

博士論文（要約）

マイクロ液滴の生成機構の解明に向けた
多波長共焦点マイクロ PIV システムの開発

大石 正道

要旨

本論文ではマイクロ T 字流路における液滴生成機構について、機構を司る 3 力を定量的に計測できる可視化計測システムを開発することにより、機構の解明を目指した。

マイクロ液滴デバイスは、水と油など混ざり合わない 2 種類の液体を用いてピコリットルサイズの液滴を生成し、均一な粒子生成や反応チャンバとして利用される。特に T 字流路は液滴生成を行う最もシンプルな流路デザインであり、液滴サイズや生成周期を制御するために界面張力とせん断応力の比であるキャピラリ数 (Ca) によるレジーム整理や、計測データから導出した予測式などが示されている。これらを一般化するには液滴生成機構の物理的考察が必要であるが、数十～数百 μm という流路断面寸法や流動場の 3 次元性・非定常性によって定量的計測が難しく、機構の解明には至っていない。

液滴生成の物理には 3 つの力が関係しているとされ、それらは、分散相の先端がちぎれないように働く界面張力 $F\gamma$ 、連続相の流れが界面を引きずるせん断応力 $F\tau$ 、連続相圧力によって界面に働く力 Fp である。これら 3 力の算出には非定常性のある両相の 3 次元速度場と界面形状および圧力の計測が必要である。計測手法としては、流れに微小なトレーサ粒子を分散させて、粒子画像から速度分布を算出するマイクロ PIV (Particle Image Velocimetry: 粒子画像流速測定法) が適してはいるが、油相に適したトレーサ粒子や両相の同時計測手法が確立されていなかった。

このような背景から、本研究では最も運用条件が幅広い「遷移領域」と呼ばれるレジームを対象とし、液滴生成機構に関与する 3 力の算出に必要な物理量を定量的に取得可能な計測システムの開発と、流動構造と 3 力の経時変化の考察による液滴生成機構の解明を目的としている。

上記の目的に対し、マイクロ混相流の両相同時計測手法として、波長分離光学系を組み込んだ多波長共焦点マイクロ PIV システムを開発した。合わせて、油相に分散可能な $\phi 0.7 \mu\text{m}$ の蛍光トレーサ粒子を開発し、市販粒子と遜色ない蛍光強度と共焦点深度 $2.81 \mu\text{m}$ を達成した。システムの計測性能としては、 $231.0 \times 173.3 \mu\text{m}$ の領域を $2.02 \mu\text{m}$ 間隔で 2 相同時に 2 次元速度分布計測が可能であり、計測限界速度は 9.241 mm/s

である。計測の不確かさは面内速度成分が 8.62%であり、PIV 計測の標準的な計測精度である 10%未満を達成した。3次元再構築後のz方向速度成分の不確かさは計算開始面から1層離れた断面では6.03%、 n 層離れた断面ではその \sqrt{n} 倍となり、本実験での14層離れた断面においては22.58%となった。これらは、理論解のある矩形流路内流れを用いて、計測結果が不確かさ解析範囲内に収まることを確認した。

一方、周期的な非定常性と3次元性を有する液滴生成の流動構造を、2次元計測である本計測システムにて断層撮影し、3次元再構築するために、時間位相を合わせることでできる光ファイバセンサ式液滴検出システムを開発した。また、プログラマブルコントローラを介して本検出システムの機能を拡張することで、液滴のばらつきをリアルタイムで監視し、PIV解析グリッドの半分以下かつ1%未満のばらつきで液滴を選別して同期撮影を行える選別・カメラトリガシステムを構築した。

次いで、開発した計測システムを用いて、T字型マイクロ流路における液滴生成機構の計測を行った。 Ca の異なる3条件に対して3次元速度場および界面形状データを取得し、流動構造変化の特徴を抽出している。結果として、高い Ca ほど界面による主流路の狭窄率は低下し、液滴分裂前の界面がくびれ始める時刻位相が早まる傾向が見られた。また、圧力の取得方法として、界面形状からラプラス圧力式を用いて算出する方式を採用した。連続相上流に挿入した光圧力センサ値とPIV画像から算出したラプラス圧力変動の一致が確認され、PIV画像からの圧力算出に妥当性が示された。

計測で得られたデータを用いて、界面上に設定したコントロールボリュームに沿って3力を定量的に算出し、その経時変化から液滴生成機構を考察した。その結果、3条件とも液滴生成周期の89~94%の時間位相において F_{γ} に対する F_{τ} と F_p の合力が大きくなり、同時に形状・流動パラメータである界面面積の減少、上流側界面の面内曲率反転、および連続相の分散相側流路への流入量減少が同期する結果が得られた。また、 Ca が大きくなるに従い、分裂時における F_{τ} の寄与が0%から12%まで増加し、力の逆転時刻が約5%前方へシフトした。

以上より、本論文は液滴生成現象における3力の非定常な変化を、3次元にて定量的に計測できるシステムを構築し、液滴生成機構の考察が可能な機能と精度を達成した。また、計測結果から、遷移領域における分裂開始における3力のバランス機構を明らかにした。

開発した計測システムは2系統の光路を同軸化した特長により、本研究のような2波長PIVだけでなく、LIFやMTV、偏光計測などとの同時計測にも対応可能である。応用例として、細胞が混在した流れや、マイクロバブル、速度とスカラー量の同時計測などが挙げられる。

記号

A	: 面積	area	[m ²]
D	: 直径	diameter	[m]
	: 拡散係数	diffusion coefficient	[m ² /s]
F	: 力	force	[N]
L	: 長さ寸法	length	[m]
P	: 周囲長	perimeter	[m]
Q	: 流量	flow rate	[ml/h]
U	: (平均) 流速	(average) flow velocity	[m/sec]
V	: 体積	volume	[m ³]
	: 並進速度	translational velocity	[m/s]
g	: 重力加速度	gravitational acceleration	[m/s ²]
h	: 深さ寸法	depth	[m]
i, j, k	: テンソルの座標		
l	: 毛管長	capillary length (κ^{-1})	[m]
p	: 圧力	pressure	[Pa]
q	: 測定値	measured value	
r	: 半径	radius	[m]
	: 解像度	resolution	
s	: 標準偏差	standard deviation	
t	: 時間	time	[sec]
u, v, w	: 3次元速度成分	3D velocity component	[m/sec]
u	: 標準不確かさ	standard uncertainty	
v	: 標準不確かさ計算時の速度	velocity when calculating standard uncertainty	
w	: 幅寸法	width	[m]
x, y, z	: 3次元空間座標	3D spatial coordinates	[m]

無次元数

Bo	: ボンド (エトベス) 数	Bond (Eötvös) number	[-]
Ca	: キャピラリ数	Capillary number	[-]
Re	: レイノルズ数	Raynolds number	[-]
We	: ウェーバー数	Weber number	[-]

ギリシア文字

μ	: 粘度	viscosity coefficient	[Pa · s]
λ	: 粘度比	viscosity ratio (μ_d/μ_c)	[-]
	: 縦横比	aspect ratio	[-]
γ	: 界面張力係数	interfacial tension coefficient	[mN/m]
ρ	: 比重	density	[g/cc]
τ	: せん断応力	shear force	[Pa]
Λ	: 流路幅比	channel width ratio (w_d/w_c)	[-]
φ	: 流量比	flow rate ratio (Q_d/Q_c)	[-]
α	: Squeezing 定数	Squeezing coefficient	

添字

c	: 連続相	continuous phase	
d	: 分散相	dispersed phase	
	: 液滴	droplet	
e	: 助走距離 (区間)	entrance lenth (L_e)	
gap	: gap 領域	gap regeion between the interface and opposite channel wall	
H	: 水力 (直径)	channel hydraulic diameter (D_H)	
HP	: Hagen-Poiseuille の式	equation of Hagen-Poiseuille	
inter	: 界面	interface	
ip	: 計測面内	in-plane	
junc	: T 字流路接続面	junction plane	
lub	: 潤滑理論	lubrication theory	
neck	: 分散相ネック部	neck of the interface	

op	: 計測面外方向	out-of-plane
period	: 液滴生成周期	droplet formation period
proj	: 投影 (面積)	projected area
PIV	: PIV 計測値	PIV measurement value
SL	: Shah and London の式	equation of Shah and London
sphere	: 同体積の球	sphere of the same volume
SS	: せん断応力	shear stress
tip	: 界面先端側	tip side of the interface
u-d	: 界面上下流間	between upstream and downstream side of the interface
up	: 界面上流側	upstream side of the interface
ups	: 分散相上流方向	upstream direction of the dispersed flow channel
wall	: 流路壁面	channel wall

目次

要旨	2
記号	4
第 1 章 序論	10
1.1 マイクロ流体デバイスとマイクロ混相流	10
1.2 マイクロ液滴デバイス	13
1.3 T字型マイクロ流路を用いた液滴生成と先行研究	14
1.3.1 液滴生成を司る主要な力	16
1.3.2 送液方式	18
1.3.3 キャピラリ数と液滴生成様式 (レジーム)	19
1.3.4 Ca に無いパラメータの影響	24
1.3.5 時系列での観察とステージ移行	27
1.3.6 カバランスの経時変化	28
1.3.7 液滴サイズの予測手法	32
1.3.8 液滴生成現象に対する先行研究まとめ	35
1.4 マイクロ流動の計測手法	35
1.4.1 液滴生成機構解明のための計測ニーズ	35
1.4.2 マイクロ流動場の計測手法	37
1.4.3 液滴生成機構に対する計測例	44
1.4.4 先行研究における計測技術まとめ	47
1.5 研究目的	48
1.6 本論文の構成	50
第 2 章 多波長共焦点マイクロ PIV システムの開発	52
2.1 従来システムの性能と課題	52
2.1.1 マイクロ PIV	52
2.1.2 共焦点マイクロ PIV	54

2.1.3	多波長撮像系	54
2.2	システム概要.....	56
2.3	波長分離ユニットの開発	58
2.4	油相用蛍光トレーサ粒子の開発	61
2.5	PIV 解析アルゴリズム	66
2.5.1	アンサンブル相関法.....	66
2.5.2	連続の式を用いた面外方向速度成分の算出.....	67
2.6	不確かさ解析.....	70
2.6.1	誤差の要因.....	71
2.6.2	精度評価の方法.....	74
2.6.3	本計測における不確かさ解析.....	76
2.6.4	連続の式を用いたz方向速度成分算出における誤差	86
2.6.5	矩形流路流れの理論解を用いた精度評価	89
2.7	多波長共焦点マイクロ PIV システム開発のまとめ	98
第 3 章 光センサによる液滴検出・選別システムの開発		101
3.1	開発の経緯と目的.....	101
3.2	システム設計と動作コンセプト	102
3.2.1	光センサの分解能検討	105
3.2.2	信号処理と液滴選別アルゴリズム.....	108
3.3	液滴選別結果.....	112
3.4	まとめ	114
第 4 章 T 字型マイクロ流路における液滴生成現象の計測（除外）		115
第 5 章 液滴生成機構の解明（除外）		146
第 6 章 結論（除外）		189
謝辞		194
参考文献		197
Appendix A. 並進液滴内外流れの 3 次元計測.....		205
Appendix B. 液滴生成における不安定性.....		216

Appendix C. 光センサを用いた液滴検出.....	217
Appendix D. 計測限界速度向上と血球流動計測	220

第1章 序論

1.1 マイクロ流体デバイスとマイクロ混相流

近年，電子回路等の微細加工技術や MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術を応用して発展を遂げてきたマイクロ流体デバイスは，混合や分離・精製，化学反応，分析，細胞培養といった様々な機能を，微少流体の操作により手のひらサイズのオンチップで実現することを目的としている (Reyes et al., 2002; Auroux et al., 2002; Hong et al., 2003; Balagaddé et al., 2005; Whitesides et al., 2006; Yi et al., 2006) . これらは Lab on a Chip, Micro-TAS (Total Analysis Systems), マイクロ生化学，機械工学，化学，生物学，精密工学，医学，薬学，電磁気学などをまたいだ分野横断的な開発が盛んなため，その物理的な挙動や制御も一層複雑なものとなっている。

このような機能は， $\text{nL} \sim \text{pL}$ オーダの微小体積流体の正確なハンドリングによって行われ，流体は流路断面の長さスケールが数十～数百 μm の微細な流路に流される．マイクロスケールの流路やバルブ，フィルタなどの流体素子は数 $\text{cm} \sim \text{mm}$ のサイズのマイクロチップ上に集積して配置され，複数の機能をオンチップに実装することができる (図 1.1) . 流体素子の小型化は，比表面積を増大させるスケール効果 (Hetsroni et al., 2005) をもたらすだけでなく，試料の節約，高速処理，パターン成形技術を用いた大量生産，ディスポーザブルでポータブルな扱いやすさなど多くの利点がある。

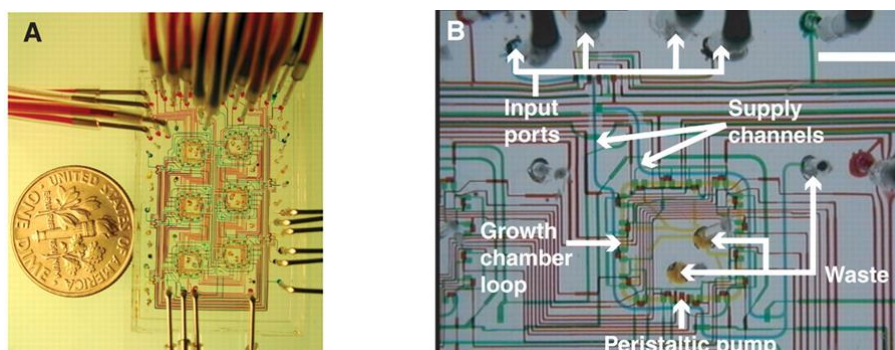


図 1.1 マイクロ流体バイオリアクタ. Balagaddé et al., 2005 より転載.

マイクロ流れの特徴

マイクロ流体デバイス内の流れはマイクロフルイディクス (Microfluidics) と呼ばれ、スケール効果によって流動現象を支配する力のバランスが変化する。表 1.1 に 1 m を基準スケールとした場合の空間サイズと力、無次元数のオーダーを比較した。この表から読み取れることも含めて、マイクロフルイディクスにおける特殊な流動挙動を以下に列記する。

- (1) 長さの 3 乗, 4 乗に比例する重力や慣性力, 電磁気力などの体積力 (body force) よりも, 長さの 1 乗, 2 乗に比例する圧力や粘性力, 界面張力, 静電気力などの表面力 (surface force) の方が支配的になる。
- (2) 慣性力と粘性力の比であるレイノルズ数 (Reynolds number: Re ・式(1.1))

$$Re = \frac{\rho UL}{\mu} \quad (1.1)$$

は U と L が極小であることから, 一般に $100 \mu\text{m}$ を切る寸法のマイクロ流路内流れは $Re < 10$ であり, 粘性効果が強く乱れがほぼ無い層流となる。

表 1.1 スケール効果.

		1 μm	10 μm	100 μm	1 mm	1 cm	1 m
長さ	L	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	1
表面積	L^2	10^{-12}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-4}	1
体積	L^3	10^{-18}	10^{-15}	10^{-12}	10^{-9}	10^{-6}	1
比表面積	L^{-1}	10^6	10^5	10^4	10^3	10^2	1
速度	$\propto L$	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	1
慣性力	$\propto L^4$	10^{-24}	10^{-20}	10^{-16}	10^{-12}	10^{-8}	1
重力	$\propto L^3$	10^{-18}	10^{-15}	10^{-12}	10^{-9}	10^{-6}	1
界面張力	$\propto L$	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	1
粘性力	$\propto L^2$	10^{-12}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-4}	1
圧力	$\propto L^2$	10^{-12}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-4}	1
慣性力/粘性力(Re)	$\propto L^2$	10^{-12}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-4}	1
慣性力/界面張力(We)	$\propto L^3$	10^{-18}	10^{-15}	10^{-12}	10^{-9}	10^{-6}	1
重力/界面張力(Bo)	$\propto L^2$	10^{-12}	10^{-10}	10^{-8}	10^{-6}	10^{-4}	1
対流	$\propto L^3$	10^{-18}	10^{-15}	10^{-12}	10^{-9}	10^{-6}	1
拡散	$\propto L$	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	1

- (3) 断面形状に変化の無い直線流路において、粘性の影響を受ける流れの境界層が壁面から流路中心に達し、断面内の流速分布に変化が無くなった流れを「完全に発達した流れ (fully developed flow)」と言う。また、発達に必要な流路長さを助走距離または助走区間 (entrance length) L_e と呼ぶ。マイクロ流路内では流れと流路壁との距離が近いため、助走距離も非常に短くなることが特徴であり、直径 D の円管に対しては Schlichting (1960) が式(1.2)で、矩形管に対しては Shah and London (1978) が式(1.3)で求めている。

$$L_{e,circ} \approx 0.04Re \cdot D \quad (1.2)$$

$$L_{e,rect} \approx \left(\frac{0.6}{1 + 0.035Re} + 0.056Re \right) D_H \quad (1.3)$$

ここで D_H は流路断面の水力直径である。

例えば内径 $200 \mu\text{m}$ 、 $Re = 1$ の円管マイクロ流れで計算すると $L_{e,circ}$ は $8 \mu\text{m}$ となり、直径のわずか $1/25$ の助走距離で流れが十分に発達することとなる。これを既知の流れ場として利用するアプリケーションでは流路長を短縮できるメリットがある反面、対流による混合が困難になるデメリットがある。

- (4) 駆動力として表面力を用いると効率が良いが、一方、流路寸法の縮小は流動抵抗の増大を招き、特に $10 \mu\text{m}$ 以下では圧力損失が非常に大きくなる。これにより、ポンプの性能不足や接続部からの漏出など実用上の問題が生じやすい。
- (5) 比表面積を大きくでき、界面を介した物質やエネルギー交換・輸送の効率が高い。
- (6) 混合操作においては慣性力が主体の対流よりも、拡散距離が小さくなることによる拡散が支配的となる。また、乱流混合が利用できないため、より効率的な混合のためには2次流れや渦の反転などを用いた強制的な層流混合が必要である。

マイクロ流体デバイスはこれらの特徴を考慮して開発・設計されるが、より優れた性能を持たせるためには流れ場の定性的な観察だけでなく、定量的な物理量や力の把握が必要となってくる。

マイクロ混相流

マイクロ流体デバイスにおけるもう一つの大きな特徴として、2種以上の異なる相の物質を用いる混相流アプリケーションが多いという点が挙げられる。例えばマイクロバ

ブルの生成 (Gañán-Calvo et al., 2001; Garstecki et al., 2004) や, 細胞や血球を扱う培養・血液分析チップ (Shevkoplyas et al., 2005; Shields IV et al., 2015), 均一性を担保した実験系を実現できる液滴デバイス (Song et al., 2003; Seemann et al., 2012; Shang et al., 2017) などである.

界面を伴う混相流においては, 界面張力に対する慣性力の比である Weber 数 (We), 浮力の比である Bond 数 (Bo) もしくは Eötvös 数 (Eo) がマイクロ化に伴い減少し, 例えば流れ中の固体粒子や液滴等に対して慣性力や重力 (浮力) の効果が無視できる場合が多い. この特性を利用して速度差や比重差を考慮する必要の無いシンプルな流動条件を構築しやすい.

液滴に代表される液液混相流の他にも固体粒子が混在する固液混相流など, マイクロ生化学システムでは異なる相が混在する混相流を扱うことで様々な機能を実現しており, その設計や評価のためには各相の相互作用の解明が重要である. しかしながら, それらマイクロ混相流の定量的な計測技術には発展途上であり, また, 界面張力や濡れ性といった表面力の数値的な再現が未だ困難なことから, 高効率なデバイスの開発や評価がトライアンドエラーになりがちなのが現状である.

1.2 マイクロ液滴デバイス

マイクロ液滴を利用したシステムは, デッドボリュームの少なさによる混合や反応の高速化, バッチ処理, 生体細胞や DNA を内包しての運搬など様々なアプリケーションが開発されている (Song et al., 2003, 2006; Xu et al., 2005; Teh et al., 2008; Guo et al., 2012) (図 1.2). また定量性の高い液滴は, 拡散を伴わない分離コンパートメントとして定量分析または単分散微粒子の作製にも適している.

マイクロ液滴を生成するためには, 混ざり合わない 2 種の流体を流路内で接触させることによって界面を作り出し, その界面を何らかの方法で分裂させる必要がある. その手法は大きく分けてパッシブな方法とアクティブな方法の 2 種類あり, パッシブな方法は送液以外に動的な機構を用いず, T 字や十字流路のジャンクション部で界面を生じさせ, 流体力学的なせん断応力や圧力を界面に加えることで分裂を促進する (Christopher et al., 2007; Nunes et al., 2013) (図 1.3). この時の流れは $Re < 10$ の完全な層流である. 一方, アクティブな方法では界面に外部から振動や超音波などの擾乱要因を与えることで, 流動条件によらない能動的なサイズ制御を試みている (Zhu et al., 2016; Chong et al., 2016).

パッシブな方法は流量や粘度, 界面張力などのパラメータに対して液滴サイズの変化

がリニアではないため、狙って制御することが難しい。しかし流路構造をシンプルにできることや特別な装置を用いる必要がないことから広く応用され、価格やポータビリティなどの面でマイクロ生化学システムの特長をより活かすことができる手法である。

そのような背景から、パッシブなマイクロ液滴生成機構の解明を目指し、実験および数値計算の両面で数多くの研究がなされてきた。しかしながら、液滴生成を司る界面現象は未だ不明な点が多いことや、マイクロスケールで起きる界面の3次元形状変化とそれに伴う複雑な流動構造の計測が困難なことから、未だ解明に至っておらず、サイズ予測も実験によって定数を求める必要のある限定的なモデルにとどまっているのが現状である (Zhao et al., 2011; Anna et al., 2016)。

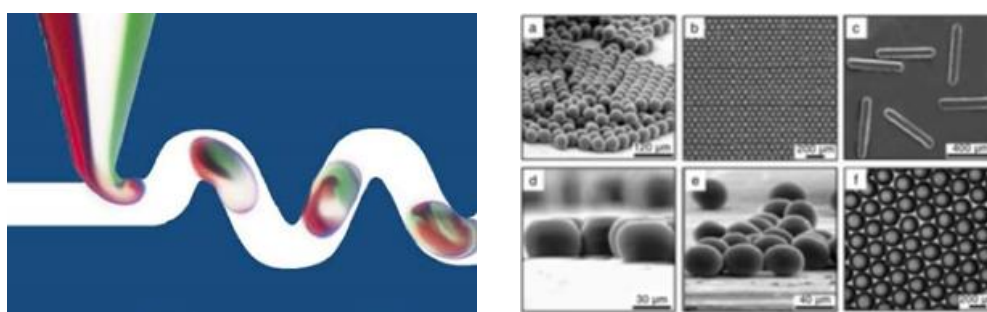


図 1.2 マイクロ液滴デバイスの応用例。

(左) 液滴内での混合操作. Song et al., 2003 を一部改変.

(右) 単分散異型粒子の作製. Xu et al., 2005 を一部改変.

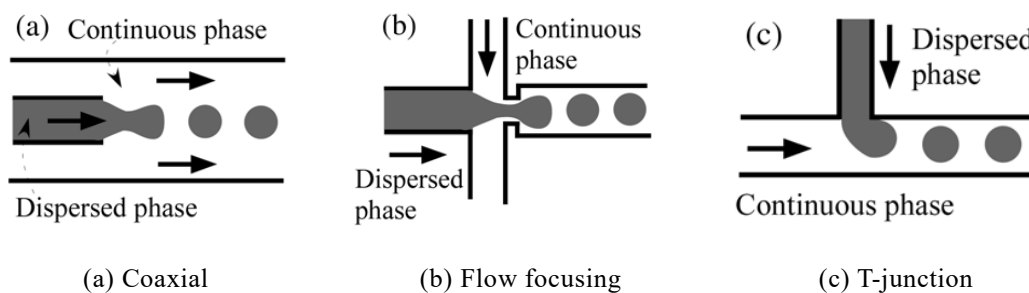


図 1.3 ジャンクションを用いたパッシブな液滴生成流路の種類. Nunes et al., 2013 を一部改変.

1.3 T字型マイクロ流路を用いた液滴生成と先行研究

図 1.4 に示すような T 字型マイクロ流路は、パッシブな液滴形成用流路の中で最も単純な形状の一つである。その構造は連続相が流れる直線流路に対し、液滴となる分散相

が流入する分散相流路が垂直に接合されていることが多い。ここで言う連続相と分散相は2種類の混ざり合わない流体であり、水と空気などの気液混相流、水と油などの液液混相流が用いられる。2相のうち、流路壁面への濡れ性が高い方が連続相となり、通常こちらを連続相流路に流す。分散相は接合部へ流入すると側面から連続相の流れを受けて変形し、一定の周期で分裂して滴となる。

液滴サイズや生成周期を予測するために、多くの先行研究が液滴生成のメカニズムを調査してきた (Nunes et al., 2013; Anna et al., 2016)。一概にメカニズムと言っても、流路形状や流量条件、流体や流路壁の物性など、因子となるパラメータが数多くあり、全てを定量的に予測できるモデル式は得られていないのが現状である。そこでまず、先行研究における定性的な議論と課題について、1.3.1~1.3.6の6つの項にまとめる。

なお、類似した液滴生成デバイスとして連続相の流路幅・深さが接合部の寸法より十分大きく、広大な連続相流れ場に向かって直交した微小な孔から分散相を注入してマイクロ液滴やマイクロバブルを大量発生させる unbounded emulsifier (cross-flow, Straight-Through Microchannels などとも呼ばれる) があるが (図 1.5) (Peng and Williams, 1998; Wang et al., 2000; Kobayashi et al., 2004; Timgren et al, 2008, 2009, 2010), 生成メカニズムはT字流路とは異なる部分があり、詳しくは次項に述べる。

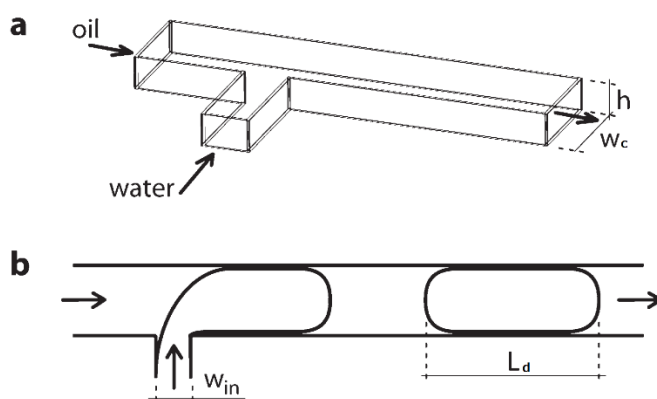


図 1.4 T字型マイクロ流路. Garstecki et al., 2006 を一部改変.

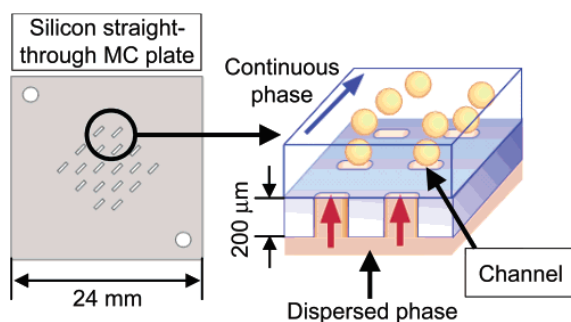


図 1.5 unbounded emulsifier. Kobayashi et al., 2004 より転載.

1.3.1 液滴生成を司る主要な力

メカニズムの解明のために、まず液滴生成現象を司る力とその定義を整理する。表 1.2 に T 字流路および unbounded emulsifier における力バランスを検討した先行研究を記す。それぞれ、液滴の分裂を阻止する方向に働く界面張力もしくは毛管(キャピラリ)力と、分裂させる方向に働く何種類かの力が考えられている。そしてこの力のバランスは界面の成長とともに変化し、後者が前者を卓越した段階で液滴の分裂が始まると考えられている。

特に T 字ジャンクション部では、界面の分裂は図 1.6 に示す界面に働く 3 力のバランスの経時変化によって支配されていると考えられている。それらは、

- [1] 界面面積を最小に向かわせる性質により、分散相の先端が分裂しないように働く界面張力： F_γ
- [2] 分散相の先端と流路壁間の gap 領域を流れる連続相の流れが、界面に与える界面せん断応力 (Interfacial Shear Stress: ISS)： F_τ
- [3] ジャンクション部にせり出した界面にかかる圧力による力： F_p

であり、基本的には[1]の界面張力とそれに対抗する方向に働く残り 2 力の合力との力関係で決まるとされている。

一方、Peng and Williams, (1998), Hunsy et al. (2006), Timgren et al. (2008, 2009, 2010), Wong et al. (2017) の例は、分散相流路幅に比べて連続相流路幅が非常に大きくなっており ($w_c \gg w_d$)、せり出してくる界面によって連続相流れが妨げられない unbounded 条件に相当する。この場合、[3]の連続相の圧力上昇が生じないかもしくは小さいため、分散相を液滴に分裂させるためには[2]のせん断応力あるいは他の力が必要となる。具体的には表 1.2 で挙げられる抗力や揚力、慣性力、静水圧差による力、浮力などが考えられ、それらのかかる向きは図 1.7 のように考えることができる。他の力の考え方として、

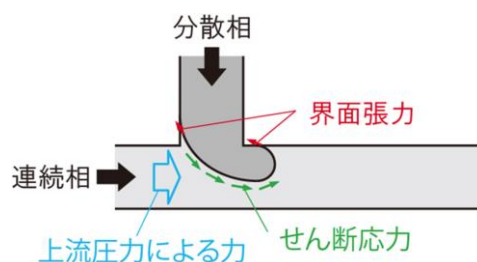


図 1.6 T 字流路の液滴生成における界面に働く 3 つの力.

unbounded では孔からせり出した分散相を球体とみなし、せん断流れ中にある球体にかかる力として抗力や揚力を見積もっている。unbounded ではない T 字流路の場合には連続相流路幅が分散相流路幅と近い寸法のため、界面が対向壁にぶつかるか、せん断もしくは圧力による力を受けて変形するために同様の仮定はできない。慣性力、浮力が T 字流路では計上されない理由は、unbounded emulsifier は連続相の圧力上昇がないため界面がぎちれにくく、その分他の力を強める必要があり、 Re および液滴体積が大きく設定されているからである。

表 1.2 先行研究における力の種類と定義。

力の方向	力の種類	力の詳細	先行研究	
分裂を阻止する方向に働く力	[1] 界面張力	界面張力 (孔周囲長 \times 界面張力係数)	Timgren (2008, 2010)*** Wong (2017)** Hunsy (2006)**	
		ラプラス圧	Thorsen (2001)**	
		界面張力 (ラプラス圧差 \times 投影面積)	Garstecki (2006)* De Menech (2008)	
		キャピラリ力	Christopher (2008)* Grawdel (2012)	
分裂させる方向に働く力	[2] せん断応力	界面せん断応力 (粘性応力)	Thorsen (2001)** Garstecki (2006)* De Menech (2008) Christopher (2008)*	
		[3] 界面にかかる圧力による力	液滴前後での圧力降下 (ラプラス圧差)	van Steijn (2007)* De Menech (2008)
			連続相流れへの抵抗力	Garstecki (2006)*
	狭窄圧力 (潤滑理論)		Christopher (2008)*	
	抗力		Timgren (2008, 2010)*** Wong (2017)** Hunsy (2006)**	
	揚力		Timgren (2008, 2010)***	
	慣性力		Timgren (2008, 2010)***	
	静水圧差による力		Timgren (2008, 2010)***	
	浮力		Timgren (2008, 2010)***	

* Squeezing (bounded), ** Dripping (bounded), *** unbounded emulsifier

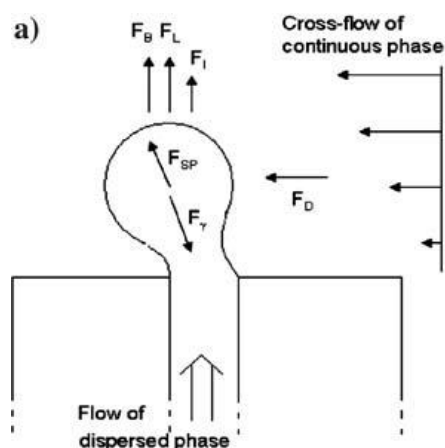


図 1.7 unbounded emulsifier における力の種類。Timgren et al., 2008 より転載。

このように、先行研究では複数の力の種類が考慮されているが、表 1.2 にあるように、それぞれの力の算出方法が複数考えられていることや、バルク的な概算がほとんどで、定量的な比較や議論ができず、力バランスと界面分裂現象の相関も明らかになっていない。また、力の働く方向についても界面の法線方向と接線方向が混在していたり、せり出した界面が下流方向へ 90° 曲げられたりすることから、考察には力の向きの考慮が必要である。さらに本機構は非定常であるため、力とその向きが時々刻々と変化する。本研究では流れ場の 3 次元計測により、時系列で流れ場と力の変化を捉えることで、定量的に力のバランス変化を捉えることを目指している。各力の詳細な定義と算出式については、実際に計測データを用いて算出を行う第 5 章に掲載する。

1.3.2 送液方式

流路へ作動流体を送液する方法は、大きく分けてシリンジポンプ等による定量送液方式と、溶液リザーバタンク + 圧力源の圧力送液方式の 2 通りがある。

まず、本研究で用いている、シリンジポンプによる定量送液方式のメリットは、流路圧力損失の大小に関わらず流量が機器の性能内で保証されている点である。PIV は速度分布から体積流量を求めることができるため、定量送液のデータと照らし合わせて精度検証を行うことは理にかなっている。しかしその反面、シリンジを押し機構のボールねじには微小な遊びがあり、また、ボールねじを駆動するステッピングモータも、低流量時に流量の変動が生じやすい。この機械的な変動の他にも、流路出口から液滴が排出される際に生じる圧力変動などもあり、液滴生成におけるばらつきをゼロにすることはほぼ不可能であるが、時間平均した定量性においては流れ場の再現性は確保できる。

一方、異なる送液方式として、圧力ジェネレータや電気浸透流ポンプなどを用いた圧

力送液方式があり、いくつかの先行研究でも用いられている (Thorsen et al., 2001; Yi et al., 2003). 圧力送液方式のメリットとして、シリンジポンプと異なり圧力源に機械的な機構が無いため流量変動が起きづらく、また大容量のリザーバを利用可能なため、均一な液滴を大量生産するアプリケーションなどに向いている. 特に分散相に気体を用いてマイクロバブルを発生させる場合には、圧縮性のある気体を小さな容積のシリンジポンプで押し出すことは安定性の面から不適である.

圧力駆動のデメリットは流路抵抗によって流量が変動する点であるが、マイクロ流量計 (センシロン株式会社・液体マスフローセンサ等) を管路内に挟んで流量をモニタリングすることで、定量性を保証した実験を行うことも可能ではある (Glawdel et al., 2012a, 2012b). しかし、液滴生成のアプリケーションにおいては、生成箇所での圧力変動が流量にも変動を生じさせてしまう可能性や、駆動圧力と干渉して生成機構をより複雑化させてしまう可能性がある. さらに、その変動は流動条件を変更した際にも、実験系との兼ね合いで固有振動や共振が生じる可能性を否定できない. それらの影響を純粋な液滴生成機構と分離するには膨大な実験が必要となり、液滴生成機構を解明するという本研究のスコープからも外れてしまう. よって本研究における送液方式としては、圧力駆動ではなく体積駆動を採用する.

1.3.3 キャピラリ数と液滴生成様式 (レジーム)

前項で示したメカニズムを構成する 3 力のうち、界面張力と連続相せん断応力の比を示すキャピラリ数 (Capillary number : Ca)

$$Ca = \frac{\mu_c U_c}{\gamma} \quad (1.4)$$

を用いて液滴生成様式 (レジーム) をいくつかの特徴的なパターンにカテゴリ化することが多く、図 1.8 に図示するように、 Ca の小さい順に Squeezing \Rightarrow 遷移領域

(transition regime) \Rightarrow Dripping \Rightarrow Jetting \Rightarrow Co-flow へとレジームが変化するとおり (Nunes et al., 2013), 図 1.9 に示すように Ca の増加に応じて液滴サイズは減少する (Li et al., 2012). 特に遷移領域は Squeezing-Dripping 間において両方の特徴が混在したレジームとしてカテゴリ化され、その広い Ca レンジから実用上重要なレジームと位置付けられている. なお、Dripping-Jetting 間、および Jetting-Co-flow 間にもレジームが混在する領域があると考えられている (Utata et al., 2007), 本研究では実用性の観点から、Squeezing-Dripping 間の遷移領域を研究対象とする.

以下に各レジームの特徴を記す.

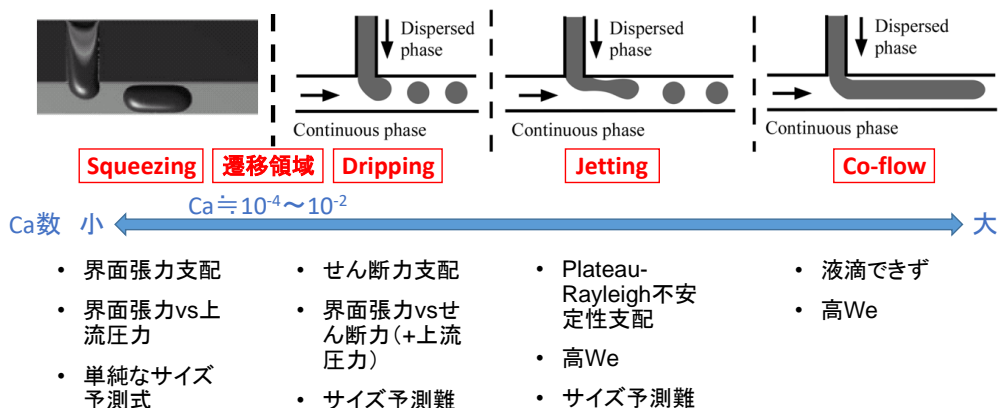


図 1.8 T字型マイクロ流路における液滴生成レジーム. Nunes et al., 2013 を改変.

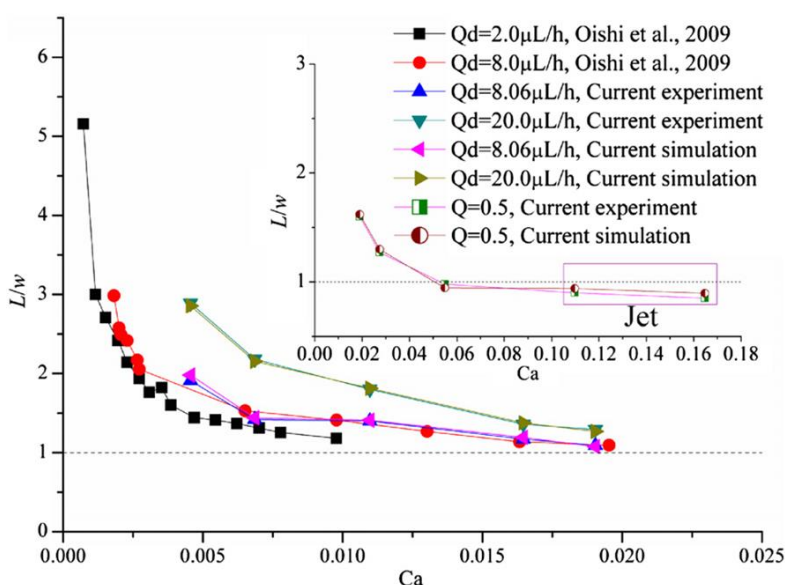


図 1.9 Ca と液滴サイズの相関例. Li et al., 2012 より転載.

Squeezing

幾何学的な特徴として、図 1.8 に示すように液滴長さ L_d がメイン流路の幅 w_c に対して 2 倍程度以上の長い液滴が生成されること、また、せり出した分散相の先端がメイン流路のジャンクション接合面に対向する壁面に接した後に分裂が生じることが挙げられている。しかしこの基準は、 Ca にはないパラメータである流路幅や流量比の影響を強く受けることが自明であるため、レジームの定義として十分ではない。

幾何学的な特徴以外の判断基準の一つとして、流路の狭窄による連続相上流の圧力上昇が頭打ちになるか否かというものがある。 Ca の定義と力バランスの観点から考察されているメカニズムは、メイン流路に対して垂直に流入する分散相の界面がメイン流路断面のほぼ全域を閉塞させることにより、連続相上流の圧力 p_c が上昇して分散相

のスレッド（帯状に伸びた界面形状）を下流側エッジ方向へ押し縮めるというものである。Garstecki et al. (2006) は p_c の上昇を界面形状の変化から推測し、メイン流路の閉塞後は p_c の上昇が止まるとした。この圧力変動は De Menech et al. (2008) によって数値的に確認され（図 1.10）、また Abate et al. (2012) はラプラス圧センサを用いて間接的に実測に成功した（図 1.11）。

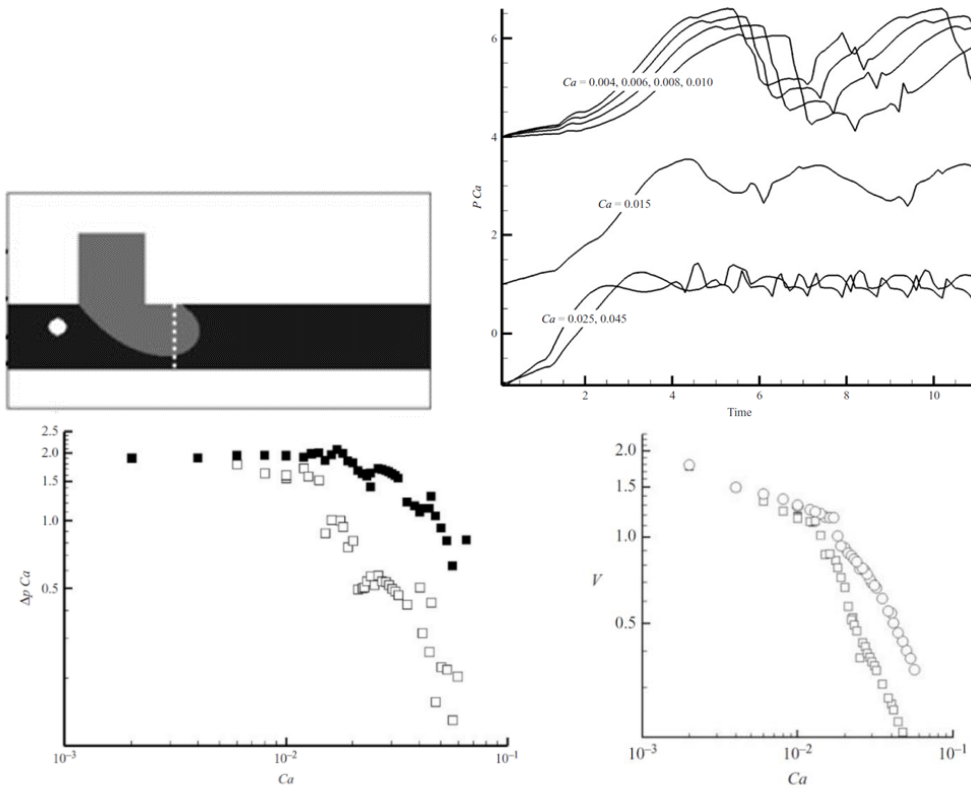


図 1.10 Squeezing の判断基準例。De Menech et al., 2008 を改変。

上左：連続相圧力検出点 上右：検出点圧力の時間変動

下左： Ca に対する上流側連続相圧力変動の振幅 下右： Ca に対する滴径変化

□： $\lambda = 1$, ■・○： $\lambda = 1/8$

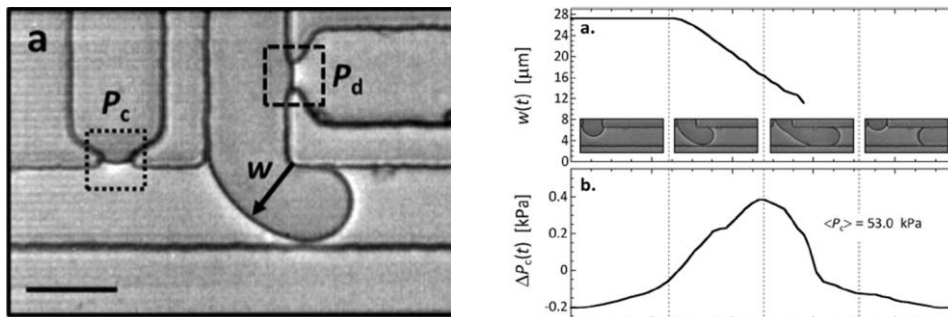


図 1.11 ラプラス圧センサを用いた連続相上流圧力計測。Abate et al., 2012 より改変。

この中で、De Menech et al. (2008) は Squeezing の判断基準として、 Ca の変化に対して閉塞による p_c の上昇幅が一定であることと、生成される液滴サイズ変化の傾きが異なるという 2 点を示した。この変化が生じる Ca の値は $Ca = 0.015$ 近傍と読み取れるが、図中にあるように両相の粘度比に依存して変動があり、やはり Ca のみで規定することは難しい。Nunes et al. (2013) は先行研究の比較により、流量比によっても遷移 Ca が異なることを示している (図 1.12)。

Garstecki et al. (2006) は、狭窄の速度と界面の成長速度が流量に比例することから液滴サイズはシンプルに流量比の関数となり、流体の物性には依存しないとしたが、その意味合いとしては連続相によるせん断力が界面張力に比べて弱いために、せん断力による界面の変形が小さくせん断力によってサイズに変化が加わらない Ca 領域を指している。しかし Glawdel et al. (2012b) によるとせん断力が無視できるほど小さい、純粋な Squeezing と考えられる領域は Ca が 10^{-3} よりもはるかに小さい状況で起きるとされており、せん断力の寄与が界面張力の 1% 未満になれば無視できるとしている。この条件は Re にすると $10^{-3} \sim 10^{-4}$ 程度であり、安定した実験を確立するには高精度な流量制御が要求される。また、液滴長さが流路幅の数倍あるため、液滴全体を視野内に収めようとするとき低倍率での画像計測に限定されてしまう計測上の課題も生じてしまう。

また、Soh et al. (2016) は数値解析の結果、図 1.13 に示すように分裂直後に連続相が逆流することが Squeezing の特徴の一つとしている。この現象に対する見解として、分裂直後の界面の反動が述べられているが、反動はより高い Ca でのレジームでも多かれ少なかれ生じているものであり、一般性があるかは不明である。

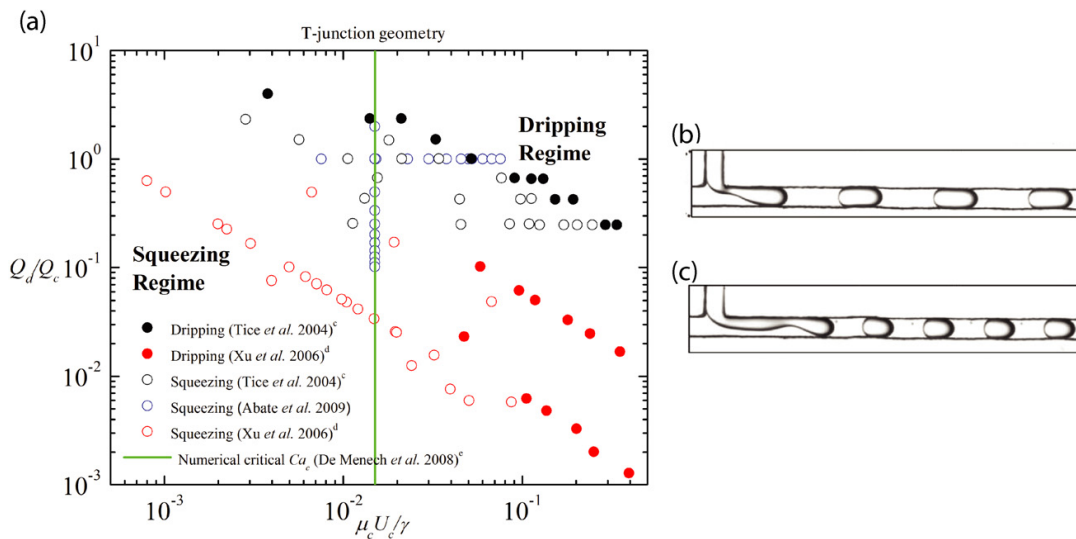


図 1.12 Squeezing と Dripping の分類図。Nunes et al., 2013 より転載。

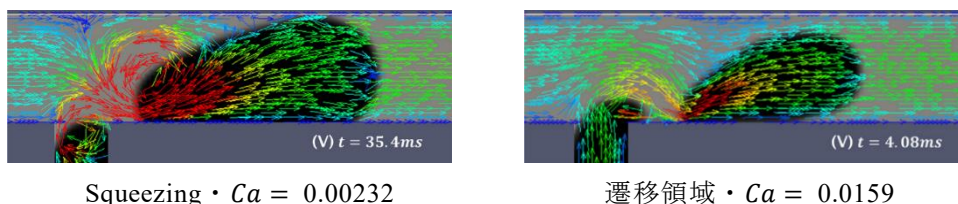
Squeezing $\cdot Ca = 0.00232$ 遷移領域 $\cdot Ca = 0.0159$

図 1.13 分裂直後の流れ場. Soh et al., 2016 より一部転載.

