

令和 3 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19058

研究課題名(和文) 固液界面における潤滑油分子の並進運動計測：単一蛍光分子追跡

研究課題名(英文) Single-molecule fluorescence tracking at lubricant-solid interfaces

研究代表者

大西 洋 (Onishi, Hiroshi)

神戸大学・理学研究科・教授

研究者番号：20213803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：潤滑油-固体界面における分子運動を計測する手法の開発を本研究の目標とした。潤滑油液体の分子運動がランダム化して仕事を熱に転換する現象が摩擦であり、転換比率をあらゆる巨視的物理量が動摩擦係数である。潤滑油に微量の添加剤を加えると動摩擦係数が桁違いに低下するのはなぜか？分子論的な視点からこの問いに答えるために、生体膜の流動性計測に活用されてきた単一蛍光分子追跡法を潤滑油の分子運動計測に転用することをめざした。潤滑油とガラス板の界面に捕捉された個々の蛍光分子を光学顕微鏡を使って毎秒30画面の動画像として記録し「位置を変えない分子」と「位置を変える分子」を識別したことによって目標を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

固体と液体が接する界面で発生する滑り(液体潤滑)は古代から人間生活と深く関わってきた。潤滑油を用いた摩擦低減はエネルギー消費型の現代社会を支える基盤技術である。長年にわたる潤滑油開発のなかで、潤滑油に少量の添加剤を加えると「滑りやすく」なる現象が発見されて広く利用されている。しかし、添加剤が摩擦係数を引き下げるメカニズムは依然として曖昧なまま残されている。潤滑油-固体界面における添加剤の役割を解明する手段として、本研究で開発した分子運動計測法を活用することが期待される。

研究成果の概要(英文)：The present study was conducted to develop a new method for measuring translational motion of liquid lubricant molecules facing a solid. Single fluorescent molecule tracking, which has been used for visualizing molecular motions in lipid bilayers, was successfully applied to lubricants composed of a hydrocarbon liquid and a carboxylic acid modifier. Individual fluorescent molecules dissolved in the lubricant were recognized in a motion picture of 30 frames per second. Some fluorescent molecules were mobile over a glass plate while the others were not.

研究分野：界面分子科学

キーワード：分子運動 トライボロジー エネルギー散逸 油性添加剤 蛍光顕微鏡 単一分子 表面界面 統計力学

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

現在世界中で使われている潤滑油は、無極性で蒸気圧の低い炭化水素液体(ポリオレフィンなど)に微量(0.1~1%)の極性化合物(長鎖脂肪酸・アミンなど)を溶解した溶液である。炭化水素液体(機械工学では基油とよぶ)に極性化合物(同じく添加剤)を加えると動摩擦係数が一桁低下する経験則が知られており、この経験則にもとづいて実用潤滑油が製造されているが、摩擦低減の分子論的メカニズムはいまも明らかでない。

潤滑油の分子運動がランダム化して仕事を熱に転換する現象が摩擦であり、転換比率をあらわす巨視的物理量が動摩擦係数である。微量の添加剤を加えても潤滑油の粘度は変化しない。にもかかわらず動摩擦係数が桁違いに低下するのはどうしてだろうか? 機械工学が提起した問いに、分子科学の視点から答えたい。この謎を解くためには、潤滑油と固体が接する界面の分子運動計測がどうしても必要である。

### 2. 研究の目的

潤滑油-固体界面における分子運動を計測する手法の開発が本研究の目的である。固体と液体が接触したとき、固体内に侵入できない液体分子が層状に粗密分布をつくる現象が界面液体の構造化である(図1)。大西洋(研究代表者)・平山朋子・天野健一(ともに研究分担者)は、周波数変調方式の原子間力顕微鏡(FM-AFM)と中性子反射率を使って粗密分布を計測し(図2)、測定結果を統計力学を用いて解釈する研究を進めてきた。これらの研究によって、潤滑油界面の液体粗密分布は明らかになりつつあるが、摩擦現象に直結する「潤滑油分子の運動性」を計測する手法の開発が待たれている。脂質二重膜(生体膜)を構成する脂質分子の並進運動を解析するために活用されてきた単一蛍光分子追跡法を潤滑油界面の運動性評価に転用するために、当該手法のエキスパートである手老龍吾を研究分担者に加えたチーム研究を組織した。

