氷成長を抑制することに焦点を絞る。生物由来物質から着想を得た物質を氷・水混合体に添加しただけでは、その物質は氷に接近しない。そこで電場あるいは音場を付与して、物質を氷表面に接近・衝突させ効果を高める新しい方法を確立して、学問発展に寄与することを目的とする。具体的な物質として、不凍ペプチドとセルロースナノファイバーを取り上げる。

3. 研究の方法

(1) 倒立顕微鏡、電子冷却器、カバーガラス板、熱電対、ビデオカメラなどからなる装置を用いて、微小空間内における不凍ペプチドおよびその凝集体を含む水溶液の一方凍結実験を行い、過冷却度、および氷の形状と成長速度を測定した。

(2) 測定部に細い線状電極を2本挿入し、その間に交流あるいは直流の電場を付与して、電圧や印加時間を変えながら同様の測定を行った。

(3) 他者の研究によりセルロースナノファイバーは電場により移動する可能性が高いことが明らかになったので、条件をそろえるために電場に焦点を当て、可能であれば音場を検討することとした。

(4) 断面が矩形の微細流路内に、氷粒子と不凍タンパク質を含む水を流し、氷粒子の形状の変化や移動速度を(1)の装置を用いて測定した。限外ろ過フィルターを用いて大きな凝集体を選別し、凝集体のサイズの氷成長への影響を調べた。

(5) 上記の微細流路内に電極を設置するのが困難であったため、微細円管と微細T型接続器を用いて新たな微細流路を作成した。円管の入口度出口に電極を設置した。この場合、氷粒子を添加することが容易ではないので、管内壁からの氷の成長に及ぼす、不凍ペプチドあるいはセルロースナノファイバーを含む水流の影響に注目し、電圧と周波数を変えての氷成長の様子を(1)の装置を用いて測定した。

(6) フェーズフィールド法を用いた数値シミュレーションを行い、未だ確立されていない水の凍結による体積増加の予測法の確立を目指した。

4. 研究成果

(1) 低温恒温室内において、0.02 mmの狭い隙間にセルロースシングルナノファイバー、セルロースナノクリスタルあるいはカルボキシメチルセルロースを含む水を入れ、一方凍結に関する測定を行った。その結果、不凍ペプチドよりも効果は低いものの、氷結晶が微細化すること、繊維幅の小さいセルロースシングルナノファイバー(CSNF)およびカルボキシメチルセルロース(CMC)の場合に氷界面の温度がより低下したことが明らかになった(図1参照)。

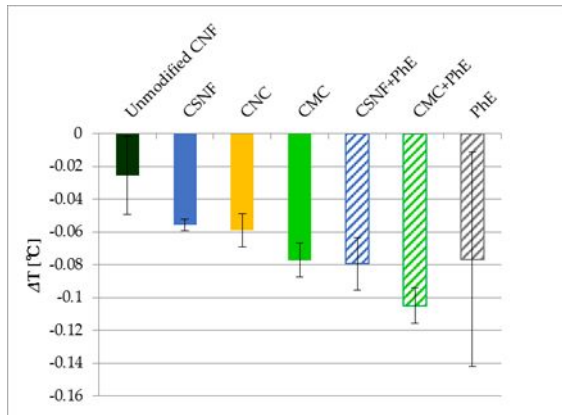


図1 6種類のセルロースナノファイバー分散水の界面温度低下度

(2) 不凍ペプチドの希薄水溶液を用いて、(1)と同じ方向凍結実験を行った。氷の成長方向と直角方向に 18 mm離れた微小電極間に直流電場を印加した。その結果、電極近傍において氷成長抑制効果が向上することがわかった。また、観察領域ごとに界面の形状と移動速度が場所により異なること、方形波状あるいは交流の電圧印加によってさらに氷成長を抑制できることがわかった(図2参照)。なお、セルロースシングルナノファイバー分散水に電場を印加した場合には、不凍ペプチド水溶液ほどの効果はなかった。

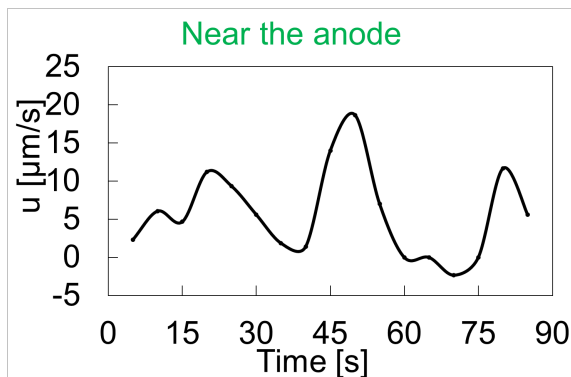


図2 周期30秒の方形波状の直流を付与した場合の電極近傍の界面速度

(3) 微細流路中の氷粒子・水混合体に冬カレイ由来不凍タンパク質を添加した場合について氷粒子の成長に関する測定を行い、以下の結果を得た。不凍タンパク質による氷粒子成長抑制効果は、流水の場合は静止水の場合と比較して低い。不凍タンパク質水溶液を短時間予熱すると、氷粒子成長抑制効果は低下した。この予熱した水溶液に、限外ろ過処理を施すことにより、氷成長抑制効果が向上する場合があった(図3参照)。