遷移領域

Squeezing から Dripping への遷移 Ca は 10^{-2} オーダであるとの報告が多くなされているが、実際は Squeezing と分別されている条件であってもせん断力が寄与している状況や、Dripping と分別されている条件においても界面のせり出しによる連続相の圧力上昇の寄与が生じていると考えられる。よって両者の中間に“遷移領域”と呼ばれるレジームが存在しているとされ、形式的な判断基準として、 $1 < L_d/w_c < 2$ 程度の液滴長さが目安とされている。この液滴形状

T 字型液滴生成デバイスにおける実際の運用条件は、遷移領域が最も多く用いられるため、実用上のサイズ予測手法に関する過去研究は多い (1.3.6 項に記す) (Grawdel et al., 2012a, 2012b; Chritopher et al, 2008; Fu et al., 2017)。しかしながら、メカニズムの解明に関しては、界面形状の 3 次元性や連続相の分散相側流路への逆流などにより、流量や力を定量的に算出することが難しく、カバランスも明らかになっていない。

Dripping

Dripping はせん断力支配の現象とされており、幾何学的にはせり出した界面がメイン流路の対抗壁に接する前に分裂するような様式を指す。よって液滴形状は L_d/w_c が 1 前後～1 未満の、球形もしくは流路深さで押しつぶされた円盤型に近いものとされる。 Ca としては 10^{-2} のオーダ以上とされることが多いが、実際はせり出した界面に伴うメイン流路の狭窄により多少なりとも連続相内の圧力上昇の寄与が生じるため、純粹なせん断力支配というわけではない。 Ca には上流圧力の上昇による力の寄与が記述されていないため、Squeezing と同様に一概に Ca だけで Dripping を規定できるとは考えにくい。

Jetting

Jetting は Plateau-Rayleigh 不安定性が液滴生成の主要因と考えられ、Utada et al. (2007) の Co-flow デバイスにおける実験的検証によると、慣性力が界面張力を卓越する際に生じると考えられている。しかし、サイズ予測においては現象の理解が進んで

おらず，また速度レンジも本研究における計測システムの計測限界速度をはるかに上回ることから対象外とする．

Co-flow

Jetting よりさらに高 Ca においては，Co-flow と呼ばれる，両相が並行して下流側へ流れる様式となり，液滴は生成されない．メカニズムとしては，Jetting よりも慣性力が強い，もしくは界面張力が著しく低い状況において，Plateau-Rayleigh 不安定性が弱いことが考えられている．

1.3.4 Ca に無いパラメータの影響

Ca には無いパラメータのうち， Ca とは独立しているものとして，分散相流速（分散相流路寸法，分散相流量），分散相粘度，比重が挙げられる．また， Ca には無いが， Ca と独立していないものは粘度比，流量比，連続相流路寸法（連続相流路幅，連続相流路深さ）等があり，これらの影響を検証した先行研究も多く見られる．表 1.3 に先行研究におけるレジームを整理した．これらの整理においても， Ca のみによるレジーム規定に一般性が無いことは明らかである．

表 1.3 先行研究におけるレジーム整理．

Viscosity ratio (μ_d/μ_c)	Flowrate ratio (Q_d/Q_c)	Aspect ratio $a = h/w_c$	range of Ca							Reference
			10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^0	10^1	
10^{-1} -10	10^{-1} -1	—								Tice, 2004
10^{-2} -1	10^{-2} -1	1								Xu, 2011
10^{-1} -1	10^{-2} - 10^{-1}	1								Cygan, 2005
10^{-1}	10^{-1} -1	1								Li, 2012
1	10^{-1} -1	1								Abate, 2009
10	10^{-2} -10	1								Zagnoni, 2010
10	10^{-1} -1	1								Zagnoni, 2010
10^2	—	1								Dendukuri, 2005
10^{-1}	10^{-1} -1	10^{-1} -1								Glawdel, 2012
10^{-2} - 10^{-1}	10^{-2} -10	10^{-1}								Garstecki, 2006
—	10^{-1}	10^{-1}								Christopher, 2008
10^{-2} - 10^{-1}	10^{-1} -1	10^{-1}								Wang, 2011
10^{-2} - 10^{-1}	1-10	10^{-1}								Hunsy, 2006

 Squeezing
  Dripping
  Jetting

分散相粘度

Nekouei et al. (2017) は数値計算手法の Volume-of-fluid 法を用いて、 Ca には無い分散相粘度の影響を調査した．連続相流速を変化させることで Ca を振り、液滴サイズをプロットしている（図 1.14）．結果は同 Ca では分散相粘度を上げると滴サイズ大きくなるとされ、その理由は図 1.15 に示すように Squeezing stage の時間 t_{sq} が長くなるからと分析している（Filling stage の t_{fill} はせん断力が小さいので変わらず）．ここで、各ステージ間の区別は独自のパラメータである y 方向のネック厚さ d_{neck} が増加から減少へ変化する点としている．

Garstecki et al. (2006), Nekouei et al. (2017) によると、Filling stage 全体の時間 T_{sq} は Squeezing 時間 t_{sq} と break-up 時間 t_b の和

$$T_{sq} = t_{sq} + t_b \quad (1.5)$$

で表され、 t_b は伸びた分散相のスレッドが断裂するまでにかかる時間であり、

$$t_b = k \frac{\mu_d L}{\gamma} \quad (1.6)$$

で示されている．ここで $6 < k < 33$ であり、 L は未定の長さスケールである．式(1.6)(1.5)から、break-up の時間スケールはスレッドを縮小させようと働く界面張力と、その逆に break-up に抵抗する分散相内流体の粘性応力の競合の結果である． μ_d は式中の分子にあり、分散相粘度が高いほど t_b も長くなるため、液滴サイズは大きくなる．しかし、図 1.16 に見積もられた T_{sq} における t_{sq} と t_b の割合の λ 依存性によると、 $\lambda = 1$ において t_b はおおよそ 10%、それより小さい λ では $\lambda = 0.1$ において t_b が 1%、のように比例して小さくなる．本研究に用いた流体では $\lambda = 0.240$ であり、 t_b は 2.5～3%と予測される．流速によらず t_b の割合が求まるとする Nekouei et al. (2017) の研究は興味深く、検証に値する．

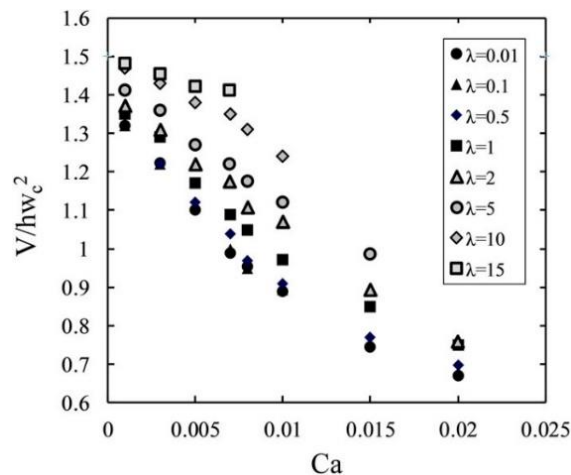


図 1.14 液滴サイズの分散相粘度依存性．Nekouei et al., 2017 より転載．

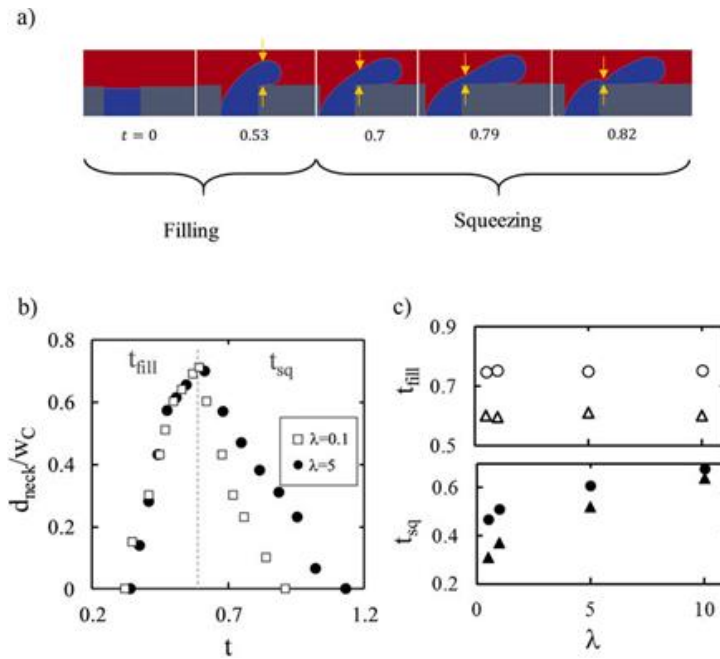


図 1.15 ステージ時間の分散相粘度依存性. Nekouei et al., 2017 より転載.

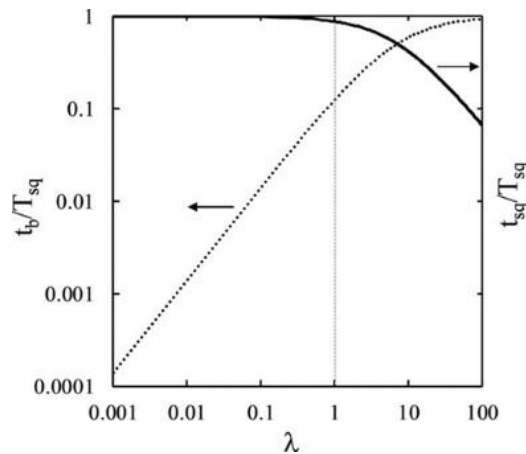


図 1.16 Squeezing 時間と breakup 時間の粘度比依存性. Nekouei et al., 2017 より転載.

流路幅

Squeezing と Dripping レジームを分別する基準の一つに、「せり出した界面がメイン流路の対抗壁に接するか否か」があるが、当然ながらこの基準はメイン流路の幅 w_c に依存する。 w_c が異なれば同一流量でも連続相流速が変わるため、 Ca も変化する。さらに、分散相流路幅 w_d を変えた場合は連続相の流動パラメータに変化は無いものの、界面張力をネック部の周囲長で算出する形式では同様に Ca を変化させる。

1.3.5 時系列での観察とステージ移行

液滴生成が時々刻々と界面形状が変化する現象であるのに対し、1.3.3項で示した Ca によるレジーム整理ではその時系列での過程を定性的な説明で省略している。これは入力条件と出力である液滴サイズの相関の様式を簡易的にカテゴライズし、液滴生成装置の設計の方向性を定めるためのものであると考えられる。しかし、液滴サイズの予測や、物理的メカニズムの解明のためには Ca だけでは不十分であり、まずは流動場が時系列でどのように変化しているかを観察する必要がある。

先行研究では、時系列での変化をいくつかの特徴的なステージに分割し、それぞれにかかる時間を見積もることで最終的な液滴サイズの予測につなげているものが多い (Christopher et al., 2008; Glawdel et al., 2012a, 2012b; De Menech et al., 2008; van Steijn et al., 2010; Fu et al., 2017)。ステージ名として例えば Glawdel et al. (2012a)は Lag \Rightarrow Filling \Rightarrow Necking などに分けている (図 1.17)。

しかしながら、ステージ移行の定義は統一されておらず、定義に用いるパラメータや呼称も文献により様々である。図 1.18 に示すように、流路幅比によっても定義は変化している。その理由として、各ステージの機構を特徴づける物理的な裏付けが得られていないことが挙げられる。例えば図 1.17, 1.18 の Glawdel et al. (2012a) の例では、Filling から Necking の移行基準として、分散相スレッドのネック部厚み r_n の減少が3力のバランス変化と同期しているため、としているが、定量的な検証はなされていない。また、図中の r_n や b などの2次元形状パラメータによって物理的変化を示せば実用上有用だが、実際の界面形状は3次元であるため、この点も検証が必要である。

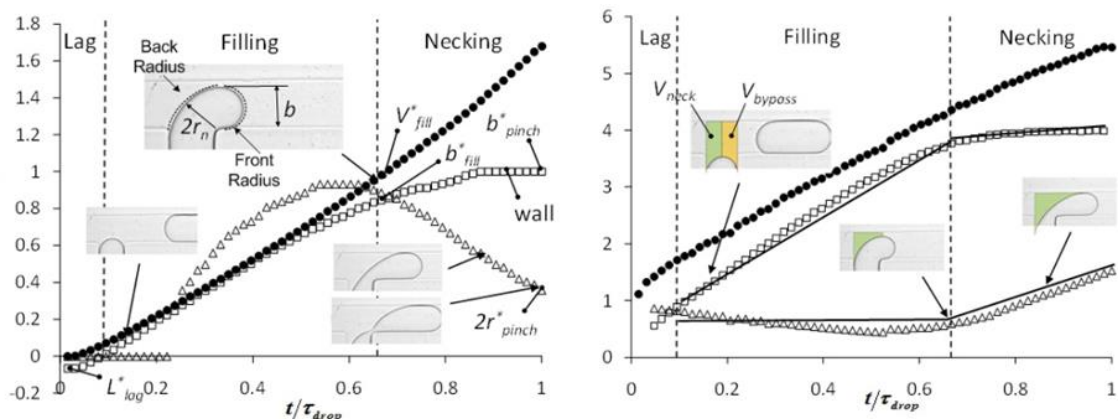


図 1.17 ステージの定義と移行の例。Glawdel et al, 2012a より一部転載。

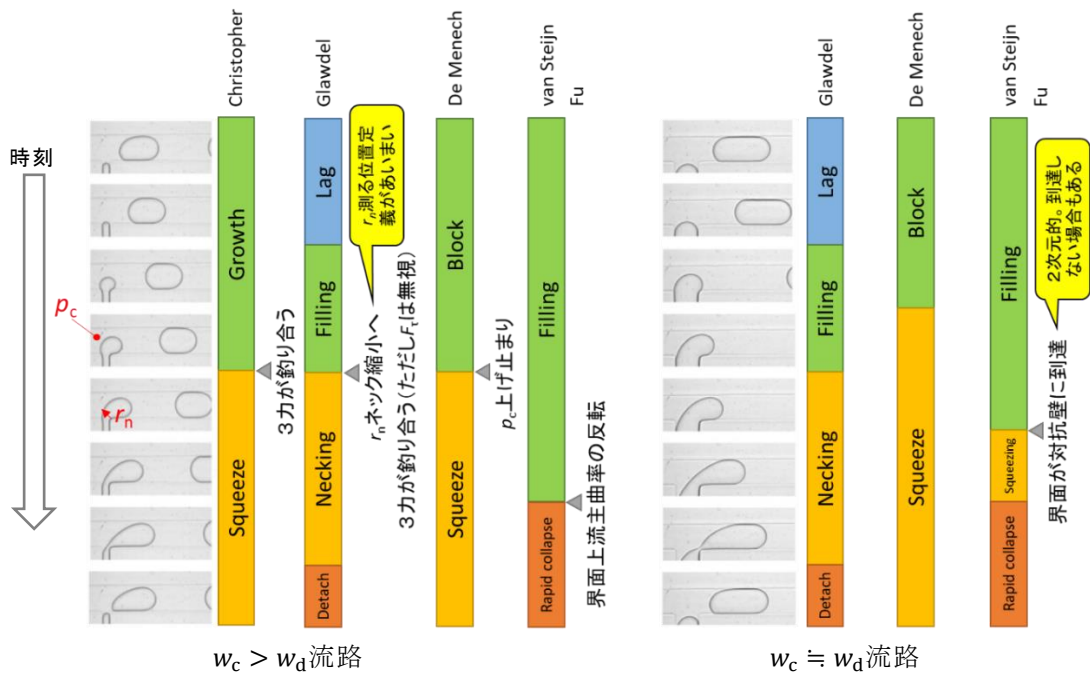


図 1.18 ステージ移行の定義. Glawdel et al. 2012a を改変.

これらの疑問点を解消するためには、界面の変形を司る 3 力の定量的な計測を行い、その結果を用いて生成メカニズムを議論する必要がある。しかし、計測は主に流路サイズの小ささに起因する計測デバイスのアクセス制限により難度が高く、時空間で高分解能なデータが得られていない現状がある。また、計測の困難さから数値計算による検討も多くなされているが、特に界面や壁面と液滴の接触現象の数値的表現はモデル化や解像度の面から再現が難しく、限られた実験条件下での結果のすり合わせに留まっている。

1.3.6 カバランスの経時変化

図 1.19 のイメージに示すように、Squeezing では圧力が支配的、Dripping ではせん断力が支配的とすると、遷移領域はその中間となり両方の力が有意に同時にかかっていると考えられる。そしてその合力が界面張力を上回る時刻を時系列で検証することにより、分散相スレッドが液滴へと分裂するメカニズムを解明する手がかりとする。

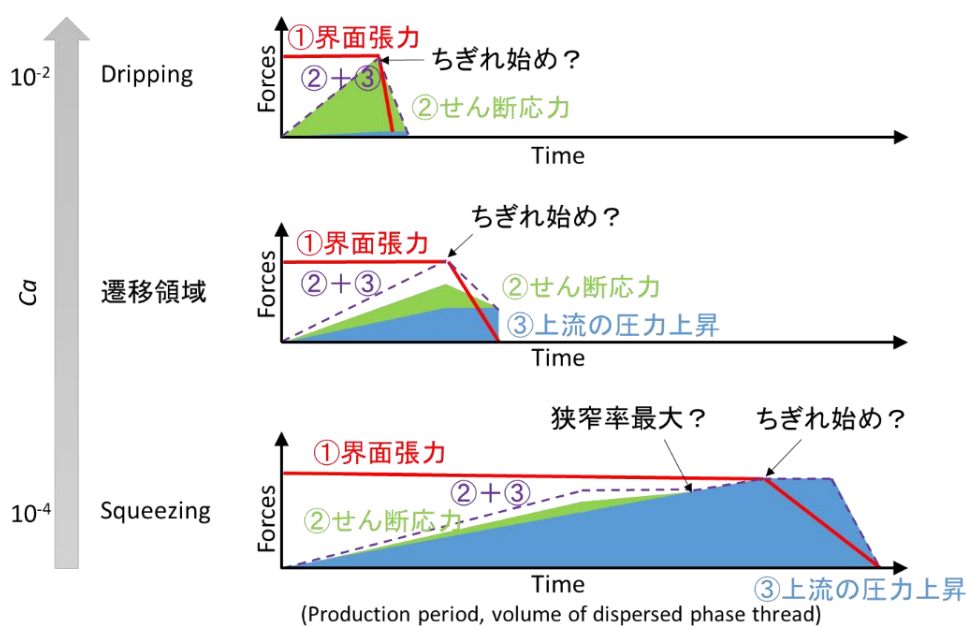


図 1.19 各レジームにおけるカバランス経時変化のイメージ.

カバランスの検証例

本研究のコンセプトであるカバランスの検証手法に近い事例として、Peng and Williams (1998) が Unbounded 流路において分散相注入孔からせり出した界面にかかる力のバランス変化を考察している。図 1.20 に示すように、広いせん断流れ中へ押し出された分散相先端の界面形状を球形とみなし、そこにかかる各力を時系列で見積もっている。力の種類としては、球形液滴に働く抗力と浮力、慣性力と、液滴離脱に抵抗する界面張力を見積もっており、滴径とせん断流れの流速に応じた各力の大きさの比較を 3 次元グラフで視覚化している。同様の Unbounded に関する Timgren et al. (2008) の考察では、全ての力を時系列で見積もった上で、合力の符号が反転する時刻に分散相スレッドが液滴に分裂するとしている (図 1.21)。

これらの例は、力の釣り合いを示したという点で参考になるが、T 字流路に転用するにはさらにいくつかの点を考慮する必要がある。それらは、界面によるメイン流路せき止めで生じる連続相の圧力上昇、および界面の変形により Unbounded における界面の球形状仮定が適用できない点である。

T 字流路の液滴生成における時系列カバランスを提唱した初期の先行研究は Garstecki et al. (2006) で、圧力が支配的となる低 Ca の Squeezing 領域において、界面形状の変化から圧力の経時変化を推測し、概略図として示している (図 1.22)。

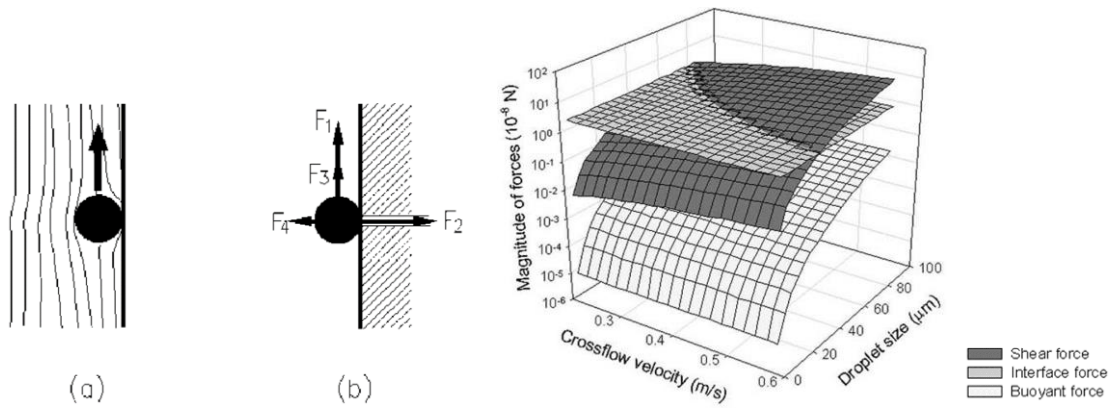


図 1.20 液滴サイズと連続相流速を考慮した力バランス.

Peng and Williams, 1998 より転載.

F_1 : 連続相流れによる抗力, F_2 : 界面張力, F_3 : 浮力, F_4 : 慣性力

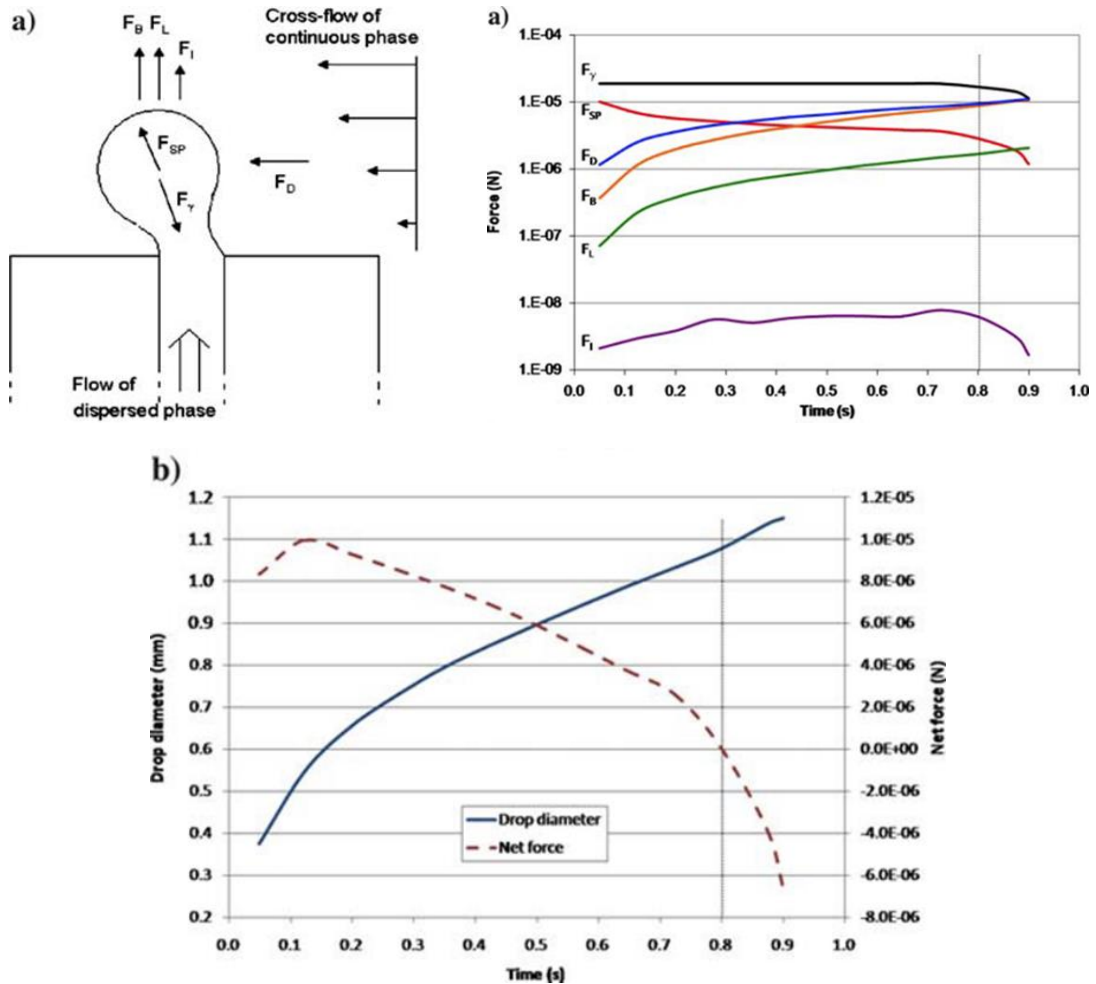


図 1.21 Unbounded 流路における液滴生成時の力バランス変動.

Timgren et al., 2008 より一部転載.

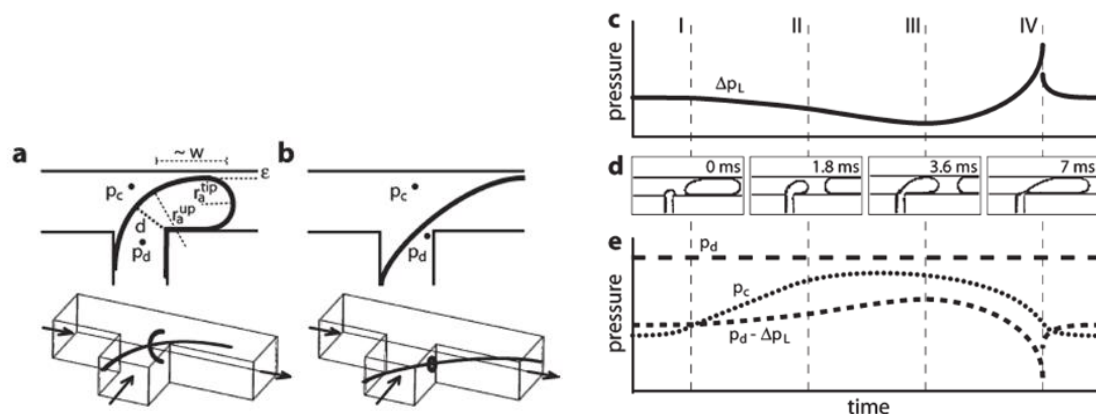


図 1.22 Garstecki らによる圧力の経時変化. Garstecki et al., 2006 より転載.

圧力算出の手順としては、まず図中 c において上流側の界面をまたぐ圧力差 Δp_L を界面の曲率を用いたラプラス圧の式から概算し、ネック近傍における分散相内部の圧力 p_d を一定と仮定することで、そこから界面をまたいだ圧力 $p_d - \Delta p_L$ のグラフを描く。この $p_d - \Delta p_L$ は分散相が連続相側に与える圧力である。この圧力に対して、近傍の界面の動く方向から連続相内圧力 p_c との大小関係を推察し、同図 e に示している。つまり、「界面内外の圧力が釣り合っていないために界面が時々刻々と変形する」という理論である。例えば、最初期の Stage I においては界面がジャンクション部へせり出してくることから、 $p_d - \Delta p_L > p_c$ であると考えている。Stage II においては界面のせり出しに伴い界面の上流側面内曲率が小さくなるため Δp_L は減少し、 $p_d - \Delta p_L$ は増加するが、メイン流路流れの狭窄による連続相圧力 p_c の上昇がそれを上回るため、界面が下流側へ向かって変形する、というメカニズムである。この先行研究は論理的には正しいと推測できるものの、分散相圧力が一定では無いことが Abate et al. (2012) により後に示されたり、圧力の大小関係のみの推測のため、正確な圧力波形が不明、また、圧力以外のせん断応力などが見積もられていないため、生成周期中における定量的な力バランスまでは考察できていなかった。

Hunsy and Cooper-White (2006) は界面のクロスフロードラッグが毛管力を超えると、出現する液滴の閉じ込めが無視でき、pinch-off すると仮定している。液滴サイズが流速比とは無関係であることを予測しており、これは同じ Ca 範囲での観察と矛盾する。

Christopher et al. (2008) は遷移領域における力バランスを検討し、粘性（せん断）・圧力どちらもかかっているとした。粘性応力と Squeezing 圧力の合計が毛管力を超えると、剥離が始まるとしている。毛管力は、出現する液滴の上流および下流端におけるラプラス圧差と、新生界面の投影面積との積によって与えられる。

Kashid et al. (2010) は Volume of Fluid (VOF) 法シミュレーションにより Squeezing レジーム～遷移領域での数値解析を行い、メカニズムを考察するとともに Tice et al. の実

験結果との定性的な比較を行った。数値解析の結果を用いた 3 力の大きさ比較を行っているが、低 Ca の Squeezing 下であってもせん断力は連続相がせき止められた後も上昇し、ラプラス圧差から求めた圧力と同等となっている。また、界面張力に対して圧力が 1 桁大きくなった時に液滴が生成されるとしている。これは定量的な力の釣り合いから考えると疑問の残る考察であり、数値解析自体に問題があるのか、各力の算出方法に問題があるのか切り分けができない状態である。実験結果との比較も液滴サイズ変化を再現できておらず、計算メッシュの依存性などが指摘されているが、解明されていない。

1.3.7 液滴サイズの予測手法

マイクロ液滴生成研究における最終目標の一つとして、液滴サイズの予測または制御は最重要視されている。この目的だけからすれば、それぞれの事例で用いられる流路素材や作動流体、運転条件に限定された Empirical な研究で十分ではあるが、議論の一般化を試みることで様々な実験条件への応用が可能となるだけでなく、流路設計へのフィードバックも可能となる。先行研究においてもサイズ予測をテーマとしたものが存在し、以下にレジームごとにその特徴と欠点を整理することで、本研究の位置づけとねらいを明らかにする。

Squeezing

Squeezing レジームにおける分裂は、3 力のうち界面せん断応力が弱いため主要因ではないとし、界面張力と界面にかかる圧力の力関係が主要因と考えられている。Garstecki et al. (2006) はネック部の収縮速度と界面の成長速度が流量に比例することから、液滴サイズのスケールアップ関係を流量比 $\varphi (= Q_d/Q_c)$ を用いたシンプルな 2 次元液滴長さの式 (1.7) で表した。式中の α は流路形状に依存する 1 のオーダーの定数であり、実験によって Empirical に求められるとした。よって、流体の物性には依存しないとしている。

$$L_d/w_c = 1 + \alpha\varphi \quad (1.7)$$

(1.7)式を解説すると、右辺第 1 項の 1 は、ジャンクション部にせり出した分散相がメイン流路の対向壁に接して連続相流れをせき止めたタイミングにおいて、せり出し部分の長さ L_d がメイン流路の幅 w_c とほぼ等しくなる状態を表している。その後、せき止められた上流の連続相圧力が増加し、分散相スレッドのネックを圧迫し始める。ネック幅 w_{neck} の収縮速度は連続相平均流速 $u_c = Q_c/hw_c$ とほぼ同じであり、 w_{neck} がゼロになり液滴に分裂するまでの時間に分散相スレッドは分散相平均流速 $u_d = Q_d/hw_c$ で伸

長する．よって，最終的な液滴の長さは $L_d \approx w_c + (w_{\text{neck}}/u_c)u_d = w_c + w_{\text{neck}}Q_d/Q_c$ となり， $\alpha = w_{\text{neck}}/w_c$ とおくと式(1.7)が導かれる．しかし実際は，連続相流れの一部が分散相界面と流路四隅の間の *gutter* 領域を流れるため界面圧迫に寄与しないこと，またネックが崩壊する速度が一定である必要はないことから， α を 1 のオーダーのフィッティングパラメータとして扱うのが合理的としている．

van Steijn et al. (2010) は，式(1.7)を 3 次元的に考察することにより，無次元化した体積の形に拡張し，次式を導いた．

$$\frac{V_d}{hw_c^2} = \frac{V_{\text{fill}}}{hw_c^2} + \alpha\varphi \quad (1.8)$$

図 1.18 で示したように，van Steijn et al. (2010) は 1 周期を主に *Filling* と *Squeezing* の 2 ステージに分割し，その移行は分散相の先端がジャンクション接合面との対向壁面に接して連続相流路を塞ぐ時点としている．つまり，移行時の界面形状を図 1.23 に示すように幾何学的に仮定し，その体積を定量的に算出することで最終的な液滴サイズを予測している．式(1.8)の右辺第 1 項がステージ移行時 (*Filling* 終了時) の形状における分散相体積であり，第 2 項が *Squeezing* ステージで生じる分散相体積である．前者は図 1.23 の形状を元に 3 次元的に見積り，後者はジャンクション部に侵入した分散相体積を，連続相が押しよけるのに必要な時間 $\Delta t_{\text{squeeze}}$ を計算し，それに分散相流量を乗じて係数 α を求める．

重要な点は体積の計算に力バランスを一切用いていないことで，*Squeezing* レジームではせん断応力による界面の変形が無視できるという前提を理由としている．その状況下での界面形状は 2 次元的に見て図 1.23 のように先端側が半径 $w_c/2$ の半円，上流側が半径 w_c または w_d の 1/4 円弧で近似できるとしている．つまり，界面形状は流体物性や力バランスに依らず流路形状で決定できるとされ，代表的な流路幅比 $A = \frac{w_d}{w_c} = 0.33, 0.67, 1, 1.33, 2, 3$ について式(1.8)を計算し，実験データとの比較によって定性的に上記の形状仮定が適切であることを示した．

さらに van Steijn et al. (2010) は，*Squeezing* ステージ後半に界面が加速度的に分裂へと向かう *rapid collapse* 現象についても検証し，ジャンクション部にせり出した分散相界面の上流側と下流側のラプラス圧差 $p_{\text{Lap,up}} - p_{\text{Lap,tip}}$ が負に反転すると界面が急速に崩壊することを発見した．

分散相体積を概算する同様のサイズ予測手法は Fu et al. (2017) によっても実証されており，*Squeezing* レジームにおける液滴サイズ予測は力バランスによらず，流路寸法に依存することが示された．この手法は，界面せん断応力の大きさが界面形状を大きく変形させない程度の流動条件下であることが前提とされ，より Ca の大きい遷移領域においても条件によっては使用できるとしている．

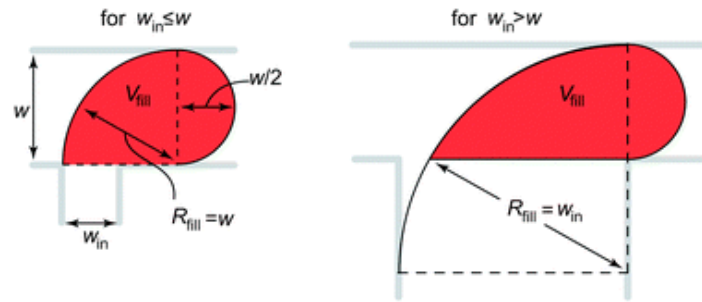


図 1.23 Filling ステージ終了時の界面形状. van Steijn et al. 2010 より転載.

遷移領域

遷移領域における液滴サイズ予測手法として、流路形状と力のバランスから界面形状とその体積を推定し、液滴生成の各ステージにかかる時間を概算することで生成周期を予測する方法が提案されている (Glawdel et al., 2012b; Fu et al., 2017). Glawdel et al. (2012b) は図 1.17, 図 1.18 にも示した通り、ステージを 3 つ (Lag, Filling, Necking) に分け、流路寸法で正規化した滴体積を以下の式(1.9)で表した. それぞれ, V_{lag} : Lag ステージの体積, V_{fill} : Filling ステージの体積, β : 無次元化した Necking 時間, φ : 流量比である.

$$\frac{V_d}{w_c^2 h} = V_{lag} + V_{fill} + \beta \varphi \quad (1.9)$$

各ステージにおける体積を界面形状の幾何学的記述に基づいて定式化して見積もり, $\pm 10\%$ の精度でサイズ予測を達成したとしている. 特に重要な点として, V_{lag} と V_{fill} の算出式が異なるため, Filling から Necking へのステージ移行を正確に把握する必要がある. そこでこの移行の基準とした分散相スレッドのネック幅 w_{neck} の減少が起こるタイミングのスレッド先端幅 w_{tip} を力バランスにより求めた. このバランス式ではせん断応力を無視できるものとして, 界面張力と圧力が釣り合う条件を用いた. 圧力は Tchikanda et al. (2004)の 1 辺が自由界面である流路の圧力損失式を適用し, 界面張力は界面形状に由来するラプラス圧差から算出している. しかし, その検証として実験との比較を行ったところ, 釣り合いの式に係数 1/2 が必要なことが判明し, 表面張力が 1/2 に過小評価されているか, 圧力が 2 倍に過大評価されていることが示唆された. これは, 力の算出式に概算が用いられていることや, 精度が不十分であると考えられる.

1.3.8 液滴生成現象に対する先行研究まとめ

本設の議論により，生成機構の解明に必要な課題を以下にまとめる．

- 液滴形状やサイズの目安として， Ca に関連付けられた生成様式（レジーム）が数種類定義されているが， Ca に用いられているパラメータ以外にも依存するため一般化が困難である．
- 液滴生成を支配する主な力として[1]界面張力，[2]界面せん断応力，[3]界面にかかる圧力による力，の3つが考えられるが，先行研究では力のバルク的な概算が多く，定義や向きも統一されていない．よって各力個別の定性的な変動中心の議論にとどまり，各力間の定量的な力バランスを検証できていない．3力を定量的に取得するためには，マイクロ流路内の3次元界面形状および速度場，さらに圧力変動を直接計測もしくは他の計測値から算出する必要がある．
- 圧力支配の Squeezing レジームとせん断応力支配の Dripping レジーム間に広範囲な遷移領域があり，圧力とせん断力の双方が同時にかかる際の力バランスと生成メカニズムの関連が解明されていない．よって実用上の要求から，遷移領域をターゲットとし，その液滴生成メカニズムを探る必要がある．
- 液滴生成の1周期中には流動メカニズムの異なるいくつかのステージで経時変化しており，そのステージにかかる時間を概算することで液滴サイズを予測できるとしている．しかし，ステージ間の移行を特徴付けるパラメータが統一されておらず，その決定のための定量的な計測による物理的裏付けが不足している．

1.4 マイクロ流動の計測手法

1.4.1 液滴生成機構解明のための計測ニーズ

上記 1.3.8 項で示した液滴生成現象の課題解決に対して，計測における必要事項を以下に示し，それぞれ解説する．

(1) 非侵襲計測

マイクロ流路内流れの計測において最初に懸念される事項であり，サイズスケール

である数百 μm に対して、ピトー管や熱線流速計など流れ場に物理的に挿入する侵襲性の計測手段は、流れを乱す可能性があることやそもそもサイズの挿入できないことが多く、基本的には不適である。極小型化した熱線流速計として、MEMS 技術を応用して熱線をマイクロ流路の壁面近傍に直接作り込み、流速や壁面せん断応力を得る試みも見られているが、それでも熱線の長さが数百 μm 、壁面からの距離が 50 μm あり、やはりまだ技術的には限界がある (Löfdahl et al., 2003)。よって非侵襲な光計測や画像計測が望ましい。

(2) 高空間・時間分解能

空間分解能については、一般的に計測においては計測対象の代表寸法の 1/100 程度を解像できる必要があり、マイクロ流路の代表寸法がおおよそ数十～数百 μm とすると、その流路内で起きる現象を捉えるにはサブミクロンの空間分解能と 1~2 μm 程度のベクトル間隔が必要になる。

時間分解能については、数百 msec の液滴生成周期を百分割できる程度 (1kHz) のフレームレートを目安とするが、画像計測においては 2 枚の画像間の時間間隔によって計測可能な限界速度が決定されるため、流動条件と画角・画素数と合わせて検討が必要である。

非侵襲な流速計測法である、レーザを用いた LDV (Laser Doppler Velocimeter : レーザドップラ流速計) は、時間分解能は数十 kHz ほどあり十分なものの、測定体積のレーザスポットが直径数 10 μm ×長さ数 100 μm ほどと空間分解能が不足している (笠木ら, 1997)。近年開発された光ファイバを用いた LDA (laser Doppler anemometry) センサは最大 5 μm の空間分解能を達成しているが、まだ若干大きい (Shirai et al., 2006)。

(3) 場の計測

せん断応力の算出や 3 次元流動構造の把握には、場の計測が必要であるが、上記で挙げた熱線流速計や LDV は結局のところ点計測であり、場の計測には膨大な回数 of 走査が必要な時点で、本研究には向かない。よって、非侵襲性も加味すると画像計測が望ましい。

(4) 3 次元界面形状計測

界面張力やラプラス圧の算出、また界面せん断応力の算出時にも 3 次元の界面形状が必要となる。界面せん断応力の算出においては、ベクトル場と界面パッチを対応させるため、少なくともベクトル間隔と同程度のパッチサイズが得られることを目標とする。

(5) 両相の3次元速度場計測

液滴生成機構を司る3力の算出や流動構造の把握においては、3次元速度場の計測が必要であり、また、連続相と分散相の両相を同時取得することにより、各相の両面からの考察が可能となる。力の比較においても両相の計測精度および分解能ができるだけ近いことが望ましい。

(6) 圧力変動

先行研究からも、圧力による力が液滴生成に多大な影響を及ぼしていることが指摘されており、直接計測もしくは、速度場や界面形状からの算出が検討される。

(7) メカニズム検証のための、少なくとも Ca 数2条件の実験データ

Ca を振ることで、3力のうち界面張力とせん断応力の比率が変化する。その際の流動構造と2次元パラメータの変化を調べることで、将来的なサイズ予測に関する指針につながると考える。また、圧力による力との相関も調査することにより、3力のバランス変化を考察する。

1.4.2 マイクロ流動場の計測手法

マイクロPIV

PIV (Particle Image Velocimetry: 粒子画像流速測定法) は流速の空間分布を、流れに混入させた微小なトレーサ粒子の動きを撮影した画像を解析する事により得る可視化計測手法である (Raffel et al., 2000)。図 1.24 に PIV を構成する機器群を示す。主な機器は (1) 照明に用いるレーザと光学系, (2) 計測対象の流れ場とそれに混入させたトレーサ粒子, (3) 連続画像を撮影可能なデジタルカメラとレンズやフィルタ等の撮像系, (4) 画像処理および PIV 解析を行うコンピュータの 4 グループにて構成される。

PIV の計測手法を時系列で説明する。(1) 流れ場に追従する微小な粒子を計測対象の流体に混入し、計測したい領域をシート状にしたレーザ光で照明する。(2) シート光で照明されることで散乱もしくは蛍光を放つ粒子群をデジタルビデオカメラで時系列撮影する。(3) 粒子画像を PIV 解析アルゴリズムにかけて流速分布を取得する。の大きく分けて 3 ステップで行われる。

マイクロ PIV は通常の PIV をマイクロスケールに拡張したものであるが、主な違いは照明にシート光を用いず、流路全体をボリューム照明して、対物レンズの被写界深度で計測断面を光学的にスライスする点と、ボリューム照明に伴う不要な散乱光をカットするため蛍光光学系と蛍光トレーサ粒子をセットで用いる点である (Santiago et al.,

1998). 最も簡単なセットアップとしては、蛍光顕微鏡にデジタルビデオカメラを取り付けることで実現できる (図 1.25). また、蛍光落射光学系を. 図 1.26 に示す.

これらの要求をすべて加味すると、PIV は流れ場に微細な粒子を投入するという原理上、正確には非侵襲ではなく低侵襲ということにはなるが、それを差し引いても、点計測である熱線流速計や LDV には無い流れ“場”の計測というメリットが非常に大きい。また、空間分解能の点においても、顕微鏡を用いた画像計測であるマイクロ PIV (Santiago et al., 1998; Meinhart et al., 1999) は、光学分解能として可視光の波長程度であるサブミクロンスケールを有しており、熱線や LDV と比べても優位である。

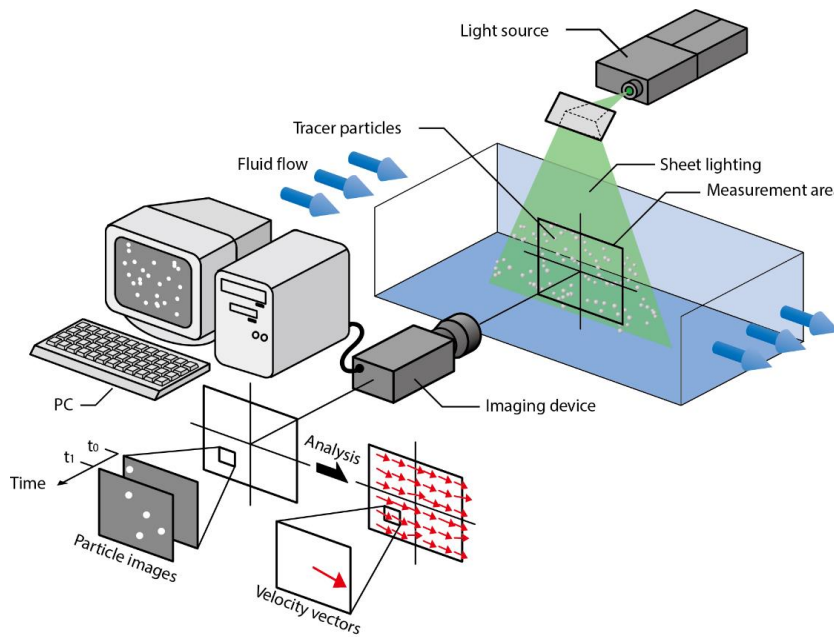


図 1.24 PIV 機器構成例. 木下, 2006 より転載.

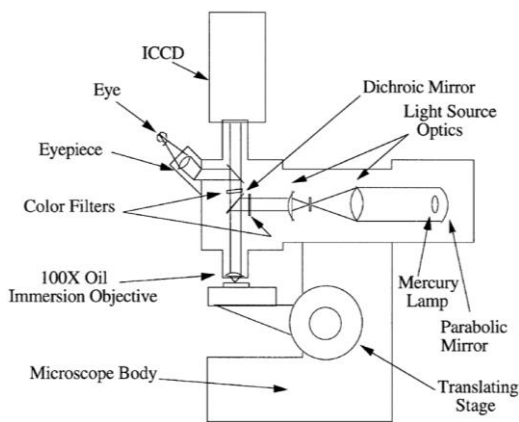


図 1.25 マイクロ PIV のシステム構成. Santiago et al., 1998 より転載.

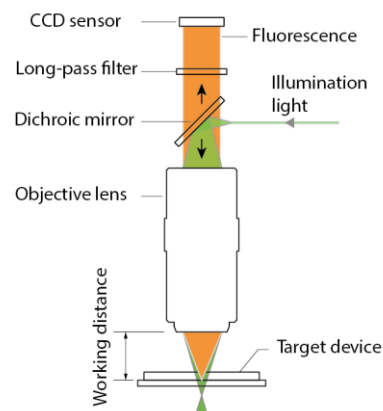


図 1.26 マイクロ PIV の蛍光落射光学系. 木下, 2006 より転載.

マイクロ PIV の短所としては、ボリューム照明であることと、深い光学的被写界深度によって、計測断面外の光路上にあるピント外の粒子の蛍光も拾ってしまうため、粒子画像のコントラストが低下することが挙げられる。特に撮像側から深い位置の計測断面では、S/N の高い PIV 粒子画像を得ることが困難になる。

共焦点マイクロ PIV

通常の蛍光顕微鏡光学系を用いたマイクロ PIV の短所である、被写界深度の深さと画像の S/N を改善するために開発されたものが、共焦点マイクロ PIV である (Park et al., 2004, Kinoshita et al., 2005)。このシステムは通常のマイクロ PIV に対して、顕微鏡とカメラの間にニポウディスク式高速共焦点スキャナ (図 1.27) および照明用レーザを設置することで実現する。(図 1.28)

本システムの最大の利点は、通常のマイクロ PIV システムに比べて、図 1.29 に示す共焦点光学系により焦点近傍に照明光を集中させることができ、PIV の被写界深度に相当する共焦点深度を浅くできることである。これにより、 z 方向に高い空間分解能を実現するだけでなく、共焦点深度外の粒子からの蛍光をカットすることでより SN 比の高い粒子画像を取得することができる。

共焦点マイクロ PIV の利点は、共焦点深度とよばれる、その被写界深度の浅さにある。木下らの計測によると、通常のマイクロ PIV の被写界深度に比べて共焦点深度はその約半分に縮めることができる。これはすなわち、 z 方向の速度勾配が大きい領域では特に PIV 解析の誤差を減らすことができるとともに、界面のある混相流の流れ場では界面の検出精度を向上させることができる。

共焦点深度は通常のマイクロ PIV の被写界深度に比べておよそ半分程度に縮めることができる (木下, 2006)。これはすなわち、鮮明な粒子画像の取得以外にも、 z 方向の速度勾配が大きい 3 次元的な流れ場や、血球などを細胞ごと薄くスライスできる高い z 方向分解能を実現していることを示している。また、レーザ走査型共焦点スキャナにくらべて、ニポウディスク式は高速なイメージングを得意とし、高速度カメラを併用することで、シーケンシャルイメージを取得することができ、非定常流れの計測に有利である。また、共焦点マイクロ PIV は、 z 軸上の高い空間分解能の特別な利点を有し、焦点外れ粒子像をカットすることによって画像品質を改善することができる。

通常のマイクロ PIV は、2 次元測定平面内の面内速度成分のみの計測に制限されるが、複数の計測断面を z 方向に積み上げた 3D2C 速度分布に連続の式を適用することにより、面外方向成分を算出することができる (Pommer et al., 2007, Bown et al., 2007)。



CSU-22



CSU-X

図 1.27 共焦点スキャナ (共に横河電機株式会社製).