### 3. 研究の方法

3-1. 測定の実理. 単一蛍光分子追跡法(single fluorescent molecule tracking)は脂質二重膜を構成する脂質分子の並進運動解析に活用されてきた。脂質二重膜の単一蛍光分子追跡(図3)では、水溶性蛍光分子を二重膜に取り込ませて、その膜内拡散を光学顕微鏡で追跡する。光学顕微鏡では結像する像の大きさを使用する光の波長(500nm程度)より小さくすることはできないが、蛍光分子の数密度を十分低くすることによって、個々の蛍光分子がつくる点像が重ならない状態を実現できる。この状態で顕微鏡画像を動画として記録すれば、ひとつひとつの蛍光分子が二重膜内を拡散する並進運動を追跡して膜内方向の分子運動を定量的に評価できる。二重膜の組成や構造が不均一であれば場所ごとに異なる運動を計測することも可能である。

拡散係数の絶対値は拡散する分子の質量と形に依存するので、二重膜を構成する脂質分子と膜内に取り込まれた蛍光分子では異なる。蛍光分子は膜内をブラウン運動によって拡散していくので、脂質膜の化学組成や温度を変えたことによる蛍光分子運動の変化は、脂質分子膜そのものの運動性変化を反映したものになる。

本研究では潤滑油-固体界面に出現する添加剤層(図4)に蛍光分子を取り込ませて添加剤層内の分子運動を動画計測する。脂質二重膜と同様の計測ができるならば、添加剤分子の運動性を評価できるはずである。

3-2. 測定装置. 単全反射照明が可能な蛍光顕微鏡(図5)を用いることで、蛍光検出位置を界面垂直方向に厚さ200nmまで絞り込むことができる。これによってバルク潤滑油に溶解した蛍光分子が発する蛍光の寄与を抑え、添加剤層に取り込まれた蛍光分子を画像計測した。本顕微鏡はマイカ基板上に構築した脂質二重膜内の分子運動を動画記録するために手老が設計製作した装置である。ヘキサデカン( $n\text{-C}_{16}\text{H}_{34}$ )基油のみ、およびこれにパルミチン酸( $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$ , 濃度0.1mass%)を添加したモデル潤滑油に蛍光分子を加えて測定に用いた。ピラニア溶液(過酸化水素と硫酸の混合溶液)に浸漬