図3 限外ろ過の濃縮液を添加した場合の氷粒子。氷粒子の成長率は原液の場合の約半分。

(4) 周囲を冷却した微細ガラス円管内の水の凍結過程を観察した結果、流れの有無にかかわらず、管内面から樹枝状結晶が成長して氷殻が形成され、それが管中心軸に向かって成長することが考えられた。水に、不凍タンパク質の一部をもとにした不凍ペプチドあるいはセルロースシングルナノファイバーを微量添加した際にも、同様の過程が観察された。そこで、樹枝状氷結晶時の温度を過冷却温度、時刻を過冷却解消時刻と定めた。

(5) 流れの有無にかかわらず、円管内の水に不凍ペプチドを添加することにより、過冷却温度

が低下し、過冷却解消時刻が遅くなった。したがって、不凍ペプチドの添加により過冷却解消が阻害された。他方、セルロースシングルナノファイバーを添加しても、過冷却温度の低下と過冷却解消時刻の遅延は顕著ではなかった。

(6) 微細円管の軸方向に直流あるいは交流の電場を印加したところ、不凍ペプチド水溶液流の過冷却解消が早くなった。電場により、ペプチド分子あるいはその会合体の向きとそれらの移動の方向が管壁面に対し平行になり、氷核形成・氷殻成長の抑制につながらなかったためと考えられる。また、微細円管の軸方向に直流あるいは交流の電場を印加しても、セルロースシングルナノファイバー分散水流の過冷却温度と過冷却解消時刻に変化は見られなかった。

(7) ガラス円管の内面に不凍ペプチドを固定した場合には、内部の純水の流れの有無にかかわらず、未処理のガラス円管に比べて過冷却が促進され、氷の成長が遅延された。さらに、ガラス管内面への不凍ペプチドの固定に関連して、結合剤にポリエチレングリコールを用いた不凍ペプチド固定ガラス板の上の水滴の凍結に関する測定を行った。その結果、これまでの結合剤と比較して、過冷却温度の低下が得られた。

(8) 氷スラリー中の氷粒子の成長の予測を最終目的として、フェーズフィールド法を用いた衝突水滴の凍結に関する数値シミュレーションを行った。体積増加を表す項を含む新たな式を用いることにより、水滴の凍結による体積増加を予測できることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 萩原 良道	4. 巻 45
2. 論文標題 狭い空間における不凍タンパク質あるいは不凍ポリペプチド水溶液の特異な凍結面	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本結晶学会誌	6. 最初と最後の頁 1-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Y. Takeshita, T. Waku, P. W. Wilson Y. Hagiwara	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of winter flounder antifreeze protein on the growth of ice particles in an ice slurry flow in mini-channels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biom9020070	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 該当する
1. 著者名 K. Kasahara, T. Waku, P. W. Wilson, T. Tonooka and Y. Hagiwara	4. 巻 10
2. 論文標題 The inhibition of icing and frosting on glass surfaces by the coating of polyethylene glycol and polypeptide mimicking antifreeze protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.3390/biom10020259	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 該当する
1. 著者名 K. Koshio, T. Waku and Y. Hagiwara	4. 巻 114
2. 論文標題 Ice-phobic glass-substrate surfaces coated with polypeptides inspired by antifreeze protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int. J. Refrigeration	6. 最初と最後の頁 201-209
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2020.01.025	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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Masato Kato
2. 発表標題 Spatiotemporal control of ice growth in unidirectional freezing by adding antifreeze polypeptide and an electric field
3. 学会等名 Gordon Research Conference, Micro and nanoscale phase change heat transfer (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 萩原 良道
2. 発表標題 冷たい微細溝付きガラス面に衝突する過冷却水滴の凍結
3. 学会等名 日本機械学会熱工学コンファレンス2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimichi Hagiwara
2. 発表標題 Numerical simulation on the freezing of deposited or impinged water droplets on a cold surface
3. 学会等名 Second Pacific Rim Thermal Engineering Conference 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshimichi Hagiwara
2. 発表標題 Freezing of water droplets on glass surfaces with micro-scale lattice-patterned grooves
3. 学会等名 Joint Polish-German Crystallographic Meeting (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 田和 貴純, 萩原 良道	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 7
3. 書名 「セルロースナノファイバーの氷結晶成長抑制能について」、生物の優れた機能から着想を得た新しいものづくり、第3編第3章	

1. 著者名 石川 将次, 萩原 良道	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 8
3. 書名 「冬カレイから着想を得た微細流路内氷スラリー流の氷成長・融解の制御」、生物の優れた機能から着想を得た新しいものづくり、第3編第4章	

1. 著者名 萩原 良道	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 2
3. 書名 「不凍タンパク質とその応用」、動物学の百科事典、第12章バイオミメティクス	

〔産業財産権〕

〔その他〕

解説記事：月刊誌MATERIAL STAGE, 20巻 (2020), 3号, pp.11-16.