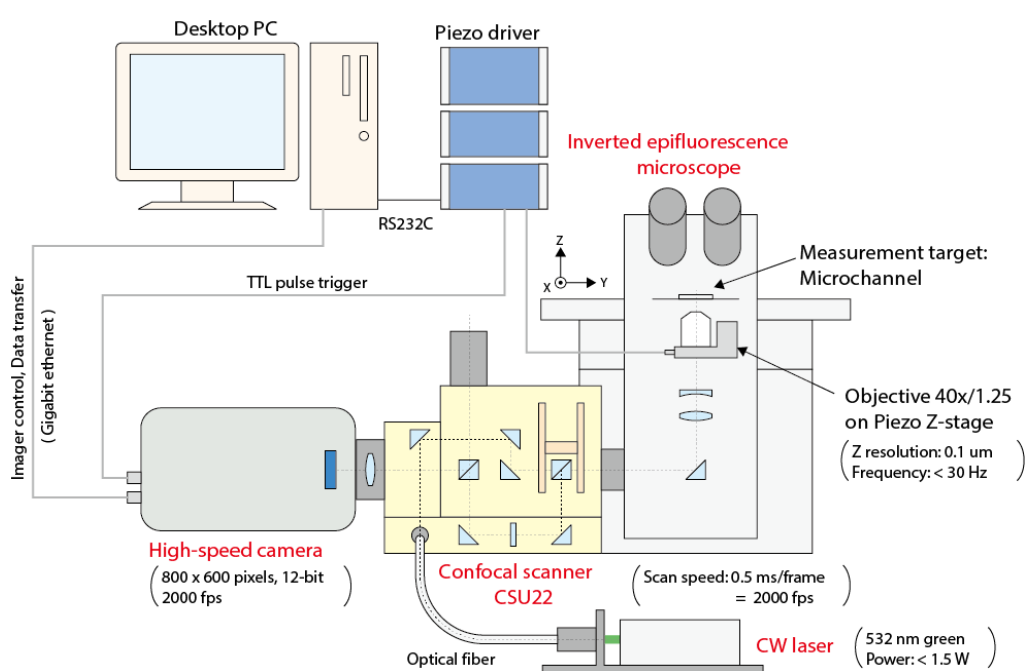


図 1.28 共焦点マイクロ PIV システム. 木下, 2006 より転載.

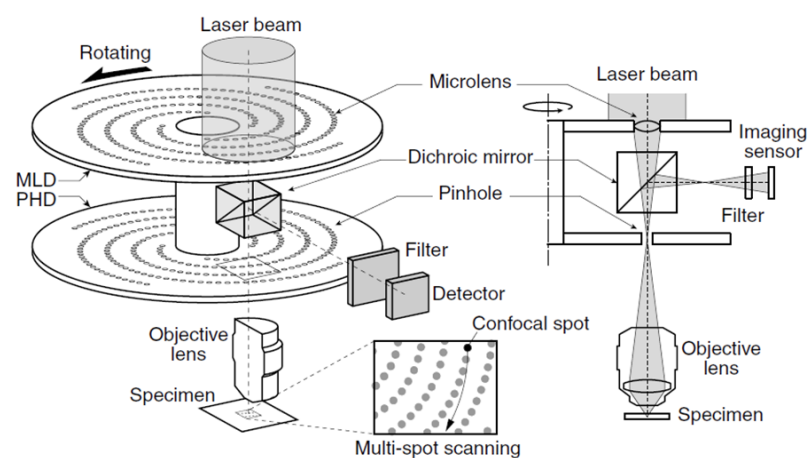


図 1.29 ニポウディスク式共焦点光学系. 木下, 2006 より転載.

Kinoshita et al. (2007) は直線のマイクロ流路内を並進する液滴内部の 3 次元流動構造を得ることに成功したが、液滴内の流動を形成するために重要な役割を持つ周囲流体の流れは同時計測できていなかった (Appendix A・図 A.1)。その理由として、周囲流体である油相に分散可能かつ、十分な蛍光強度を持つ蛍光トレーサ粒子が無いことや、両相の粒子画像を相ごとに分離させることが難しい点が挙げられる。

ステレオマイクロ PIV

2 台のカメラと 2 軸の光学系を用いて左右の視差から計測断面をステレオ視し、奥行方向速度を求める手法であるステレオ PIV を、マイクロスケールに応用した計測法である (Lindken et al., 2006; Bown et al., 2006; Cierpka and Kahler, 2012)。

ステレオマイクロ PIV は 2D3C の速度場を得られる利点があるが、視差を作り出すために低 NA で深い被写界深度を持つ実体顕微鏡を用いるが必須である。また、対物レンズなどの物理的配置を考慮すると、低倍率で作動距離の長いレンズを用いる必要がある。よって主要な計測対象は mm からサブミリスケールが多く、浮力や慣性力が無視できないため、現象の制御が複雑になりすぎてしまう。さらに、深い被写界深度は流れ場を薄くスライスできず、液滴が持つ 3 次元性の強い界面形状や流れ場に対し、奥行き方向の空間分解能が計測面より 10 倍以上も低いを xy 方向と同等の高精度な取得が困難である。

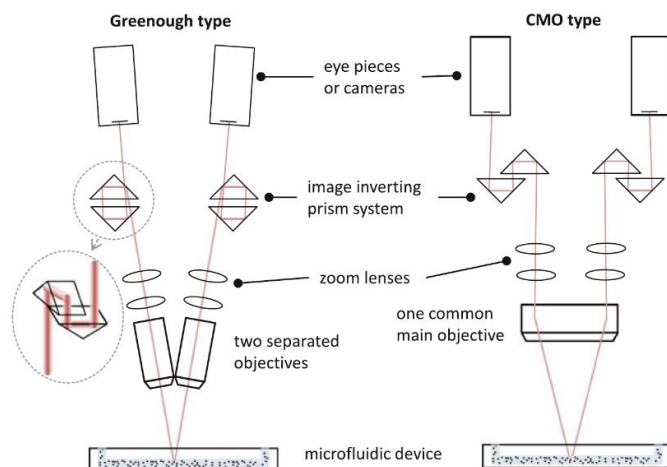


図 1.30 ステレオマイクロ PIV の光学配置. Cierpka et al., 2012 より転載.

デフォーカス PTV

マイクロスケールの 3 次元速度場を直接計測する手法として、被写界深度の深い顕微鏡撮影下における粒子像の非焦点ぼけを解析して 3 次元粒子位置を検出・追跡する手法

が多く用いられている (Park et al., 2006). 非焦点位置における粒子画像は焦点から離れるに従って半径が大きくなり、また輝度が低くなり、その輝度分布は点分布関数 (Point Spread Function: PSF) に従う。

上記を発展させた手法として、Cierpka et al. (2010) はシリンドリカルレンズを使用して粒子像の縦横比を深さに応じて変化させ、奥行き方向の検出精度向上を目指した。また、Yoon and Kim (2006) は、対物レンズ直上の光路内に三角形に 3 点のピンホールを配置したアパーチャマスクを挿入し、粒子の非焦点ぼけ画像を 3 点像として取得する手法を考案した (図 1.31)。3 点間の距離は焦点面からの距離に置き換えることができ、また、焦点面に対しての前後方向は 3 角形配置の逆転として検出できるメリットを有している。

これらは粒子群を撮影した 2 次元蛍光顕微鏡画像において、パターンマッチングを行うことにより、粒子の高さを割り出している。この手法の長所は簡単かつ安価な実験セットアップでマイクロ流れの 3 次元計測を可能にすることであるが、この手法で問題となる点は主に 3 つある。それらは (1) z 方向の精度が悪い、(2) z 方向に粒子が重なると識別が困難になるため、高濃度に粒子を投入できない、(3) トラッキングベースの PTV であるため、速度算出点が PIV のように格子状にならないため、補間が必要になる。

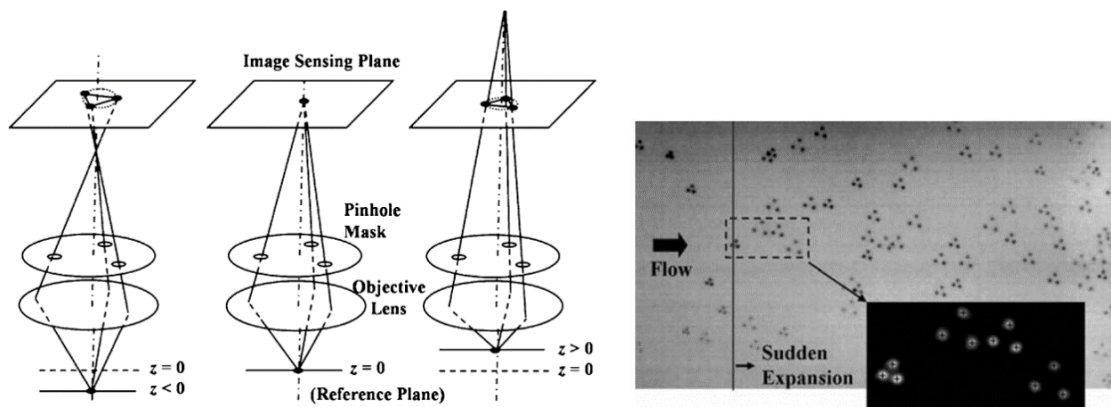


図 1.31 3 点ピンホール式デフォーカス PTV. Yoon et al, 2006 より転載。

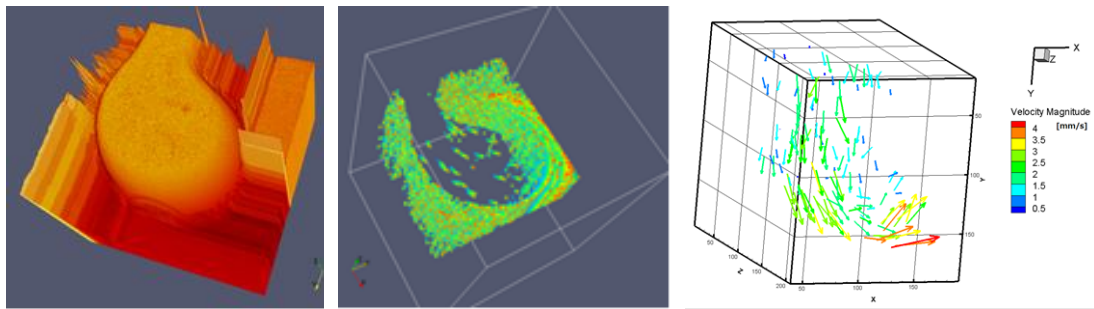
デジタルホログラフィ顕微鏡と DHM-PTV

マイクロ流れを単眼で 3 次元計測できる新たな手法として、近年デジタルホログラフィック顕微鏡 (Digital Holographic Microscopy: DHM) が開発され、著者は液滴生成の計測を実現している (Oishi et al., 2014, 2016) (図 1.32)。DHM はレーザ光の干渉を用いて 3 次元情報を 2 次元デジタル画像に干渉縞として記録し、後に計算機内でデジタル回折

計算を行い、3次元再構築する手法である (Morita et al., 2018; 森田, 2019) (図 1.33).

森田 (2019) が採用したオフアクシス式 DHM では屈折率の異なる透明体を物体光が透過した際に生じる位相の歪みを検出する. この原理を用いることで液滴の界面形状だけでなく, 球形のトレーサ粒子の空間座標もテンプレートマッチングにより検出することができる (図 1.33 右). 粒子位置を PTV で追跡することで 3次元ベクトル群が得られ (DHM-PTV), 界面形状との同時計測も可能であること, さらに, アフォーカル系の光学系を採用することにより z 方向の視野を xy と同等の大きさに採ることができ, 液滴生成現象の計測には最適となる可能性がある.

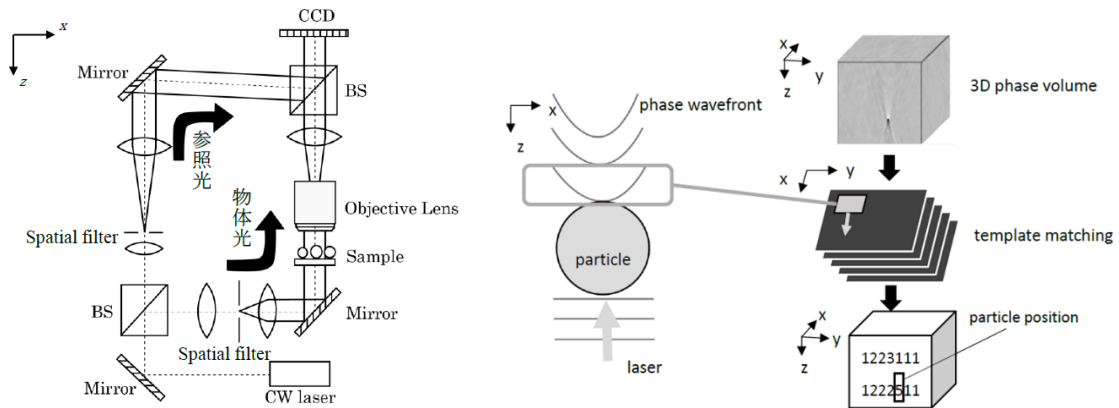
しかしながら, DHM-PTV はデフォーカス PTV と同様に, トレーサ像同士の重なりによる粒子検出エラーが最大のネックであり, 現時点ではトレーサ間の平均距離が $30\ \mu\text{m}$ 以上となる個数密度が限界である. また, ノイズに弱く, トレーサの z 位置検出精度が xy 面内に比べて一桁ほど低いというデメリットを有している.



界面形状 トレーサ粒子の軌跡 DHM-PTV による 3次元速度分布

図 1.32 DHM によるマイクロ液滴生成現象の 3次元計測.

Oishi et al., 2014, 2016 より転載.



オフアクシス式 DHM の光学系

DHM-PTV における粒子検出

図 1.33 DHM-PTV の概要. 森田, 2019 より転載.

マイクロ速度計測のまとめ

上記に挙げた画像ベースの速度計測法について、代表的な性能を表 1.4 にまとめる。本節の初めに記した計測ニーズに従うと、3次元計測は特にベクトル間隔が大きく、速度勾配を求めるために必要な間隔の1~2 μm 程度を満たすことが難しい。よって、本手法では共焦点マイクロPIVを採用する。その上で、計測対象であるマイクロ混相流の両相同時計測、および z 方向再構築による3次元計測を目指すものとする。

表 1.4 画像ベース速度計測法の性能比較

計測法	計測次元・成分	視野	ベクトル間隔
マイクロPIV	2D2C	231×173×3.37 μm	2.08 μm
共焦点マイクロPIV	2D2C	231×173×1.88 μm	2.08 μm
ステレオマイクロPIV	2D3C	900×680×10 μm	44 μm (xy), 15 μm (z)
デフォーカスPTV	3D3C	768×388×50 μm	5 μm (xy), 1 μm (z)
DHM-PTV	3D3C	282×282×282 μm	37.4 μm

1.4.3 液滴生成機構に対する計測例

界面形状の計測

Ca を変化させたパラメータスタディを始め、カバランスを議論するために用いる界面形状の取得方法として、標準的な顕微鏡明視野像の動画撮影が広く行われている。例えば図 1.34, 図 1.35 では低倍率で広視野の明視野画像を撮影することにより、液滴生成周期以外にも液滴長さや並進速度、液滴間隔といったパラメータを取得することができる。

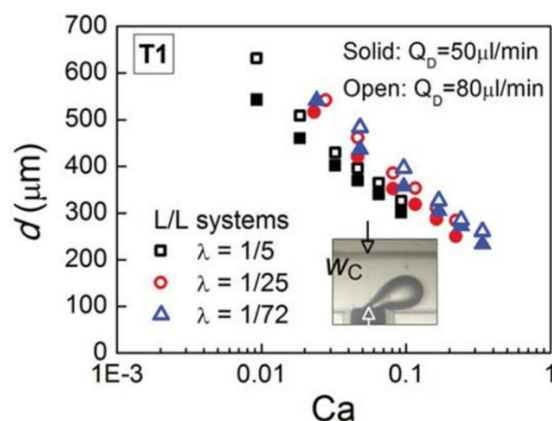


図 1.34 液滴サイズの Ca 依存性. Wang et al., 2011 より一部転載.

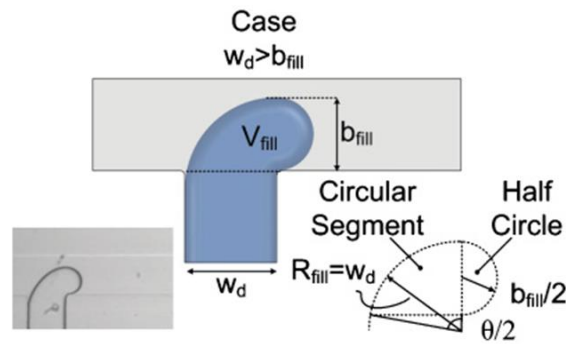


図 1.35 界面形状の 2 次元パラメータ抽出. Glawdel et al., 2012b より一部転載.

速度場計測

前節でも述べたとおり，マイクロ PIV がマイクロ流路内の速度分布計測に有利な点が多く，標準的な計測法として多用されている．Timgren et al. (2008) は油相にも混ざる粒子として，粉末タイプの蛍光メラミン粒子を用いたマイクロ PIV 計測を行っている．粒径 $\phi 1.05 \mu\text{m}$ ，ロードミン B 染色の粒子である (microParticles GmbH, Berlin, Germany)．これをダブルパルス YAG レーザでボリューム照明し，顕微鏡の被写界深度で流れ場をスライスしている．図 1.36 に示すように両相を別々に撮影し，界面近傍のせん断応力算出に用いられている．しかし，中央断面のみの 2 次元計測であるため，せん断応力の総和による力を定量的に算出できていないことと，両相を同時に計測していないために界面内外の流動の相関を確証できていない．

van Steijn et al. (2007) はマイクロ PIV を用いて，図 1.37 に示すように T 字流路を用いたマイクロバブル生成流れを計測した．Timgren と異なる点は，異なる高さ断面での 2D2C 計測を行うことで，gap 部の流量と界面形状を求め，それによって気泡の体積を見積もることができるとしている．

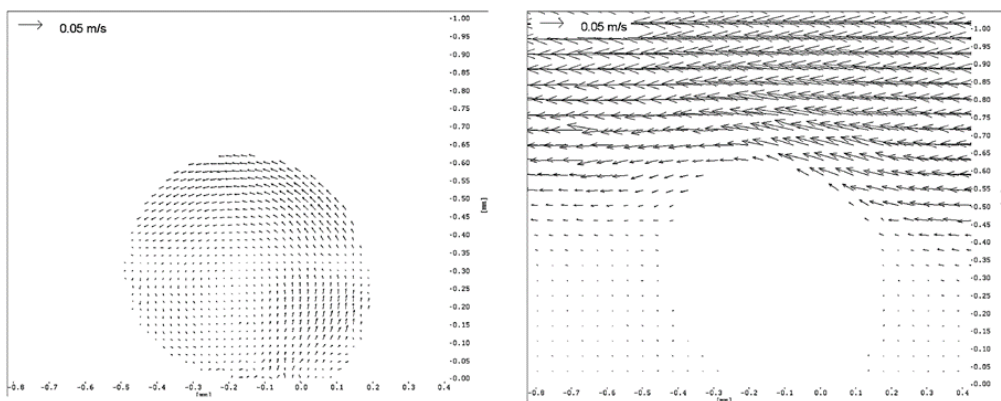


図 1.36 両相のマイクロ PIV 計測例. Timgren et al., 2008 より転載.

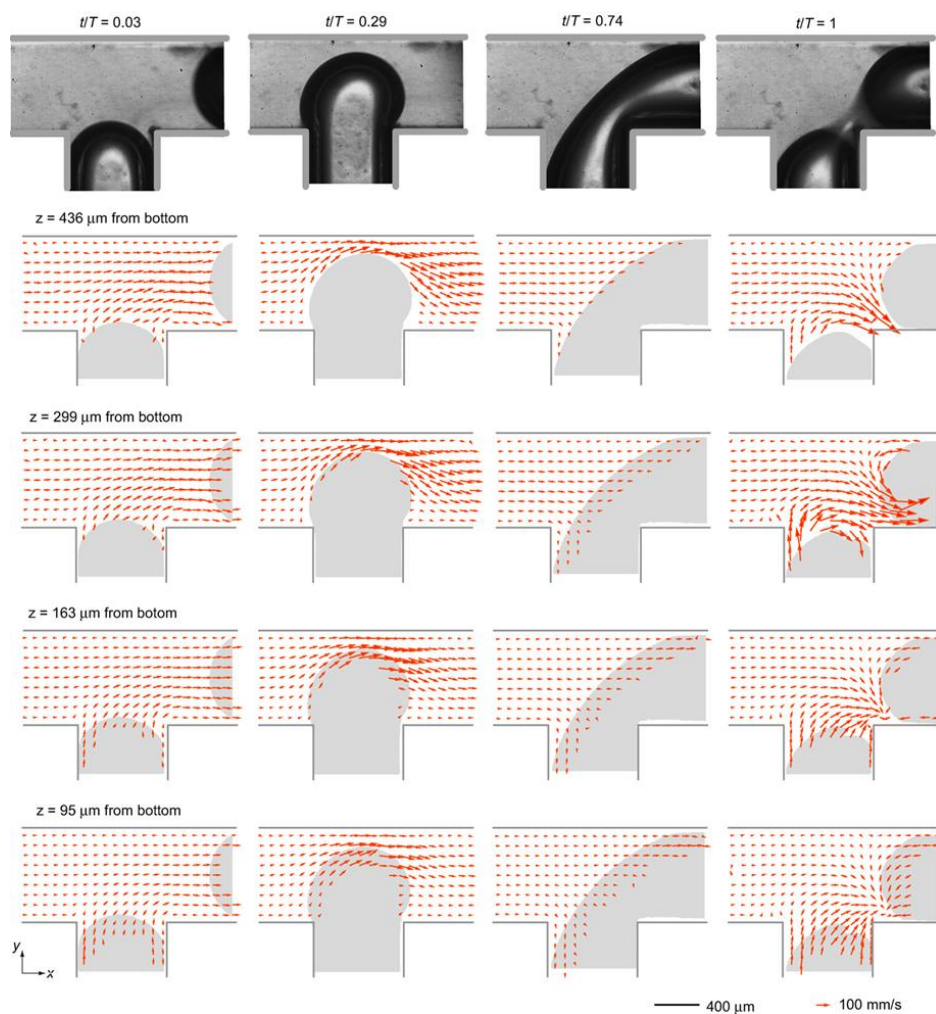


図 1.37 気泡周り流れのマイクロ PIV 計測. van Steijn et al., 2007 より転載.

圧力

液滴生成メカニズムの議論において、圧力が及ぼす影響は特に Squeezing や遷移領域において大きく、直接計測に対する要望がある。しかし、サイズのマイクロ流路内に圧力センサを挿入することは困難である。過去に圧力を実測した例として、Abate et al. (2012) は T 字流路の壁面数カ所に圧力計測用の分岐流路を設け、そこに形成させた界面の形状からラプラス圧差を求める手法を実現した (図 1.38)。しかし、原理上ラプラス圧差を用いていることから、界面内外の圧力差しか分からず、また、算出の基準となる界面曲率の取得において、面外方向の曲率が推定であるため、誤差が避けられない。

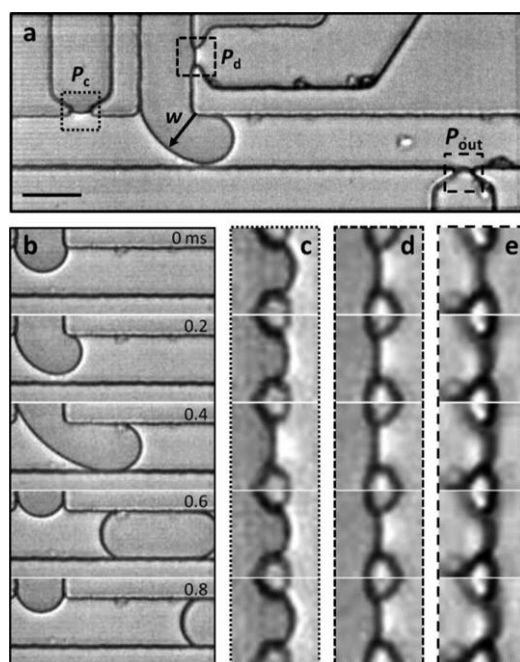


図 1.38 ラプラス圧センサ. Abate et al., 2012 より転載.

1.4.4 先行研究における計測技術まとめ

1.3.8 項で必要性が示されたマイクロ液滴生成機構の計測に対し、以下に先行研究の事例と課題をまとめる。

(1) 非侵襲計測

流路がマイクロスケールのため、物理的な流量センサを挿入するハードルが高い。よって画像計測が第一選択となっており、顕微鏡と高速度カメラを組み合わせ撮像系を構築している。流路が平面状のデバイスなため、1方向からしか計測できず、トモグラフィ法など複数の角度からの画像計測は困難である。

(2) 高空間・時間分解能

空間解像度は xy 方向に関してはカメラの画素数に依存するため大差無く、また本計測には十分である。 z 方向の空間分解能は DHM が光学的には最も高いが、PTV を行う上ではノイズの影響が大きく、実用的ではない。計測断面の z 方向厚さという意味での空間分解能は、共焦点マイクロ PIV が最も高く、通常のマイクロ PIV の約 2 倍である。

時間分解能に関しては、共焦点マイクロ PIV のみ、共焦点スキャナのニポウディスク回転速度に起因する制約を受ける。

(3) 場の計測

全て場の計測ではあるが、2次元と3次元の違いがある。究極的にはPTVベースの直接3次元計測が望ましいが、ベクトル密度、z方向の速度算出精度の点で本研究の計測対象には適していないと考える。

(4) 3次元界面形状

DHMによる3次元界面形状の直接計測は可能だが、同時計測が必要な内部流動のDHM-PTVがベクトル密度・精度共に不足している。一方、PIV断層画像の積み重ねで3次元界面形状を得る手法も考えられるが、マイクロPIVではほぼ例がなく、また非共焦点では被写界深度の深さにより、界面の正確な抽出が困難である。

(5) 両相の3次元速度場計測

せん断力を抽出するための高密度な速度ベクトル場を3次元で計測した例は無く、従ってせん断応力の定量的な積算値も得られていない。また、両相の同時計測例も無い。

(6) 圧力変動

Abate et al. (2012)によるラプラス圧センサを用いた圧力計測が唯一の直接的計測であるが、面外方向の曲率に推定が含まれている。

(7) メカニズム検証のための、少なくとも Ca 数2条件の実験データ

カバランスを算出した先行研究において、 Ca 数を振った計測は行われておらず、

1.5 研究目的

前節までに述べたように、マイクロ流体デバイスでは2種類以上の物質を流すマイクロ混相流が多用されており、特にマイクロ液滴デバイスは均一な粒子生成やマイクロチャンバとしての利用、液滴内循環流による混合促進など応用先は多岐にわたる。液滴を生成するためのもっともシンプルな流路デザインであるT字流路では、液滴サイズや生成周期を制御するために Ca 数によるレジーム整理や計測データで補完されたサイズ予測式などが研究されているが、その根幹にある液滴形成メカニズムは数十～数百 μm という微小領域や液滴生成の3次元性・非定常性も相まって、定量的計測に基づいた解明に至っていないのが現状である。

そこで本研究では、次の3点を目的とし、それぞれ第2・3章、4章、5章に記述する。

- [1] 非定常、3次元性の高いマイクロ液液混相流の流動場、具体的には両相の速度場と界面形状の同時取得を目指し、共焦点マイクロ PIV の多波長化および異なる断面計測のための時間位相同期システムを構築する。また、システムの計測性能評価と不確かさ解析、および精度検証を行う。
- [2] 構築した計測システムを用いて T 字流路における液滴生成現象の計測を行い、遷移領域での 3次元流動構造を明らかにし、 Ca 数を振った際の変化について考察する。
- [3] 3次元流動の計測データから、液滴生成に関与する 3力を算出してカバランスの考察を行う。また、メカニズムを代表する形状・流量パラメータとの関連性を調査し、定量的計測に基づく液滴生成メカニズムの解明を試みる。

これらの目的を達成するためには、最終目標であるカバランスの考察に必要な情報を取得できる計測性能を持つ計測システムの構築が求められる。具体的には、数百 μm 四方の計測領域を確保しつつ、最小曲率半径 5 μm 程度を生じうる界面とその内部流動場を解像できる空間分解能、数 mm/s の流速を計測可能とする時間分解能を有し、さらに非定常マイクロ混相流に対応するための多波長光学系と位相同期システムの開発・統合を目指す。本研究における具体的なアイデアとして、多波長光学系では油相用蛍光トレーサ粒子の自作調製、波長分離ユニットの光学設計を、位相同期システムでは PLC を嚙ませた機構変動のリアルタイム計測と液滴選別、ポストトリガ機能を盛り込み、将来的な液滴生成以外のマイクロ混相流アプリケーションへの応用も視野に入れた新規性と応用性をアピールする。

PIV 計測では、撮影した粒子画像を基に速度場や界面形状などを抽出する際に、適切な画像処理やデータ解析アルゴリズムが必要となる。本研究は界面の変形を伴うマイクロ混相流を対象として定量的・高精度に 3力の算出を目指すものであり、まずはこれらの解析を念頭に置いた実験条件の設定および画像取得を行い、次いで適切な後処理手法の選択および解析アルゴリズム開発を行う。

カバランス考察における本研究の特長は、各力の定量的な算出式を提示し、それに必要な計測データが開発した計測システムで全て取得できるという点である。先行研究では計測技術における制約により、各力の算出が概算に留まっていたため、それらの正確な大小関係や流動構造との相関を示すことができていなかった。本研究で定量的なカバランス検証と 3次元流動場との相関を示すことにより、液滴生成メカニズムの説明に力学的裏付けを与えることを目指す。

1.6 本論文の構成

本論文は以下の計 6 章で構成されている。

第 1 章 序論

T 字流路における液滴生成機構およびその計測手法について先行研究を適宜参照しながら考察し、機構に対する仮説と計測上の課題を整理する。その後、仮説の検証に必要な計測装置の機能と精度を決定する。

第 2 章 多波長共焦点マイクロ PIV システムの開発

液液混相流の両相同時計測を目的として、多波長分離光学系を組み込んだ共焦点マイクロ PIV を開発するとともに、付随する技術として、油相に分散可能な蛍光トレーサ粒子の開発と実証を行う。

第 3 章 光センサによる液滴検出・選別システムの開発

非定常で周期的な現象である液滴生成を 2 次元計測である共焦点マイクロ PIV で断層撮影するために、異なる高さ断面で時間位相を合わせることで光センサ式液滴検出システムを開発する。また本システムを応用することで、液滴のばらつきにもリアルタイムで対処できる選別システムを構築する。

第 4 章 T 字型マイクロ流路における液滴生成現象の計測

第 2, 3 章で開発した計測システムを用いて、液滴生成現象を複数の計測断面において時間位相を同期させた 2 次元マイクロ PIV 計測を行う。その後、PIV 解析で得られた 3D2C 速度データを連続の式を用いて 3D3C 化し、流動構造を検証する。

第 5 章 液滴生成機構の解明

第 4 章で得た速度場と界面形状を用いて時系列のカバランスを算出することにより、実用的な液滴生成デバイスの運用条件である遷移領域における液滴生成メカニズムを定量的に考察する。

第 6 章 結論

本研究の目的に対し，計測システムの開発で達成した性能をまとめるとともに，本計測によって示された液滴生成機構についての知見を示す．さらに，今後の課題と他分野への応用可能性についても述べる．

第2章

多波長共焦点マイクロ PIV システム の開発

本章では，微小流路内混相流の速度場同時計測手法として構築した，多波長共焦点マイクロ PIV システムについて述べる．まず，PIV の原理とそれをマイクロスケールに拡張したマイクロ PIV（Particle Image Velocimetry：粒子画像流速測定法）および共焦点マイクロ PIV について解説し，その原理や計測精度の説明を行う．最後に，本研究で行った，より複雑な混相流のマイクロ流動計測に対応するための機能拡張について述べる．

2.1 従来システムの性能と課題

2.1.1 マイクロ PIV

マイクロ PIV 画像の質は対物レンズの性能に依存するところが大きく，特に式(2.1)で定義される開口数（Numerical Aperture）が性能の指標となる．NA は計測対象から対物レンズに NA は高いほど明るさや分解能に優れるが，逆に被写体との距離である作動距離が短くなってしまい，マイクロ流路デバイス設置の自由度が低下する．

$$NA = n \sin \theta \quad (2.1)$$

ここで， n は試料と対物レンズ間の媒質の屈折率， θ は対物レンズで集光される円錐の一番外側を通る光線と光軸のなす角である．

横方向の分解能

顕微鏡を用いたマイクロ PIV において，横方向（面内方向）の分解能について考慮し

なければならないことは、粒子のサイズが照明波長に近くなることで、光学分解能の限界に近づくことである。横方向の分解能は「ごくわずかに離れた 2 点もしくは 2 本の線をそれぞれ見分けうる最小間隔」として次式で定義される。

$$\alpha = 0.61 \frac{\lambda}{NA} \quad (2.2)$$

ここで λ は励起光の波長である。これを代表的な条件 ($\lambda = 525\text{nm}$, $NA = 1.25$) にて計算すると $\alpha = 256.2\text{ nm}$ となり、撮像デバイスの空間解像度を α よりも高くなるように光学系と撮像系を構成することで上記の分解能を発揮できる。

一方、マイクロ PIV ではトレーサとして球形粒子が用いられ、その粒子像が像平面に映る有効粒子径 d_e は回折限界画像と幾何学画像の畳み込みで決まる (Adrian, 1991)。幾何学的画像と回折限界画像の両方をガウス関数として近似すると、次式となる。

$$d_e = [M^2 d_p^2 + d_a^2]^{1/2} \quad (2.3)$$

d_a は粒子像の回折パターンであるエアリー円盤の直径、 d_p は像平面におけるトレーサ粒子の直径である。このとき d_a は

$$d_a = 2.44M \frac{\lambda}{2NA} \quad (2.4)$$

である。ここで M は実際の倍率である。

被写界深度

顕微鏡の奥行き方向の分解能は被写界深度で規定され、波動光学によるものと幾何光学によるものの和で定義される。

$$\delta_z = \frac{n\lambda}{NA^2} + \frac{ne}{NA \cdot M} \quad (2.5)$$

ここで、 e は撮像素子の分解能であり、デジタルイメージング素子の場合はピクセル間隔となる。

一方、マイクロ PIV における被写界深度は通常の(2.5)式とは異なり、粒子像が PIV 処理に影響を与えうる深さで規定され、Meinhart et al. (1999) によって次式で定められた。

$$\delta_{z_m} = \frac{3n\lambda}{NA^2} + \frac{2.16d_p}{\tan\theta} + d_p \quad (2.6)$$

これを計測深度と呼ぶ。

2.1.2 共焦点マイクロ PIV

共焦点マイクロ PIV における平面内の空間解像度は通常のマイクロ PIV と同様にエアリー円盤のサイズに依存する。しかし、共焦点顕微鏡下での観察ではある狭い領域以外の粒子からの蛍光は光学的に遮断される仕組みになっており、空間解像度は通常のマイクロ PIV より向上する。共焦点マイクロ PIV の横の解像度は以下の式(2.7)で表される (Wilhelm, 2003, Park et al., 2004)

$$r = 0.51 \frac{\lambda}{NA} \quad (2.7)$$

また、奥行方向の分解能は式(2.8)

$$DOF = \frac{0.88 \cdot \lambda}{(n - \sqrt{n^2 - NA^2})} \quad (2.8)$$

で与えられる。ただし、共焦点顕微鏡では焦点深度の代わりに光学スライス厚さ (Optical Slice Thickness: OST) を用いることが多く、次式(2.9)で表される。

$$OST = \sqrt{\left(\frac{0.88 \cdot \lambda}{n - \sqrt{n^2 - NA^2}}\right)^2 + \left(\frac{\sqrt{2} \cdot n \cdot PD}{NA^2}\right)^2} \quad (2.9)$$

ここで、 PD はピンホールの径である。

システムが計測可能な最大流速は、共焦点スキャナのスキャン速度、対物レンズの倍率とカメラの画素サイズによって決まる。たとえば 40 倍の対物レンズでは、2 時刻間での移動量が 7 pixel としたとき 1.75 mm/s 程度である。

共焦点スキャナは水平方向 (つまり、顕微鏡のステージの xy 方向) しかスキャンできないが、ピエゾ駆動の対物レンズマウント (RT3D, 横河電機株式会社) を対物レンズの下に設置することで垂直方向のスキャンを可能にしている。ピエゾマウントの垂直分解能は 0.1 μm で最大ストロークは 100 μm である。

2.1.3 多波長撮像系

市販されている 2 波長同時観察系として、顕微鏡カメラポートに設置する光学分離系にて 2 波長での観察を可能とする製品 (図 2.1: FRET スプリットイメージングシステム・オリンパス株式会社), (図 2.2: Dual-View システム・Optical Insights, LLC) がある。これらは主に FRET (Förster resonance energy transfer: フェルスター共鳴エネルギー移動) と呼ばれる、近接する 2 つの蛍光分子からの蛍光を分離撮影して強度比を計算することで、生細胞内の情報伝達を可視化する手法のために開発された経緯がある。

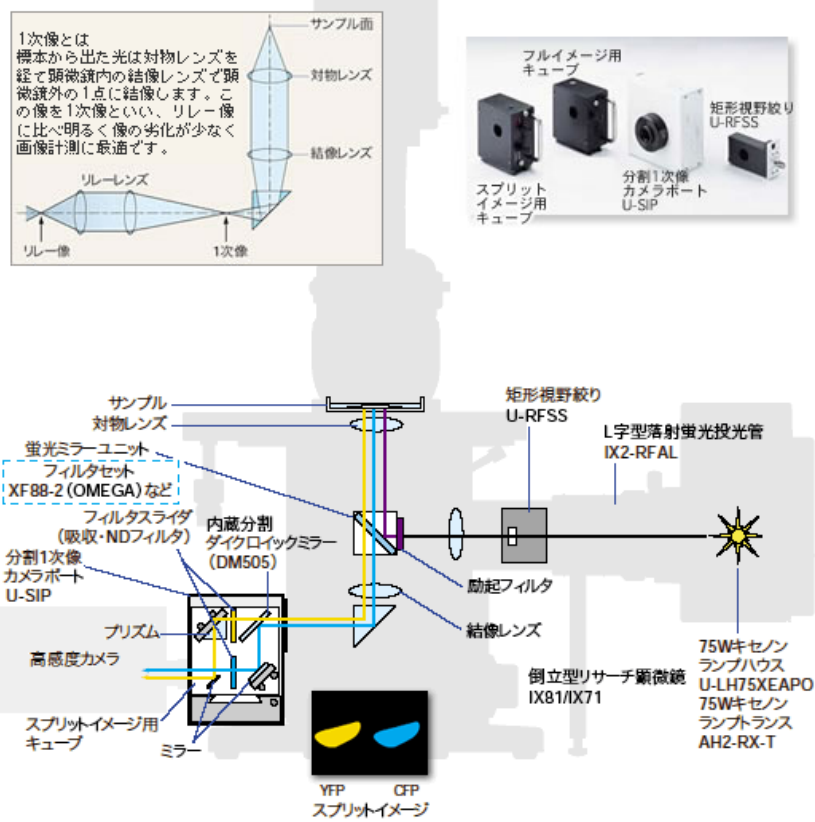


図 2.1 FRET スプリットイメージングシステム (オリンパス株式会社).

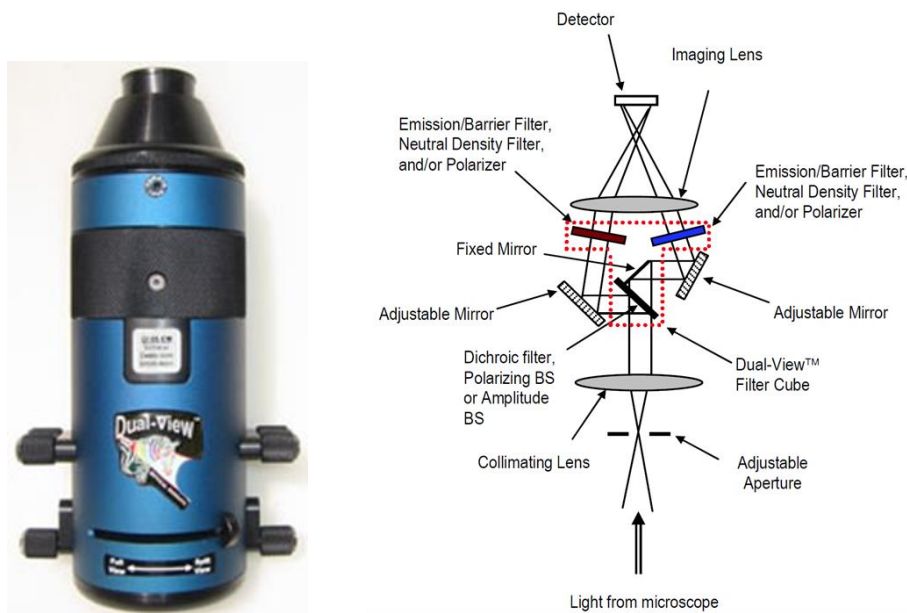


図 2.2 Dual-View システム (Optical Insights, LLC).

これらのシステムでは、1台のカメラ素子に対し、画像を分割して撮影するため、それぞれに映る蛍光強度の明るさを個別に調整することができない。このことは2波長計測では観察に留まらず、蛍光強度を用いての定量的な計測を実現するには不利な点である。また、1次像を検出できるため明るい像が得られるが、本来であればダイクロイックミラーやプリズム等の光学系はリレーレンズ間の平行光伝達部内に収めるべきであり、結像レンズ後の収束光に対して波長分離をするこのシステムでは、光路差によりそれぞれの像の位置がずれる恐れがある。そのため、観察はできても、定量的計測には不向きであるといえる。同じ理由から、顕微鏡とこのシステムの間共焦点スキャナを挟み込んで使用することも適当ではない。共焦点観察ではより被写界深度が浅いため、光路差は致命的となる。そこで本研究では、共焦点マイクロ PIV に特化した自由度の高い波長分離系を考案する。

2.2 システム概要

開発した多波長計測システムを図 2.3 に示す。前節の共焦点マイクロ PIV システムを基本に改変したもので、2つの異なる相を同時計測するために波長分離光学系を設計し、共焦点スキャナ (CSU22 または CSU-X, 横河電機株式会社) と撮像デバイスとなる 2 台の高速度カメラ (Phantom v7.1, Vision Research Inc.) 間に設置した。励起光には波長 488 nm の Ar-ion レーザ (543-BS-A03, Melles Griot Inc.), および波長 532 nm の固体 YAG レーザ (Excel 1500, Laser Quantum Ltd.) の 2 本をレーザ結合器により同軸上に重ね合わせ、スキャナおよび倒立顕微鏡 (DMIRE2, Leica Microsystems) と高 NA の対物レンズ (HCX PL APO 40× / NA1.25-0.75 OIL CS, Leica Microsystems) を介して計測対象に照射する。計測対象にはトレーサ粒子として蛍光粒子を混入しており、レーザ光により照明された粒子の散乱光と蛍光が顕微鏡内で励起光路と同じ光路をたどって共焦点スキャナへ導かれる。共焦点スキャナ内ではマルチバンドパスフィルタによる散乱光除去は効率が良くないため行わず、2色のレーザ散乱光と、2色の蛍光が同軸にてそのままスキャナ出口から波長分離ユニットへと導かれる。

共焦点スキャナから導かれた 4 つの波長帯の光はリレーレンズによりコリメートされた後、2色の蛍光の中間波長でダイクロイックミラーにより分光される。分光後、カラーフィルタを通してカメラにダメージを与えるレーザの散乱光をカットし、2色の蛍光のみを別々のカメラで記録する。

計測性能は高速度カメラが最大 4,800 fps のフレームレートで撮影できる一方、共焦点スキャナの面内スキャン速度は 2,000 fps が限界のため、システム全体の撮影速度も

それに制限される。カメラは 800×600 pixel の 12 ビットモノクロ画像を最大 1455 枚保存できる内部メモリを有し、2,000 fps では 272.5 msec の時間を連続記録できる。40 倍対物レンズ使用時の計測領域は $231.0 \mu\text{m} \times 173.3 \mu\text{m}$ で、空間解像度は $0.289 \mu\text{m}/\text{pixel}$ となる。この解像度において、最大撮影速度 (2,000 fps) 時に 32×32 pixel の相関窓サイズの PIV 解析 (フレーム間許容移動量 16 pixel) を行くと、測定可能な最大速度は 9.248 mm/s となる。

表 2.1 に主な倍率における 2 次元計測の性能をまとめる。また計測限界速度として、本研究で用いた 1000 fps 時の値も併記する。

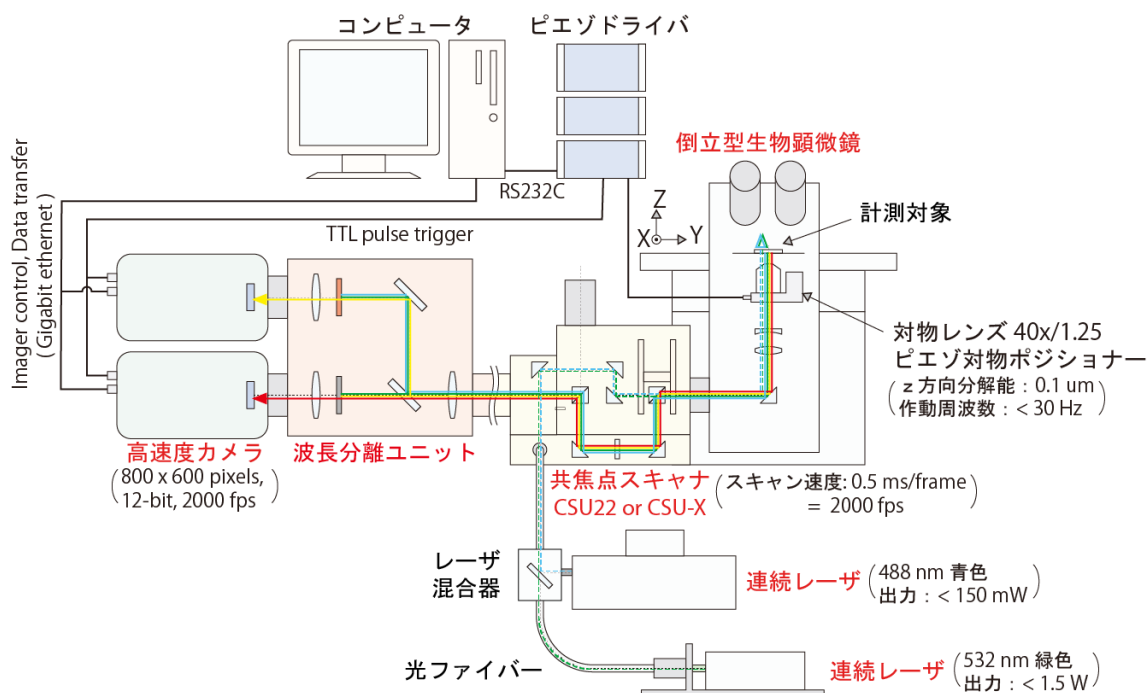


図 2.3 多波長共焦点マイクロ PIV のシステム構成。

表 2.1 共焦点マイクロ PIV の計測性能 (相関窓サイズ 32pixel 時)。

対物レンズ 倍率 / NA	視野 [μm]	面内解像度 [$\mu\text{m}/\text{pixel}$]	計測限界速度 [mm/s] @ 2000 fps (@ 1000 fps)
20 \times / 0.70	462.0 \times 346.6	0.578	18.48 (9.240)
40 \times / 1.25	231.0 \times 173.3	0.289	9.241 (4.621)
63 \times / 1.40	146.7 \times 110.0	0.183	5.868 (2.934)
100 \times / 1.40	92.8 \times 69.6	0.116	3.712 (1.856)

2.3 波長分離ユニットの開発

図 2.4 に波長分離ユニット内の光学コンポーネント（リレーレンズとダイクロイックミラー，バリアフィルタ）と光路を，表 2.2～表 2.4 および図 2.5 に蛍光粒子および色素の波長特性とそれに合わせた光学素子特性を示す．顕微鏡（共焦点スキャナ）側から 2 色の蛍光粒子画像と，2 色のレーザ散乱光の 4 波長帯の光が分離ユニットに導かれ，波長ごとに分離・遮断され，2 台のモノクロハイスピードカメラに記録される．

分離ユニットでは，まずリレーレンズで光学歪みが発生しない平行光学系に変換され，対となるレンズ間に設置したダイクロイックミラー（Sigma Koki Corp.），ロングパスフィルタ（OG, RG series, Melles Griot Inc. or E570ALP, Chroma Technology Corp.）およびシングルバンドパスフィルタ（F-10 series, CVI Laser Inc. or 50AF23, Chroma Technology Corp.）により必要な波長の光のみをカメラに導く．また，リレーレンズは顕微鏡側とカメラ側で異なる F 値の物を用いることにより，画像を 2 倍に拡大する役割も持たせている．

蛍光粒子は波長 488 nm の Ar-ion レーザで励起されて黄緑に蛍光するものと，YAG レーザで励起されて赤く蛍光するものを用いる．これらは図 2.5 (a) にある励起特性にレーザを照射することで図 2.5 (b) のような特性の蛍光を発する．トレーサの蛍光を分離するダイクロイックミラー，およびレーザの散乱光をカットするフィルタの波長特性も図 2.5 (b) に記している．これらの中から，高効率で 2 色を分離でき，さらにカメラに写る輝度が最も高くなる組み合わせを検討して選択する．

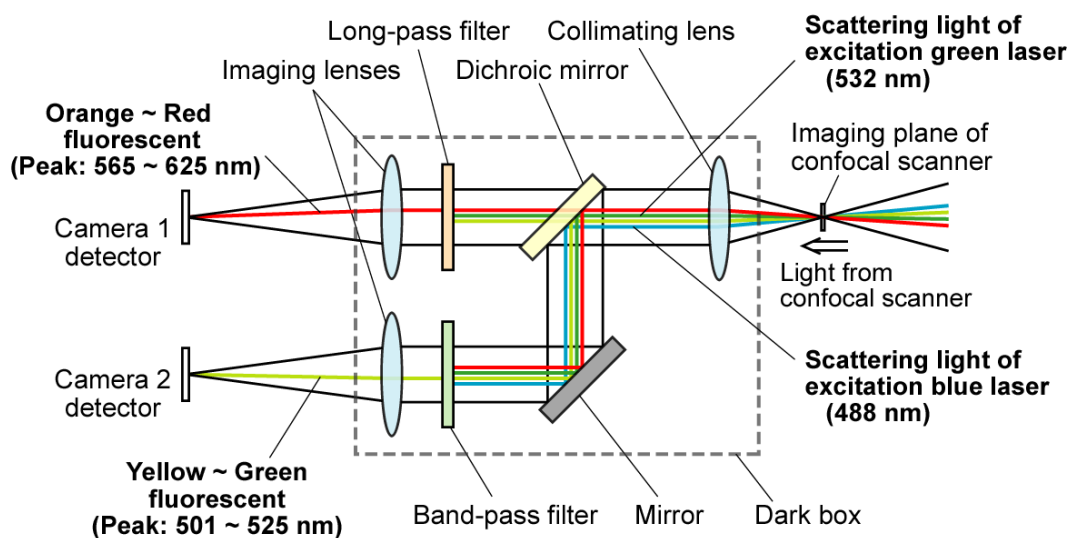


図 2.4 波長分離ユニット内の光学素子と光路． Oishi et al., 2011 より転載．

表 2.2 蛍光トレーサ粒子と染料の波長特性.