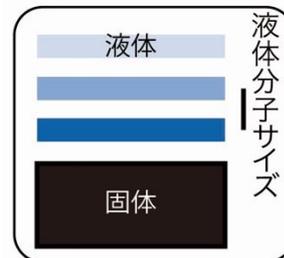


図1. 層状に構造化した界面液体密度【想像図】

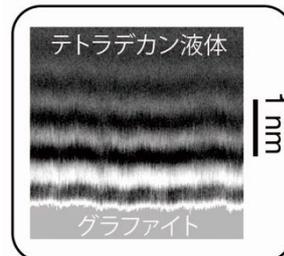


図2. 層状に構造化した界面液体密度【実測図】

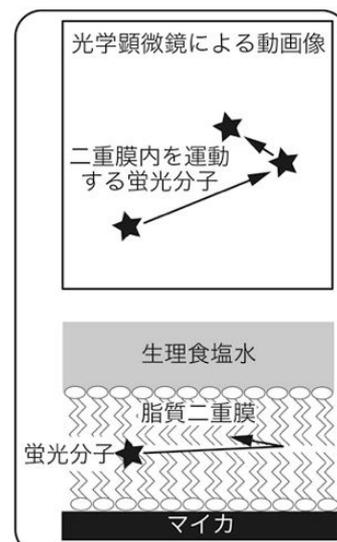


図3. 脂質二重膜に溶解した単一蛍光分子の追跡

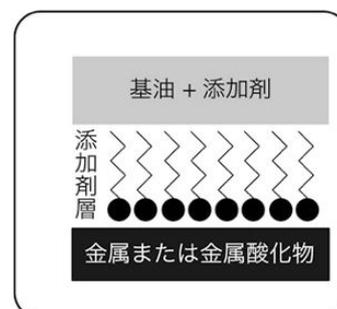


図4. 固体に接する潤滑油の液体構造

して表面の汚れを除去し、親水化したガラス基板を用いて溶液セルを製作し、モデル潤滑油とガラス基板の界面に波長 532 nm の励起光を照射して、界面に捕捉された蛍光分子が発する蛍光像を毎秒 30 画面の撮像速度で記録した。

3-3. 蛍光分子の選択・脂質二重膜の蛍光分子追跡は生理食塩水中でおこなわれてきた。潤滑油-固体界面の計測を実現するためには、潤滑油に蛍光分子を溶解し、界面に析出する添加剤層に蛍光分子を取り込ませなければならない。初回の測定では脂質二重膜測定に常用する親水性蛍光分子を潤滑油に加えたところ、ガラス表面に蛍光分子が析出固化してまったために、単一分子が発する蛍光を捉えることができなかった。二重膜測定に常用する蛍光分子よりも親油性が高く、しかも 532 nm 光励起で強い蛍光を発する化合物が必要である。この条件を満たす化合物として boron-dipyrromethene 系の蛍光分子(略称 BODIPY)が有望であった。商業的に入手できる BODIPY 系の化合物 5 種類を用いて測定を進めた。一例として BODIPY 581/591 の分子構造を図 6 に示す。

#### 4. 研究成果

5 種類の蛍光分子 (BODIPY 581/591・R6G・530/550・558/568・TMR-X) を用いて測定をおこなった。これらのうち BODIPY TMR-X は潤滑油中で著しく大きさの異なる二種類の形態(単一分子と凝集体)を与えるために本測定に適さないことがわかった。残る 4 種類の蛍光分子 (BODIPY 581/591・R6G・530/550・558/568) を用いた測定では、ほぼ均一な大きさの光点が現れたので、界面に捕捉された単一蛍光分子を画像化した判断した。BODIPY 581/591 を用いて測定した動画像から切り出した連続画像 3 枚を図 6 に示す。動画像の目視観察から、界面に捕捉された単一蛍光分子のなかに、連続画像のなかで位置を変えない分子と、界面に捕捉されたまま面内方向に運動する分子が存在することがわかった。測定条件(蛍光分子の種類・濃度・測定温度など)を最適化することで面内運動の定量的評価を今後実現していきたい。

潤滑油-ガラス界面に励起光を照射し続けると、蛍光分子は一定の確率で焼尽破壊されてゆく。このため一画面内に存在する蛍光分子の数は照射時間とともに減少するが、10 秒程度の時間が経過すると一定数となり 0 までは減少しなかった。この事実は、界面に捕捉された蛍光分子が、液中からの捕捉と液中への脱離を繰り返す、すなわち液中と界面捕捉状態のあいだで平衡にあることを示す。励起光照射下では、液中からの捕捉・励起光による焼尽・液中への脱離の速度が釣りあった定常状態となっている。

定常状態に達した時点での BODIPY 581/591 の数密度を、純ヘキサデカン中とパルミチン酸添加ヘキサデカン中で比較すると、パルミチン酸添加によって数密度は減少した。パルミチン酸と BODIPY 581/591 がガラス表面への吸着において競争関係にあり、パルミチン酸添加剤層の形成によって BODIPY 581/591 の吸着が妨げられたと解釈できる。

これらの研究成果をトライボロジー会議 2019 と 2020 年日本真空表面科学学会で発表し、そこでの議論を含めた原著論文を現在作成中である。2021 年度内に国際学術誌に上梓して、機械工学や石油化学に関係する企業研究者もダウンロードできるようにオープンアクセス化する予定である。