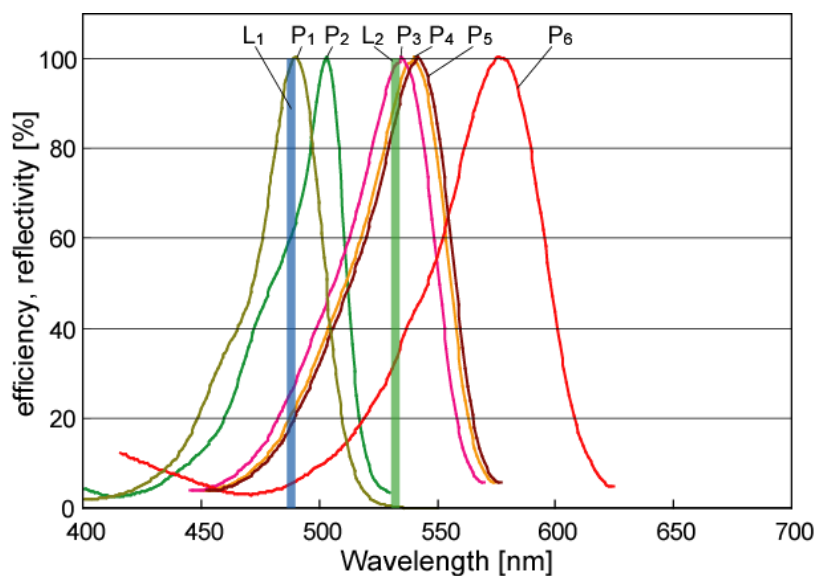
	state	Flourescent color	Excitation wavelength [nm]	Emission wavelength [nm]	Stokes shift [nm]	manufacturer
High-pass filtered Longer wavelength flourescent (for camera 1)	Polystyrene microspheres	Orange	540	560	20	Molecular Probes
		Nile red	535	575	40	Molecular Probes
		Red	580	605	25	Molecular Probes
		Red	542	612	70	Duke Scientific
	Dye	Rhodamine B	540	625	85	Wako
		Dil	549	565	16	Molecular Probes
Band-pass filtered Shorter wavelength flourescent (for camera 2)	Polystyrene microspheres	Yellow-Green	505	515	10	Molecular Probes
	Dye	Fluorescein	500	525	25	Wako
		Calcein pH9.0	494	514	20	Molecular Probes
		DiO	484	501	17	Molecular Probes

表 2.3 長波長側のロングパスフィルタ.

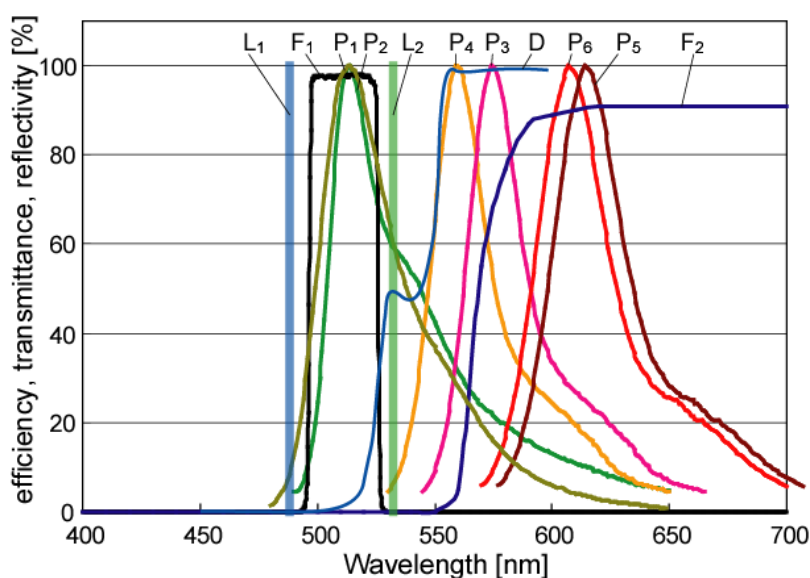
Model number	Stop band wavelength λ_s [nm]	Cut on wavelength λ_c [nm]	Pass band wavelength λ_p [nm]
OG570	500	570 \pm 6	640
OG590	510	590 \pm 6	660
RG610	530	610 \pm 6	690
RG630	540	630 \pm 6	710
RG665	580	665 \pm 6	750
RG695	610	695 \pm 6	780
E570ALP	545	570 \pm ?	598

表 2.4 短波長側のバンドパスフィルタ.

Model number	Central wavelength [nm]	Full width at half maximum [nm]
F10-510-4	510	10
F10-514.5-4	514.5	10
F10-520-4	520	10
50AF23	510	20
FF01-512/25	512	25



(a) 励起特性



(b) 蛍光と透過特性

図 2.5 光学素子と蛍光プロファイル. Oishi et al., 2011 より転載.

Wavelengths of lasers (nm): L₁) Argon ion blue laser (488), L₂) CW green laser (532)
 Normalized fluorescent properties of fluorescent tracer particles and dyes (maximum efficiency of excitation/emission wavelength (nm)): P₁) Fluorescein (500/525), P₂) Yellow-green (505/515), P₃) Orange (540/560), P₄) Nile red (535/575), P₅) Duke red (542/612), P₆) Red (580/605),
 Transmittance or reflectivity of optical filters and mirrors: F₁) Band-pass filter (FF01-512/25), F₂) Long-pass filter (OG570), D) Dichroic mirror

2.4 油相用蛍光トレーサ粒子の開発

一般的に、液液混相流に用いられる 2 種類の流体は一方に水性液体、もう一方に油性液体を用いる。よって、両相を多波長システムで同時計測するためには、油相のみに分散し、界面で水相に接しても水相側へ移動したり界面にトラップされない（逆も然り）特性を持つ蛍光粒子が不可欠である。

表 2.5 に本研究で開発した蛍光多孔質シリカ粒子も含め、市販の蛍光粒子をテストした結果を示す。市販品はそもそも油相に混ざらない、蛍光強度が弱い、油相中で凝集する、比重が大きすぎる、界面にトラップされたり流路壁面に付着してしまうなど、どれも油相用粒子として適していないことが明らかであった。

そこで本研究では、油相に用いる蛍光トレーサ粒子を開発した。基材として表 2.6 に示す非中空多孔質シリカ粒子（ゴッドボール E-2C, 鈴木油脂工業株式会社）（サイロスマース, 富士シリシア化学株式会社・図 2.6）を選定した。粒子の真比重は油相液体の 2 倍以上あるが、多孔質のため内部には空隙があり、かさ比重は 0.70 以下である。

調製手法はシリカ粒子をフルオレセイン（和光純薬工業株式会社）飽和メタノール溶液で染色し、数日間室温環境下で自然乾燥させたのち、油相に分散させやすくするため目の細かいナイロンメッシュで裏ごしして粉末状態にしている。油中への分散においては、乾燥した粉末状のシリカ粒子は容易に分散させることができた。これは多孔質シリカ粒子が、主な用途である化粧品において皮脂の吸着を目的に製造されている点にも由来していると考えられる。また、粒子を分散させた溶液を真空引きすることで、多孔質内の脱気と油相の吸収が促進される。その後、ソニケーションによって凝集した粒子を分解し、さらに遠心分離機を用いて凝集粒子や過大粒子の排除と粒子濃度の調整を行う。

シリカ多孔質粒子を基材に用いることで 2 つの大きなメリットが生じる。1 つ目は、粒子内に油相を先に吸着させることで、水相との界面に接しても保持された油相によって界面にトラップされたり水相側へ移動したりしないことである。シリカ単体の表面物性はガラスと同じと考えると親水性となるが、それは空気に対する濡れ性であり、油中では親油性が親水性に勝っていると考えられる。よって先に油相に濡れたシリカ粒子は多孔質による濡れ面積と毛管力の大きさにより親油性をより強く保持できる。

2 つ目のメリットは、吸油により粒子の間隙が満たされることにより、粒子の比重を周囲流体に近くできることである。かさ比重 0.18~0.25 g/cc の粒子は吸油後に 1.08~1.11 g/cc に変化する。この値は周囲の油相の値に近く、追従性の向上に寄与する。例えば油相での粒子沈降速度は 3.14×10^{-6} mm/sec になり、これは水相のポリスチレントレーサ粒子の -4.58×10^{-6} mm/sec と同じオーダーとなる。この沈降速度のオーダーは、実験条件における流速の約 1/10000 であるため無視できるほど小さい。

表 2.5 蛍光粒子の特性と油相用トレーサとしての適性.

製造者・ 製品名	フルオレセイン染色多孔質シリカ (自作蛍光粒子)	Molecular Probes 社・ Fluo Sphere	Micromod 社 ・ Sicastar	Microparticle 社 ・ MF-Particles
材質	多孔質シリカ	ポリスチレン	シリカ	メラミン樹脂
比重 [g/cc]	2.10 (真比重) 0.18 ~ 0.25 (かさ 比重)	1.06	2	?
平均粒子径 [μm]	0.9 ~ 1.4 (ゴッドボール・ E-2C) 0.7 (サイロスムーズ)	0.5	1.0	0.5
表面修飾	なし	カルボキシル 基	なし	なし
ピーク波長 励起 / 蛍光 [nm]	500 / 525	505 / 515 (Yellow-green)	485 / 510	506 / 529 (FITC)
蛍光強度	○ 並	◎ 強い	△ 弱い	× 非常に弱い
油相への 分散性	○ 良好	× 不良 (デフォルト で水中分散)	○ 良好	× 不良 分散後凝集 界面に集まる
ギャップ領域 への分散性	○ 良好 高濃度であれば 分散可能	? 水相なら可能	△ 並 一部壁面に 付着する	× 不良 壁面への付着性 が非常に強い
モノマーへの 耐性	○ 問題なし	× 不適 (溶解する)	○ 問題なし	○ 問題なし

表 2.6 非中空多孔質シリカ球形粒子.

製品・型番	ゴッドボール・E-2C	サイロスムーズ
粒子径範囲 [μm]	0.5~3.0	0.42~1.05
平均粒子径 [μm]	0.9~1.4	0.70
真密度 [g/cm^3]	2.10	2.10
かさ密度 [g/cm^3]	0.18~0.25	0.70
表面細孔直径範囲 [\AA]	50~150	-
比表面積 [m^2/g]	350~500	594
細孔容積 [ml/g]	1.30~1.40	0.35
吸油量 [$\text{ml}/100\text{g}$]	160~175	88
吸油時の比重 [g/cm^3]	1.08~1.11	1.35

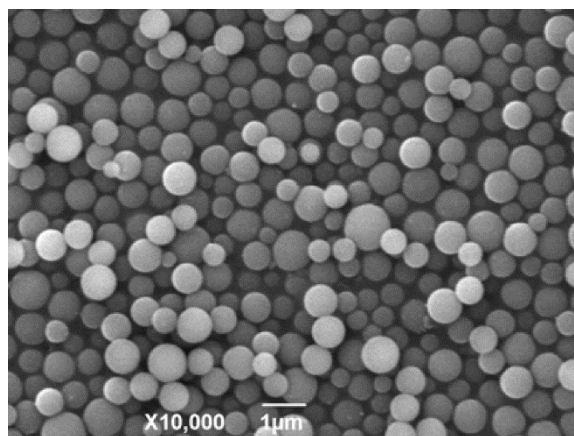


図 2.6 サイロスムーズの SEM 写真 (富士シリシア株式会社提供).

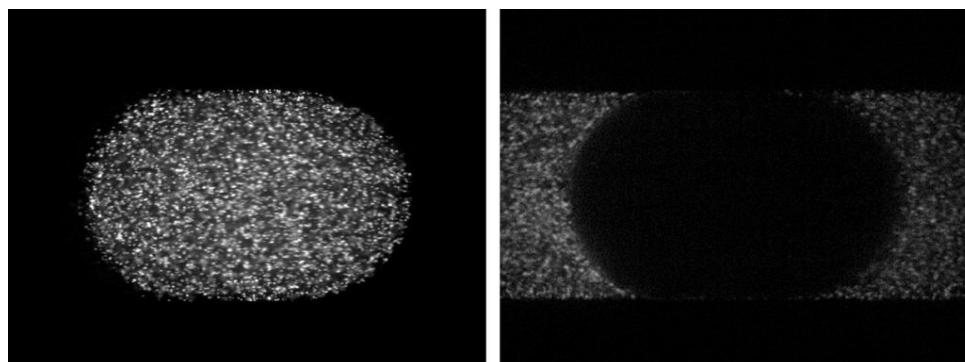
波長分離性能の評価

多波長撮影において重要な点は、2色の蛍光粒子間でクロストークを起こさずに画像を分離することである。図 2.7 に Appendix A で示す並進液滴内外流れの計測における、2つのカメラで同期撮影した液滴と周囲の流れの PIV 画像の例を示す。PIV 解析を行うマスキング領域を抽出するために、PIV グリッド (32×32 ピクセル) で輝度を空間平均し、領域の検証用に取得した明視野画像を参照して分離性能を評価する。

図 2.8 に平均輝度マップを示す。適切な輝度のしきい値を指定し、PIV 計算から輝度の低い領域を自動的にマスクする。空間平均輝度の統計データを表 2.7 に示す。これにより、両相ともに領域の内外を適切に分離できることが示された。

また、自作蛍光粒子の輝度としては、12 ビットモノクロカメラの 4096 階調に対し

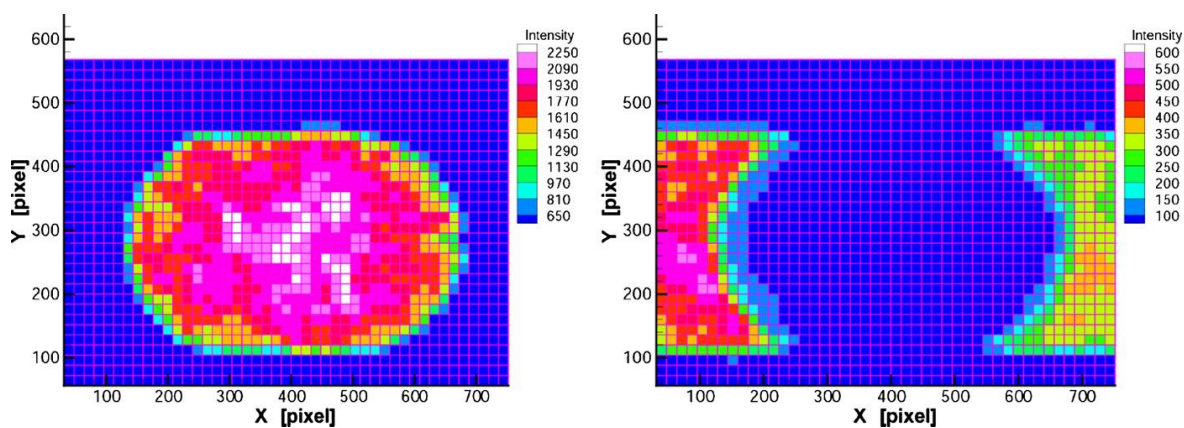
リッド平均で 250~600 程度あるため、下位ビットを抽出することによりノイズも増加してしまうゲイン調整をせずとも十分な輝度を有している。



長波長光路・カメラ 1

短波長光路・カメラ 2

図 2.7 同期撮影 PIV 画像. Oishi et al., 2011 より転載.



長波長光路・カメラ 1

短波長光路・カメラ 2

図 2.8 PIV グリッドでの平均輝度マップ (図 2.7 に対応), Oishi et al., 2011 より転載.

表 2.7 PIV グリッド平均輝度値の統計データ (図 2.8 に対応).

画像	長波長側画像 (しきい値: 820)	短波長側画像 (しきい値: 155)
液滴内 (水相)	1768.1 ± 338.8	57.4 ± 29.4
液滴外 (油相)	187.7 ± 163.0	342.6 ± 99.8

被写界深度

共焦点マイクロ PIV における被写界深度である共焦点深度は、マイクロ PIV と同様

に粒子の z 方向輝度分布を計測して求める (木下, 2006). 具体的な計測手法は, プレパラート上に固定した粒子を, 対物レンズをピエゾアクチュエータで z スキャンさせながら撮影し, 最大輝度プロットをガウスフィッティングしてその半値全幅を用いる.

表 2.8 に先行研究のデータも含めた被写界深度情報を示す. 一般的な被写界深度 δ_z と計測深度 δ_{z_m} はそれぞれ前出の式(2.5)および(2.6)を用いている. 上記の手法により得られた自作シリカ蛍光粒子の共焦点深度は, 40 倍, $NA = 1.25$ の油浸対物レンズを用いて径 $\phi 0.9 \sim 1.4 \mu\text{m}$ のゴッドボールが $3.28 \mu\text{m}$, 径 $\phi 0.7 \mu\text{m}$ のサイロスムーズが $2.81 \mu\text{m}$ であった. 表にある他の水相用市販ポリスチレン蛍光粒子と比べても近い数値と傾向を示しており, 蛍光染料を原料に練り込んで作られているポリスチレン粒子と同様な輝度変化をしていた. つまり自作粒子は内部まで均一に染まっていると考えられ, 選定においても市販粒子と同様の検討が可能なが示された.

表 2.8 被写界深度一覧.

粒子直径 [μm]	対物レンズ 倍率 / NA	蛍光波 長 λ_{em} [nm]	被写界 深度 δ_z [μm]	計測深度 δ_{z_m} [μm]	共焦点深度 [μm]	備考
1.0	20 \times / 0.70	612	2.07	7.82	5.87 ± 0.22	*
0.9~1.4	40 \times / 1.25	525	1.18	3.77~5.01	3.28 ± 0.47	自作
1.0	40 \times / 1.25	605	1.26	4.25	3.43 ± 0.23	多波長
1.0	40 \times / 1.25	612	1.26	4.27	3.35 ± 0.25	*
1.0	63 \times / 1.40	612	0.85	3.33	2.36 ± 0.08	*
1.0	100 \times / 1.40	515	0.64	3.16	1.60 ± 0.03	**
0.7	40 \times / 1.25	525	1.18	3.27	2.81 ± 0.16	自作
0.5	20 \times / 0.70	612	2.07	5.35	5.19 ± 0.35	*
0.5	40 \times / 1.25	605	1.26	3.04	2.28 ± 0.06	多波長
0.5	40 \times / 1.25	612	0.88	3.37	1.88 ± 0.11	*
0.5	63 \times / 1.40	612	0.86	2.34	1.67 ± 0.15	*
0.5	100 \times / 1.40	515	0.64	2.18	0.83 ± 0.04	**
0.3	40 \times / 1.25	612	1.26	2.53	1.73 ± 0.12	*
0.3	63 \times / 1.40	612	0.63	2.27	1.28 ± 0.08	*
0.2	100 \times / 1.40	515	0.64	1.60	0.59 ± 0.02	**

*木下, 2006, **鞆, 2010 より一部転載. 自作シリカ以外は市販ポリスチレン粒子

2.5 PIV 解析アルゴリズム

2.5.1 アンサンブル相関法

本研究では PIV 解析アルゴリズムとしてアンサンブル相関法 (Delnoij et al., 1999; Meinhart et al., 2000b) を適用している。アンサンブル相関法とは、同一条件で撮影された複数の PIV ペア画像を解析して得た相関値分布を平均し、そのピーク値を移動先の決定に用いる手法である。この手法の利点は、空間的平均操作を行うことなく、エラーベクトルの原因となる誤ったピークを取り除くことができる点にある。このことは特にマイクロ PIV で問題となる、トレーサ粒子のランダムなブラウン運動の影響を低減できるだけでなく、対物レンズからより離れた計測断面で生じやすい、SN 比の低い粒子画像の解析にも効果が期待できる。つまり、マイクロ PIV により適した解析アルゴリズムと言える。

Meinhart et al. (2000b) は、アンサンブル相関法で 20 回平均し、データスムージングを行って得たベクトル場を正値とし、その $\pm 10\%$ 以内に入る速度ベクトルの数の比を「有効測定の割合 (Fraction Valid Measurements:FVM)」と規定して、必要な平均数を調査した。その結果、平均 4 回で 95 %、平均 8 回で 99~99.5 %の FVM を達成している。

本研究の PIV データに対しても同じ方法を適用し、FVM を算出した結果を図 2.9 に示す。その結果、およそ 3 回の平均で 95 %の FVM に達したため、各断面での同期計測を 3~5 回行うこととした。

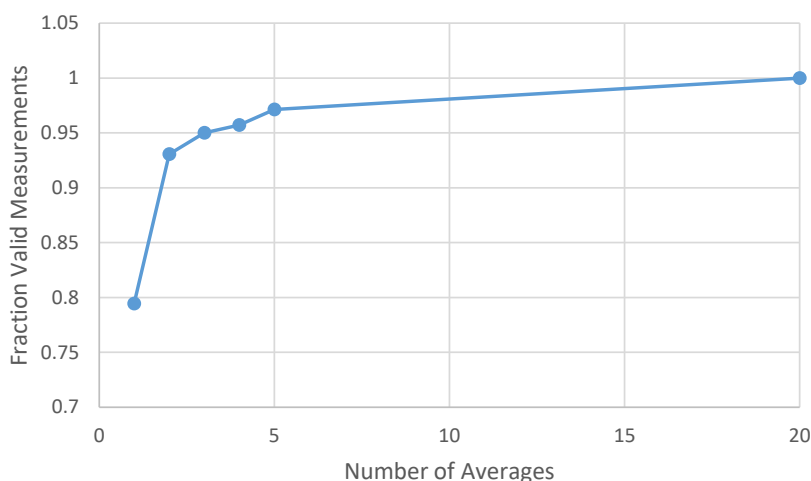


図 2.9 アンサンブル相関法の平均回数に対する有効測定の割合。

2.5.2 連続の式を用いた面外方向速度成分の算出

面外方向速度成分 w は 3D2C 速度データと流体力学の連続の式を使用して算出する。本手法はマイクロ PIV に対して Kinoshita et al. (2007), Pommer et al. (2007), Bown et al. (2007) らによる適用例がある。ここでは、 w 成分算出に 3 つの新たなアルゴリズムを検討した。それらは (1) 計算グリッドの繊細化, (2) 界面近傍の外挿, (3) 計算方向に関する検討, である。

(1) 計算グリッドの繊細化

標準的な手法では図 2.10 左に示すように、着目点を中心とした $2 \times 2 \times 2$ グリッド分の体積への流入量を用いることで、着目点から z 方向に一つ先の点の w を算出している (式(2.10)~(2.12))。しかし、この方法では 1 グリッドおきの w 速度が相関を持つため、 w 値が振動しているように算出されたり、 u, v 速度のグリッドに対して 2 倍広い領域を用いて算出するために、 w が空間的に平滑化されてしまうなど、理想的とは言えなかった。そこで、図 2.10 右に示すように、流入量バランスの計算に $1 \times 1 \times 1$ グリッドを用いる新たな計算式を導入した。具体的には、算出したい w のある着目点 z 高さおよびその計算方向に対して 1 グリッド手前 ($k-1$) における x, y 近傍の u, v 速度 8 データと、 $k-1$ 中央の w 速度の計 9 データを用いる。(式(2.13), (2.14))

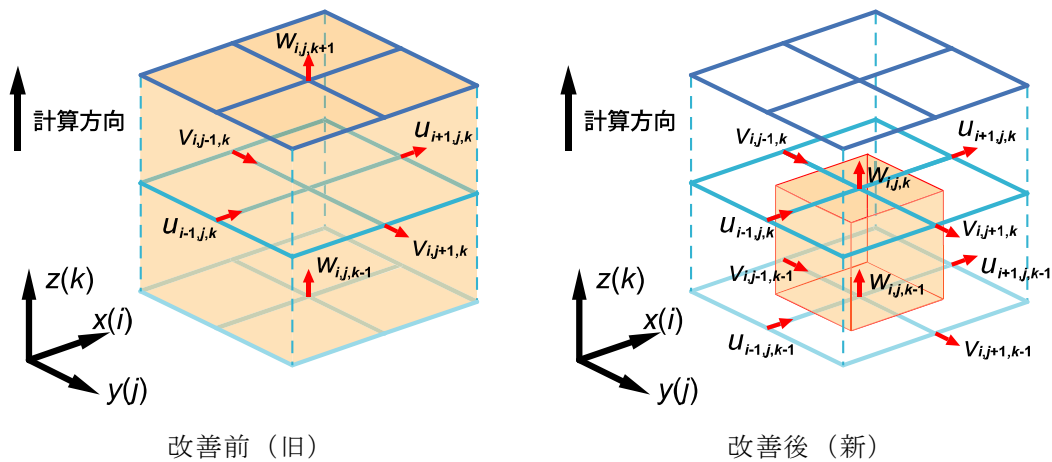


図 2.10 w 算出のための検査体積.

(旧)

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k} = \frac{u_{i+1,j,k} - u_{i-1,j,k}}{2\Delta x} \quad (2.10)$$

$$\left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k} = \frac{v_{i,j+1,k} - v_{i,j-1,k}}{2\Delta y} \quad (2.11)$$

$$\left. \frac{\partial w}{\partial z} \right|_{i,j,k} = -\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k} - \left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k} \quad (2.12)$$

(新)

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k \sim k-1} = \frac{(u_{i+1,j,k} + u_{i+1,j,k-1})/2 - (u_{i-1,j,k} + u_{i-1,j,k-1})/2}{2\Delta x} \quad (2.13)$$

$$\left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k \sim k-1} = \frac{(v_{i,j+1,k} + v_{i,j+1,k-1})/2 - (v_{i,j-1,k} + v_{i,j-1,k-1})/2}{2\Delta y} \quad (2.14)$$

(2) 界面近傍 w 成分の外挿

界面近傍の w 算出は外挿が必要なため領域内部とは算出方法が異なるが、界面せん断応力の算出や流線の描画においては必須なため、最も誤差の少ない方法で算出する。中心軸上の $w_{i,j,k}$ を算出するために、 z 軸直下での検査体積に流出入する u, v 速度成分の勾配を最も正解に近い値で求める。これらは、 $w_{i,j,k}$ を算出したい xy 平面および、一つ手前の xy 平面における 8 近傍の u, v データの有無により、5 通りのパターンに分けることができる。

① 着目平面 1 近傍のみ無し

例： $u_{i+1,j,k}$ だけが無い場合 (図 2.11)

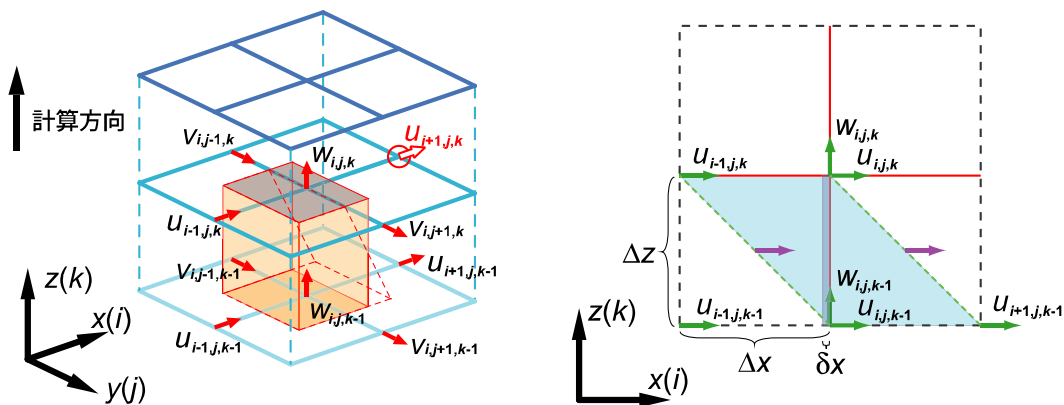


図 2.11 着目平面 1 近傍データ無しの検査体積。

u の速度勾配の算出のためには、 $k-1$ 断面内の $u_{i-1,j,k-1}$ を使わず、図 2.11 右に示す斜めの検査体積を使用することで、隣接する領域の u 勾配との連続性を保つ。

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k \sim k-1} = \frac{(u_{i,j,k} + u_{i+1,j,k-1})/2 - (u_{i-1,j,k} + u_{i,j,k-1})/2}{\Delta x} \quad (2.15)$$

v の速度勾配は式(2.14)を踏襲できる.

これを x 中心に近い δx の厚みのある立方体への流出入を用いて w_c を算出すると

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k \sim k-1} \frac{\delta x}{\Delta x} \Delta y \Delta z + \left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k \sim k-1} \delta x \Delta z + (w_{i,j,k} - w_{i,j,k-1}) \delta x \Delta y = 0 \quad (2.16)$$

δx は消去できるため, どのような δx においても成り立ち, $w_{i,j,k}$ を算出できる.

② 着目平面 2 近傍のみ無し

例: $u_{i+1,j,k}$, $v_{i,j+1,k}$ だけが無い場合 (図 2.12)

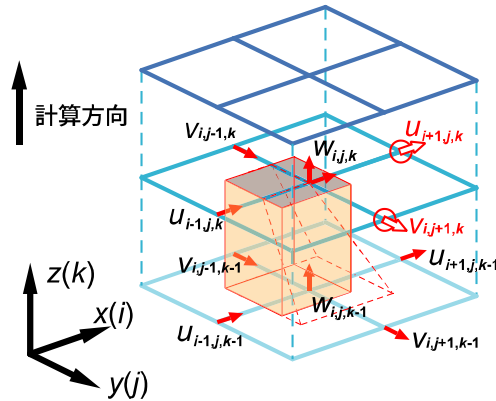


図 2.12 着目平面 2 近傍データ無しの検査体積.

u, v 双方の速度勾配に対し, 式(2.15)と同様の考え方をを用いる. よって, u の速度勾配は式(2.15)を踏襲, v の速度勾配は次式(2.17)となる.

$$\left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k} = \frac{(v_{i,j,k} + v_{i,j+1,k-1})/2 - (v_{i,j-1,k} + v_{i,j,k-1})/2}{\Delta y} \quad (2.17)$$

$w_{i,j,k}$ は式(2.16)から算出可能である.

③ 着目平面 1 近傍およびその z 方向直下のみ無し

例: $u_{i+1,j,k}$, $u_{i+1,j,k-1}$ だけが無い場合 (図 2.13)

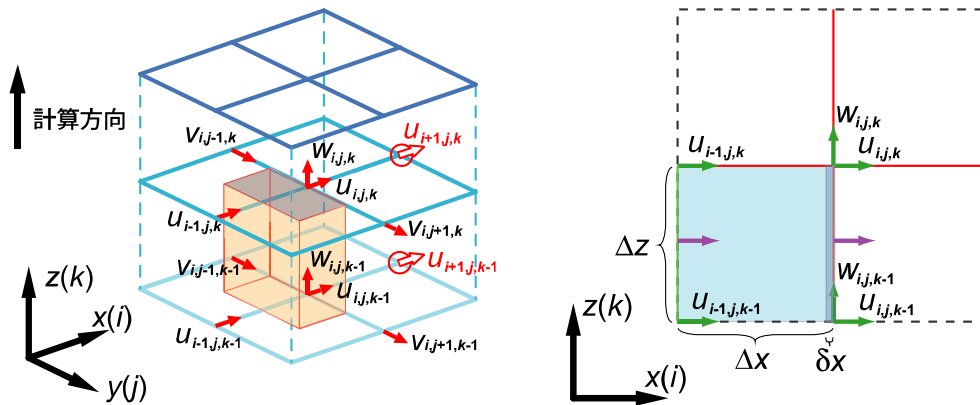


図 2.13 着目平面 1 近傍およびその z 方向直下のみ無しの検査体積.

図 2.13 右に示すように xz の 2 次元で考えると, x 方向の速度勾配は

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k \sim k-1} = \frac{(u_{i,j,k} + u_{i,j,k-1})/2 - (u_{i-1,j,k} + u_{i-1,j,k-1})/2}{\Delta x} \quad (2.18)$$

で計算され, y 方向は式(2.14)を踏襲できる. $w_{i,j,k}$ は式(2.16)から算出可能である.

- ④ 着目平面 2 近傍およびその z 方向直下どちらか 1 近傍のみ無し
 - ⑤ 着目平面 2 2 近傍およびその z 方向直下 2 近傍無し
- ①~③の組み合わせであり, 式(2.15)~(2.18)を踏襲できる.

(3) 計算方向に関する検討

w を算出する z 方向においてオーバーハングとなる領域が生じる方向に計算を進めると, w 速度があるはずのオーバーハング部でも $w = 0$ として計算が進んでしまう. よって, 断面積のオーバーハングが起きない方向に計算を進める必要がある. 具体的には, 液滴流れにおける界面形状の特徴を考慮し, 連続相は流路底面直近断面から流路中央深さ断面方向へ, 分散相は逆に流路中央深さ断面から流路底面直近断面の方向へ計算を進めることとなる.

2.6 不確かさ解析

すべての計測値から誤差を無くすことは不可能であり, 問題の焦点は誤差が計測の目的を阻害する要因となるかどうかである. 本研究で目的としている液滴生成現象の測定値は真値が未知であるため, 誤差の直接評価ではなく, 測定値における確率的な誤差の

限界値という概念である「不確かさ」を推定する手法が取られる。本節では多波長共焦点マイクロ PIV システムを用いた測定値が液滴生成メカニズムの解明に必要な精度を持たせるといった目的から、不確かさ解析を行いつつ、並行して実験・計測条件の検討も行っていく。不確かさ解析の標準的な手法は PIV ハンドブック (2002, 2018) に準じ、本計測の不確かさ解析は木下 (2006) の共焦点マイクロ PIV システムにおける手法を参考とする。

また、本研究の目的である 3 次元流れの計測においては、連続の式を用いた面外方向速度成分の算出精度が議論の上で重要な役割を果たしていることから、特にその手法によって生じる誤差の蓄積について考察を行っている。

まず、2.6.1 項において、PIV 計測の定義から誤差要因を明らかにし、これらの計測への伝播について述べる。次いで 2.6.2 項に精度評価の方法として不確かさ解析の手法と計算手順を示し、2.6.3 項にて本論文における T 字型マイクロ流路における液滴生成現象の計測 (低 Ca 条件) を取り上げて PIV の面内計測に対する具体的な不確かさ解析を行う。最後に、2.6.4 項において連続の式を用いた面外方向速度成分算出操作によって生じる w 成分の誤差蓄積について計算・考察する。

2.6.1 誤差の要因

PIV では、2 時刻間の粒子像の移動量から物理空間の速度を求める。2 時刻の時間間隔を Δt [s]、粒子像の変位量を ΔX [pixel]、画像の変換係数を α [$\mu\text{m}/\text{pixel}$]、物理空間での流体速度を v [$\mu\text{m}/\text{s}$] とすると、次の関係式が成り立つ。

$$v = \alpha \frac{\Delta X}{\Delta t} + \delta v \quad (2.19)$$

式(2.19)より、 v の不確かさは Δt 、 ΔX 、 α にそれぞれ関連する誤差要因を全て考慮する必要がある。PIV は流速を直接計測するのではなく、トレーサ粒子の移動量を速度に換算する間接計測であるため、この計測原理に起因する誤差を δv と表記し、不確かさ解析によって推定する。

Δt はカメラのフレーム間隔と照明光の発光タイミングの精度に依存するが、本計測では連続光を用いているため、タイミングのズレはカメラシャッターの動作精度に依存する。今回の計測に用いた高速度カメラ・Phantom V7.1 はオンチップシャッターの最短露光時間を $2 \mu\text{sec}$ まで設定可能なため、その動作精度はさらに 1/100 程度 (20 nsec 程度) は保証されていると考えられる。計測時の撮影フレームレート 1,000 fps における $\Delta t = 1 \text{ msec}$ に対してシャッターの動作精度を考慮すると、 Δt の不確かさは 0.002 % ほどであり、十分小さいものとみなすことができる。

一方, ΔX , α については, 物理空間と像平面の間に多くの装置や手順が介在するため, PIV の不確かさの多くがここで発生する. マイクロ PIV 特有の誤差要因としては, 対物レンズの光学的解像度の限界, 顕微鏡の被写界深度の影響などがある. 最後に, 計測原理に起因する誤差 δv として, 特にマイクロ PIV においてはトレーサ粒子のブラウン運動の影響が挙げられる. これらの要因について評価を行う.

本計測における多波長共焦点マイクロ PIV の誤差要因を(1)校正に伴う誤差, (2)データ収集に伴う誤差, (3)データ処理に伴う誤差, (4)計測原理に伴う誤差に分類し, 各要素 α , ΔX , Δt および δv に対する誤差要因を以下の表 2.9~表 2.12 にまとめる.

表 2.9 PIV の誤差要因 (1) 校正に伴う誤差.

要素	誤差要因
ΔX	-
Δt	-
α	<ul style="list-style-type: none"> ・ 基準スケーリング <ul style="list-style-type: none"> 像長さ 物理長さ ・ 撮像系 <ul style="list-style-type: none"> レンズひずみ 被写界深度 背景ノイズ 光の屈折

表 2.10 PIV の誤差要因 (2) データ収集に伴う誤差.

要素	誤差要因
ΔX	<ul style="list-style-type: none"> ・ 撮像系 <ul style="list-style-type: none"> レンズひずみ レンズの解像度 被写界深度 背景ノイズ 光の屈折 装置振動 画像ノイズ ・ 照明 <ul style="list-style-type: none"> レーザ強度の時間・空間変動 ・ 流れの 3 次元性 <ul style="list-style-type: none"> 共焦点深度
Δt	-
α	-

表 2.11 PIV の誤差要因 (3) データ処理に伴う誤差.

要素	誤差要因
ΔX	<ul style="list-style-type: none"> ・ 画像解析 <ul style="list-style-type: none"> サブピクセル精度 粒子群移動距離検出 空間周波数 スムージング 誤ベクトル 速度勾配 面外速度 粒子群の回転・変形
Δt	-
α	-

表 2.12 PIV の誤差要因 (4) 計測原理に伴う誤差.

要素	誤差要因
δv	<ul style="list-style-type: none"> ・ トレーサ粒子 流体への追従性 ブラウン運動 ・ 流れの 3 次元性 透視投影

2.6.2 精度評価の方法

不確かさ解析の基礎

不確かさ解析は ISO (国際標準化機構) とその他 6 つの国際機関が作成した「測定における不確かさの表現ガイド」の 2008 年改訂版「ISO/IEC GUIDE 98-3:2008 Uncertainty of measurement — Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995)」を基準として行われる。なお、本ガイドの日本語版ハンドブック (今井ら, 2018) も参考とした。

GUM における不確かさの定義は「測定の結果に付随した、合理的に測定量に結び付けられ得る値のばらつきを特徴づけるパラメータ」とされており、言い換えると「測定量の真値の候補のばらつきを表す指標」である。一般的に測定量の真値は不明なため、その存在範囲をばらつきを持った測定値の集合として不確かさというパラメータで集約する。

不確かさ解析の手法は個々の誤差要因と伝播を求めて積み上げる原因追求型評価と、誤差の伝播を追わずに比較実験から要因分析や不確かさ幅のみ評価する原因不問型評価の 2 種類がある。本研究においては、開発した多波長共焦点マイクロ PIV の計測システムとしての性能の検証と評価、また計測対象である液滴生成現象に特徴的な物理量に対する計測手法としての適応性や改善案の考察の目的から、前者の原因追求型評価を用いる。

誤差の仕組みについて 1 次元を例にとると、入力量 s に依存する出力量 (測定量) $X(s)$ を考えた場合、 s に誤差 ε_s が含まれているとすると、出力量は $X(s + \varepsilon_s)$ となる。これを式で表すと、

$$X(s + \varepsilon_s) = X(s) + \frac{\partial X}{\partial s} \varepsilon_s + o(\varepsilon_s^2) \quad (2.20)$$

となり、 ε_s の 2 次以上の項は小さいとして無視できる。実用的には X の s に対する傾き

に ε_s をかけたものが誤差となり，この傾き $\partial X/\partial s$ を感度係数 (sensitivity coefficient) と呼ぶ．感度係数は入力量の誤差への影響を表している．

具体的な不確かさの評価手法としては，標準不確かさ (standard uncertainty) の推定が中心となる．GUM ではタイプ A とタイプ B の 2 種類の評価法を用いており，それぞれ，

- ・タイプ A：統計的手法による不確かさ推定
- ・タイプ B：統計的手段が使用できない場合の不確かさ推定

に分類される．タイプ A では， N 回の測定値 q_i に対する平均値 q_{ave} および標準偏差 q_{stddev} は以下で求められる．

$$q_{ave} = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N q_k \quad (2.21)$$

$$q_{stddev} = \left\{ \frac{1}{N-1} \sum_{k=1}^N (q_k - q_{ave})^2 \right\}^{1/2} \quad (2.22)$$

ここで計測値に対しては q_{stddev} そのものが推定標準不確かさ u になり，次式で与えられる．

$$u(q_{ave}) = \frac{s}{\sqrt{N}} \quad (2.23)$$

タイプ B では，メーカーの仕様書などでしか得られない精度のデータから標準不確かさを推定する．例えば精度 $\pm a\%$ の記載があった場合，その範囲内を一様分布と仮定すると推定標準誤差は $u = a/\sqrt{3}$ で与えられる．この $\sqrt{3}$ は除数と呼ばれ，想定する確率分布が正規分布の場合には包含係数 k が除数となる．

複数の不確かさ要因が存在する場合，個々の要因における標準不確かさを集約して合成標準不確かさ (combined standard uncertainty) u_c を求め，評価する．入力量を x_1, x_2, \dots, x_N とし，これらがすべて独立の場合， u_c は次式で与えられる．ここで c_i は感度係数である．

$$u_c^2 = \sum_{i=1}^N c_i^2 u^2(x_i) \quad (2.24)$$

不確かさ解析の計算手順

GUM のガイドラインに示されている不確かさ解析の具体的な手順と概要を以下に示す．

- ・ Step 1 測定量の定義

GUM による不確かさは測定量に対するパラメータのため、評価前にそれぞれの測定量をどのような方法で測るのかを定義しておく。また、それに伴う実験・計測条件もまとめておく。

・ Step 2 標準不確かさの推定

先述「不確かさの基礎」で説明した評価法に基づいて、タイプ A とタイプ B の 2 種類について標準不確かさを推定する。

・ Step 3 標準不確かさの合成

Step 2 で推定した標準不確かさから合成標準不確かさ u_c を求める。基本的には式(2.24)にある二乗和平方根を用いる。

2.6.3 本計測における不確かさ解析

本計測条件下における多波長共焦点マイクロ PIV の計測精度を評価するために、2.6.1, 2.6.2 項に従って不確かさ解析を行う。

Step 1 測定量の定義

本項では、第 4 章の液滴生成流れにおける高 Ca 条件での連続相側の計測を取り上げる。はじめに、計測に用いた機器および計測条件の一覧を表 2.13 および表 2.14 に示す。より詳細な実験・解析条件は 4.2~4.5 節を参照のこと。

本計測では、不確かさ解析の対象とする測定量を連続相側の瞬時速度成分 u とする (高 Ca 時平均流速 $u_{ave} = 1.771$ mm/sec, 撮影フレームレート 1,000 fps ($\Delta t = 1$ msec), $\Delta X = u_{ave}\Delta t/\alpha = 4.754$ pixel)。測定される速度は式(2.18)に従うものとする。各不確かさ要因は表 2.9~表 2.12 に挙げた項目である。なお、画像の時間間隔 Δt についてはその不確かさは十分小さいため、すべて 0 としている。

表 2.13 計測に使用した機器および実験条件の一覧.

対物レンズ	型式	HCX PL APO 40×/1.25-0.75
	倍率	40 倍
	NA	1.25
	作動距離	100 μm
共焦点スキャナ	型式	CSU-X
	ディスク回転数	10,000 rpm
	スキャニング速度	4,000 fps
カメラ	型式	Phantom v7
	画素数	800 (H) \times 600 (V) pixel
	撮影フレームレート	1,000 fps
	センサダイナミックレンジ	12-bit (4096 階調)
	センサ画素サイズ	22 \times 22 μm
照明 (水相側)	型式	DPSS 方式 CW レーザ Excel 1500, Laser Quantum Ltd.
	出力 (レーザーヘッド出口)	1.5 W
	出力 (対物レンズ出口)	1.8 mW
照明 (油相側)	型式	空冷 Ar-ion レーザ 543-BS- A03, Melles Griot Inc.
	出力 (レーザーヘッド出口)	150 mW
	出力 (対物レンズ出口)	12.8 mW
トレーサ粒子 (水相)	材質	ポリスチレン
	粒径	0.5 μm
	CV 値	3 %
	比重	1.05
トレーサ粒子 (油相)	材質	多孔質シリカ
	粒径	0.7 μm
	CV 値	30.7 %
	比重	2.10 (実比重) 0.70 (かさ比重) 1.35 (オイル含浸比重)

表 2.13 使用した機器および実験条件の一覧 (続き).

計測対象	種類	全面 PDMS 矩形断面流路
	流路断面形状	67.0 (W) × 56.2 (H) μm
	流量 (連続相)	0.40 μL/min
	平均流速 (連続相)	1.771 mm/s
校正板	種類	正方格子
	格子間隔	10 μm
	格子数 (サイズ)	20×20 グリッド (200 × 200 μm)

表 2.14 計測条件一覧.