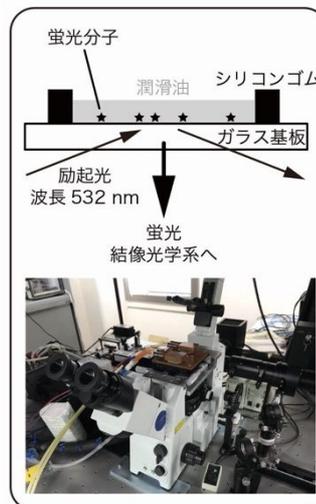


図 5. 溶液セルの概形と顕微鏡装置の全景

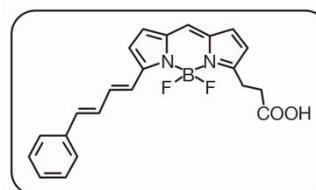


図 6. BODIPY 581/591 の分子構造

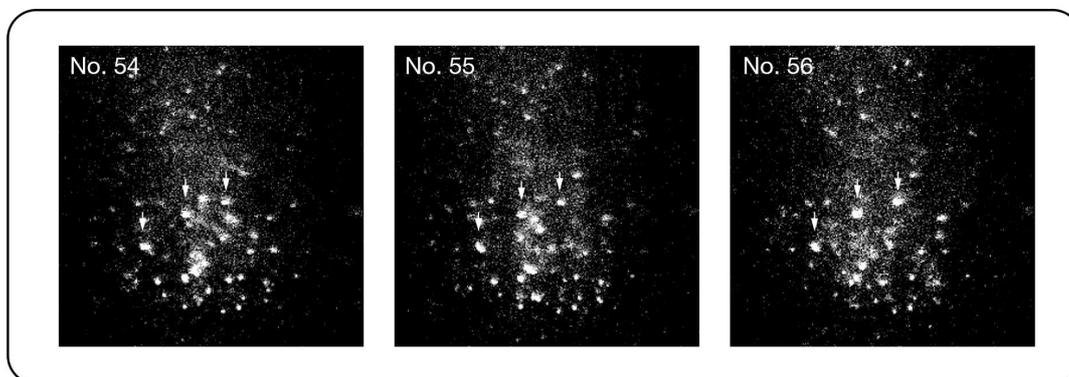


図 6. 純ヘキサデカンとガラス基板の界面に捕獲された BODIPY 581/591 分子の蛍光追跡画像。画面サイズ：35  $\mu\text{m}$  角。30 ms 間隔で記録した 500 枚の連続像から 54, 55, 56 枚目を表示した。移動しない分子のうち画面中央付近の 3 個を矢印でマークした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 天野健一, 古川暁之, 石井里奈, 橋本康汰, 西直哉, 作花哲夫	4. 巻 57
2. 論文標題 非加算性を取り入れた朝倉-大沢理論による基板近傍における粒子のコンタクト密度の考察	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 名城大学農学部学術報告	6. 最初と最後の頁 9-16
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 無
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 Furukawa Satoshi, Amano Ken-ichi, Ishihara Taira, Hashimoto Kota, Nishi Naoya, Onishi Hiroshi, Sakka Tetsuo	4. 巻 734
2. 論文標題 Enhancement of stratification of colloidal particles near a substrate induced by addition of non-adsorbing polymers	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Chemical Physics Letters	6. 最初と最後の頁 136705 ~ 136705
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cplett.2019.136705	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 Moriguchi Shiho, Tsujimoto Teppei, Sasahara Akira, Kokawa Ryohei, Onishi Hiroshi	4. 巻 4
2. 論文標題 Nanometer-Scale Distribution of a Lubricant Modifier on Iron Films: A Frequency-Modulation Atomic Force Microscopy Study Combined with a Friction Test	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 17593 ~ 17599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b02821	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 Tedula Yuya, Sasahara Akira, Onishi Hiroshi	4. 巻 5
2. 論文標題 Atomic Force Microscopy Imaging of Crystalline Sucrose in Alcohols	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 2569 ~ 2574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b02660	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 Xue Shengkai, Sasahara Akira, Onishi Hiroshi	4. 巻 152
2. 論文標題 Atomic-scale topography of rutile TiO <sub>2</sub> (110) in aqueous solutions: A study involving frequency-modulation atomic force microscopy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 054703 ~ 054703
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5134997	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 -