撮影領域	撮影領域	231.0 × 173.3 μm (800 × 600 pixel)
	変換係数 α	0.2888 μm/pixel
	フレームレート	1,000 Hz
	画像時間間隔 Δt	1 msec
	平均粒子変位 ΔX	1.373 μm (4.754 pixel)
	画像内粒子径	3.31 pixel (連続相), 3.04 pixel (分散相)
解析条件	解析アルゴリズム	直接相互相関法 (相関値平均法)
	検査領域のサイズ	32 × 32 pixel
	探査領域のサイズ	80 × 64 pixel
	計測点間隔	7 × 7 pixel (2.0216 × 2.0216 μm)
	サブピクセル解析手法	ガウス近似 3 点補間

Step 2 標準不確かさの推定

ここでは、各不確かさ要因の推定値を求める。式(2.19)における各入力量 α , ΔX , δv をそれぞれ x_i ($= x_1 \sim x_3$) (Δt は省略) とし、 x_i の標準不確かさを $u(x_i)$ とする。さらに、 $u(x_i)$ に影響を及ぼす j 番目の不確かさ要因の標準不確かさを $u(x_{i,j})$ とするとき、 $u(x_i)$ は次式で与えられる。

$$u^2(x_i) = \sum_{j=1}^{N_i} c_{i,j}^2 u^2(x_{i,j}) \quad (2.25)$$

(1) α に伝播する誤差

画像座標における長さから物体空間における長さを求めるための変換係数 α は、基準スケールとして用いた校正板（対物マイクロメータ，オリンパス株式会社，OB-M#,1/100, ミクロ）の $10\ \mu\text{m}$ 格子の物理的長さ $l_{\text{scl}} = 160\ \mu\text{m}$ を，それが撮影された画像における長さ（像長さ） $L_{\text{scl}} = 554\ \text{pixel}$ を除したものである．

$$\alpha = \frac{l_{\text{scl}}}{L_{\text{scl}}} = \frac{160}{554} = 0.289\ [\mu\text{m}/\text{pixel}] \quad (2.26)$$

これから， l_{scl} の α に関する感度係数は

$$c_l = \frac{\partial \alpha}{\partial l_{\text{scl}}} = \frac{1}{L_{\text{scl}}} \quad (2.27)$$

と表され， $\partial \alpha / \partial l_{\text{scl}} = 1/554 = 1.81 \times 10^{-3}\ [1/\text{pixel}]$ となる．また， L_{scl} の α に関する感度係数は

$$c_L = \frac{\partial \alpha}{\partial L_{\text{scl}}} = -\frac{l_{\text{scl}}}{L_{\text{scl}}^2} \quad (2.28)$$

で表され， $\partial \alpha / \partial L_{\text{scl}} = -160 / 554^2 = -5.21 \times 10^{-4}\ [\mu\text{m}/\text{pixel}^2]$ である．

1) 基準スケージング

・物理長さ

物理的長さ l_{scl} は校正板の格子描画精度に依存し，本実験で用いた対物マイクロメータの格子はフォトリソグラフィに用いるマスク描画装置で描かれている．この精度は $0.1\ \mu\text{m}$ 以下であるため， l_{scl} の偏差は $\pm 0.1\ \mu\text{m}$ の区間内に一様分布すると考える．よって標準不確かさは式(2.22)より $u(l_1) = 0.1/\sqrt{3} = 0.058\ \mu\text{m}$ となる．感度係数は式(2.27)にある $c_{l1} = \partial \alpha / \partial L_{\text{scl}} = 1.81 \times 10^{-3}\ [1/\text{pixel}]$ である．

さらに l_{scl} に対して，対物レンズのもつ光学的な解像度（横の解像度）を考慮する必要がある．共焦点光学系の横の解像度 r_{lateral} は次式で表される（Wilhelm, 2003）．

$$r_{\text{lateral}} = \frac{0.51\lambda_{\text{ex}}}{NA} \quad (2.29)$$

ここで λ_{ex} は励起光の波長， NA は対物レンズの開口数である．多波長共焦点マイクロ PIV システムは 2 色の励起光（488nm, 532nm）を用いており，本実験の 40 倍対物レンズの $NA=1.25$ を用いると 0.199 および $0.217\ \mu\text{m}$ となるので，これを標準不確かさ $u(l_2)$ として計上する．感度係数は同じく $c_{l2} = \partial \alpha / \partial L_{\text{scl}} = 1.81 \times 10^{-3}\ [1/\text{pixel}]$ である．

・像長さ

像長さ L_{scl} は撮影した 10 μm ピッチの格子画像に対して目視により画素単位で読み取った長さであるため、各格子点の位置は ± 1.0 pixel の区間内で一様分布すると考えられる。よって標準不確かさは式(2.22)より $1.0 \text{ pixel} / \sqrt{3} = 0.58 \text{ pixel}$ これを 2 点に対して行ったので、総和としての標準不確かさは $u(L_1) = (2 \times 0.58^2)^{1/2} = 0.82 \text{ pixel}$ となる。感度係数は式(2.26)の $c_{L1} = \partial\alpha / \partial L_{scl} = -160 / 554^2 = -5.21 \times 10^{-4} \mu\text{m}/\text{pixel}^2$ である。

・対座標軸非平行度

基準スケールと計測面内の座標軸は平行である必要があり、この角度を θ_1 とすると基準スケールの像長さは $L_{scl}\theta_1^2$ 程度短くなる。本測定では標準不確かさ $u(\theta_1) = 0.005 \text{ rad}$ ($= 0.31^\circ$) 程度であった。変換係数は $\alpha = 1 / (L_{scl} - L_{scl}\theta_1^2)$ とおけるので、感度係数は $c_{\theta_1} = \partial\alpha / \partial\theta_1 = 2L_{scl}\theta_1 / L_{scl} = 0.003 \mu\text{m}/\text{pixel}$ となる。

2) 撮像系

・レンズひずみ

L_{scl} はレンズひずみの影響も受けると考えられ、校正板の格子を用いてひずみを解析したところ、1 画像内ではそのひずみは標準偏差として 0.72%程度であった。また、多波長光学系においては長波長側と短波長側で倍率を完全に一致させることが難しく、標準偏差は 1.87%程度存在した。これは 1 画像内の標準偏差より大きいためこちらを採用し、標準不確かさは $u(L_2) = 0.0187L_{scl} = 10.36 \text{ pixel}$ となる。感度係数は $c_{L2} = \partial\alpha / \partial L_{scl} = -160 / 554^2 = 5.21 \times 10^{-4} \mu\text{m}/\text{pixel}^2$ である。

・カメラ素子ひずみ

カメラの CMOS 素子の製作精度に関する報告 (PIV の実用化・標準化研究会最終報告書, 2000) から、画素サイズの誤差を 0.0056 pixel と推定する。この誤差が一様分布していると考えると、各画像位置の標準不確かさは $0.0056 \text{ pixel} / \sqrt{3} = 0.032 \text{ pixel}$ であり、基準スケールの 2 点について独立に関与するので総和としての標準不確かさは $u(L_3) = (2 \times 0.0032^2)^{1/2} = 0.0045 \text{ pixel}$ となる。感度係数は $c_{L3} = \partial\alpha / \partial L_{scl} = -160 / 554^2 = 5.21 \times 10^{-4} \mu\text{m}/\text{pixel}^2$ である。

・光軸非直角性

共焦点マイクロ PIV では、倒立顕微鏡の光学系により光軸と計測断面の直角性は高度に保持されているため考慮しない。

- ・被写界深度

計測領域は校正版上の 2 次元平面のため、被写界深度の影響は無い。

- ・背景ノイズ

像長さ L_{scl} に誤差を与えると考えられるが、「像長さ」に含まれる。(PIV の実用化・標準化研究会最終報告書, 2000)

- ・標本化

像長さ L_{scl} に誤差を与えると考えられるが、「像長さ」に含まれる。(PIV の実用化・標準化研究会最終報告書, 2000)

- ・光の屈折

基準スケール撮影時における光の屈折はないため、光の屈折による影響は水平面内には影響がないと考えられる。

(2) ΔX に伝播する誤差

1) 照明

- ・レーザ強度の時間・空間変動

本研究の計測システムでは照明にパルスレーザではない連続光を用いており、出力も一定となるよう制御されているため時間変動は無視できる。また空間変動についても、共焦点スキャナからの照明光が計測面に対して必ず垂直に入ることや、トレーサとして散乱光ではなく発光する蛍光を撮影しているため、誤差は生じない。

2) 撮像系

- ・レンズひずみ

α でのレンズひずみの項で考慮したが、基準スケールと実際の計測における撮影位置は同一ではないため、それぞれの不確かさを独立して考える。 α の項で用いた標準偏差 1.87%により、標準不確かさは $u(\Delta X_1) = 0.0187 \times 4.754 = 0.0889 \text{ pixel}$ となる。感度係数は $c_{\Delta X_1} = 1$ である。

- ・カメラ素子ひずみ

α の項で示したとおり、各画像位置の標準不確かさは $0.0056 \text{ pixel} / \sqrt{3} = 0.032 \text{ pixel}$ である。PIV 画像の 1 時刻目と 2 時刻目でそれぞれ独立に不確かさが含まれるため、その総和は $u(\Delta X_2) = (2 \times 0.0032^2)^{1/2} = 0.0045 \text{ pixel}$ となる。感度係数は $c_{\Delta X_2} = 1$ である。

・光軸非直交性

共焦点マイクロ PIV では、光軸と計測断面の直角性は高度に保持されているため考慮しない。しかし、底面を PDMS でスピコートされた流路チップはスピコート厚さのムラにより、最も底面近傍における粒子画像から、画面両端（長さ 220 μm ）で被写界深度の 1/4（0.5 μm ）ほど最大でずれている可能性があり、非直角度に換算すると $\theta = 0.0023 \text{ rad}$ （0.13°）程度と見積もられた。これは光軸非直交性と言い換えることができ、これにより画像上での粒子移動量 ΔX が $\Delta X \theta^2$ 程度変化する。よって、計測される粒子移動量を ΔX_m とすれば $\Delta X_m = \Delta X + \Delta X \theta^2$ となり、感度係数は $\partial \Delta X_m / \partial \theta = 2 \Delta x \theta$ で与えられる。本 PIV 計測の最大速度を矩形ポアズイユ流における平均流速の 2 倍と概算すると、 $u_{\text{max}} = 1.771 \times 2 = 3.542 \text{ mm/sec}$ 、 $\Delta X_{\text{max}} = u_{\text{max}} \times \Delta t / \alpha = 12.26 \text{ pixel/frame}$ なので、感度係数は $c_{\Delta X_3} = 2 \times 12.26 \times 0.0023 = 0.028 \text{ pixel}$ である。

・被写界深度

共焦点マイクロ PIV における被写界深度は共焦点深度と呼ばれ、第 2 章で実験的に求めた。共焦点マイクロ PIV で計測される流速は、この計測深度内の流速分布を深さ方向に平均したものと考えることができる。したがって被写界深度の影響を計測誤差として評価することは適切ではなく、あくまで深さ方向の計測領域の大きさを示す計測パラメータとして考えるべきである。

・背景ノイズ

サブピクセル解析精度に影響を与えるが、後述の「粒子群移動距離検出」に含まれる。

・標本化

後述の「粒子群移動距離検出」に含まれる。

3) 流れの 3 次元性

・レーザ光シート厚さ

面外方向成分である Δz が大きい場合、被写界深度（ここでは共焦点深度）から粒子が消失すると計測精度が低下する。その Δz の目安は被写界深度の 1/4 とされており、本計測対象では主流に対して 30° 程度傾く流れがそれに相当すると見積もられる。これは $\Delta z = \Delta x \times \sin 30^\circ = 4.754 \times 0.289 \times 0.5 = 0.687 \mu\text{m}$ となり、これは被写界深度の 1/4 の 0.703 μm よりも小さいため不確かさは無視できる。

4) 画像解析

・サブピクセル精度（粒子群移動距離検出）

粒子移動量の算出にはサブピクセル解析を実装しているが、この精度はトレーサ粒子径、粒子密度、速度勾配など多くのパラメータに依存しており個別の評価が難しい。そこで、可視化情報学会で公開されている人工画像（VSJ-PIV 標準画像, Okamoto et al., 2000）を用いた解析を行い、誤差を推定した。ここでは精度評価の指標 E として、正解値 u_t, v_t と解析値 u_m, v_m の二乗誤差である RMS (root mean square) 誤差を用いた (式 (2.30))。この RMS 誤差は 2.6.2 項におけるタイプ A 評価法で求める標準不確かさに相当する。また、偏り誤差 B は解析を N 回繰り返して、式 (2.31) で見積もる。

$$E^2 = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \{(u_m - u_t)^2 + (v_m - v_t)^2\} \quad (2.30)$$

$$B = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (u_m - u_t) \quad (2.31)$$

式 (2.30), (2.31) を用いて本計測と同じ 3 回のアンサンブル相関法の PIV 解析データに対する誤差評価を行った結果、標準偏差は 0.493 pixel, 偏りは ± 0.0113 pixel となった。よって、粒子群移動距離検出の偶然効果および系統効果による標準不確かさは $u(\Delta X_4) = 0.493$ pixel, $u(\Delta X_5) = 0.0113 / \sqrt{3} = 0.0065$ pixel となる。感度係数は $c_{\Delta X_4} = c_{\Delta X_5} = 1$ である。

・ 2 時刻間での粒子輝度変化

単一粒子の蛍光強度が 2 時刻間で異なる場合、粒子移動距離の検出におよそ 0.1 pixel 程度の RMS 誤差が生じると報告されている (Nobach et al., 2009)。本計測においては、共焦点スキャナのニポウディスク回転により生ずる共焦点縞や、流れの 3 次元性に伴う輝度変化が考えられる。これによる粒子変位の不確かさは $u(\Delta X_6) = 0.1$ pixel となる。感度係数は $c_{\Delta X_6} = 1$ である。

・ 誤ベクトル

一般的な PIV 実験において十分に管理された計測が行われている場合、誤ベクトルによる RMS 誤差は 0.1 pixel 程度である (Nishio et al., 2003)。これによる粒子変位の不確かさは $u(\Delta X_7) = 0.1$ pixel となる。感度係数は $c_{\Delta X_7} = 1$ である。

(3) δu に伝播する誤差

1) ブラウン運動

マイクロ PIV では粒径がサブミクロンサイズのトレーサ粒子を用いているため、粒子自身のランダムな運動であるブラウン運動の影響を考慮する必要がある。理論的なブラウン運動による粒子の平均移動距離は、下記のストークス・アインシュタインの式で

示される.

$$\overline{x_B^2} = 2Dt = \frac{k_B T t}{3\pi\mu r} \quad (2.32)$$

$$D = \beta k_B T = \frac{k_B T}{6\pi\mu r} \quad (2.33)$$

ここで D [m²/s] は拡散係数であり, k_B はボルツマン係数 (= 1.380658×10⁻²³ [J/K]), T [K] は温度, μ [Pa·s] は周囲流体の粘性係数である.

液滴生成実験でのパラメータを用いて, ブラウン運動の大きさを計算した結果を表 2.15 に示す. 平均移動速度を絶対偶然誤差に計上し, 感度係数は 1 である.

表 2.15 ブラウン運動.

	連続相	分散相
トレーサ粒子径 $2r$ [μm]	0.7	0.5
流体粘度 T [mPa s] @25°C	10.58	44.15
平均移動距離 (偏り誤差) @ $\Delta t = 1\text{msec}$ [μm]	5.316×10^{-3}	1.285×10^{-2}
[pixel]	1.841×10^{-2}	4.449×10^{-2}
平均移動速度 [mm/s]	5.316×10^{-3}	1.285×10^{-2}

Step 3 標準不確かさの合成

変換係数 α , 画像上での変位量 ΔX , 計測原理に関わる誤差 δv について, 上記の不確かさ要因を計算した結果を表 2.16 および表 2.17 にまとめる.

合成標準不確かさは式(2.23)より 153.2 μm/s となり, PIV 画像での移動量に換算すると 0.530 pixel/frame であった. 基準とした高 Ca 条件における連続相平均流速 $u_{ave} = 1.777$ mm/sec に対応する相対合成標準不確かさは $153.2 / 1777 = 0.0862 = 8.62\%$ となる. この値は PIV 計測の標準的な計測精度である 10% と比べて遜色無く, 精度がコントロールされた計測が行われていると評価できる.

不確かさ要因のうちで顕著なものは, 表 2.16, 表 2.17 における右端列のパーセンテージ値の大きさで評価される. まず, 表 2.17 での各入力量における最大の不確かさ要因は粒子像変位 (ΔX) であり, 全体のおよそ 8 割を占める. さらに表 2.16 にある各入力量に含まれる要因の寄与を見ると, ΔX 内の詳細な不確かさ要因のうち, 本計測における最大の誤差要因は粒子群移動距離検出アルゴリズムによるものであると分かり, 不確かさ全体に占める割合は $49.5\% + 0.7\% = 50.2\%$ とおおよそ半分を占めている. その次に大きい不確かさ要因としては本計測システムのハード面であるレンズひずみの影

響が校正および粒子変位に対して合計で $11.7\% + 8.9\% = 20.6\%$, 2 時刻間での粒子輝度変化によるものと誤ベクトルによるものがそれぞれ 10.0% , 次いで計測対象に由来する要因のブラウン運動が 6.8% であった。

この不確かさ解析結果を考察すると、粒子群移動距離検出アルゴリズムによるものが突出して大きく、その値も他の解析例 (PIV ハンドブック内の解析具体例・2018, 靱ら 2010) と比べて数倍大きかった。その理由の一つとして本計測では粒子の局所移動量が大きいことと、粒子濃度を上げることに限界があったため、検査領域サイズを他の解析例より 2 倍近く大きくとっていることが考えられる。この不確かさを改善するには、検査領域サイズを小さくするためにトレーサ濃度と計測フレームレートの両方を上げなければならないが、本実験で用いた光学系および機器の時間分解能は現時点で最も高性能なものを用いており、さらなる改善は実現しなかった。しかし、値としての 0.530 [pixel/frame] は PIV ハンドブック (2018) の標準解析における値である $0.4 \sim 0.5$ [pixel/frame] と比べて遜色無いため、計測としては問題無い水準にある。

表 2.16 標準不確かさの推定.

標準不確かさ成分 $u(x_i) \ u(x_{i,j})$	不確かさ要因	標準不確かさの値 $u(x_{i,j})$	感度係数 $c_{i,j} \equiv \partial x_i / \partial x_{i,j}$	$u(x_i) \equiv c_{i,j} u(\partial x_{i,j})$	入力量 内%	全体 内%
$u(\alpha)$	校正					
$u(l_1)$	物理長さ(マスク描画精度)	0.058 μm	1.81×10^{-3} 1/pixel	1.05×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	1.7	0.2
$u(l_2)$	物理長さ(レンズ横解像度)	0.217 μm	1.81×10^{-3} 1/pixel	3.93×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	6.2	0.8
$u(L_1)$	像長さ	0.82 pixel	-5.21×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}^2$	4.27×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	6.7	0.9
$u(\theta_1)$	対座標軸非平行度	0.005 rad	0.003 $\mu\text{m}/\text{pixel}$	1.50×10^{-5} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	0.2	0.0
$u(L_2)$	レンズひずみ	10.36 pixel	5.21×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}^2$	5.40×10^{-3} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	85.1	11.7
$u(L_3)$	カメラ素子ひずみ	0.0045 pixel	5.21×10^{-4} $\mu\text{m}/\text{pixel}^2$	2.34×10^{-6} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	0.0	0.0
$u(\Delta X)$	粒子変位					
$u(\Delta X_1)$	レンズひずみ	0.0889 pixel	1	8.89×10^{-2} pixel	11.2	8.9
$u(\Delta X_2)$	カメラ素子ひずみ	0.0045 pixel	1	4.50×10^{-3} pixel	0.6	0.5
$u(\Delta X_3)$	光軸非直角性	0.0023 rad	0.028 pixel	6.44×10^{-6} pixel	0.0	0.0
$u(\Delta X_4)$	粒子群移動距離検出 (偶然効果)	0.493 pixel	1	4.93×10^{-1} pixel	62.2	49.5
$u(\Delta X_5)$	粒子群移動距離検出 (系統効果)	0.0065 pixel	1	6.52×10^{-2} pixel	0.8	0.7
$u(\Delta X_6)$	2時刻間での粒子輝度変化	0.1 pixel	1	1.00×10^{-1} pixel	12.6	10.0
$u(\Delta X_7)$	誤ベクトル	0.1 pixel	1	1.00×10^{-1} pixel	12.6	10.0
$u(\delta v)$	追従性					
$u(\delta v_1)$	ブラウン運動	0.0129 mm/s	1	1.29×10^{-2} mm/s	100	6.8

表 2.17 不確かさの評価結果 (バジェットシート).

入力量	測定値 x_j	標準不確かさの値 $u(x_j)$	感度係数 $c_j \equiv \partial f / \partial x_j$	$u_j(v) \equiv c_j u(\partial x_j)$	%
変換係数 α	0.289 $\mu\text{m}/\text{pixel}$	5.430×10^{-3} $\mu\text{m}/\text{pixel}$	4754 pixel/s	2.58×10^1 $\mu\text{m}/\text{s}$	13.7
粒子像変位 ΔX	4.754 pixel	5.203×10^{-1} pixel	289 $\mu\text{m}/(\text{s} \cdot \text{pixel})$	1.50×10^2 $\mu\text{m}/\text{s}$	79.5
追従性 δv	0	0.0129 mm/s	1	1.29×10^1 $\mu\text{m}/\text{s}$	6.8

残り 50%の不確かさ要因のうち、レンズひずみは現時点で十分な性能を有する対物レンズおよび光学素子を用いているため改善は難しく、2 時刻間の粒子輝度変化および誤ベクトルに関しても PIV で発生する標準的な値である。最後にブラウン運動に関しては、特にマイクロ PIV において主要な不確かさ要因になることが多いが (Oishi et al., 2014), 本混相流計測ではより粘度の低い連続相であっても水の約 10 倍の粘度があるため、(2.27)式によるとブラウン運動は水と比べて $\sqrt{1/10} = 0.316$ 倍ほどに抑えられており、主要な不確かさ要因とはならなかった。

2.6.4 連続の式を用いた z 方向速度成分算出における誤差

連続の式を用いた速度 w の誤差は、Pommer et al., (2007) の解析手法を参考とする。 z 方向速度成分の計算では、以下の 3 式を用いている。計算は図 2.14 に示すように z 座標の小さい方から大きい方へ進めるものとし、図内中央座標における w 速度を算出するために、同 z 座標 (k) 面内の u, v 4 速度および、ひとつ手前の z 座標 ($k-1$) における u, v 4 速度と w の 9 点を用いている。式にすると下記である。(つまり、2 次精度の中心差分を k 面と $k-1$ 面に対して行っている)

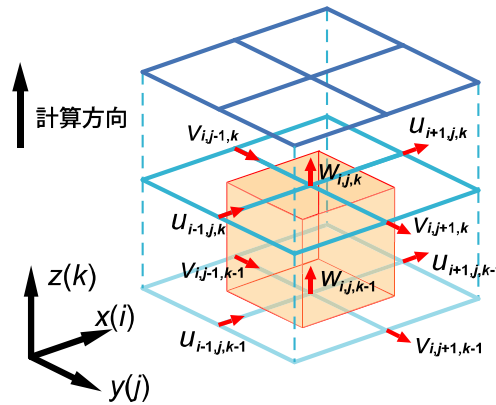


図 2.14 w 算出における検査体積と算出方向。

$$\left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k} = \frac{(u_{i+1,j,k} + u_{i+1,j,k-1})/2 - (u_{i-1,j,k} + u_{i-1,j,k-1})/2}{2\Delta x} \quad (2.34)$$

$$\left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k} = \frac{(v_{i,j+1,k} + v_{i,j+1,k-1})/2 - (v_{i,j-1,k} + v_{i,j-1,k-1})/2}{2\Delta y} \quad (2.35)$$

$$\left. \frac{\partial w}{\partial z} \right|_{i,j,k} = - \left. \frac{\partial u}{\partial x} \right|_{i,j,k} - \left. \frac{\partial v}{\partial y} \right|_{i,j,k} \quad (2.36)$$

$$w_{i,j,k} = w_{i,j,k-1} + \left. \frac{\partial w}{\partial z} \right|_{i,j,k} \Delta z \quad (2.37)$$

Pommer の式を用いると

$$\delta w^2 = \delta w_0^2 + \left[\delta \left(\frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right) \right]^2 + \left[\delta \left(\frac{\partial v}{\partial y} \Delta z \right) \right]^2 \quad (2.38)$$

$$\begin{aligned} \left(\delta \frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)^2 &= \left[\frac{\partial \left(\frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)}{\partial u_{i+1,j,k}} \delta u_{i+1,j,k} \right]^2 + \left[\frac{\partial \left(\frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)}{\partial u_{i+1,j,k-1}} \delta u_{i+1,j,k-1} \right]^2 \\ &+ \left[\frac{\partial \left(\frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)}{\partial u_{i-1,j,k}} \delta u_{i-1,j,k} \right]^2 + \left[\frac{\partial \left(\frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)}{\partial u_{i-1,j,k-1}} \delta u_{i-1,j,k-1} \right]^2 \end{aligned} \quad (2.39)$$

ここでの $\Delta x, \Delta y, \Delta z$ は誤差解析のパラメータとは異なり、ベクトルグリッド幅を表している
ので、 $\Delta x = \Delta y = 2.0216 \mu\text{m}$, $\Delta z = 2 \mu\text{m}$ を用いると

$$\begin{aligned} \left(\delta \frac{\partial u}{\partial x} \Delta z \right)^2 &= \left(\frac{1}{4\Delta x} \Delta z \delta u \right)^2 + \left(\frac{1}{4\Delta x} \Delta z \delta u \right)^2 \\ &+ \left(\frac{-1}{4\Delta x} \Delta z \delta u \right)^2 + \left(\frac{-1}{4\Delta x} \Delta z \delta u \right)^2 = 0.245 \delta u^2 \end{aligned} \quad (2.40)$$

y 方向も同様に

$$\left(\delta \frac{\partial v}{\partial y} \Delta z \right)^2 = 0.245 \delta v^2 \quad (2.41)$$

よって、連続相平均流に対応する相対合成標準不確かさ 8.62 % を用いて、

$$\begin{aligned} \delta w &= (0.245 \delta u^2 + 0.245 \delta v^2)^{0.5} \\ &= [0.245(0.0862^2 + 0.0862^2)]^{0.5} = 6.034\% \end{aligned} \quad (2.42)$$

本計測における計測断面数 n は 15 層あり、計算の開始基準面である底面もしくは中央高さ断面を除いた 14 層で w の計算を行うため、基準面から最も遠い層で生じる誤差は下記の式(2.43)により、

$$\delta w_n = (6.034\sqrt{n})\% = 22.58\% \quad (2.43)$$

と見積もることができる。

図 2.15 に w 成分誤差 δw_n のスライス間隔および層数に対する傾向を見積もった結果を記す。 u, v 速度成分の不確かさ 8.62 % に対して w 誤差は $\Delta z = 2 \mu\text{m}$ では 2 層目ではほぼコンパラになり、さらに 3 層目ですでに PIV 計測の標準的な計測精度である 10% を超過してしまう。最終的に基準面から最も遠い 14 層目では 22.58% に達し、 u, v 速度成分不確かさの 2.6 倍、標準精度の 2 倍以上の不確かさを生じることが分かった。ただし、この

値はあくまで各層で生じる最大の不確かさが蓄積した場合の値であり、不確かさが正負双方に生じうることを考慮するとこれより小さい値となる可能性は高い。第4章の計測結果にてその評価を行う。

なお、 $\Delta z = 3 \mu\text{m}$ とした場合、1層目から u, v 速度成分の不確かさを超過し、2層目で10%を超過してしまう。一方、 $\Delta z = 1 \mu\text{m}$ とした場合、10%を超過するのは11層目と、比較的 w 誤差の蓄積が緩やかであるが、最終断面である28層目に到達すると15.95%となり、 $\Delta z = 2 \mu\text{m}$ における14層目の22.58%に対し約29%の改善にとどまる。この改善をどう捉えるかにもよるが、 $\Delta z = 1 \mu\text{m}$ とした場合の実験時間が倍になることによるシリンジ容量の不足を考慮すると、 $\Delta z = 2 \mu\text{m}$ は妥当であると考えられる。また、先述した共焦点深度 $2 \mu\text{m}$ 強、および空間分解能を揃える意味においても $\Delta z = 2 \mu\text{m}$ は妥当である。

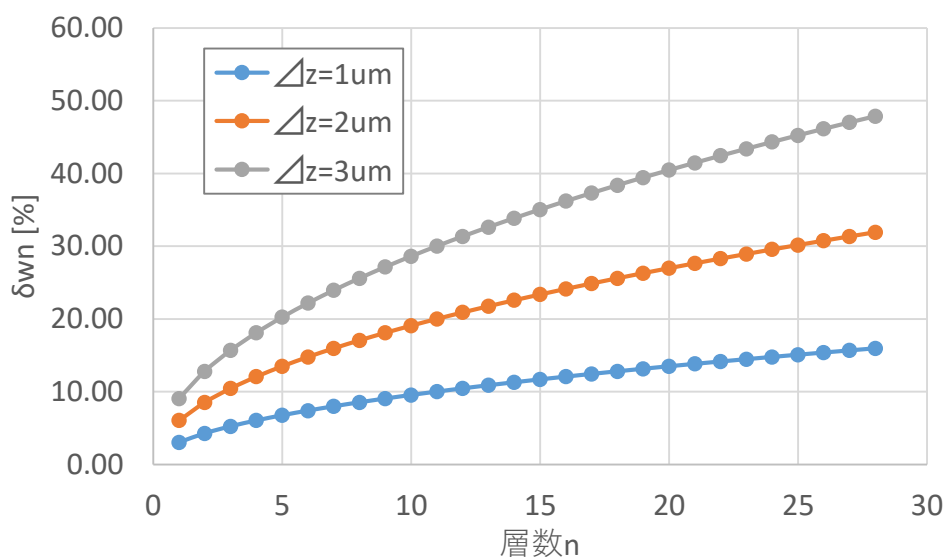


図 2.15 w 成分誤差のスライス間隔および層数に対する影響。

2.6.5 矩形流路流れの理論解を用いた精度評価

多波長共焦点マイクロ PIV の精度評価として、矩形断面流路流れを用いて理論値との比較を行った。特に、多波長化に際して精度低下の原因となりうる自作蛍光粒子を用いた油相流路は第 4 章で用いる液滴生成用の PDMS 製 T 字流路を用い、ジャンクション部手前の連続相流路直線部分を計測した。図 2.16 に計測領域を、表 2.18 にその流動条件を示す。

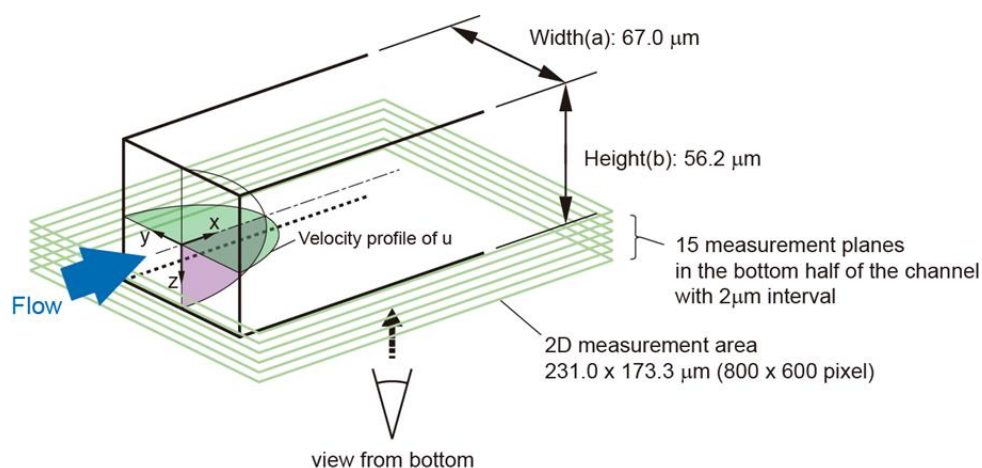


図 2.16 矩形流路のマイクロ PIV 計測領域。

表 2.18 作動流体と流動条件。

作動流体	シリコンオイル KF-6001
流体比重 [g/cc]	0.980
粘度 [mPa·s]	44.15
流路断面寸法 [μm]	幅 67.0×深さ 56.2
体積流量 [μL/min]	0.40
平均流速 [mm/s]	1.771
レイノルズ数	2.40×10^{-3}
トレーサ粒子	φ 0.7 μm Yellow-green (フルオレセイン染色) 蛍光多孔質シリカ粒子
共焦点深度 [μm]	2.81 ± 0.16
トレーサ粒子濃度 [vol%]	0.78

PIV の計測および解析条件も第 4 章と同じく、計測領域を $231.0 \times 173.3 \mu\text{m}$ 、面内空間分解能は $0.289 \mu\text{m}/\text{pixel}$ としている。撮影条件はフレームレート $1,000 \text{ fps}$ で露光時間は $994 \mu\text{sec}$ である。PIV 解析については、面内ベクトルグリッド間隔は $32 \times 32 \text{ pixel}$ の PIV 相互相関ウィンドウを 78% オーバラップさせて 7 pixel おきの $2.02 \mu\text{m}$ に設定した。探索領域は y 方向に 32 pixel 、 x 方向に 48 pixel としている。 z 方向の計測スライス間隔を $2 \mu\text{m}$ として流路下半分の計 15 スライスを計測し、最終的に約 $2 \mu\text{m}$ 格子の 2C3D 速度場が得られる。PIV で得られた速度場は 2.5 節で示したアンサンブル相関法によって 3 回の平均を取ったものを 35 時刻分用い、 x 方向速度成分の平均値 u_{ave} と分散値 u_{std} を精度評価に用いた。

矩形流路の理論解は以下の級数展開式にて与えられる (Shah and London (1978), Nguyen and Werely (2002))。ここで a と b は流路の幅と深さである。

$$u(y, z) = \frac{16a^2}{v\pi^3} \left(-\frac{dp}{dx} \right) \sum_{i=1,3,5..}^{\infty} (-1)^{\frac{i-1}{2}} \left[1 - \frac{\cosh(i\pi z/2a)}{\cosh(i\pi b/2a)} \right] \frac{\cos(i\pi y/2a\pi)}{i^3} \quad (2.44)$$

$$Q = \frac{4ba^3}{3v} \left(-\frac{dp}{dx} \right) \left[1 - \frac{192a}{\pi^5 b} \sum_{i=1,3,5..}^{\infty} \frac{\tanh(i\pi b/2a)}{i^5} \right] \quad (2.45)$$

軸方向流速分布

図 2.17, 図 2.18 に流路中心を通る xy , xz 断面における x 方向速度分布を示す。測定値のエラーバーは標準偏差を記している。理論値の放物線分布と定性的に近い結果が得られているが、流路中心軸近傍の速度が最大で 5.5% ほど大きいことと、壁面直近の速度が理論値から外れやすく、またばらつきも大きい傾向が見られた。前者は流路の製作過程において型のエッジが立たないことや、PDMS 転写時の収縮などによって実際の流路断面積が小さい可能性などが考えられる。後者は検査窓を用いた画像相関 PIV 解析に起こりやすい事象であり、これは壁面近傍のせん断応力の精度に影響を与える。

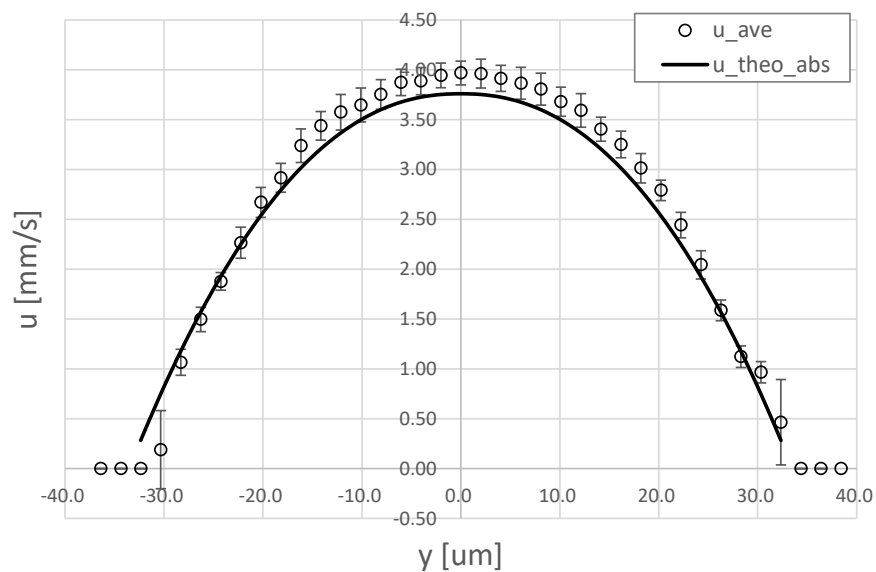


図 2.17 流路中央 xy 断面における x 方向速度分布.

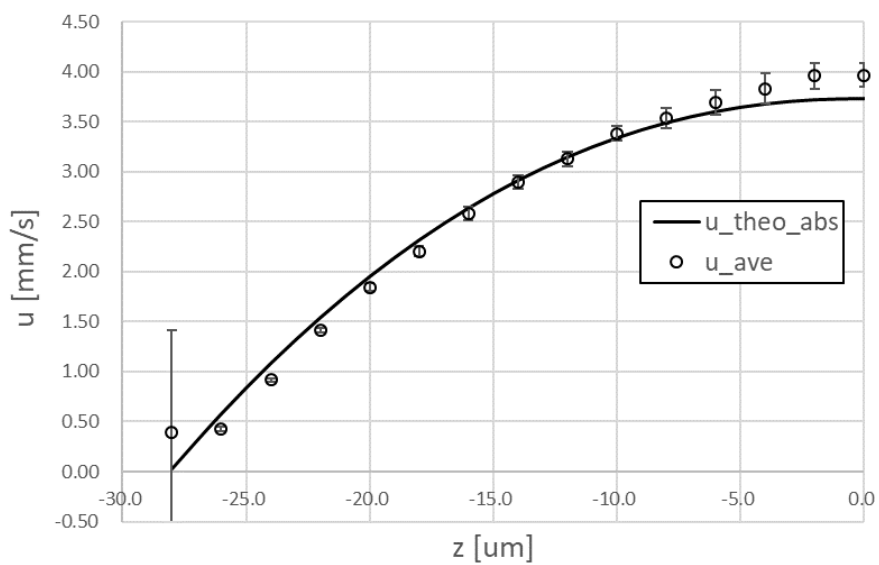


図 2.18 流路中央 xz 断面における x 方向速度分布.

図 2.19, 図 2.20 に x 方向速度の標準偏差と平均流速 1.778 mm/s を基準にして算出した不確かさ $153.2 \text{ }\mu\text{m/s}$ との比較を示す. 壁面直近を除いて, 標準偏差はおよそ不確かさを下回っており, 想定した計測が行えている.

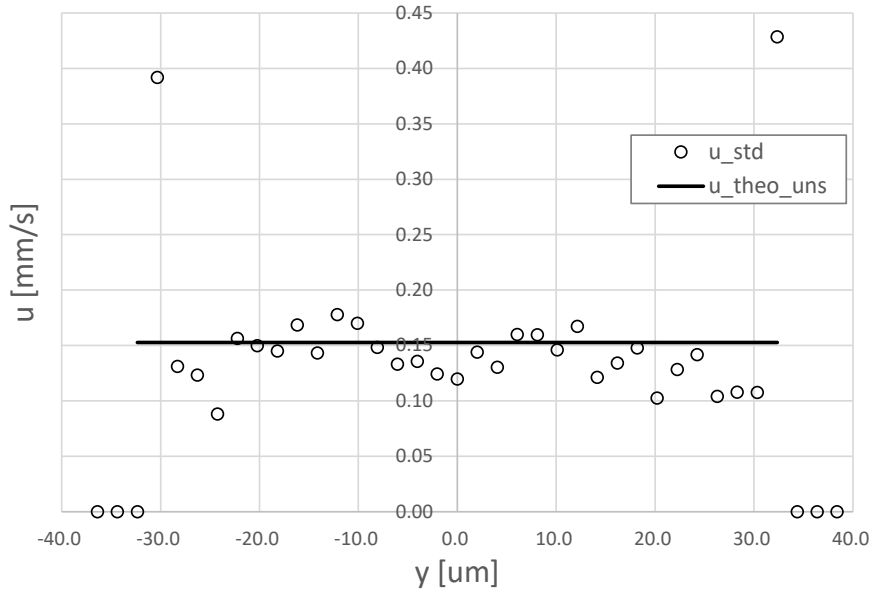


図 2.19 流路中央 xy 断面における x 方向速度の標準偏差と不確かさ.

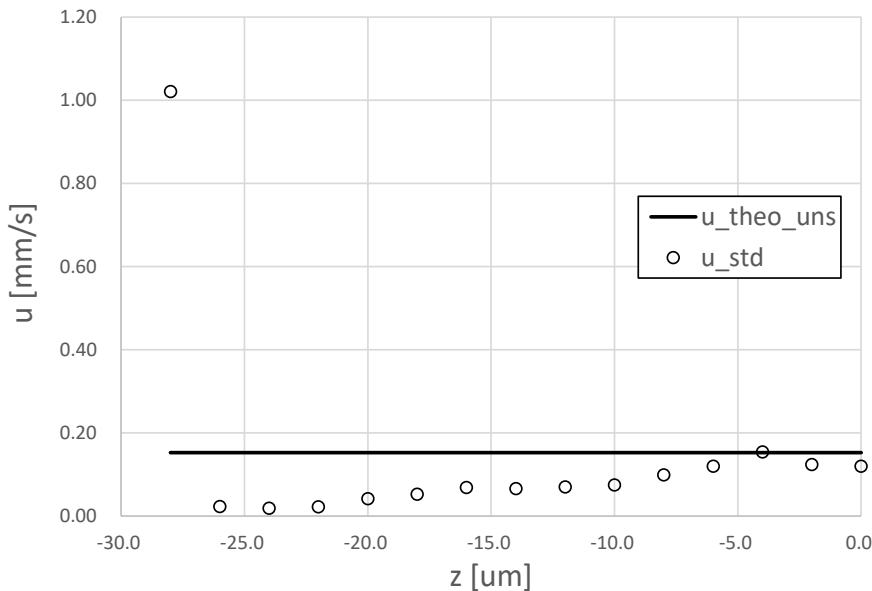


図 2.20 流路中央 xz 断面における x 方向速度の標準偏差と不確かさ.

y 方向速度成分

直管流れにおいては軸方向以外の速度理論値はゼロであるため、計測面内の流路軸に直行する方向の速度成分である v も理論的にはゼロである。速度ゼロに対する不確かさはパーセント表記では算出できないため、改めて $\Delta x = 0$ と置くことで不確かさ解析を行い、その絶対値を表 2.19 に算出した。

表 2.19 から得られる合成標準不確かさは式(2.23)から $151.0 \mu\text{m}/\text{sec}$ であり、この値を絶対誤差として計測値と比較した結果を図 2.21 に示す。部分的に標準偏差が標準不確かさを上回る点があるが、概ね不確かさ解析に近い値が得られている。

表 2.19 速度ゼロに対する不確かさの評価結果。

入力量	測定値 x_i	標準不確かさの値 $u(x_i)$	感度係数 $c_i \equiv \partial f / \partial x_i$	$u_i(v) \equiv c_i u(x_i)$	%
変換係数 α	$0.289 \mu\text{m}/\text{pixel}$	$5.430 \times 10^{-3} \mu\text{m}/\text{pixel}$	0	0	0.0
粒子像変位 ΔX	0	$5.203 \times 10^{-1} \text{pixel}$	$289 \mu\text{m}/(\text{s} \cdot \text{pixel})$	$1.50 \times 10^2 \mu\text{m}/\text{s}$	92.1
追従性 δv	0	$0.0129 \text{mm}/\text{s}$	1	$1.29 \times 10^1 \mu\text{m}/\text{s}$	7.9

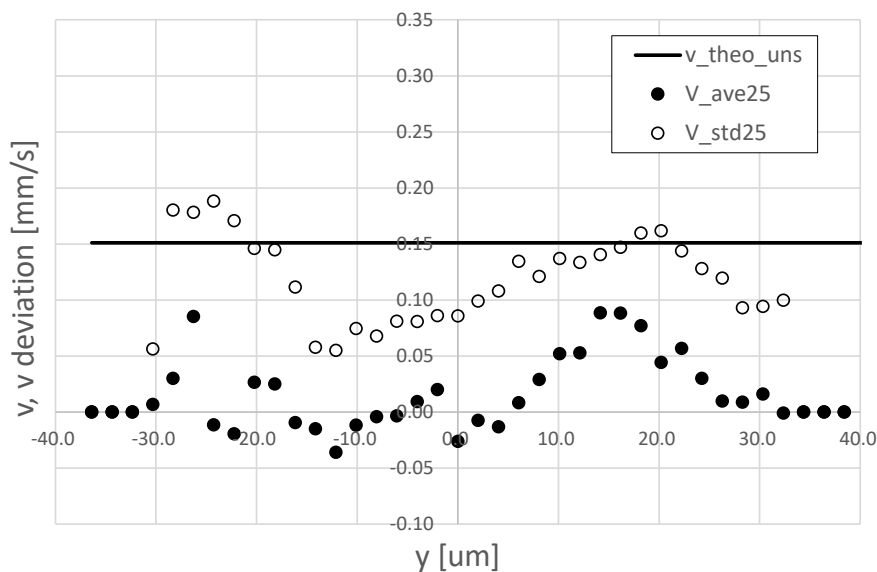


図 2.21 流路中央xy断面におけるy方向速度分布と標準偏差および不確かさ。

面外方向速度成分

前項で算出された面外方向速度成分 w の不確かさはパーセント表記であるため、理論値がゼロの速度 w に対しては値が算出できない。そこで、上記で求めた合成標準不確かさ $\delta u = 153.2$ [$\mu\text{m/s}$], $\delta v = 151.0$ [$\mu\text{m/s}$] を用いて δw の絶対値を計算する。

$$\begin{aligned} \delta w &= (0.245\delta u^2 + 0.245\delta v^2)^{0.5} = [0.245(0.1532^2 + 0.1510^2)]^{0.5} \\ &= 0.1065 \text{ mm/s} \end{aligned} \quad (2.46)$$

基準面から最も遠い $n = 14$ 層目における絶対誤差を得た。

$$\delta w_n = (0.1065\sqrt{n}) = 0.398[\text{mm/s}] \quad (2.47)$$

図 2.22 に軸方向流速，図 2.23 と図 2.24 にそれぞれ w 速度の平均値と標準偏差の分布を示す。まず，軸方向流速 u の分布は先述の図 2.17，図 2.18 にもプロットした通り，流路軸を中心にほぼ放物線状となる矩形管内層流の流速分布に近い分布を示している。

次に， w の平均速度（図 2.23）は基準面である中央高さ断面（図中では上辺）から流路底面（図中では底辺）へ向かうにつれて，正もしくは負の値が蓄積されていく部分が見られた。これは前項で予期された通りの挙動であった。また， w の誤差が蓄積されずに減る部分があったり，正負共に偏り無く発生していることから， w の不確かさは偶然誤差が大きいことを示している。値としては，最も蓄積量が大きくなりえる底面においては，式(2.43)で見積もられた値未満となっており，不確かさ解析の範囲内であることが示された。

w の標準偏差（図 2.24）に関しても不確かさ解析の値の範囲内であり，不確かさの見積もりが正確であることが示されている。

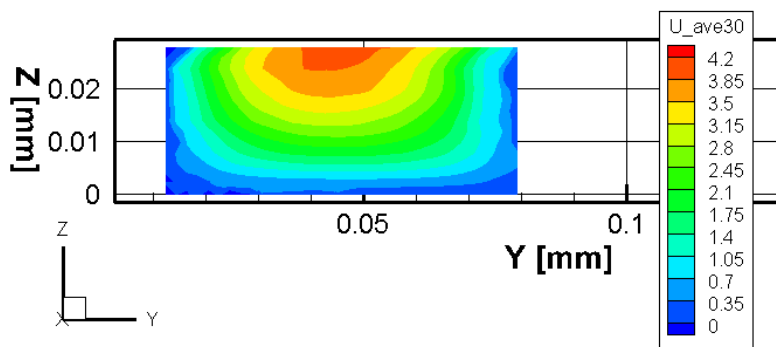
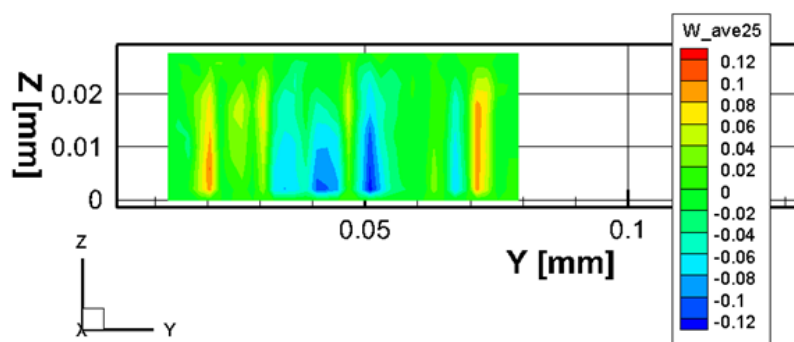
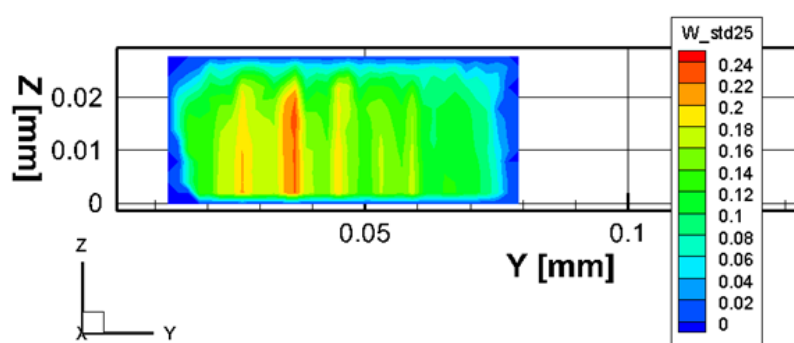


図 2.22 矩形流路断面（下半分）における平均 u 速度分布。

図 2.23 矩形流路断面（下半分）における平均 w 速度分布.図 2.24 矩形流路断面（下半分）における w 速度の標準偏差.