〔学会発表〕 計11件(うち招待講演 4件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 手老龍吾, 平山朋子, 天野健一, 大西洋
2. 発表標題 単一蛍光分子追跡による潤滑油界面の分子運動計測
3. 学会等名 2020年日本真空表面科学学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 手老龍吾; 平山朋子; 天野健一; 大西洋
2. 発表標題 単一蛍光分子追跡による潤滑油界面の分子運動計測: フィジビリティスタディ
3. 学会等名 トライボロジー会議2019春
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Moriguchi, S.; Kokawa, R.; Fujino, K.; Tsujimoto, T.; Sasahara, A.; Onishi, H.
2. 発表標題 FM-AFM Imaging of Interfaces between Lubricants Containing Oiliness Agent and an Iron Substrate
3. 学会等名 International Tribology Conference Sendai 2019 (ITC Sendai 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Onishi, H.
2. 発表標題 Pico-Newton Force Sensing at Liquid-Solid Interfaces: Application to Lubricants
3. 学会等名 IEEE 3M-NANO Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西洋
2. 発表標題 固体と接する潤滑油液体のナノスケール構造化：AFMによる力学応答計測
3. 学会等名 2019年第3回極限ナノ造形・構造物性研究会公開講演会(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森口志穂；粉川良平；藤野敬太；辻本鉄平；笹原亮；大西洋
2. 発表標題 FM-AFMによる油性添加剤含有PAOの高温観察
3. 学会等名 トライボロジー会議2019春
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 手老龍吾；平山朋子；天野健一；大西洋
2. 発表標題 単一蛍光分子追跡による潤滑油界面の分子運動計測：フィジビリティスタディ
3. 学会等名 トライボロジー会議2019春
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 笹原亮; 森口志穂; 粉川良平; 辻本鉄平; 大西洋
2. 発表標題 周波数変調原子間力顕微鏡 (FM-AFM) を用いた酸化鉄単結晶表面の溶媒中解析
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大西洋
2. 発表標題 液中AFMによる潤滑油界面の計測評価
3. 学会等名 日本学術振興会ナノプローブテクノロジー第167委員会第90回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Moriguchi, S.; Kokawa, R.; Tsujimoto, T.; Sasahara, A.; Onishi, H.
2. 発表標題 Observation of Interface between Lubricant and Fe Substrate by FM-AFM
3. 学会等名 21st International Conference on Non-Contact Atomic Force Microscopy (NC-AFM2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大西洋
2. 発表標題 固液界面のピコニュートン力学応答
3. 学会等名 第12回分子科学討論会2018 (招待講演)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学理学研究科化学専攻 大西研究室 http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index.html 同上（英語版） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-E.html 同上（中国語版） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-C.html 同上（韓国語版） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-K.html 同上（タイ語版） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-T.html 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（日本語ページ） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/ 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（英語ページ） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-E.html 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（中国語ページ） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-C.html 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（韓国語ページ） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-K.html 神戸大学理学研究科化学専攻大西研究室（インドネシア語ページ） http://www.edu.kobe-u.ac.jp/sci-onishi/index-I.html
---

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
研究分担者	手老 龍吾 (Tero Ryugo) (40390679)	豊橋技術科学大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授  (13904)	
研究分担者	平山 朋子 (Hirayama Tomoko) (00340505)	同志社大学・理工学部・教授  (34310)	
研究分担者	天野 健一 (Amano Ken-ichi) (30634191)	京都大学・工学研究科・助教  (14301)	

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
---------	---------