壁面せん断応力

矩形流路の流速場計測データを用いて、カバランス検証において必要な界面せん断応力 (ISS) τ_{IF} および壁面せん断応力 (Wall Shear Stress: WSS) τ_{wall} の算出精度を評価する. WSS は壁面直近の速度勾配の接線成分に粘度を乗じたものであり、さらにこれを壁面面積で積分することで生じる力や圧力損失が算出される. 例えば壁面の接線方向を x 軸、壁面から流体側の法線方向を y 軸とし、 z 方向の速度成分がない場合の τ_{wall} は次式で記述される.

$$\tau_{wall} = \mu \left. \frac{du}{dy} \right|_{wall} \quad (2.48)$$

PIV 計測データに対する WSS の算出には壁面位置において速度 0 の non-slip 条件を仮定し、その一つ内側の流体速度ベクトルの値を用いるべきである. しかし、図 2.17 ~ 図 2.20 に示すように PIV では壁面直近流速の算出精度が低いことや、PIV 画像から抽出される界面位置と最も外側の速度ベクトル算出点座標が重なる可能性もあるため、さらにもう一点内側の速度ベクトルを使用することとした. 使用したベクトルは

壁面から 2~4 μm の距離にあると考えられ、矩形流路流れの理論値と比較すると 91.5~95.8 %ほどとなった。これは偏り誤差として認識される。

図 2.25 に矩形流路下半分における WSS の 25 時刻平均値を示す。このように、時間平均を取っても WSS 値の空間分布にはばらつきが見られるものの、定性的には流路四隅の WSS が最小となるなど、特徴を正しく捉えている。定量的な検証として、図 2.26 に流路底面における流路幅 (y) 方向の WSS プロファイルを理論値と比較した。流路四隅近傍では理論値より若干過大評価する傾向が見られたが、中央軸近傍では理論値の 91.6~96.4%と誤差の見積とほぼ合致する結果が得られた。同様に、図 2.27 に示す流路側面での WSS 分布においても、おおよそ理論値と近い値が得られている。

さらに、管路を層流が流れる際の圧力損失 Δp と管路断面積の積は、壁面せん断応力の積算値と釣り合うという原理から、PIV データから得られた WSS 分布を壁面面積で積分し、圧力損失の理論値と比較することができる。圧力損失の理論値は次の Shah and London (1978)の式(2.49), (2.50)により算出する。ここで λ は縦横比： $\lambda = b/a$ ($\lambda < 1$)であり、 D_H は水力直径： $D_H = 4A/P = 2ab/(a + b)$ である。

$$\Delta p_{\text{SL}} = f \frac{4L}{D_H} \left(\frac{1}{2} \rho U^2 \right) \quad (2.49)$$

$$f = \frac{24}{Re_{D_H}} (1 - 1.3553\lambda + 1.9467\lambda^2 - 1.7012\lambda^3 + 0.9564\lambda^4 - 0.2537\lambda^5) \quad (2.50)$$

図 2.25 で示した領域の平均 WSS は 8.39 [Pa]であり、ここから算出される Δp は流路長 100 μm 当たり 55.58 [Pa]であった。これに対し、理論値は平均 WSS が 9.16 [Pa], 100 μm 当たり $\Delta p = 59.4$ [Pa]であり、算出値は理論値の 91.6~93.6%であった。これも WSS 算出時の偏り誤差と同等であり、PIV による WSS の算出精度として後述 5.1 節のカバランスの議論において用いる。

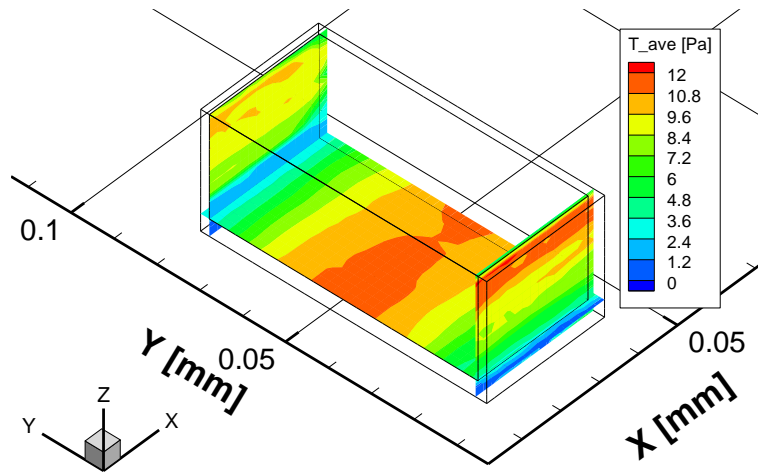


図 2.25 WSS 分布.

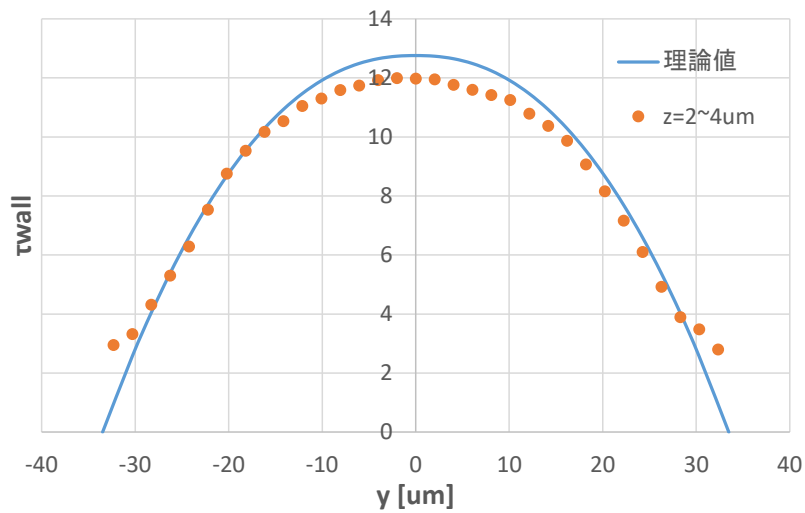


図 2.26 流路底面におけるy方向の WSS 分布.

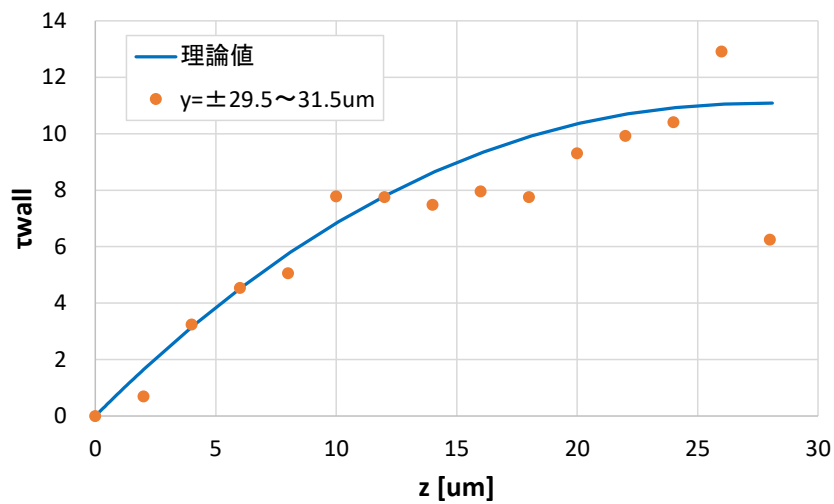


図 2.27 流路側面におけるz方向の WSS 分布.

2.7 多波長共焦点マイクロ PIV システム開発のまとめ

本章では共焦点マイクロ PIV システムに多波長分離光学系を組み込み、さらに液滴デバイスの作動流体として多用される油相に分散可能な蛍光トレーサ粒子を開発することで、マイクロ混相流を別々かつ同時に計測できるシステムを構築した。以下に本システムの特徴と性能、および従来手法と比較しての計測技術向上への寄与を述べる。

多波長光学系と波長分離ユニット

- 2 台の異なる波長を持つ蛍光励起用レーザを同軸に調整して導入する光学系とすることで、状況に応じて一方の波長のみを物理的に遮断したり、出力のバランス調整を可能としている。これにより、蛍光のクロストークを低減させる輝度調整が容易になるだけでなく、2 色 LIF や高速な出力調整・オンオフ切り替えによる複合的計測への展開応用が期待できる。
- 波長分離ユニット内部にリレーレンズを用いて並行光学系を構築することにより、2 光路の光路差や収差を最小限に抑えつつ、その間にダイクロイックミラーユニット、折り返しミラーユニット、光学フィルタ等の波長分離光学素子を自由に配置できる設計とした。これにより、2 台のカメラに映る視野や解像度を統一できるとともに、都度の校正無しにフィルタなどの差し替えを可能とした。
- 従来の単眼式波長分離ユニットとは異なり、2 台のカメラにより別々の画像を取得することができるため、蛍光強度やノイズ量に応じて露光時間を調整するなどして PIV 計測に最適な画像を得ることができる。また、時間・空間スケールの異なる対象を同時に撮影する際も個々のカメラのフレームレートやリレーレンズ倍率を変更することにより柔軟に対応できる。
- PIV だけでなく LIF（レーザ誘起蛍光法）や MTV（分子タギング速度計測法）、偏光計測などとの併用・同時計測に発展が可能で、流れ場と化学反応など異なる物理現象の相互作用のマイクロ計測に応用が期待できる。

油相用蛍光トレーサ粒子

- 油相のみに分散させることができる蛍光トレーサ粒子を開発し、水・油系の液液混相流に対して多波長システムを用いた計測を可能とした。
- 自作粒子の基材に多孔質粒子を用いることにより、粒子に油相を保持して親油性を持

続させることができるだけでなく、周囲流体の 2 倍近い真密度を持つシリカであっても、油相を保持させることで比重を周囲流体に近づけ、追従性を確保した。

- 共焦点マイクロ PIV 用の蛍光粒子として市販のポリスチレン粒子と遜色ない明るさ、共焦点深度を有し、さらに非常に安価に調製が可能である。
- フルオレセイン以外の蛍光染料でも製作が可能で、蛍光波長選択の自由度が高い。

粒子画像の取得と解析

- 多波長計測において選択した 2 色の蛍光波長について、比較的クロストークが起きやすい波長特性の組み合わせにおいても、十分な波長分離性能を達成した。
- PIV 解析領域マスクングにおいて、同期撮影を行った粒子画像を加算することで擬似的に粒子濃度を上げ、輝度平均値マップのばらつきを改善することによりマスクング界面の滑らかさの向上に成功した。

PIV 解析と不確かさ解析

- 連続の式を用いた w 速度算出において、精度向上および、界面に接する解析領域にも適用できる算出アルゴリズムを開発した。
- 本システムの計測装置としての性能として、表 2.1 および表 2.8 の情報から代表的な組み合わせを表 2.20 にまとめる。計測スライスを z 方向に積み上げて 3D2C ベクトル場を得る場合、共焦点深度に合わせる形で面内ベクトル間隔と z スライス間隔を決定することにより、計測面内・面外で均等な格子座標ベクトルマップを得ることができる。

表 2.20 多波長共焦点マイクロ PIV システムの代表的な計測性能 (2000 fps 時)。

対物 レンズ / NA	トレー サ粒子 径 [μm]	計測 深度 [μm]	共焦点 深度 [μm]	視野 [μm]	面内 解像度 [$\mu\text{m}/\text{pixel}$]	面内ベク トル間隔 (7pixel) [μm]	計測限 界速度 (16pixel) [mm/s]
20 \times / 0.70	1.0	7.82	5.87	462 \times 347	0.578	4.043	18.48
40 \times / 1.25	0.5	3.37	1.88	231 \times 173	0.289	2.022	9.241
63 \times / 1.40	0.3	2.27	1.28	147 \times 110	0.183	1.284	5.868
100 \times / 1.40	0.2	1.60	0.59	93 \times 70	0.116	0.812	3.712

- 不確かさ解析により計測面内、面外速度成分の不確かさを見積もった。40 倍対物レンズ、 $0.7\ \mu\text{m}$ 自作蛍光トレーサ粒子を用いた場合の結果は以下であった。
 - 面内速度成分の不確かさは 8.62%であった。
 - 3D2C 速度場に対する 3 次元再構築後の z 方向速度の誤差は計算の基準面から遠ざかるに従って増大するとともに、 z 方向のスライス間隔に比例して増大する。本計測条件における z スライス間隔 $2\ \mu\text{m}$ においては、14 層離れた断面において w 速度の誤差は 22.58 %であった。

- 矩形直線チャンネル内流れの計測により、不確かさ解析の妥当性を示した。

第3章

光センサによる液滴検出・選別システムの開発

3.1 開発の経緯と目的

共焦点マイクロ PIV での計測は 2 次元平面内に限られることから、3 次元流れを得るために高さ方向に計測断面を積み上げて 3D2C のボリュームデータとし、そこから連続の式を用いて z 方向の速度を算出する手法を取っている。この手法は定常流れや並進液滴のように界面形状が経時変化しない流れに対しては容易であるが、液滴生成のような周期的な非定常流れに対しては、異なる高さ断面の計測を行うために位相同期が必要となる。さらに、送液系などに起因する生成周期のばらつきが最大 10% 程度あり、同期計測のためにはこれらを排除しなければならない。

ランダム性を含む非定常な周期的現象である本機構の位相同期 PIV 計測を行うためには、(1) PIV 計測とは別の手法で同一現象とみなせる液滴のみを選別すること、(2) さらに位相を同期させて各断面での PIV 計測を行うこと。の 2 点を実現する必要がある。

先行研究では、Nguyen et al. (2006) はレーザダイオード光源と光ファイバ、APD (アバランシェフォトダイオード) モジュールを用いて、流路内の液滴の通過を光強度信号として検出する機構を提案した。流路を側面から挟む形で光ファイバを埋め込み、透過した光信号とカメラ画像と比較することで、液滴サイズや生成周期の取得を試みている (図 3.1)。また、van Steijn et al. (2007) は T 字流路で生成した気泡周りの液体流動を異なる高さで同期 PIV 撮影を行うために、流路外から Nguyen と類似のコンセプトで光トリガシステムを開発した。

しかし、これらのシステムは現象にランダムな変動が無いという仮定のもとで、流路の 1 箇所では液滴の検出を行っていないため、変動に伴う液滴並進速度の変動を捉え

られず、結果として液滴サイズの検出精度が保証できない。また、PIVの同期撮影に対してもランダム性を排除できていないため、3次元再構築は困難である。さらに、液液混相流では屈折が小さく液滴サイズも微小なため、図3.1の検出波形に見られるように光信号のSN比が低い。

これらの経緯を踏まえて、本開発ではファイバ設置のアイデアを発展させ、液滴の生成周期やサイズ、速度などの流動状態をリアルタイムでモニタリングし、PIVでの同期計測に必要な精度でトリガ出力を行うことを目的とする。

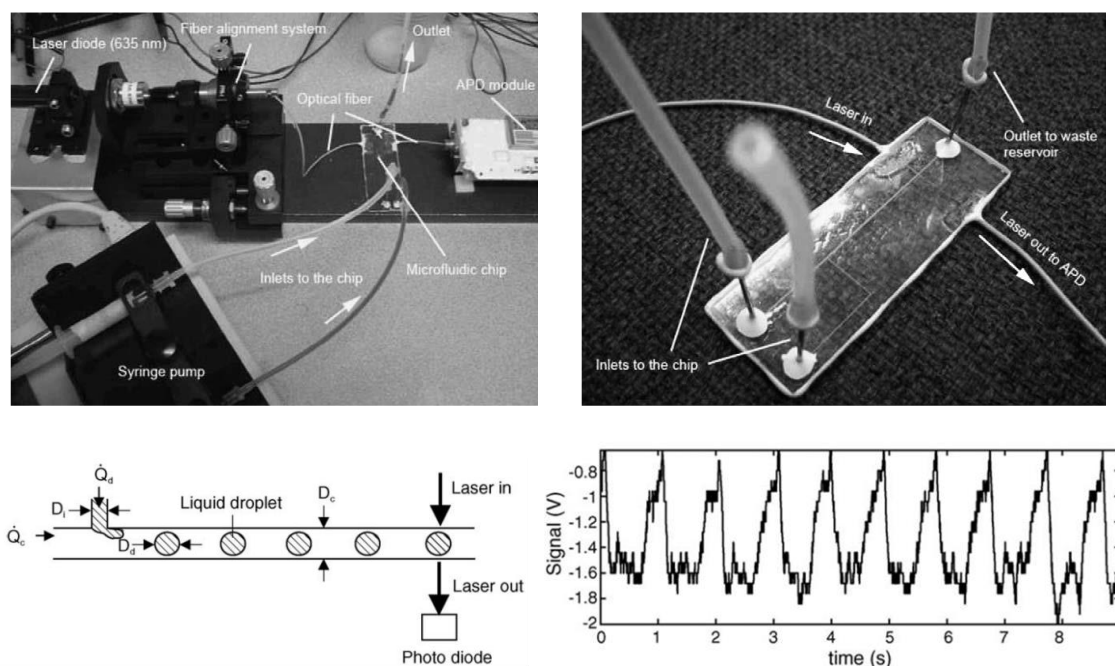


図 3.1 光ファイバ対向式液滴検出機構と検出波形. Nguyen et al., 2006 より転載.

3.2 システム設計と動作コンセプト

図3.2にT字流路とセンサ挿入チャンネルを有するマイクロ流体デバイスの概略図を示す。本流路デバイスは第4章第5章での実際の液滴生成計測に用いるものと同じである。また、図3.3にその明視野画像およびSEM画像、本選別システムを画像検証する際の低倍率蛍光画像を示す。これらに示すように、2組の透過型光ファイバセンサ(FU-56, Keyence Corporation, Japan)(図3.4)は流路を挟み込む形で配置され、液滴の形成および移動の情報を検出した。上流側センサCh1はT字型接合部、Ch2はメイン流路の587.4 μm下流側に配置している。また、センサはCh1が界面のネック部を透過するようT字流路に対して斜めに配され、pinch-off前後の輝度変化を最大化することで生

成周期の検出精度を向上させている。

センサファイバは、流路のすぐ近くに設計されたハウジングチャンネルに挿入された。製品センサヘッドの金属プローブとファイバのビニル被覆が硬く、太すぎてハウジングチャンネルに挿入できないため、それらを除去し、裸のファイバ素線のみとして挿入した。各ペアのセンサチャンネルのエミッタとレシーバの先端は、流路を横切って互いに対向させた。一方の先端はダイオード光を放出し、他方の先端はそれを受光する。エミッタファイバの先端からの光の広がり角は約 60° であったが、2つの先端の間の投影面積のみが検査体積となった。さらに、隣接ペア間の光クロストークを回避するため、各ペアの光信号方向を逆にしている。なお、センシング形式とハウジングチャンネル設計検討の経緯は Appendix B に記す。

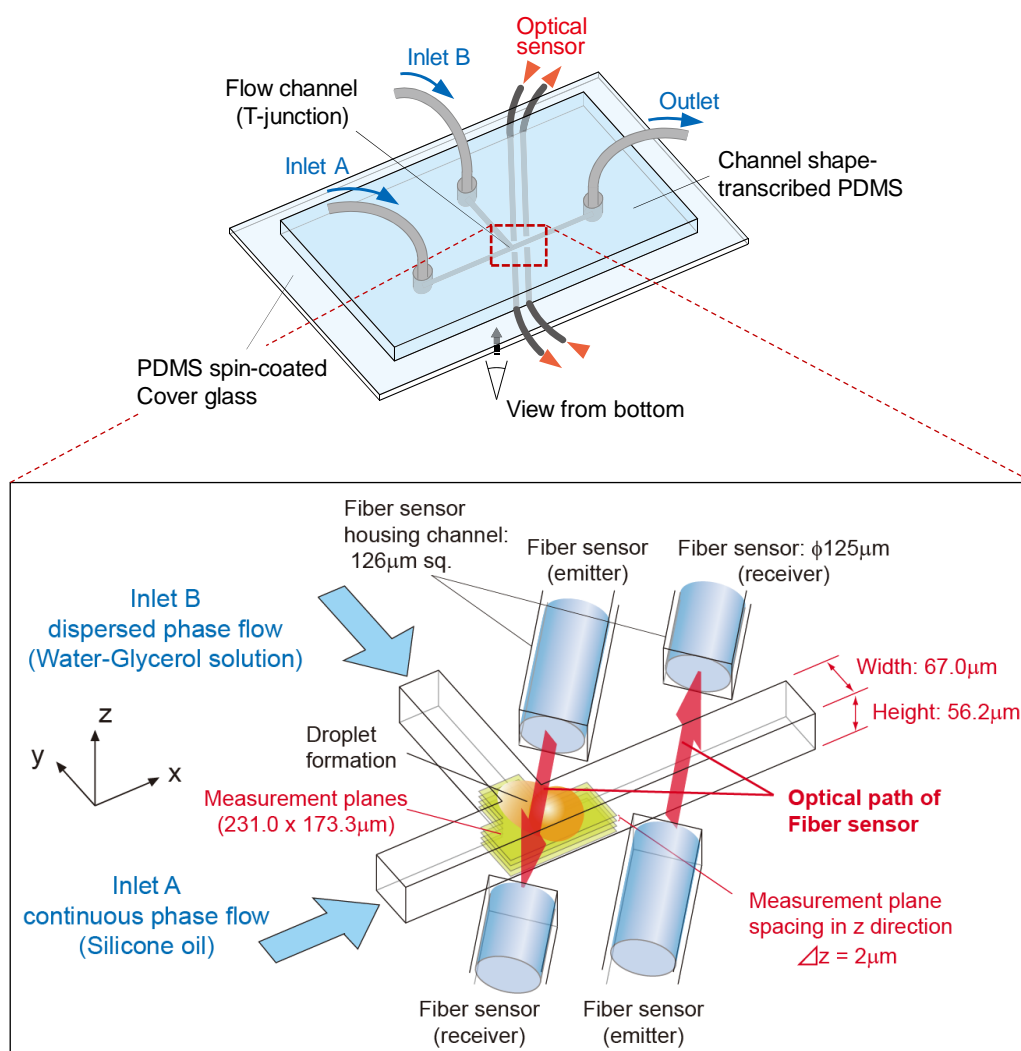
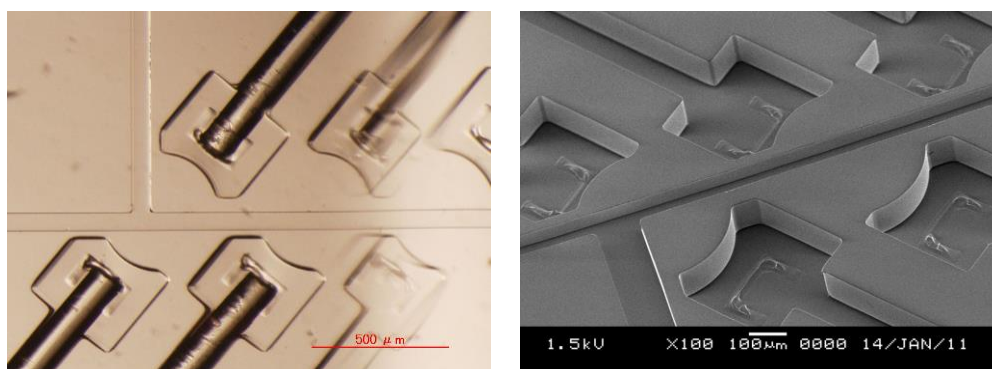


図 3.2 ファイバ挿入チャンネルの設計。

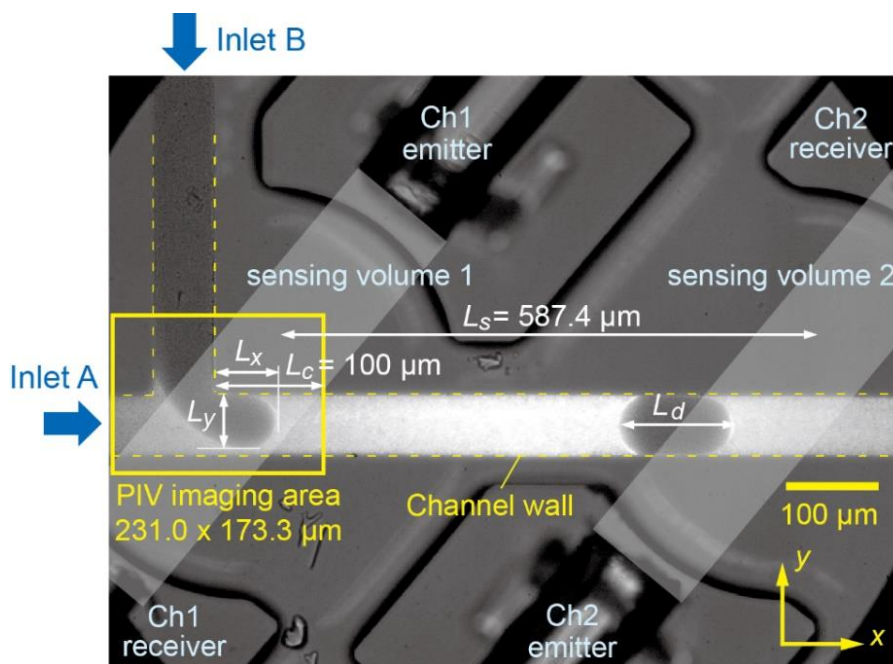
(上：流路構造および配管・配線図，下：光センサ配置図)

センサ輝度は PLC (KV-3000, Keyence Corporation, Japan) (図 3.5) に送られてリアルタイム処理される。センサが 2 チャンネルあることにより、液滴の生成周期だけでなく、並進速度、サイズのばらつきをリアルタイムで演算できる。そしてこれら 3 つのパラメータがしきい値範囲内に入った時にカメラに撮影スタートトリガを出す。つまり、液滴が条件にあっていないかどうかは、それがセンサを通過して信号をとらえた後でないと判断できないことになる。しかし、カメラはポストトリガ機能によって時間を遡って画像を記録できるため、条件に合った液滴の撮影が可能となっている。



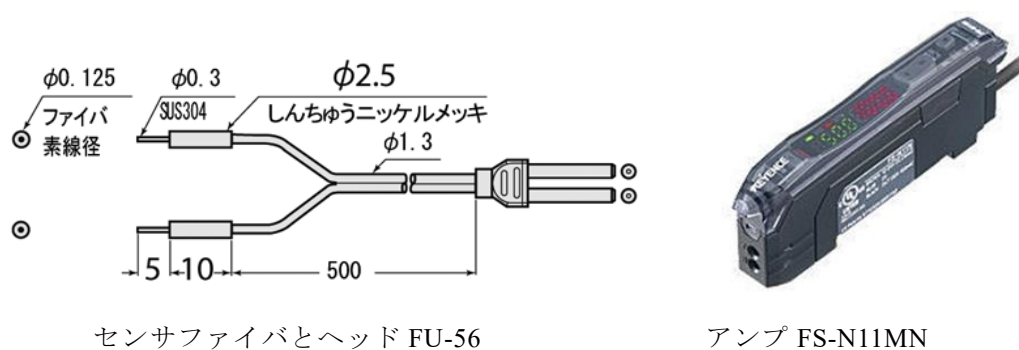
明視野画像

SEM 画像



明視野+蛍光画像

図 3.3 流路の顕微鏡画像. Oishi et al., 2018 より転載.



センサファイバとヘッド FU-56

アンプ FS-N11MN

図 3.4 光ファイバセンサ (キーエンス株式会社).



メインユニット KV-3000



AD 変換ユニット KV-AD40

図 3.5 PLC システム (キーエンス株式会社).

3.2.1 光センサの分解能検討

光センサシステムのコンセプトの実現には共焦点マイクロ PIV と同等の時間分解能と、波形を構成するセンサ値を解像するのに十分な階調が必要とされる。必要な階調の基準はおよそ 1 周期の半分の時間ステップ数であると考えられる。その理由を以下に示す。

図 3.6～図 3.9 に波形と分解能の関係の説明を図示する。液滴がセンシングエリアを通過する時、センシングエリアに侵入する時と出て行く時にセンサ値の変動が大きくなる。そこに閾値を設けることで測定ぶれの少ない液滴の前端・後端検出を行うことができる。まず、解像度の制限事項として挙げられるのが、共焦点マイクロ PIV の計測時時間分解能 1msec であり、光センサの時間分解能もこれと同等以上が求められる。また、時間分解能の決定によって必要なセンサ値の階調も検討可能となる。

時間分解能

(1) 光センサ時間分解能 (赤) < PIV 計測時間分解能 (黒)

マイクロ PIV で時間位相合わせをする際の正確性が損なわれるため不適

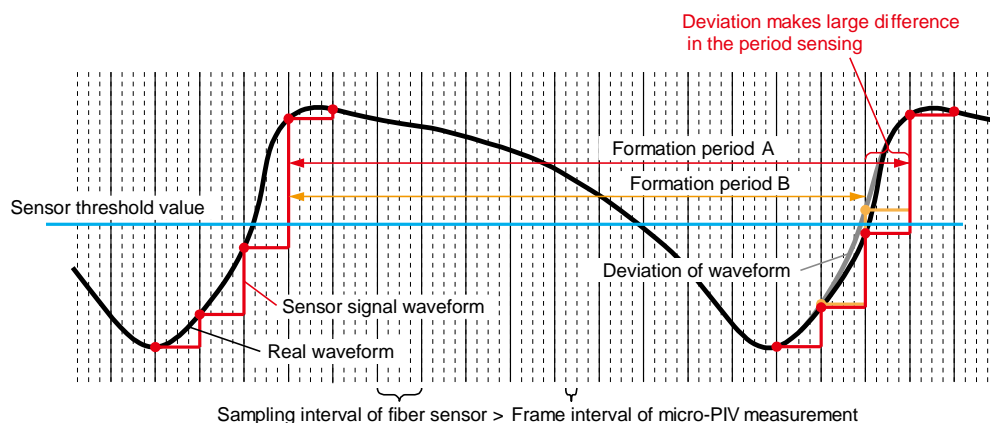


図 3.6 光センサ時間分解能 (赤) < PIV 計測時間分解能 (黒) でのセンシング。

(2) 光センサ時間分解能 (赤) > PIV 計測時間分解能 (黒)

(1) より正確に Pinch-off タイミングを検出できるが、ポストトリガ機能でカメラが撮影を行っている場合には、光センサで捉えたタイミングにカメラ側を後から合わせ込むことが不可能であるため、意味はない。

(3) 光センサ時間分解能 (赤) = PIV 計測時間分解能 (黒)

(1), (2) を踏まえて理想的であり、どちらもが、現象の時系列変化に対して十分な時間分解能を有している必要がある。

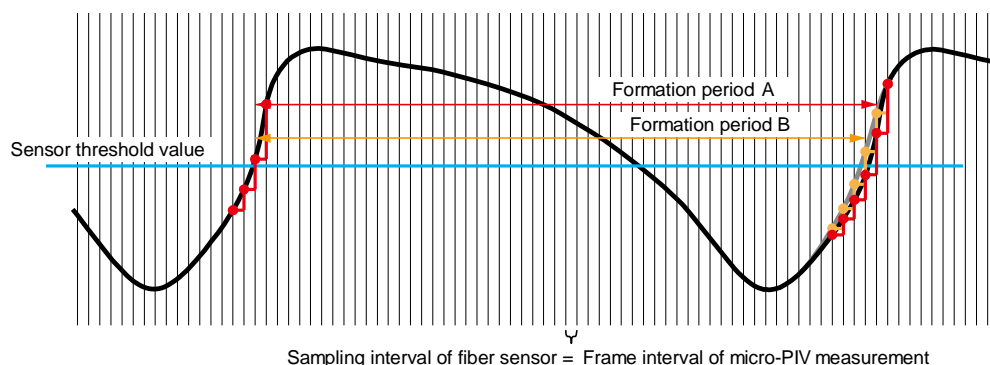


図 3.7 光センサ時間分解能 (赤) = PIV 計測時間分解能 (黒) でのセンシング。

センサ値の階調

(1) 光センサ値階調数 (赤) < PIV 半周期フレーム数 (黒)

階調が少ないと、波形の変化に対応する階調変化の頻度が少なくなり、時間方向に誤差を生じやすくなる。

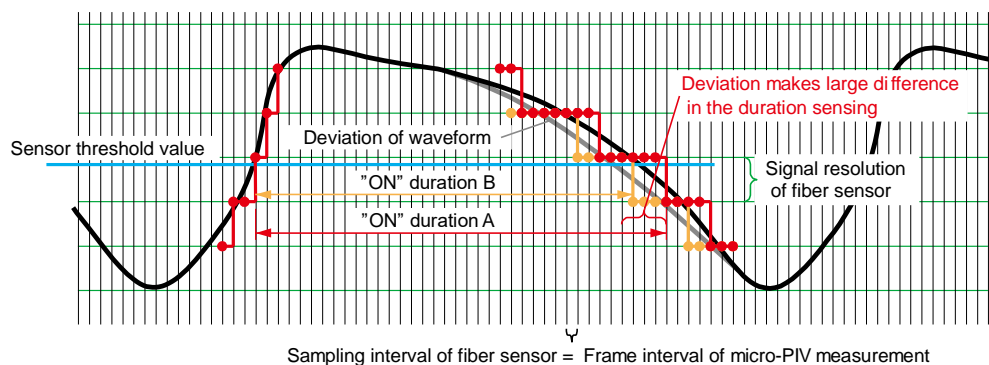


図 3.8 光センサ値階調数 (赤) < PIV 半周期フレーム数 (黒) でのセンシング。

(2) 光センサ値階調数 (赤) = PIV 半周期フレーム数 (黒)

階調を増やすことにより、(1) に比べ時間方向の誤差を減らす事ができる。必要な階調数としては、波形の勾配にもよるが、1 フレーム間に变化する輝度値を解像できる階調数以上を設けることにより、時間方向の誤差を1 フレーム未満に抑えることができる。例えば、Threshold 近辺の輝度値勾配が 45°以上とすると、階調数=時間方向フレーム数/2 程度が望ましい。

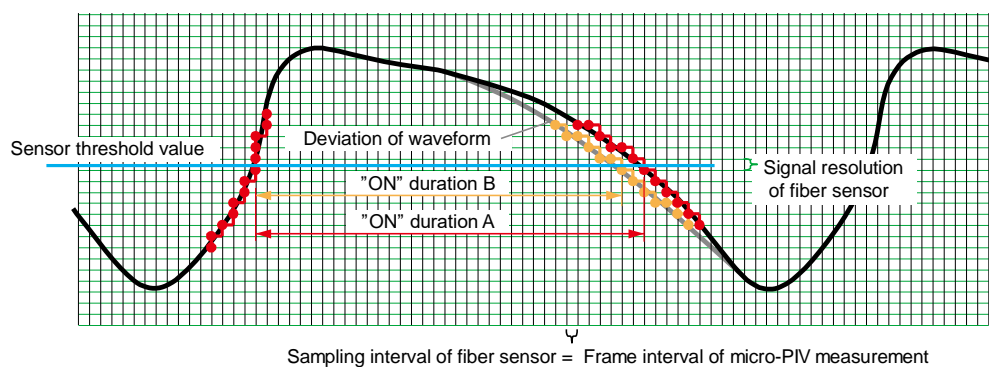


図 3.9 光センサ値階調数 (赤) = PIV 半周期フレーム数 (黒) でのセンシング。

(3) 光センサ値階調数 (赤) > PIV 半周期フレーム数 (黒)

(2) 以上に細かくするメリットが無いため、考慮しない。

3.2.2 信号処理と液滴選別アルゴリズム

液滴の均一性を定義するために使用された3つのパラメータは、同時に処理された高速顕微鏡画像とリアルタイムで処理されたセンサ値を比較することによって検証された。この際、並進速度を画像で検証するためにはPIV時よりも広い画角で撮影しなければならないため、20倍の対物レンズ（HCX PL APO 20×/0.70 CS, Leica Microsystems, Germany）を用いて、視野 $900.8 \times 675.6 \mu\text{m}$ 、空間分解能は $1.126 \mu\text{m}/\text{pixel}$ で撮影した。この視野サイズは PIV 時の約4倍である。撮像とセンサのサンプリングレートは 1 kHz で、PIV 測定と同一である。

図 3.10 は、センサ信号と PLC 信号のデータサンプルを示している。図 3.11 は、液滴形成と並進運動の時系列顕微鏡画像を示す。

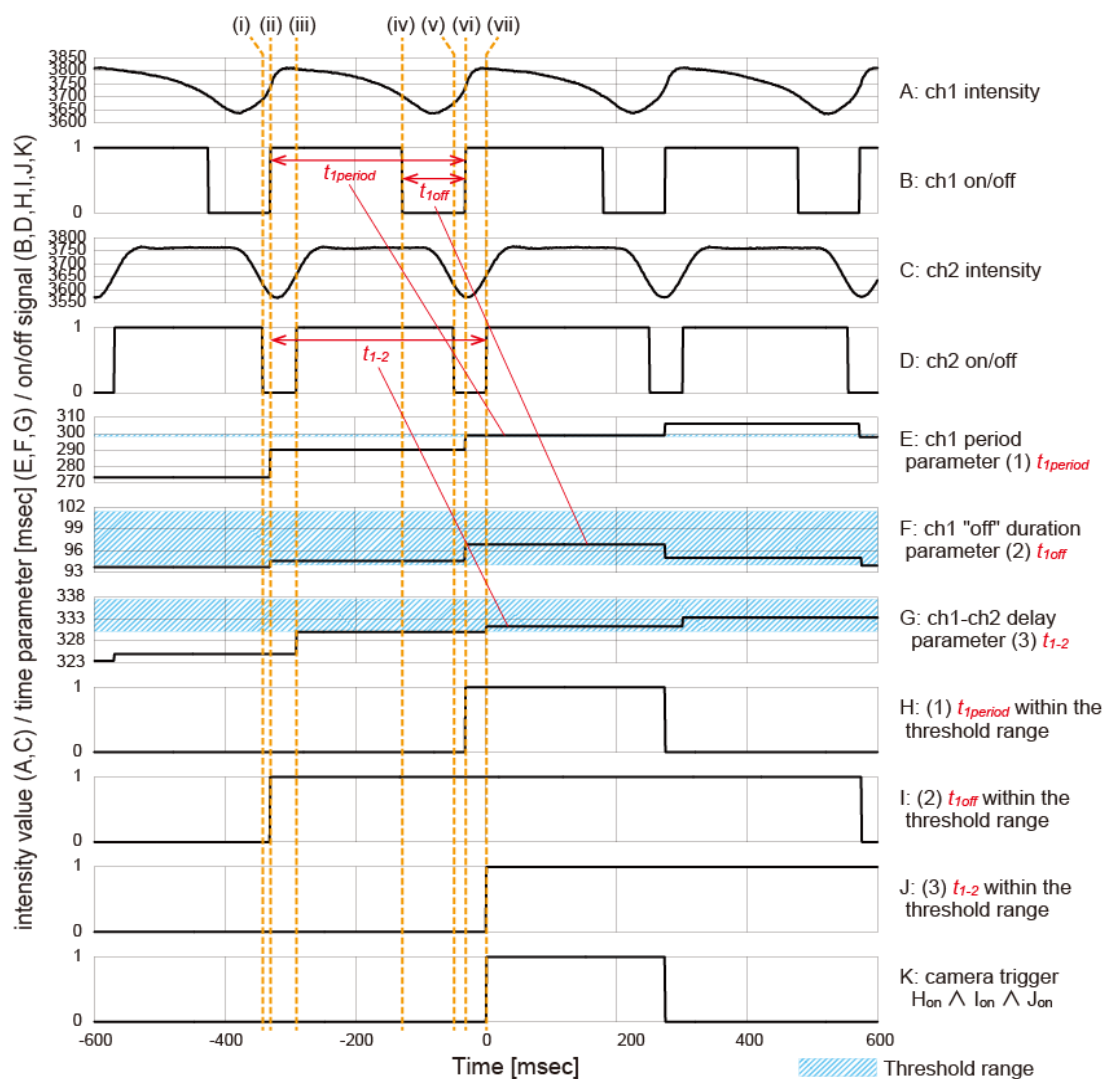


図 3.10 時系列の光センサと PLC 信号。Oishi et al., 2018 より転載。

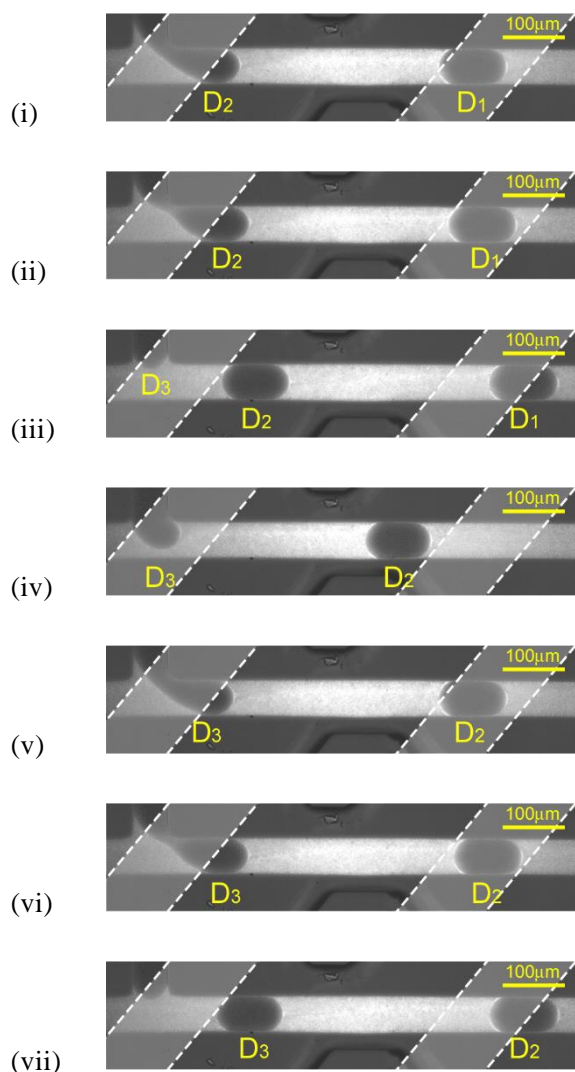


図 3.11 各時刻での液滴形成と並進運動の低倍率顕微鏡画像．Oishi et al., 2018 より転載．

センサ値および画像における (i) から (vii) までの時刻は、図 3.10 に対応する。2 つのセンサ対からの強度信号の生データは、図 3.10 の (A) および (C) であり、各検出ボリューム内の 2 つの液体の比によって変化する。また、上流と下流の 2 つの検出ボリューム内の流路形状が異なるため、生データの波形は異なるパターンを有していた。液滴の形成および通過のタイミングは、(A) および (C) の強度信号の閾値を設定することによって検出し、それぞれ (B) と (D) にオンオフ信号に変換される。この信号を PLC でリアルタイム処理することで、液滴選別のための 3 つのパラメータを計算する。

(1) 生成周期

液滴生成周期は、ジャンクション部に設置したセンサ ch1 の生波形から pinchoff のタイミングを検出して on-off 波形に変換することで取得した。本手法の狙いは、図 3.10 の(ii)と(vi)に示す通り、分裂の瞬間は輝度値の変化量が大きいため、誤差の少ない周期の検出が可能となるためである。ただし、輝度値変化量が最大となる時刻と pinchoff の時刻が一致するわけでは無いため、実画像における pinchoff 時刻の輝度値を取得する必要がある。そこで、まずはフリーランニングでセンサ値と画像を同時取得し、液滴が分裂する瞬間のセンサ値を特定した。そして、特定されたセンサ値を閾値として on-off の矩形波形に変換するよう、PLC にプログラムした。なお、センサ値は数分のタイムスパンで変動を有するため、特定したセンサ値は絶対値ではなく、最大-最小値の幅に対するパーセント値としてプログラムした。最終的に、周期は 2 つの連続する pinch-off 時刻の差をとることでリアルタイムに計算される (Ch E)。

Phase-locking 撮影を実現するために、得られた生成周期 (E) の最頻値に閾値幅を設定することで、同一液滴としての選定を実現した。閾値幅は PIV 計測の時間分解能が 1 msec のため、それ以上周期ずれが起こらないように ± 0.5 msec とした。この操作により (H) の on/off 信号が得られる。

(2) 並進速度

液滴の並進速度は、2 センサ間の距離 L_s と通過時間差 t_{1-2} から算出する。今回の実験条件においては t_{1-2} は図では(ii)から(iiv)間に相当する。

$$V_d \approx \frac{L_s}{t_{1-2}} \quad (3.1)$$

厳密には、2 点のセンシング領域内にある流路形状が異なるため、実際に並進している液滴の並進速度ではないが、画像と比較することで誤差の検証ができる。並進速度における閾値幅は、その速度変動分によって液滴が PIV 画角内の画面端まで進む間に画面の位置の変動 L_g が PIV 解析グリッドサイズ未満であることである。PIV 計測時画角において、ジャンクション下流端から画面右端までは $L_c = 310$ pixel (100 μm) あり、この距離を進む間に、PIV のグリッドサイズ 7 pixel ずれなければ良い。その半分を許容値とすれば、 $L_g = \pm 3.5$ pixel となる)

並進速度 V_d で L_c を進む時間を t_c とすると

$$L_c = V_d \cdot t_c \cong \frac{L_s}{t_{1-2}} t_c \quad (3.2)$$

これより

$$L_c t_{1-2} = L_s t_c \quad (3.3)$$

平均速度の許容閾値を ΔV_d とすると、それを導出する 2 センサ間通過時間の許容閾値を Δt_{1-2} を用いて、式(3.1)より

$$V_d \pm \Delta V_d = \frac{L_s}{t_{1-2} \mp \Delta t_{1-2}} \quad (3.4)$$

と表せる。

この速度で同じ 時間で進む距離の許容幅が L_g であるため、

$$L_c \pm L_g = (V_d \pm \Delta V_d) t_c = \frac{L_s}{t_{1-2} \mp \Delta t_{1-2}} t_c \quad (3.5)$$

式(3.3)と(3.5)より

$$\Delta t_{1-2} = \frac{L_g}{L_c \pm L_g} t_{1-2} \quad (3.6)$$

今回の実験においては $L_c = 310 \text{ pixel}$, $L_g = 3.5 \text{ pixel}$ であるため、

$$\Delta t_{1-2} = 0.0112 t_{1-2}, \quad -0.0114 t_{1-2} \quad (3.7)$$

となる。

(3) 液滴サイズ

最後に、液滴サイズに関するパラメータとして、図 3.3 に示す液滴長さ L_d と界面のせり出し長さ L_x , L_y を検証した。これらのパラメータは ch1 の off 信号長さ $t_{1\text{off}}$ (F) に関連しており、 L_d は液滴並進速度 V_d と $t_{1\text{off}}$ の積と比例関係にある。

$$L_d \propto V_d t_{1\text{off}} \quad (3.8)$$

上記式により算出された L_d と画像の L_d とを比較することにより、 $t_{1\text{off}}$ の閾値範囲に対する選別の効果を確認することができる。また、 $t_{1\text{off}}$ の変化は L_x , L_y とも同時刻で直接的に関係しているため、PIV 測定における位相同期精度への影響は大きい。なお、液滴体積は分散相流量を液滴生成周期で除して算出することができるが、分散相流量そのものにもばらつきがあるため、検証パラメータとしては不適切である。

以上から、PIV 測定に直結する L_x , L_y の変動量を基準に $t_{1\text{off}}$ の閾値範囲を求め、同じ選別条件での画像から L_d の変動も参考までに測定した。 $t_{1\text{off}}$ の閾値幅を $\pm \Delta t_{1\text{off}}$ と定義した場合に、対応する界面位置の変化量を $\pm \Delta L_x$ と $\pm \Delta L_y$ と定義すると、並進速度の選別と同様に、これらの絶対値は PIV 測定のグリッドより大きく偏差しないよう設定すれば良い。

界面の移動速度を V_i とすると、最大でも分散相の平均流速と同等であり、 $V_i = Q_d/A$ で

計算できる。よって、界面が ΔL_x と ΔL_y だけ動くのに要する時間 Δt_{1off} は以下となる。

$$\Delta t_{1off} = \Delta L_x/V_i \text{ or } \Delta L_y/V_i \quad (3.9)$$

PIV 測定において ΔL_x と ΔL_y の許容値は ± 3.5 ピクセルであり、この実験条件を考慮すると、 Δt_{1off} は ± 3.8 msec となる。この選別の効果を検証するために、pinch-offの瞬間から t_{1off} の平均値だけ遡った時刻での分散相の先端位置を画像から測定した。これらの長さを PIV 測定のスケールに変換し、評価する。

3.3 液滴選別結果

液滴選別の結果を表 3.1 に要約する。3つのパラメータは、PLC 信号およびカメラ画像を用いて 4つの条件下で定量的に検証された。条件は「選別なし」、「周期で選別」、「周期と並進速度の両方で選別」、「周期、並進速度とサイズの3つのパラメータ全てで選別」である。各データの平均値、標準偏差および変動係数をそれぞれ示した。生成周期 $t_{1period}$ は同じ単位[msec]で比較することができるが、液滴の並進速度及びサイズはパラメータの算出方法と形式が同じではないので、同じ単位で比較できないものもある。

はじめに、選別なしの連続データサンプリングによって合計 3105 個の液滴データを得たところ、生成周期は平均 298.78 msec、標準偏差 (SD) 23.81 msec の正規分布を示した。生成周期 $t_{1period}$ に対して 299.0 ± 0.5 msec の閾値範囲を適用して選別を行った結果、サンプル数は 60 個 (1.9%) に激減した。最終的に 3つのパラメータ全てで選別をかけるとサンプル数はわずか 11 個 (0.35%) しか残らないという結果になった。計算すると、3つのパラメータを満足する液滴を得られる平均確率が 1/282 であり、その平均時間間隔が 84.4 秒もかかってしまうということである。これは、本実験条件での液滴生成を精度よく位相同期撮影することの困難さを示している。

次に、式(3.7)を用いて、並進速度の選別閾値範囲を、 $t_{1-2} = 334.17 + 3.73$ msec から $t_{1-2} = 334.17 - 3.81$ msec の間に設定した。この閾値を課した結果、界面位置のばらつきを PIV 測定の画像スケールに換算して 310 ± 2 pixel 以下に抑えることができた。

最後に、液滴サイズに関連するパラメータとして、 t_{1off} 値に式(3.9)で定義される閾値を乗じる。具体的には、 $t_{1off} = 97.62 \pm 3.8$ msec であった。その結果、 t_{1off} の平均値における界面のせり出し長さの変化は、x 方向および y 方向の両方において PIV グリッドサイズ (7 pixel) の半分以下に抑えられた。参考までに、液滴長さの変動の SD も ± 4.3 pixel であり、これは PIV グリッドサイズとほぼ同じであった。

表 3.1 液滴選別結果.

選別 パラメータ	評価データ	選別条件			
		無し	生成周期 $t_{1\text{period}} =$ 299.0 ± 0.50	生成周期+ 並進速度	生成周期+ 並進速度+ サイズ
生成周期	PLC 信号“E” $t_{1\text{period}}$ [msec]	298.78 ± 23.81 (7.97%)	298.95 ± 0.26 (0.09%)	298.90 ± 0.24 (0.08%)	298.91 ± 0.25 (0.08%)
	カメラ画像から [msec]	-	298.93 ± 0.44 (0.15%)	299.38 ± 0.48 (0.16%)	299.38 ± 0.49 (0.16%)
並進速度	PLC 信号“G” t_{1-2} [msec]	334.05 ± 18.23 (5.46%)	334.61 ± 12.47 (3.73%)	332.96 ± 2.07 (0.62%)	332.86 ± 2.14 (0.64%)
	カメラ画像から [mm/sec]	-	1.787 ± 0.040 (2.22%)	1.806 ± 0.011 (0.60%)	1.801 ± 0.011 (0.59%)
	PIV 画角における移 動量 310 pixel 当た りの偏差 [pixel]	-	310 ± 6.88	310 ± 1.86	310 ± 1.83
サイズ (長さ)	PLC 信号“F” $t_{1\text{off}}$ [msec]	97.81 ± 10.14 (10.36%)	97.62 ± 7.45 (7.63%)	97.30 ± 1.65 (1.70%)	96.86 ± 0.93 (0.97%)
	界面のせり出し長 さ L_x [pixel]	-	97.60 ± 5.02 (5.14%)	92.89 ± 2.51 (2.71%)	92.00 ± 1.79 (1.94%)
	L_y [pixel]	-	183.73 ± 3.42 (1.86%)	181.78 ± 1.99 (1.09%)	179.2 ± 1.60 (0.89%)
	PIV 画角に換算した 液滴長さ L_d [pixel]	-	463.60 ± 8.33 (1.80%)	460.22 ± 5.37 (1.17%)	462.00 ± 4.30 (0.93%)

3.4 まとめ

本章では、2チャンネルの光ファイバセンサと PLC を組み合わせた位相同期システムを構築し、3つの選別パラメータを作成してばらつきのある液滴生成現象のリアルタイム位相同期および選別を可能とした。以下に詳細をまとめる。

- 位相同期システムは共焦点マイクロ PIV 計測と同サンプリングレート以上、また得られる輝度信号の階調数は時間方向フレーム数の半分以上を確保することが精度上の運用基準として定められた。
- 位相同期システムの選別性能を低倍率の顕微鏡画像と同時計測により検証した結果、3つの選別パラメータを全て適用することで、無選別からの変化で生成周期を 7.97%から 0.08%に、並進速度を 5.46%から 0.59%に、液滴サイズ（長さ）を 10.36%から 0.93%にそれぞれ低減することに成功した。この性能により、PIV 計測における液滴サイズおよび界面位置のアライメント精度を PIV グリッドの半分以下に抑えることができ、同期計測に必要な精度で選別を可能とした。

第4章

T字型マイクロ流路における液滴生成 現象の計測

(刊行される予定のため除外)

第5章

液滴生成機構の解明

(刊行される予定のため除外)

第6章 結論

(刊行される予定のため除外)

謝辞

本論文は、著者が東京大学生産技術研究所に技術専門職員として在職中に行った研究をまとめたものである。本研究は数多くの方々の御指導と御助力により成り立っており、ここに謹んで御礼申し上げます。

まず、本研究の主査として日々御指導賜りました東京大学生産技術研究所教授の大島まり先生におかれましては、私が研究を行うことをお許しいただき、その過程で多くの議論をさせていただきました。私の視野の狭さを常に御指摘いただき、また指導者としてもどうあるべきかをお示しいただき、今後の人生における基盤となりました。

東京大学生産技術研究所特任助教の木下晴之氏は、本研究の基盤技術である共焦点マイクロ PIV の開発者として、まさに同じ実験室でマイクロ流体実験について一から手取り足取り教えて頂きました。氏の実験データの取り方、まとめ方と発表技術、また常に未知の領域を切り開いていかれる姿勢に感銘を受けました。

東京大学生産技術研究所教授藤井輝夫先生には、何度もミーティングの時間を割いていただき、研究の進捗に対して貴重なアドバイスをいただきました。藤井先生の実験分野を超えた知識の広さと深さから生み出される新しいアイディアは常に革新的で、魅力的でした。また、藤井研究室の多くの実験設備を使わせていただき、特殊なマイクロ流路製作や精密形状測定など本研究を遂行する上で不可欠なサポートを賜りましたことも、ここに深く御礼申し上げます。

大島研究室卒業生の坂東佳憲氏、靱康治氏、森田佳士之氏とは共に実験室で研究を行い、新しい計測手法を考案したり、誰も見たことのない現象を発見した感動を分かち合ったり、非常に充実した時間を共有させていただきました。氏らの研究遂行能力の高さについても助けられ、チームワークの大切さも学ばせていただきました。

長い間共同研究を行って頂いた、東京都市大学の向井信彦教授、松浦佑樹氏、夏目拓也氏には PIV 画像処理および混相流シミュレーションにて、異なる専門知識をベースとした実験データの多角的な検証をしていただき、精度の向上と現象の理解の両面で大きなご助力をいただきました。

論文審査においては、東京大学総長藤井輝夫先生、東京大学大学院工学系研究科教授鈴木雄二先生、東京大学生産技術研究所教授白樫了先生、東京大学生産技術研究所准教授長谷川洋介先生、東京大学大学院工学系研究科准教授杵淵郁也先生、東京大学生産技術研究所講師金秀炫先生に貴重な御指導、御教示を賜りました。自分の所属する研究室では得られない新しい視点と深い洞察は、本論文のクオリティ向上に無くてはならないものでした。ここに謹んで謝意を表します。

東京大学名誉教授の小林敏雄先生には私が生研に着任した最初期より、公私に渡り多大な御支援と御指導をいただき、心より御礼申し上げます。お会いする度にいただく温かい励ましのお言葉に背中を押され、何とかここまで辿り着くことができました。これからはますますお元気に、偉大な足跡から学ばせていただきたく、ご指導お願い申し上げます。

研究室 OB の鬼頭幸三氏は、博士取得へ向けて常に叱咤激励していただきました。暑い日も寒い日も事あるごとに研究室に足を運んでくださり、氏の激励に精神的に何度も救われ、あきらめずに前進する気持ちを持ち続けることができました。これからは私が少しでも恩返しさせていただく番と思っております。

研究室 OB で東京都市大学教授の宮地英生先生は社会人博士の大先輩として、私が研究者として目指しているキャリア形成を間近で見させていただいているだけでなく、常に前向きに研究もプライベートも楽しまれているお姿が、理想の研究者像として眩しく映っております。

中国・天津大学教授の李鳳臣先生は長年に渡る共同研究において、私が開発した計測装置を最大限に有効活用していただきました。研究デザインからデータの整理、論文執筆という一連の流れを一切の無駄なく、論理的に組み上げていかれるスキルは、感嘆というほかありません。また、離れていてもいつも気にかけてくださり、研究者としての道を示していただきました。今後も師として研究交流を続けていただけると大変嬉しいです。

研究室秘書の椎野瑠璃子さんは多忙な秘書業務がありながらも、私の論文審査のスケジュール調整や学務課との連絡・手続きなどを完璧にサポートしていただきました。椎野さん無くしては、研究室も私も全く立ち行きませんでした。心より御礼申し上げます。

研究室現メンバーの小林匡治氏、尹彰永氏、陳エン氏は皆博士課程の仲間として、研究室で長い時間を共に過ごさせていただきました。それぞれ非常に専門性の高いテーマを追求する姿勢は、博士課程としてあるべき姿を示していただきました。また研究室内の後輩のサポートも親身になって行っていただき、スタッフ以上の働きで研究室を支え、助けていただきました。

また、今までたくさんの卒業生と学生さん、研究員の方々と貴重な時間を共に過ごさせていただきました。優秀で利発な皆さんとの議論は、聞いているだけでも十分刺激的で、そこに混ぜていただいたことで私も少なからず成長させていただいたと思っております。

プライベートでは前職の長野県職員同期の仲間達，前々職の三井造船株式会社同期の仲間達，学生時代の友人達に精神的に支えていただきました．どんなに距離があっても時間が経っていても，定期的に集まってくれて，皆の頑張りにモチベーションを分けていただきました．中でも同じ論文博士を目指した阿部剛士氏，相澤淳平氏と目標を共有できたことは大きな力になりました．

最後になりましたが，常に応援してくれた両親，兄妹，親族一同に心から感謝するとともに，出産・育児の大変な時期にも関わらず常に笑顔で支えてくれた妻・沙織と，愛娘・心涼に本論文を捧げます．

2021年10月
東京大学生産技術研究所にて
大石 正道

参考文献

- Abate, A. R., Mary, P., Van Steijn, V. and Weitz, D. A., (2012). Experimental validation of plugging during drop formation in a T-junction. *Lab on a Chip*, *12*, 1516.
- Adrian, R. J. (1991). Particle-Imaging Techniques for Experimental Fluid Mechanics. *Annu. Rev. Fluid Mech.* *23*, 261–304.
- Anna, S. L. (2016). Droplets and Bubbles in Microfluidic Devices. *Annu. Rev. Fluid Mech.* *48*, 285–309. <http://doi.org/10.1146/annurev-fluid-122414-034425>
- Auroux, P-A., Iossifidis, D., Reyes, D. R. and Manz, A. (2002). Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications. *Analytical Chemistry*, *74*, 2637–52.
- Balagaddé, F. K., You, L., Hansen, C. L., Arnold, F. H. and Quake, S.R. (2005). Long-Term Monitoring of Bacteria Undergoing Programmed Population Control in a Microchemostat. *Science*, *309*(5731), 137-140. DOI: 10.1126/science.1109173
- Bown, M. R., MacInnes, J. M., Allen, R. W. K. and Zimmerman, W. B. J. (2006). Three-dimensional, three-component velocity measurements using stereoscopic micro-PIV and PTV. *Measurement Science and Technology*, *17*, 2175–2185.
- Bown, M. R., MacInnes, J. M. and Allen, R. W. K. (2007). Three-component micro-PIV using the continuity equation and a comparison of the performance with that of stereoscopic measurements. *Experiments in Fluids*, *42*, 197–205.
- Chong, Z. Z., Tan, S. W., Gañán-Calvo, A. M., Tor, S. B., Loh, N. H., Nguyen, N-T. (2016). Active droplet generation in microfluidics. *Lab Chip*, *16*, 35-58. DOI: 10.1039/c5lc01012h
- Christopher, G. F. and Anna, S. L. (2007). Microfluidic methods for generating continuous droplet streams. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, *40*, R319–R336.
- Christopher, G. F., Noharuddin, N. N., Taylor, J. A. and Anna, S. L. (2008). Experimental observations of the squeezing-to-dripping transition in T-shaped microfluidic junctions. *Physical Review E*, *78*, 036317.

- Cierpka, C., Segura, R., Hain, R., Kähler, C. J. (2010). A simple single camera 3C3D velocity measurement technique without errors due to depth of correlation and spatial averaging for microfluidics. *Measurement Science and Technology*, 21, 045401.
- Cierpka, C. and Kähler, C. J. (2012). Particle imaging techniques for volumetric three-component (3D3C) velocity measurements in microfluidics. *J. Vis.* 15, 1–31.
- De Menech, M., Garstecki, P., Jousse, F. and Stone, H. A. (2008). Transition from squeezing to dripping in a microfluidic T-shaped junction *J. Fluid Mech.* 595, 141–161.
- Delnoij, E., Westerweel, J., Deen, N. G., Kuipers, J. A. M. and Van Swaaij, W. P. M. (1999). Ensemble correlation PIV applied to bubble plumes rising in a bubble column. *Chemical Engineering Science*, 54, 5159–5171.
- Dendukuri, D., Tsoi, K., Hatton, T. A., and Doyle, P. S. (2005). Controlled Synthesis of Nonspherical Microparticles Using Microfluidics. *Langmuir*, 21, 2113–2116
- Fu, H., Zeng, W. and Li, S. (2017). Quantitative study of the production rate of droplets in a T-junction microdroplet generator. *J. Micromech. Microeng.* 27, 125020.
- Gañán-Calvo A. M., Gordillo, J. M. (2001). Perfectly monodisperse microbubbling by capillary flow focusing, *Phys. Rev. Lett.*, 87, 274501.
- Garstecki, P., Gitlin, I., DiLuzio, W., and Whitesides, G. M. (2004). Formation of monodisperse bubbles in a microfluidic flow-focusing device. *Appl. Phys. Lett.*, 85, 2649.
- Garstecki, P., Fuerstman, M. J., Stone, H. A. and Whitesides, G. M. (2006). Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction—scaling and mechanism of break-up *Lab on a Chip*, 6, 437–446.
- Glawdel, T., Elbuken, C., Ren, C. L. (2012a). Droplet formation in microfluidic T-junction generators operating in the transitional regime. I. Experimental observations. *Phys. Rev. E*, 85, 016322, 1–9.
- Glawdel, T., Elbuken, C., Ren, C. L. (2012b). Droplet formation in microfluidic T-junction generators operating in the transitional regime. II. Modelling. *Phys. Rev. E*, 85, 016323, 1–12.
- Guo, M. T., Rotem, A., Heyman, J. A. and Weitz, D. A. (2012). Droplet microfluidics for high-throughput biological assays. *Lab on a Chip*, 12, 2146–2155.

- Hetsroni, G., Mosyak, A., Pogrebnyak, E., Yarin, L. P. (2005). Fluid flow in micro-channels. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 48, 1982–1998
- Hong, J. W. and Quake, S. R. (2003). Integrated nanoliter systems. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1179–1183.
- Husny, J., Cooper-White, J. J. (2006). The effect of elasticity on drop creation in T-shaped microchannels. *J. Non-Newtonian Fluid Mech.*, 137, 121–136.
- ISO/IEC GUIDE 98-3:2008, (2008). Uncertainty of measurement - Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995), *International Organization for Standardization (ISO)*.
- Kashid, M. N., Renken, A. and Kiwi-Minsker, L. (2010). CFD modelling of liquid–liquid multiphase microstructured reactor: Slug flow generation. *Chem. Eng. Res. Des.*, 88(3), 362–368.
- Kinoshita, H., Oshima, M., Kaneda, S. and Fujii, T. (2005). Confocal micro-PIV measurement of internal flow in a moving droplet. *Proc of Micro-TAS2005*, 0192.
- Kinoshita, H., Kaneda, S., Fujii, T. and Oshima, M. (2007). Three-dimensional measurement and visualization of internal flow of a moving droplet using confocal micro-PIV. *Lab on a Chip*, 7, 338–346.
- Kobayashi, I., Mukataka, S. and Nakajima, M. (2004). CFD simulation and analysis of emulsion droplet formation from straight-through microchannels. *Langmuir*, 20, 9868–9877.
- Li, X-B., Li, F-C., Yang, J-C., Kinoshita, H., Oishi, M., Oshima, M. (2011), Study on the mechanism of droplet formation in T-junction microchannel, *Chemical Engineering Science*, 69, 340-351, <https://doi.org/10.1016/j.ces.2011.10.048>
- Lindken, R., Westerweel, J., Wieneke, B. (2006). Stereoscopic micro particle image velocimetry. *Experiments in Fluids*, 41, 161–171.
- Löfdahl, L., Chernoray, V., Haasl, S., Stemme, G. and Sen, M. (2003). Characteristics of a hot-wire microsensor for time-dependent wall shear stress measurements. *Experiments in Fluids*, 35, 240–251.
- Meinhart, C. D., Wereley, S. T. and Santiago, J. G. (1999). PIV measurements of a microchannel flow. *Experiments in Fluids*, 27, 414–419.
- Meinhart, C. D., Wereley, S. T. and Santiago, J. G. (2000). A PIV Algorithm for Estimating Time-Averaged Velocity Fields. *Journal of Fluids Engineering*, 122, 285–289.

- Morita, Y., Matsuo, T., Maeda, S., Oishi, M. and Oshima, M. (2018). Three-dimensional displacement measurement of self-oscillating gel using digital holographic microscopy. *Applied Optics*, 57, 10541–10547.
- Nekouei, M., Vanapalli, S. A. (2017). Volume-of-fluid simulations in microfluidic T-junction devices: Influence of viscosity ratio on droplet size. *Physics of Fluids*, 29, 032007.
- Nguyen, N. T., Wereley, S. T. (2002). *Fundamentals and Applications of Microfluidics*. Artech House Publishers.
- Nguyen, N. T., Lassemono, S. and Chollet, F. A. (2006). Optical detection for droplet size control in microfluidic droplet-based analysis systems. *Sensors and Actuators, B*, 117, 431–436.
- Nishio, S. and Murata, S. (2003). A Numerical Approach to the Evaluation of Error Vector Appearance Possibility in PIV, *Proc. 5th Int. Symp. Particle Image Velocimetry*, 3321.1–3321.9.
- Nobach, H and Bodenschatz, E. (2009). Limitations of accuracy in PIV due to individual variations of particle image intensities. *Experiments in Fluids*, 47, 27–38.
- Nunes, J. K., Tsai, S. S. H., Wan, J. and Stone, H. A. (2013). Dripping and jetting in microfluidic multiphase flows applied to particle and fibre synthesis. *J. Phys. D: Appl. Phys.* 46, 114002.
- Oishi, M., Kinoshita, H., Fujii, T. and Oshima, M. (2011). Simultaneous measurement of internal and surrounding flows of a moving droplet using multicolour confocal micro-particle image velocimetry (micro-PIV). *Meas. Sci. Technol*, 22, 105401.
- Oishi, M., Utsubo, K., Kinoshita, H., Fujii, T. and Oshima, M. (2012). Continuous and simultaneous measurement of the tank-treading motion of red blood cells and the surrounding flow using translational confocal micro-particle image velocimetry (micro-PIV) with sub-micron resolution *Meas. Sci. Technol*, 23, 035301.
- Oishi, M., Matsuo, T., Kinoshita, H., Fujii, T. and Oshima, M. (2014). Simultaneous Measurement of 3D Interfacial Geometry and Internal Flow Structure of Micro Droplet using Digital Holographic Microscopy, *Proc. of 18th Micro-TAS*. 2354–2356.
- Oishi, M., Matsuo, T., Kinoshita, H., Fujii, T. and Oshima, M. (2016). Three-dimensional measurement of micro- multiphase flow using digital holographic microscopy, *Proc. of 18th International Symposium on the Application of Laser and Imaging Techniques to Fluid Mechanics*.
- Park, J., Choi, C., Kihm, K. (2004). Optically sliced micro-PIV using confocal laser scanning microscopy (CLSM). *Experiments in Fluids*, 37, 105–119.

- Park, J. and Kihm, K. (2006) Three-dimensional micro-PTV using deconvolution microscopy. *Experiments in Fluids*, 40, 491–499.
- Peng, S.J. and Williams, R. A. (1998) Controlled production of emulsion using a crossflow membrane. Part I. Droplet formation from a single pore, *Trans. IChemE.*, 76 (A8), 894-901.
- Pommer, M. S., Kieh, A. R., Soni, G., Dakessian, N. S., Meinhart, C. D. (2007). A 3D-3C Micro-PIV Method *Proc. of 2007 2nd IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems*, 1196–1201.
- Raffel, M., Willert, C. E. and Kompenhans, J. (2000). Particle Image Velocimetry, Springer
- Reyes, D. R., Iossifidis, D., Auroux, P-A. and Manz, A. (2002). Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology. *Analytical Chemistry*, 74, 2623–36.
- Santiago, J. G., Wereley, S. T., Meinhart, C. D., Beebe, D. J., Adrian, R. J. (1998). A particle image velocimetry system for microfluidics *Experiments in Fluids*, 25, 316–319.
- Sarrazin, F., Loubière, K., Prat, L., Gourdon, C., Bonometti, T. and Magnaudet, J. (2006). Experimental and numerical study of droplets hydrodynamics in MicroChannel. *AIChE Journal*. 52, 12, 4061–4070.
- Schlichting, H. (1960) Boundary Layer Theory, New York: McGraw-Hill, p.169.
- Seemann, R., Brinkmann, M., Pfohl, T. and Herminghaus, S. (2012). Droplet based microfluidics. *Rep. Prog. Phys.*, 75, 016601.
- Shah, R. K. and London, A.L. (1978). Laminar Flow Forced Convection in Ducts, New York: Academic Press.
- Shang, L., Cheng, Y., Zhao, Y. (2017). Emerging Droplet Microfluidics. *Chemical Reviews*, 117, 7964-8040.
- Shevkoplyas, S. S., Yoshida, T., Munn, L. L. and Bitensky, M. W. (2005). Biomimetic Autoseparation of Leukocytes from Whole Blood in a Microfluidic Device, *Anal. Chem.*, 77, 3, 933–937.
- Shields IV, C. W., Reyes, C. D. and López, G. P. (2015). Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation. *Lab on a Chip*, 15, 1230-1249.
- Shirai, K., Pfister, T., Büttner, L., Czarske, J., Müller, H., Becker, S., Lienhart, H. and Durst, F., Highly spatially resolved velocity measurements of a turbulent channel flow by a fiber-optic heterodyne laser-Doppler velocity-profile sensor, *Experiments in Fluids*, 40, 473.

- Song, H., Tice, J. D., and Ismagilov, R.F. (2003). A Microfluidic System for Controlling Reaction Networks in Time. *Angewandte Chemie - International Edition*, 42, No. 7
- Song, H., Chen, D. L. and Ismagilov, R. F. (2006). Reactions in droplets in microfluidic channels. *Angewandte Chemie - International Edition*, 45, 7336–7356.
- Stone, H. A. (2005). On lubrication flows in geometries with zero local curvature. *Chemical Engineering Science*. *Chemical Engineering Science*, 60, 4838–4845.
- Tate, T. (1864). XXX. On the magnitude of a drop of liquid formed under different circumstances. *Philos. Mag.*, 27, 176–180.
- Taylor, G. I., (1934). The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow, *Proc. Roy. Soc.*, 29, 501–523.
- Tchikanda, S. W., Nilson, R. H., Griffiths, S. K. (2004). Modeling of pressure and shear-driven flows in open rectangular microchannels. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 47, 527–538
- Teh, S.-Y., Lin, R., Hung, L.-H. and Lee, A. P. (2008). Droplet microfluidics. *Lab on a Chip*, 8, 198–220.
- Theunissen, R., Scarano, F. and Riethmuller, M. L. (2008). On improvement of PIV image interrogation near stationary interfaces. *Experiments in Fluids*, 45, 557–572.
- Thorsen, T., Roberts, R. W., Arnold, F. H. and Quake, S. R. (2001). Dynamic pattern formation in a vesicle-generating microfluidic device. *Physical Review Letters*, 86, 18, 4163–4166.
- Tice, J. D., Lyon A. D., Ismagilov, R. F. (2004). Effects of viscosity on droplet formation and mixing in microfluidic channels. *Analytica Chimica Acta*, 507, 73–77
- Timgren, A., Trägårdh, G. and Trägårdh, C. (2008). Application of the PIV technique to measurements around and inside a forming drop in a liquid-liquid system. *Experiments in Fluids*, 44, 565–575.
- Timgren, A., Trägårdh, G. and Trägårdh, C. (2009). Effects of cross-flow velocity, capillary pressure and oil viscosity on oil-in-water drop formation from a capillary. *Chemical Engineering Science*, 64, 1111–1118.
- Timgren, A., Trägårdh, G. and Trägårdh, C. (2010). A model for drop size prediction during cross-flow emulsification. *Chemical Engineering Research and Design*, 88, 229–238.
- Utata, A. S., Fernandez-Nieves, A., Stone, H. A. and Weitz, D. A. (2007). Dripping to Jetting Transitions in Coflowing Liquid Streams. *Phys. Rev. Lett.*, 99, 094502.

- van Steijn, V., Kreutzer, M. T. and Kleijn, C. R. (2007). μ -PIV study of the formation of segmented flow in microfluidic T-junctions. *Chemical Engineering Science*, 62, 7505–7514.
- van Steijn, V., Kreutzer, M. T. and Kleijn, C. R. (2009). Flows around Confined Bubbles and Their Importance in Triggering Pinch-Off. *Physical Review Letters*, 103, 214501.
- van Steijn, V., Kleijn, C. R. and Kreutzer, M. T. (2010). Predictive model for the size of bubbles and droplets created in microfluidic T-junctions. *Lab on a Chip*, 10, 2513–2518.
- Wang, Z., Wang, S.C., Schroeder, V., Schubert, H. (2000). Effect of continuous phase viscosity on membrane emulsification. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 8(2), 108–112.
- Whitesides, G. M. (2006). The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 442, 368–373.
- Wilhelm, S. (2003). Confocal Laser Scanning Microscopy, *Carl Zeiss*
- Wong, V. L., Loizou, K., Lau, P. L., Graham, R. S., Hewakandamby B. N., (2017). Numerical studies of shear-thinning droplet formation in a microfluidic T-junction using two-phase level-SET method. *Chemical Engineering Science*, 174, 157–173.
- Xu, S., Nie, Z., Seo, M., Lewis, P., Kumacheva, E., Stone, H.A., Garstecki, P., Weibel, D.B., Gitlin, I. and Whitesides, G.M. (2005), Generation of Monodisperse Particles by Using Microfluidics: Control over Size, Shape, and Composition. *Angewandte Chemie International Edition*, 44: 724-728. <https://doi.org/10.1002/anie.200462226>
- Yi, G-R., Jeon, S-J., Thorsen, T., Mahoharan, V. N., Quake, S. R., Pine, D. J., Yang, S-M., (2003). Generation of uniform photonic balls by template-assisted colloidal crystallization. *Synthetic Metals*. 139. 803–806.
- Yi, C., Li, C. W., Ji, S. and Yang, M. (2006). Microfluidics technology for manipulation and analysis of biological cells. *Analytica Chimica Acta*. 560. 1–23.
- Yoon, S. Y. and Kim, K. C. (2006). 3D particle position and 3D velocity field measurement in a microvolume via the defocusing concept. *Meas. Sci. Technol.* 17, 2897–2905.
- Zagnoni, M., Anderson, J. and Cooper, J. M. (2011). Hysteresis in Multiphase Microfluidics at a T-Junction. *Langmuir*, 26, 9416–9422
- Zhao, C. X. and Middelberg, A. P. J. (2011). Two-phase microfluidic flows. *Chemical Engineering Science*. 66. 1394–1411.

Zhu, P., Tang, X., Wang, L., (2016). Droplet generation in co-flow microfluidic channels with vibration. *Microfluid Nanofluid.* 20:47. DOI 10.1007/s10404-016-1717-2

今井秀孝, 編, (2018). 測定における不確かさの表現のガイド[GUM]ハンドブック, 日本規格協会

鞆康治, (2010). 赤血球と周囲流体の相互作用の可視化計測に向けた共焦点マイクロ PIV システムの開発, 東京大学 修士論文

笠木伸英, 木村龍治, 西岡通男, 日野幹雄, 編, (1997). 流体実験ハンドブック. 朝倉書店.

可視化情報学会編 (2002). PIV ハンドブック. 森北出版

可視化情報学会編 (2018). PIV ハンドブック (第2版). 森北出版

可視化情報学会編 (2000). PIV の実用化・標準化研究会最終報告書

木下晴之, (2006). 共焦点マイクロ PIV を用いた微小液滴内部流動に関する研究, 東京大学 学位論文

ドゥジェンヌ, ブロシヤール-ヴィアール, ケレ, 著, 奥村剛, 編, (2003). 表面張力の物理学. 吉岡書店

熱線流速計 7000Ser. 日本カノマックス株式会社ホームページ

ヘイシン モーノディスペンサーホームページ・技術コラム【吐出の羅針学】表面張力と液ダレの関係 <http://www.mohno-dispenser.jp/compass/compass05.html>

森田佳士之, (2019). 自律振動ポリマーの三次元マイクロ挙動計測のためのデジタルホログラフィック顕微鏡の開発, 東京大学 学位論文

Appendix A. 並進液滴内外流れの 3 次元計測

本編第 2 章で開発した多波長共焦点マイクロ PIV システムを用いた計測対象として、3 次元渦を利用した混合促進などに用いられる並進液滴内外の両相同時計測を行った。まず、先行研究で達成されていることと課題を述べ、本計測での目標を設定する。

先行研究

過去の並進液滴計測例としては、1.3 節で示した Kinoshita et al. (2007) は本論文で開発した多波長共焦点マイクロ PIV の元となる単波長システムを用いて、液滴内部流動の計測を行った。深さ 59 μm の流路に対して深さ全体を複数断面で 2 次元計測し、連続の式を用いた 3 次元再構築により面外方向速度成分の分布を算出した。またそこから液滴表面の 3 次元流動を推測しただけでなく、流れ場や界面形状が中央高さ断面に対して対称であることを明らかにしている (図 A.1)。課題としては、流動メカニズムの理解のための、液滴外 (連続相) 流れが得られていない点が挙げられる。一方、Park et al. (2004) の共焦点マイクロ PIV 計測では、気液混相流を用いてバブル外の連続相流れの計測に成功した (図 A.2)。しかし、やはり分散相との同時計測に至っておらず、相間の相互作用は不明なままである。

これらの従来研究を踏まえて、本章では両相の同時計測により、壁面との接触状況や計測が難しい流路四隅の連続相ガタ一流れの計測を通して、多波長システムの評価とともに流動構造の解明を試みる。

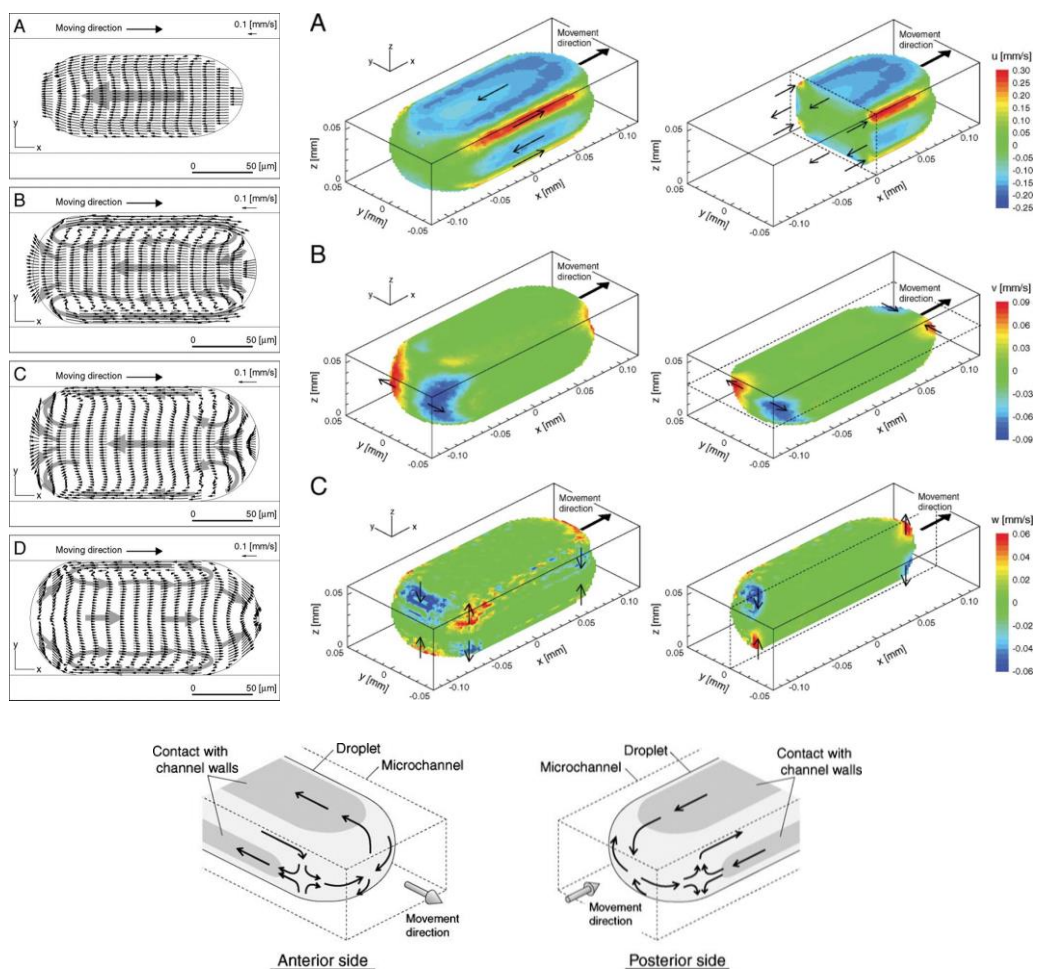


図 A.1 並進液滴内部の共焦点 PIV 計測結果と 3 次元流動構造.

Kinoshita et al., 2007 より転載.

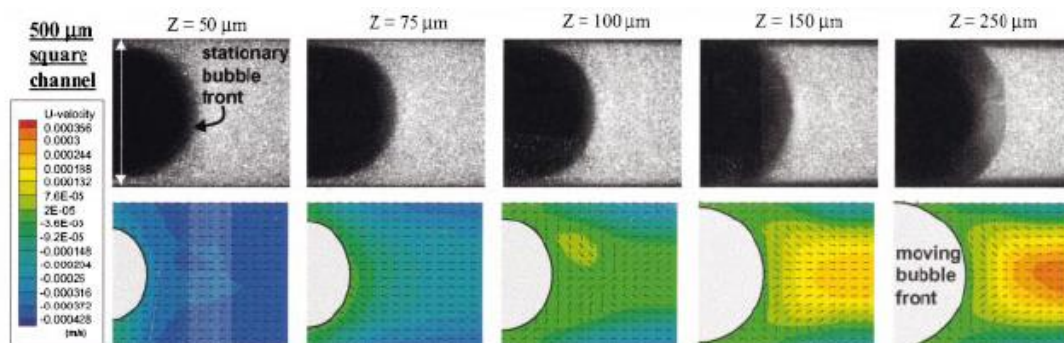


図 A.2 気液混相流連続相の 2D 共焦点マイクロ PIV 計測の例. Park et al., 2004 より転載.

実験・解析条件

図 A.3 に液滴形成デバイスの略図を示す. 材質は本編の T 字流路と同じく全面 PDMS で, 直線部の流路サイズは幅 $100\ \mu\text{m}$, 深さ $41\ \mu\text{m}$ の若干扁平な長方形断面である. 送液にはシリンジポンプ (KDS100, KD Scientific Inc., 米国) と容積 $250\ \mu\text{L}$ のガラスシリンジ (Gastight Syringes 1725LT, Hamilton Company, 米国) を用いている.

表 A.1 に作動流体とトレーサ粒子の詳細を示す. 流体は本編表 4.2 と同じであるが, トレーサ粒子とロングパスフィルタのみ異なるものを使用している. 流動条件は表 A.2 に示す. 液滴は T 字で両相が合流した後の平均流速よりも速い $0.846\ \text{mm/s}$ で並進しており, 周囲流を追い越していた. このことはつまり, 液滴前後の連続相をつないでいる流路四隅の gap 領域において, 連続相が液滴の動きとは相対的に後方へと流れているということが示唆される.

40 倍の対物レンズを使用した共焦点 PIV の撮影領域は $227.2\ \mu\text{m} \times 170.4\ \mu\text{m}$ ($800 \times 600\ \text{pixel}$) であり, x - y 平面内の解像度は $0.284\ \mu\text{m}/\text{pixel}$ であった. 撮影はフレームレート $990\ \text{fps}$, 露光時間 $1,005\ \mu\text{s}$ で連続画像を取得しているが, 液滴生成のような非定常流れでは無いため, 液滴が画面中央にある 2 フレームのみを PIV 解析に用いる. 計測体積は中央高さ断面に対する対称性を仮定して流路下半分とし, 流路底面近傍 ($z=0\ \mu\text{m}$) から流路の中央高さ ($z=24\ \mu\text{m}$) までを $6\ \mu\text{m}$ 間隔で 5 断面計測している.

PIV 解析条件は, 面内速度データの解像度は, PIV 相関窓サイズ $32 \times 32\ \text{pixel}$ に対してオーバーラップを x 方向 50% , y 方向 75% とし, $4.544\ \mu\text{m} \times 2.272\ \mu\text{m}$ とした. 連続の式を用いた面外方向速度成分の算出においては中央断面を基準に対称流れであると仮定し, 中央断面で $w=0$ の境界条件を与えて流路底面方向へ計算を進めた.

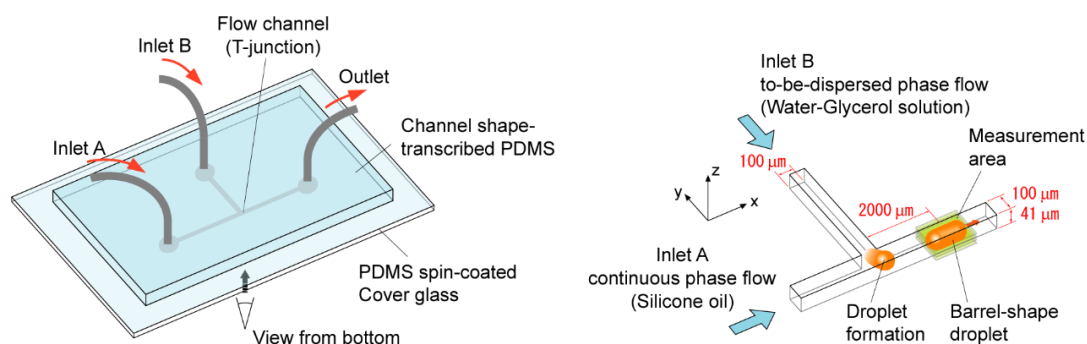


図 A.3 流路の詳細.

表 A.1 作動流体とトレーサ粒子.

	連続相 (油相) (Inlet A)	分散相 (水相) (Inlet B)
作動流体	シリコンオイル KF-6001	グリセリン水溶液
流体比重 [g/cc]	0.980	1.149
粘度 [mPa·s]	44.15	10.58
屈折率 (25°C)	1.412	1.412
トレーサ粒子 粒径 [μm] 蛍光色と材質	φ 0.9 ~ 1.4 Fluorescein dyed porous silica	φ 1.0 Nile Red fluorescent polystyrene
トレーサ粒子の蛍光波長特性 励起 / 蛍光 [nm]	Fluorescein 500 / 525	Nile red 535 / 575
蛍光フィルタの波長特性	Band-pass FF01-512/25 CWL: 512 nm	Long-pass RG630 λc: 630 ± 6 nm
共焦点深度 [μm]	3.34 ± 0.47	3.43 ± 0.23
トレーサ粒子の比重 [g/cc]	2.10 (実比重) 0.18 ~ 0.25 (かさ比重)	1.06
トレーサ粒子体積率 [vol%]	0.3	0.4
界面張力係数 [mN/m]	11.1±0.12	

(実験環境温度 : 25 °C)

表 A.2 流動条件.

	連続相	分散相 (液滴)	合流後
流量 [μl/Hr]	10.0	2.0	12.0
平均流速 [mm/sec]	0.678	0.136	0.813

計測結果

(1) 各計測断面内の速度分布

図 A.4 に各計測断面における両相の2次元絶対速度分布を、図 A.5 に絶対速度から x 方向の液滴並進速度 0.846 mm/s を差し引いた相対速度分布を示す。絶対速度からは、壁のドラッグにより流路の底面と側壁近傍における両相ともに非常に小さいことが示されている。これら壁面近傍の小さな絶対速度は相対速度分布では流れ方向と逆向きの速度となるが、

壁から遠い流路中央軸近傍の相対速度は順流のみであり、移動する各液滴／プラグの座標系から見ると循環流が示唆される。なお、分散相では順流が最も大きい部位は中心軸近傍であったが、周囲の連続相は1/4高さ近傍において順流が最大となっており、複雑な流動構造が見られる。また、底面近傍では流路四隅に生じた幅最大 $18\mu\text{m}$ の gap 領域を8個のベクトルで解像できており、gap 領域内の流速分布も計測できている。このことはつまり、gap 領域内のせん断応力算出も可能ということである。

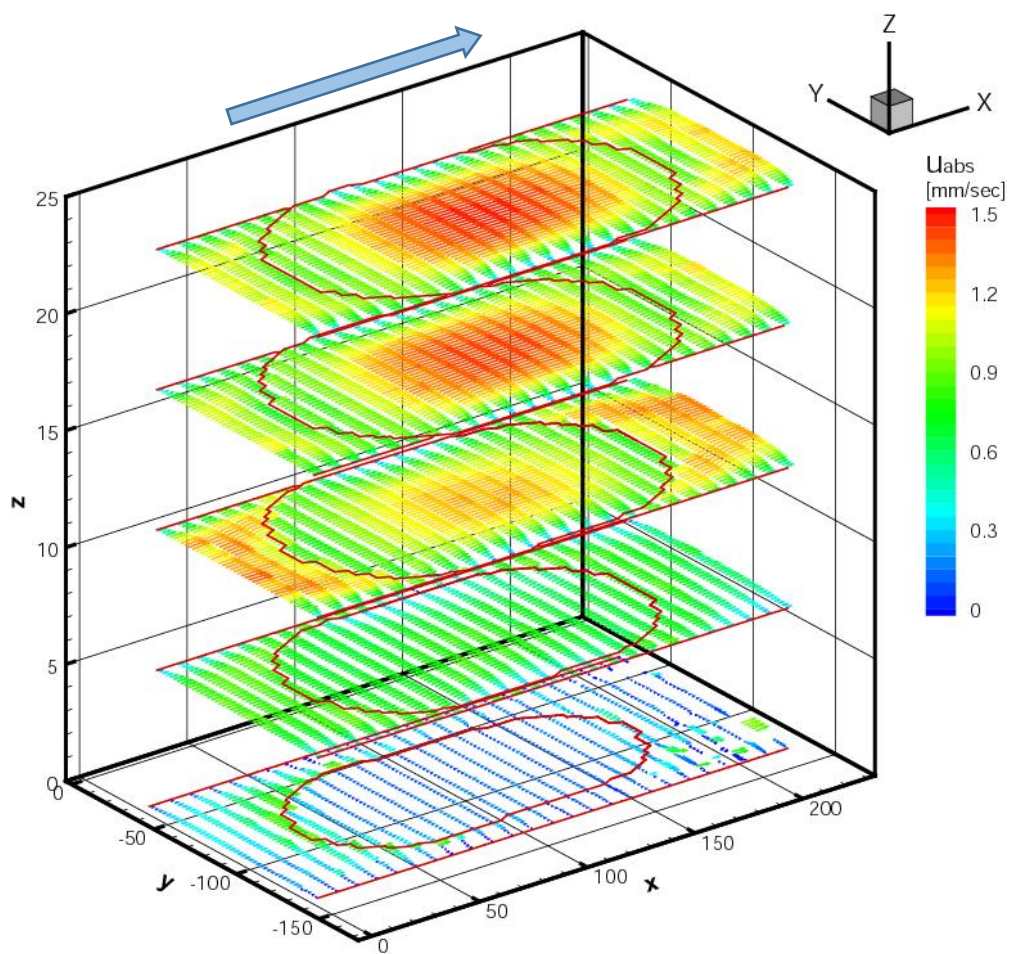


図 A.4 計測断面内絶対速度分布.

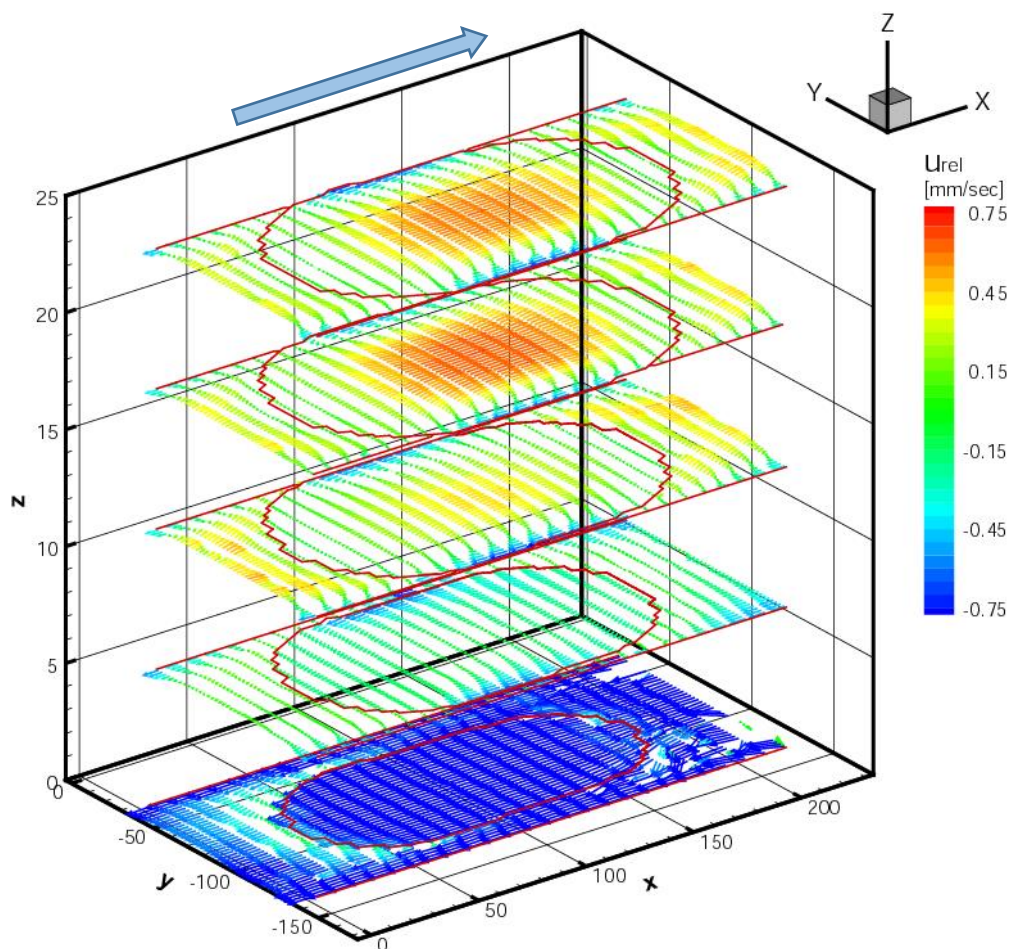


図 A.5 計測断面内相対速度分布.

(2) 連続の式により再構築した3次元流動

連続の式を用いて図 A.5 の相対速度データを元に3次元流動を算出した. 流動構造についての議論を助けるために, 図 A.6 に再構築された界面の3次元形状の概略を示す. 液滴の形状は長軸方向に細長く, 側壁と上下壁の4平面で流路壁と接触している. また, 流路四隅の gap 領域によって, 液滴前後の連続相プラグは接続されている.

3次元流動構造と各相間の相互作用を検証するために, 図 A.6 の赤色で示した流路下半分の相対速度流動場を A.7~A.10 のいくつかのビューで示す. 流れの方向は図 A.6 と同じく, 左から右である. 図 A.7 は両相内部の流動構造を特徴的に表す3次元流線を示している. 流線の色は3次元流動構造を描写するために z 座標をコンターで表示している. 図 A.8 は垂直速度成分 w の分布を示す. 図 A.9 は 1/4 切断面における速度の大きさと流線の分布を示している. 1/4 切断面は中央高さの x - y 平面と軸中心で垂直に切断した x - z 平面である. これらの切断面上に描画した流線は流れの対称性を仮定して, 切断面に垂直な速度成分が無いものとしている. 図 A.10 は流路の底面側から見た流動構造を, 図 A.8 と同じ表示方法で示している.

界面近傍の流動構造を観察することにより、本計測により界面間の相互作用を明らかにすることができた。液滴の前部と後部では、界面を挟んだ垂直渦の w 成分は両相でほぼ同じであり、循環流が互いに打ち消し合っている構造が見られた (図 A.8)。一方、中央高さ断面では周囲流の水平循環渦が液滴のそれよりも強いため、図 A.9 に示すように界面近傍の流線は側壁方向に曲がる。垂流動構造と水平方向の流動構造の違いは流路断面形状のアスペクト比に起因していると考えられる。

図 A.11 では、計測結果から導かれる両相の 3 次元流動構造の模式図を示す。各相にはそれぞれ青、オレンジ、緑で示される 3 つの主要な構造が見られ、各相の同じ色の構造には類似点があった。縦方向の循環流は、青色の流路幅方向中心付近で見られ、図 A.10 の赤色で示されている流路底面におけるドラッグによって生じている。同様にオレンジ色の水平方向の循環流は流路中央高さの両側で見られ、流路側壁からのドラッグによって生じている。上記 2 つの中間に位置する緑色の対角循環は、流路四隅と gap 領域で周囲流に接し、液滴内部に斜めの循環流を生じさせている。

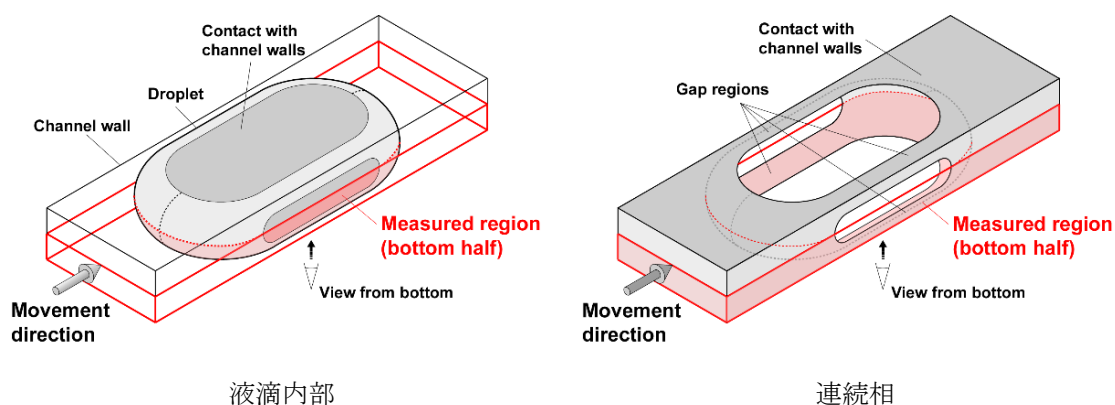


図 A.6 界面の 3 次元形状。Oishi et al., 2011 より転載。

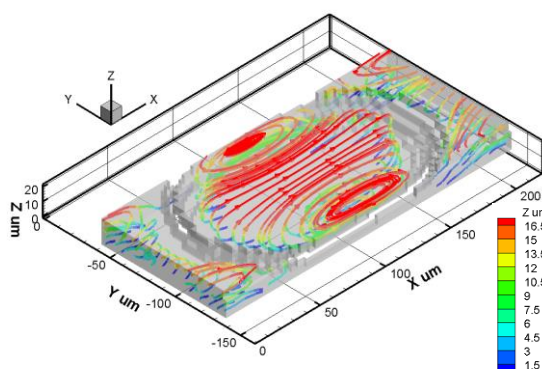


図 A.7 両相の 3 次元流線。

Oishi et al., 2011 より転載。

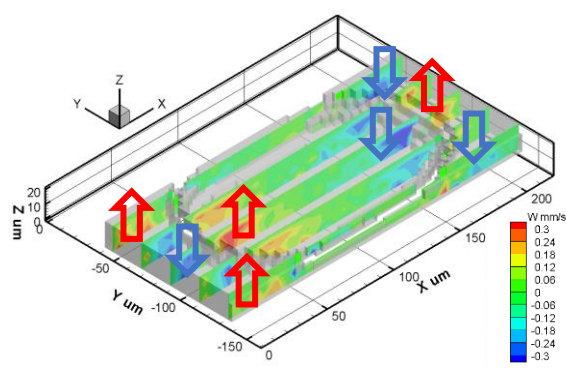


図 A.8 両相の w 速度分布。

Oishi et al., 2011 より転載。

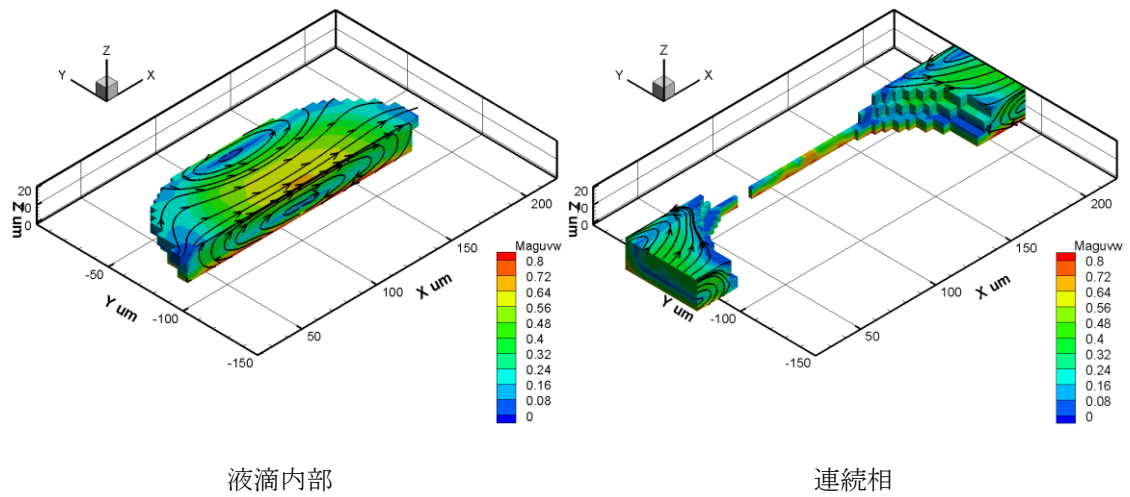


図 A.9 1/4 切断面における流線と速度の大きさ分布. Oishi et al., 2011 より転載.

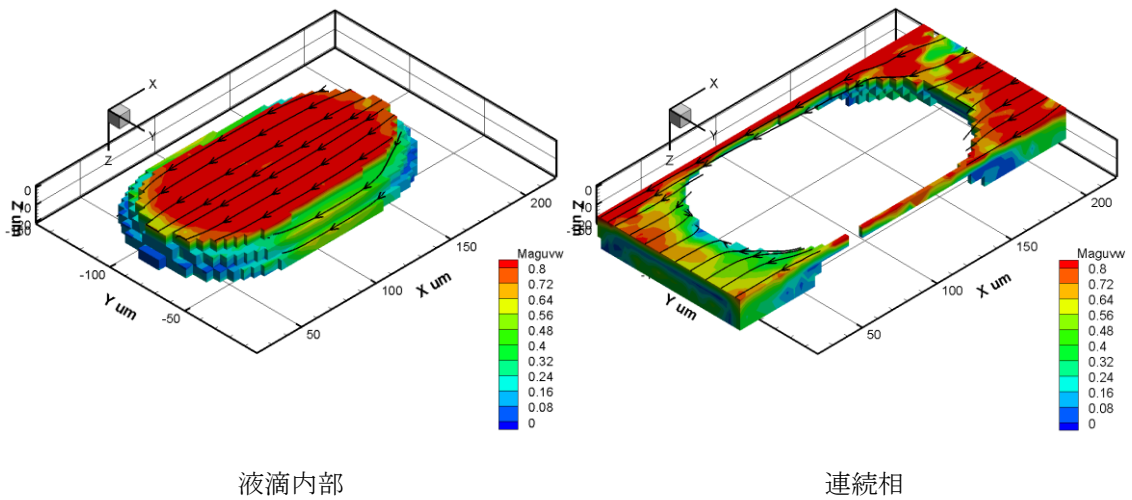


図 A.10 底面から見た速度の大きさ分布と流線. Oishi et al., 2011 より転載.

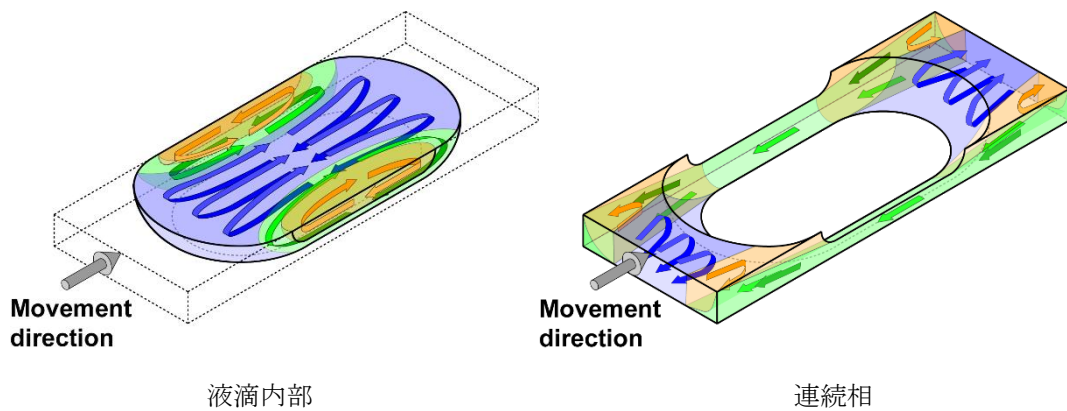


図 A.11 各相における3つの主要な構造とその3次元流れの概略図. Oishi et al., 2011 より転載.

次に、周囲流のより詳細な3次元流動構造を図 A.12, 図 A.13 に示し、解説する。

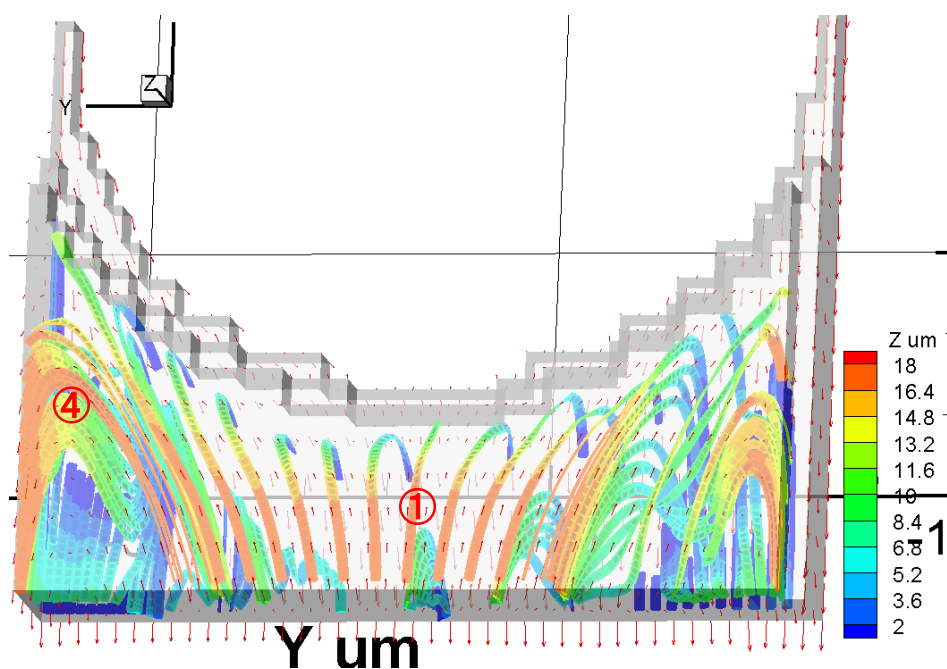


図 A.12 液滴後端の連続相流動構造.

- ① 基本構造: 流路中心から液滴後端に当たり、左右に分かれながら上下壁面方向へ分かれ、上下壁面近傍を戻ってくる。
- ② 中央高さ断面内で、左右へ散らばり、最後に左右壁を伝って戻ってくる (2次元)。
- ③ 一つ前のプラグから流入してきた連続相は、そのまま上下方向に分散しながら後方へ流れる。
- ④ ①と③を組み合わせたような流れ。初め、①のように壁面近傍へ沈み込み、戻ってくるが、その途中で③の上昇流に乗って中央高さ、左右壁面近傍へ向けて再び向きを変える。M字型流動構造をしている。

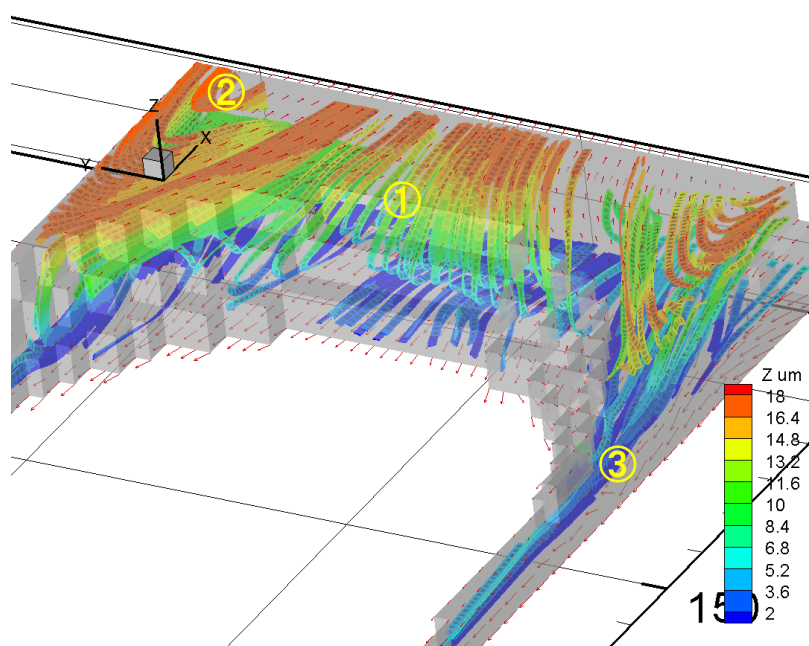


図 A.13 液滴前端の連続相流動構造.

- ① メイン構造：上下壁面近傍から来た後方流れが液滴先端で中央高さ方向に曲げられ，中央高さで前方へと向かう。
- ② 左右壁中央高さを通って後方へ来た流れが液滴とぶつかって壁からはがされ，中心軸方面へ曲げられて前方流れに合流する。（中央高さ断面内2次元）
- ③ 四隅の gap 領域へ流れ込むコーナー部の流れ．絶対流速はきわめて遅い．
- ④ ②と同様に，側壁を伝って後方へ来た流れが界面ではがされて中央部前方へ向かう循環流．

まとめ

多波長共焦点マイクロ PIV システムを使用して， $100\ \mu\text{m}$ （幅） $\times 41\ \mu\text{m}$ （深さ）の断面を持つ直線的流路内を並進移動する水相液滴と周囲の油相の流れを計測・検証した．先行研究と比較しての成果として，同時計測による両相の3次元速度分布取得を可能とし，相間の相互作用を明らかにした．以下に流れ場の特徴をまとめる．

- 界面での相互作用は，界面積に比べてそれぞれの相が壁面に接している面積は数倍大きい．そのため，流れ場の3次元構造は，壁面での拘束条件（壁面速度ゼロ）から誘起される循環流が支配的であると考えられる．その証明として，液滴前後の界面を介しては，流れの向きが3次元的に対向し，互いに打ち消しあっている．

- 壁面から最も遠い流路軸中心では、壁面の影響が最も弱いため、両相ともに前方へ向かう流れが最も速い。
- 液滴は両端が流路軸中心でとがった形状をしているため、上記の拘束条件と壁面の影響の考察から導かれるとおり、循環流は比較的単純な構造になる。それは、界面、周囲部では液体は後方へ、内部では軸中心を中心として、前方へという流れである。
- 連続相の流動構造は複雑であった。その理由として、両端の界面形状が液滴との界面張力により凹型になっており、さらに一つ隣の周囲流プラグと流路四隅の **gap** でつながっているという、複雑な形状を持っていることに由来している。
- 今回の周囲流は、長さがおおよそ液滴の3から4倍あり、液液界面に比べてより壁面の影響を強く受けている。このことが、液液界面での対向した流れをより顕著にしている可能性がある。
- 界面ではスリップ無く、界面での速度は内外で同一となっている。

Appendix B. 液滴生成における不安定性

予備実験としてばらつきを計測した例を図 B.1 に示す。流路断面寸法は $100\ \mu\text{m} \times 80\ \mu\text{m}$ 、平均流速は連続相（シリコンオイル）が $0.22 \sim 11.1\ \text{mm/sec}$ 、分散相（グリセリン水溶液）流速 $0.22, 0.44, 0.89\ \text{mm/sec}$ の条件にて計測した。液滴サイズ（長さ）での評価においては連続相の遅い条件（ $0.5\ \text{mm/sec}$ 以下）で急激にばらつきが大きくなり、液滴生成周期での評価においては、特に分散相が遅い条件（ $0.22\ \text{mm/sec}$ ）において全域に渡りばらつく傾向があった。このことより、以下の点が示唆される。

- 両相どちらも流量が遅い条件にてばらつきが大きく、比較すると分散相より連続相の方が若干大きい流量でもばらつきやすい。これは使用流体の粘度の違いが影響を及ぼしている可能性がある。
- 液滴長さのばらつきが小さいにも関わらず生成周期のばらつきが大きい現象は特に流量比が小さい（流量差が大きい）条件で得られており、これは両相を流すための圧力差が増大したために分散相のばらつきが不安定性の増大につながったものと考えられる。
- 生成周期のばらつきにも関わらず、液滴長さのばらつきが小さい現象が低分散相流量において見られた。これは流量にばらつきはあっても、液滴が分裂する際のカバランズは連続相流量つまり連続相によるせん断力の影響がほとんど無く、界面が伸長した際に生じる連続相上流の圧力上昇が主な影響であることを証明している。

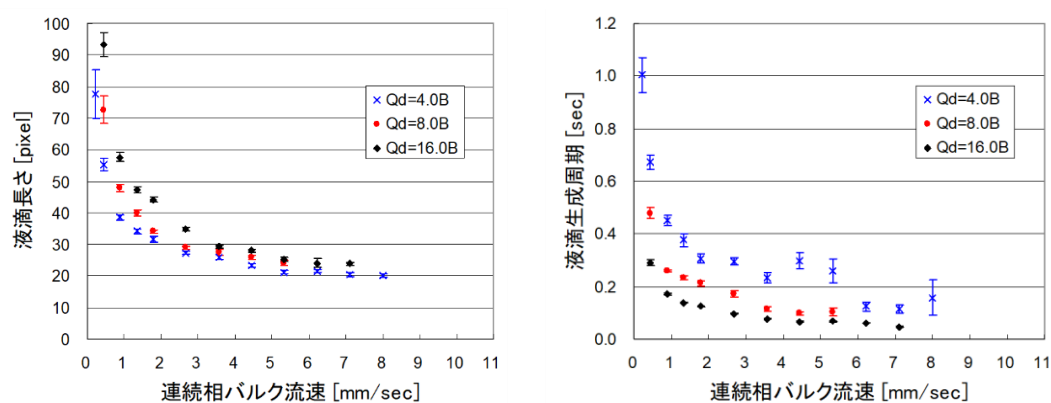


図 B.1 液滴生成におけるばらつきの例。

Appendix C. 光センサを用いた液滴検出

光ファイバセンサを用いた液滴検出の要点は、いかに検出スポットに投射光を集光させ、また検出側においてノイズに対して十分なダイナミックレンジでの検出を行うかである。その点では流路直近にセンサを配置する手法が最適ではあるが、マイクロスケールにおいては位置合わせが困難である。よって本編に記述したファイバセンサ用流路をあらかじめ流路脇に設計しておく手法を採用した。

ここでは、本編の手法に至るまでの開発経緯として、反射式センサの検討と、ファイバ流路式の最適化について解説し、設計の際の参考として記す。

反射式センサによる液滴検出

反射式センサの利点はファイバセンサ用流路をあらかじめ作り込んでおく必要が無く、後付けで設置できることおよび設置場所の自由度にある。図 C.1 に示すキーエンス FU-20 はヘッド内部・同軸上に投光部と受光部が配されているため、流路チップの上面もしくは下面から対象をセンシングすることができる。また、光ファイバの先端にレンズが装着されており、ファイバセンサの弱点であるスポット光の広がりを集光することができる。集光スポットは作動距離 5 mm で、大きさが約 $\phi 80 \mu\text{m}$ である。この集光スポットの位置を PIV 撮影に用いる顕微鏡画像で確認しながら調整する (図 C.2)。

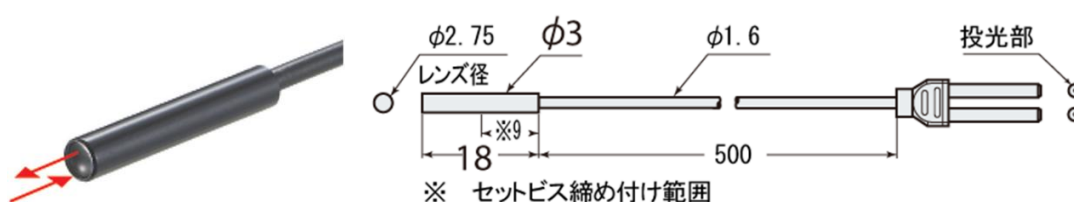


図 C.1 反射式光センサ (FU-20, キーエンス株式会社)。

集光スポットは流路内部に焦点を合わせ、スポット内の連続相と分散相の比率および界面形状により反射光強度が変動する。受光した反射光は 1~5V の電圧値として出力され、A/D 変換機にてデジタル値に変換されて波形を得る。

得られた出力波形を図 C.3 に示す. 比較として本編の透過式センサの波形も併記した. アナログ出力信号 1~5V をデジタル 4096 階調に変換し, センサの感度を最大にしても, 反射式では 1 周期当たりデジタル値 7~8 階調しか得られなかった. 一方, 最終的に採用した, 対向式センサをハウジングチャンネルに挿入する方式では, 最終的に約 400 階調で変動が捉えられており, 50~57 倍ほどのダイナミックレンジ向上を達成した. これにより, 本編 3.2 節の動作コンセプトが実現可能となった.

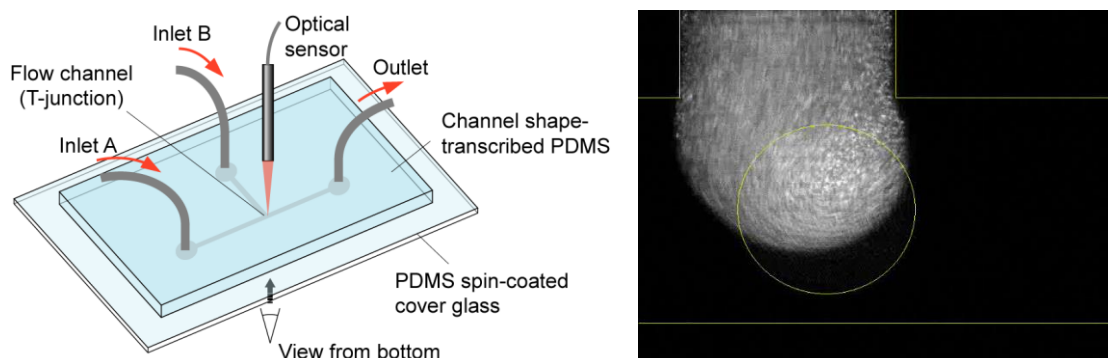


図 C.2 反射式センサの配置と光スポットサイズ (流路幅は 100 μm).

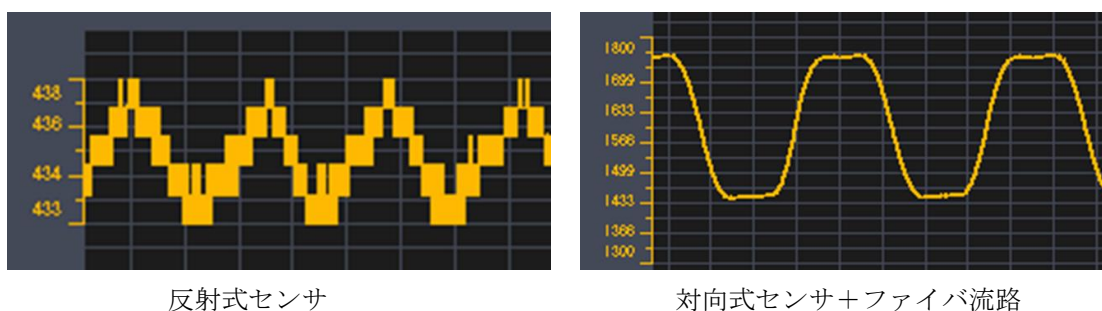


図 C.3 センサ波形の比較.

対向式センサ間距離の検討

次に, 対向式におけるセンサ間の距離が感度に与える影響を図 C.4 に示したデザインのハウジングチャンネル付き流路で検証した. 得られた階調変動は距離 400 μm で約 380, 距離 500 μm で約 350, 距離 700 μm で約 220 であった. 距離に反比例して大きな階調差を得られるだけでなく, 界面通過時の階調変化の傾きも距離が短いほど急峻であり, より高い界面補正性能が得られた. ハウジングチャンネル方式の懸念点としては, 挿入したファイバ端面がファイバ流路壁を押ししてしまった場合に, センサ間距離が近いとメイン流路にまで変形が伝わってしまうことであり, センサの設置には細心の注意が必要である. 本編ではこの懸念点の改善のため, センサ流路先端を広げるとともに, センサ先端が流路壁を推さないような構

造としている。

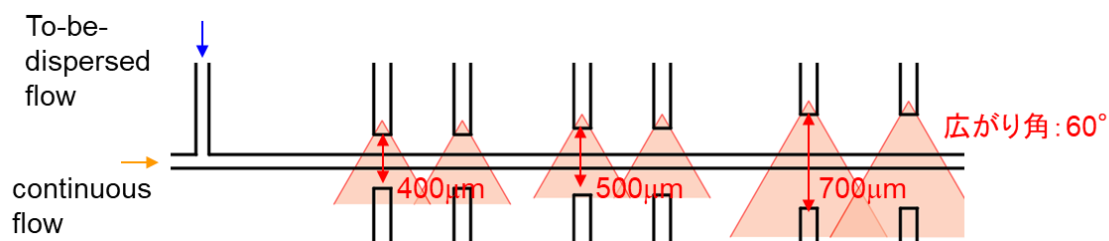


図 C.4 センサ間距離の最適化検討に用いた流路デザイン。

ハウジングチャンネル形状の最適化

センサ挿入チャンネル壁を本編図 3.3 に示したレンズ形状にすることで、ファイバセンサ Emitter 端から照射される光を集光し、また Receiver 端への受光量の増加を狙った。その結果、図 C.5 に示すように、センサ値および SN 比が向上した。感度向上はノイズに強くなることを意味し、ダイナミックレンジ向上は波形の勾配が大きくなり、センシング精度向上に寄与できる。また、副次的な効果として、センサが壁を推さないため、流路壁に変形が伝わらないという利点を得ることができた。

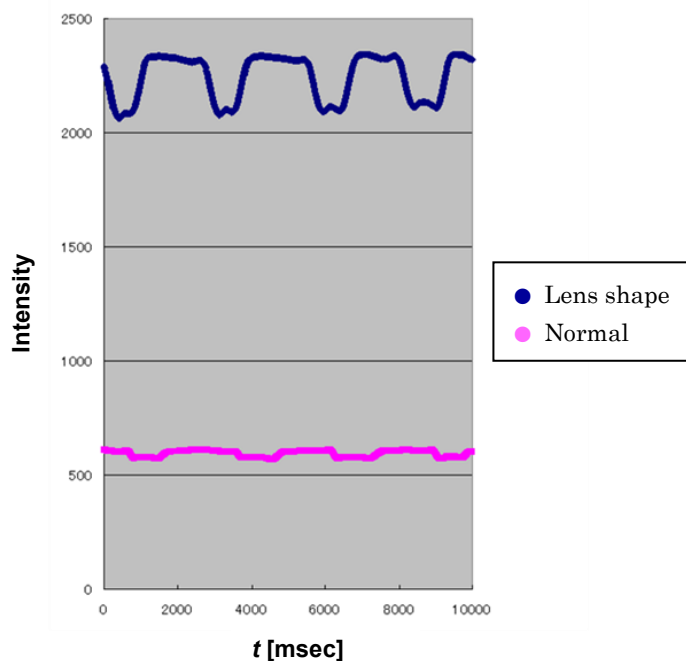


図 C.5 ハウジングチャンネル形状の最適化によるセンサ信号の向上。

Appendix D. 計測限界速度向上と血球流動計測

共焦点マイクロ PIV の最大の欠点は、計測できる限界速度が通常のマイクロ PIV に比べて大きく制限されてしまうことである。これはシステムの主要な構成要素であるニポウディスク式共焦点スキャナが持つ本質的な欠点であり、直接的にはニポウディスクの解散速度を上げることでしか対応できない。また、マイクロ PIV においては、光学顕微鏡で撮影できる限りの高倍率で、小さな計測対象を計測するニーズが高い。しかしながら、倍率を上げると視野が狭くなり、そのぶん同じ流速・撮影速度であったとしても画像内の移動量は大きくなる。つまり、倍率と計測限界速度には相反する事項が含まれており、それが高倍率撮影の一つのネックとなってきた。

そこで、電動並進ステージ上にマイクロ流路デバイスを載せ、流れと反対方向に流路デバイスごとステージを移動させることで、視野内の見かけの流動速度を低減させる間接的なアイデア「並進型共焦点マイクロ PIV システム」を考案した (Oishi et al., 2012)。図 D.1 にシステムの基本概念を示す。この方式により、従来の共焦点マイクロ PIV システムよりも高い絶対速度の計測が可能となるだけでなく、流れ場中に着目したいターゲット（赤血球など）がある場合に、その移動速度とステージの速度を合わせることで、視野からのターゲットの逸脱を防ぎ、長時間の追跡計測を可能とする。また、流路壁内にマーカ粒子を埋め込み、共に視野内に収めることにより、絶対速度の算出に必要なステージの移動速度を計測できるようにしている。

同様のシステムはほぼ同時期に Smith et al (2010) が移動する気泡の周囲の流れを測定するために開発したが、彼らの測定対象は幅 $500\ \mu\text{m}$ ほどの流路であり、平面内空間分解能も $1\ \mu\text{m}$ 程度のため、マイクロ流体デバイスを用いた近年の解析対象である生細胞スケールの数 μm に対して解像度が十分ではない。また、この手法で最も重要視されるのがステージ移動時の z 方向振動であり、これが被写界深度に対して有意な場合には計測自体が成り立たない。Smith らのシステムは共焦点ではない通常のマイクロ PIV をベースとし、低 NA の対物レンズを用いた深い被写界深度の光学系であるため、本編表 2.8 に示した傾向から被写界深度は少なく見積もっても $10\ \mu\text{m}$ 程度はあると推測される。実際に被写界深度と z 方向振動に関する記述はいが、やはり細胞スケールには十分ではないと考えられる。

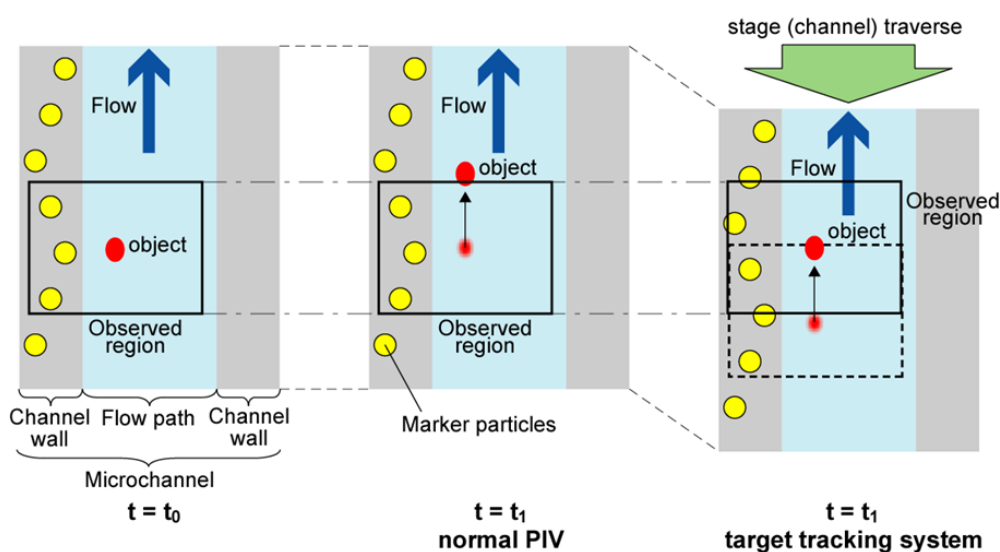


図 D.1 並進型共焦点マイクロ PIV システムの概念図.

Smith らのシステムは低倍率であるため視野が広く、それだけ大きな絶対速度も計測できるが、高倍率へ対応は並進ステージの各軸方向の振動を十分に考慮する必要がある。本システムは光学顕微鏡で計測できる最大倍率での計測に対応させ、更に共焦点マイクロ PIV と組み合わた際の非常に浅い被写界深度に対しても計測と精度が保証できるシステムの構築を目指した。

計測対象としては、微小な固液混相流である赤血球流れを選択した。その理由として、マイクロ PIV の計測対象として最も一般的なマイクロ流体デバイスにおいて、近年は扱う物質がより多様になってきており、特にバイオ関連、ヘルスケア関連で生細胞を流すアプリケーションが増加している。その背景には病気の発生メカニズムや早期診断、生体機能の維持といった重要な研究対象に対し、細胞もしくはそれよりも小さいスケールで起きているレベルでの役割が明らかになりつつあるからである。中でも赤血球は血液成分のうちで最も比率が高く、酸素供給を司るだけでなく疾患マーカーとしても有用なため、マイクロ流路を用いた分析対象として多用されている。

赤血球単体に着目すると、直径約 $8\ \mu\text{m}$ 、厚さ約 $2\ \mu\text{m}$ の両凹形状で比表面積が高く、膜を有したカプセル構造である。また、他の細胞とは異なり核が無いいため、変形性が非常に高い。この特性により、細動脈を流れる際に変形やタンブリング（剛体回転）、タンクトレッド（膜の回転）運動をすることで血管軸に集まる軸集中を起し、流動抵抗を減らす機能があると考えられている。そこで、本システムの計測対象として単一赤血球の高倍率共焦点マイクロ PIV 計測にチャレンジした。

装置の構成と性能

計測対象のサイズと速度スケールは直径 $8\ \mu\text{m}$ の赤血球を解像するために 100 倍の高 NA 油浸対物レンズ (PLAPO CS 100 /1.4-1.25 HCX, Leica Microsystems, Germany) を用い、サブミクロンの平面内空間解像度 $0.116\ \mu\text{m}/\text{pixel}$ を確保した。その際の視野は $92.8 \times 69.6\ \mu\text{m}$ となり、視野内に計測用流路とマーカ粒子用流路を入れる必要があるため、流路幅は $40\ \mu\text{m}$ としている。図 D.2 にそのセットアップを示す。トレーサ粒子は赤血球膜に $\phi 0.2\ \mu\text{m}$ の蛍光粒子 (FluoSpheres F8811, Invitrogen-Molecular Probes Inc., USA) をあらかじめ付着させておき、周囲流体には同径で蛍光波長の異なる粒子 (FluoSpheres F8813, Invitrogen-Molecular Probes Inc., USA) を分散させることで、多波長システムにより同時計測を行う。

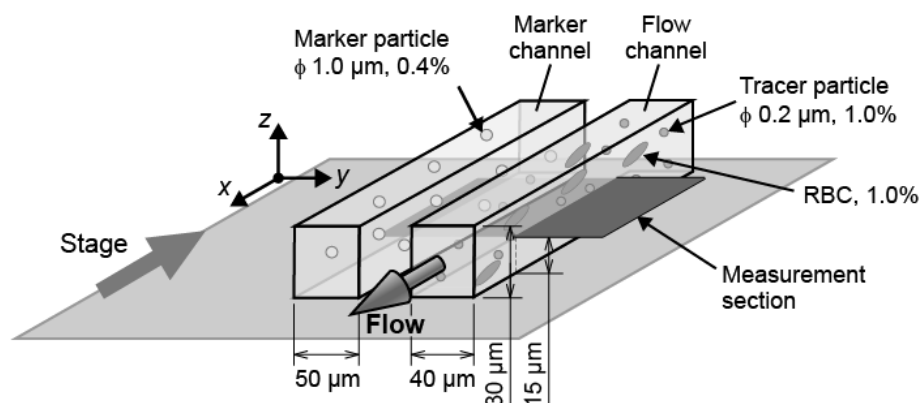


図 D.2 マイクロ流路の配置と計測条件. Oishi et al., 2012 より転載.

この設定下における共焦点深度は $0.58\ \mu\text{m}$ であり、固定ステージの場合の計測限界速度はおよそ $0.70\ \text{mm}/\text{sec}$ である。それに対し、先行研究からタンクトレッド運動に必要なせん断応力を生じさせるため、最大流速が $1.25\ \text{mm}/\text{sec}$ の流れを設定した。よって、少なくともステージ並進速度は限界速度の倍まで計測できる必要がある。また、今回導入するステージに求められる性能のうち最も重要なものは z 方向の振動であり、有効な計測のためには共焦点深度に対して振幅が少なくとも半分～ $1/3$ 以下である必要がある。

上記の必要性能を鑑み、本システムでは半導体製造にも用いられる空気潤滑式ステージ (VMDA-100, PMT Corporation, Japan) を採用した。その構成図と外観を図 D.3 に示す。ステージの設定可能な並進速度レンジは $0.08\ \mu\text{m}/\text{s} \sim 4\ \text{mm}/\text{s}$ であり、理論上は計測限界速度のおよそ 3.5 倍が計測可能である。また、レーザ変位計 (LK-G10, キーエンス株式会社, 日本) を用いてステージを移動させながら振動の最大振幅を測定したところ、全て $0.10\ \mu\text{m}$ 未満であり、共焦点深度の $1/4$ 未満に抑えることができた (表 D.1)。

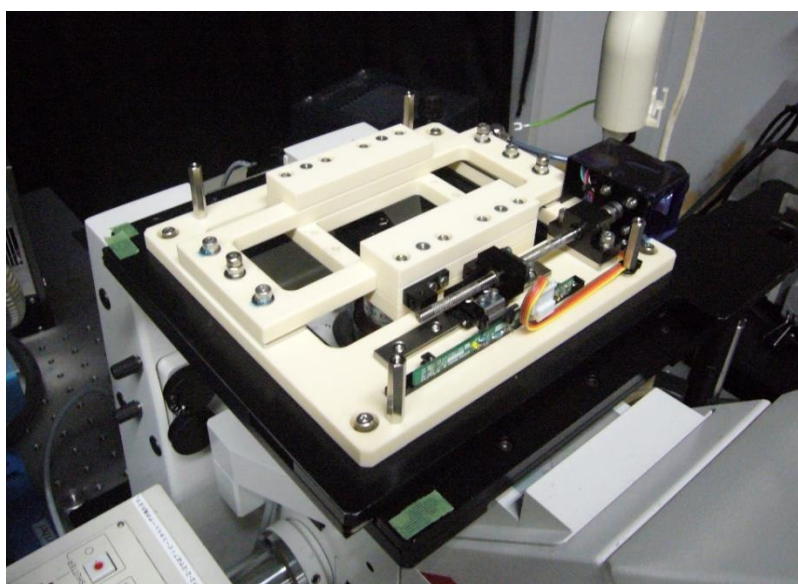
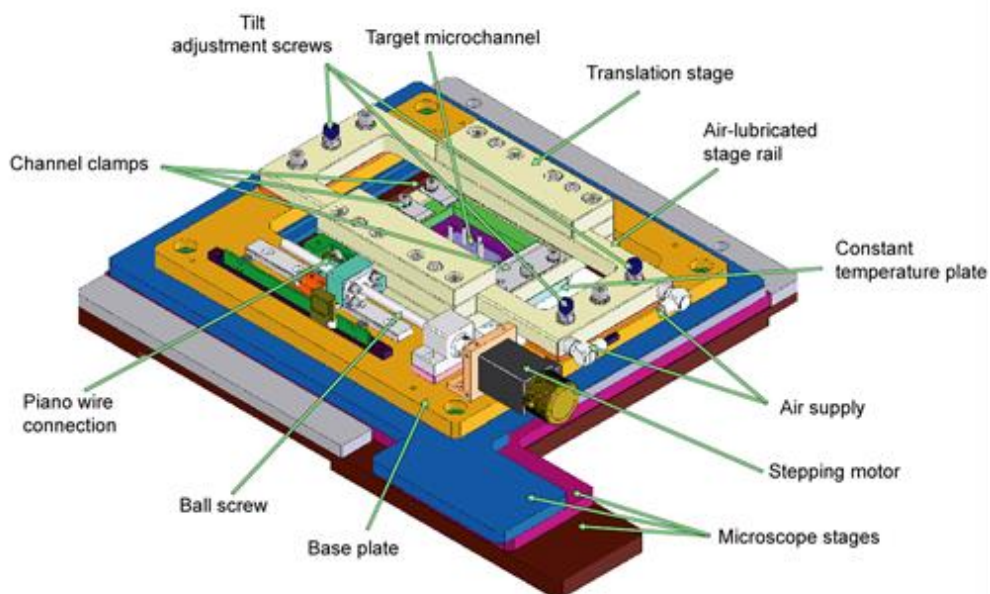


図 D.3 並進ステージシステムの構成図と外観. Oishi et al., 2012 より一部転載.

表 D.1 ステージ移動時の最大面外振動振幅の測定結果.

ステージ移動速度	1,000 Hz 計測における z 方向振動の最大振幅
停止 (0 mm/s)	0.093 μm
0.10 mm/s	0.089 μm
0.35 mm/s	0.099 μm
0.50 mm/s	0.096 μm
0.70 mm/s	0.089 μm

矩形流路流れを用いた性能および精度検証

図 D.4 に計測性能の検証結果を示す。赤血球用流路より若干サイズが異なる断面幅 $30.6\ \mu\text{m}$ × 深さ $54.8\ \mu\text{m}$ の流路に対し、平均流速 $0.33\ \text{mm/s}$ (流量 $2\ \mu\text{l/h}$ ・ 最大流速 $0.67\ \text{mm/s}$) および平均流速 $0.70\ \text{mm/s}$ (流量 $4\ \mu\text{l/h}$ ・ 最大流速 $1.34\ \text{mm/s}$) の定常流れを中央高さ断面にて PIV 計測した。それぞれステージの移動速度を $0.35\ \text{mm/s}$ と $0.70\ \text{mm/s}$ として計測した結果、ステージ駆動時であっても静止時と同等の精度で理論値に近い値が計測できており、さらに静止状態では計測できない速度レンジである $0.70\ \text{mm/s}$ 以上の計測も実現した。

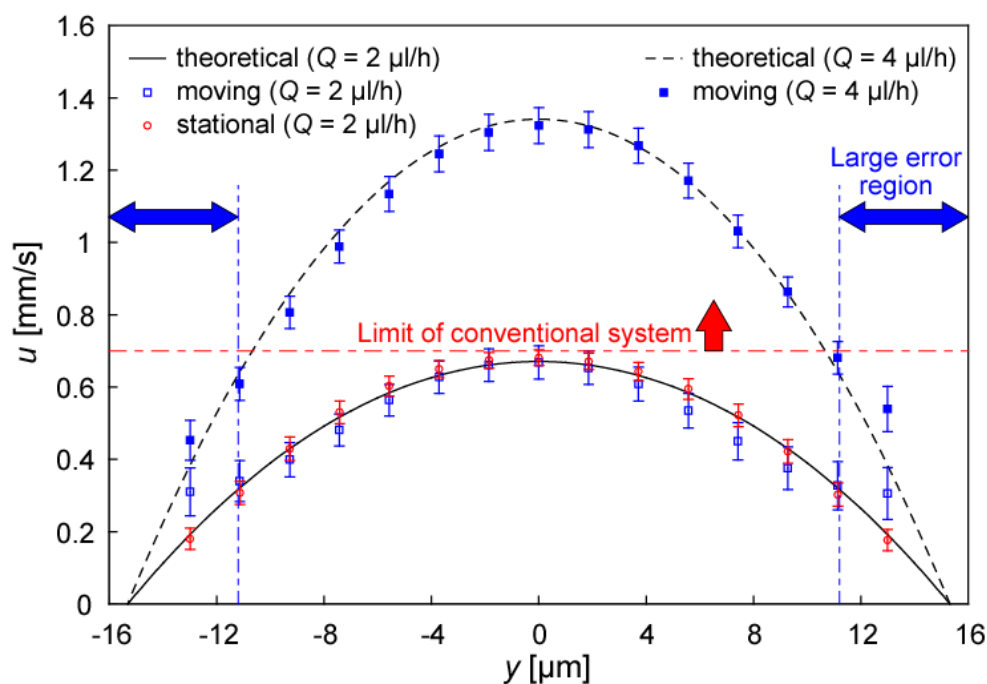


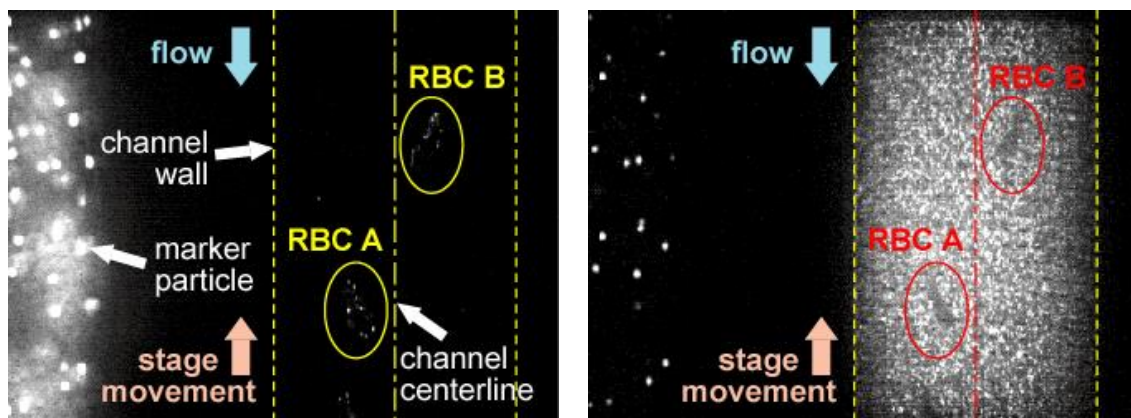
図 D.4 流れ方向流速の計測性能検証結果。Oishi et al., 2012 より転載。

赤血球と周囲流体の相互作用の計測

計測対象である赤血球が混在した流れを本システムを用いて計測した。図 D.5 に波長分離した PIV 画像を示す。画像上では流れが下向きで、ステージの移動方向は上向きである。短波長側画像には赤血球膜に付着させた黄緑色蛍光粒子が写っており、長波長側には周囲流体に分散させた赤色蛍光粒子のみが写っている。視野内には流路中心軸に対して左右に 1 つずつ、2 つの赤血球が光学的にスライスされて写り込んでおり、その断面形状は細動脈内流れでも見られるスリッパ形状を呈していた。また、中心軸に対して右側か左側かで赤血球の傾きが逆になっており、流速分布に沿う形で流動している様子が観察された。

個々の赤血球膜を拡大すると、図 D.6 にあるように断面の外形は変化しないまま、膜上の粒子群が時間とともに相対位置を変化させ、膜が回転するタンクトレッド運動が確認され

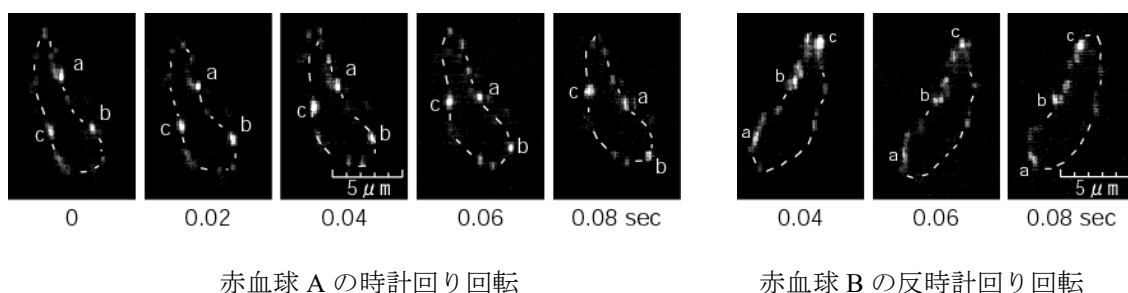
た. また, 回転方向は中心軸に対して対称であり, 周囲流動のせん断方向に従って回転していることが証明された.



赤血球膜 (短波長側)

周囲流体 (長波長側)

図 D.5 赤血球が混在した流れの並進共焦点マイクロ PIV 画像. Oishi et al., 2012 より転載.



赤血球 A の時計回り回転

赤血球 B の反時計回り回転

図 D.6 赤血球膜のタンクトレッド運動. Oishi et al., 2012 より転載.

次に, 周囲流動の軸方向速度プロファイルを図 D.7 に示す. 赤血球のある計測位置と無い位置で軸方向流速に大きな違いは無く, 赤血球が細動脈を流れる際に余分な流動抵抗を発生させていないことが伺えるが, そのためには単一血球の左右で生じる速度差を吸収する必要がある. さらに, 赤血球膜上の速度と周囲流動の 2 次元速度場をマージした結果を図 D.8 に示す. 血球と流れの相互作用を見るために, 血球の並進速度を差し引いた相対速度を示している. これによると, 周囲流体は変形した血球の形状に沿ってスムーズに流れており, 血球膜の速度も直近の周囲流体速度と同等であった. これを裏付ける結果として, 膜上の粒子追跡の結果, 血球膜上の速度は一樣ではなく, 部分的に伸縮しながらタンクトレッド運動を行っている可能性が示された.

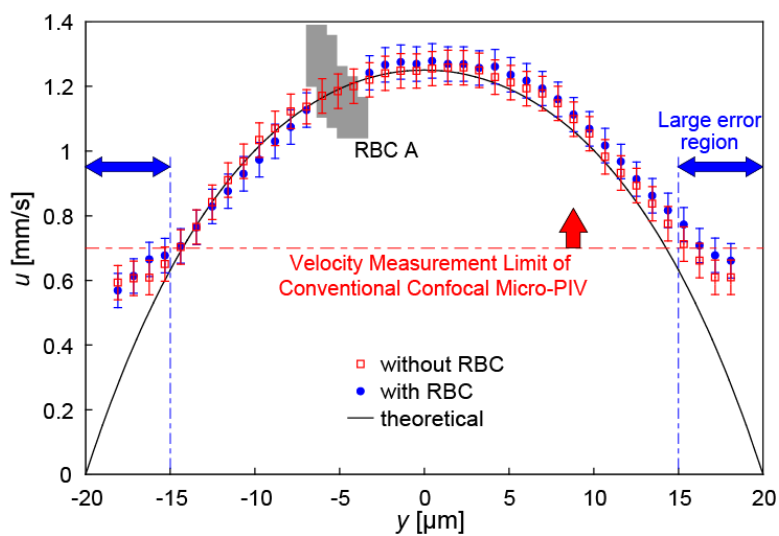


図 D.7 軸方向速度 u プロファイル. Oishi et al., 2012 より転載.

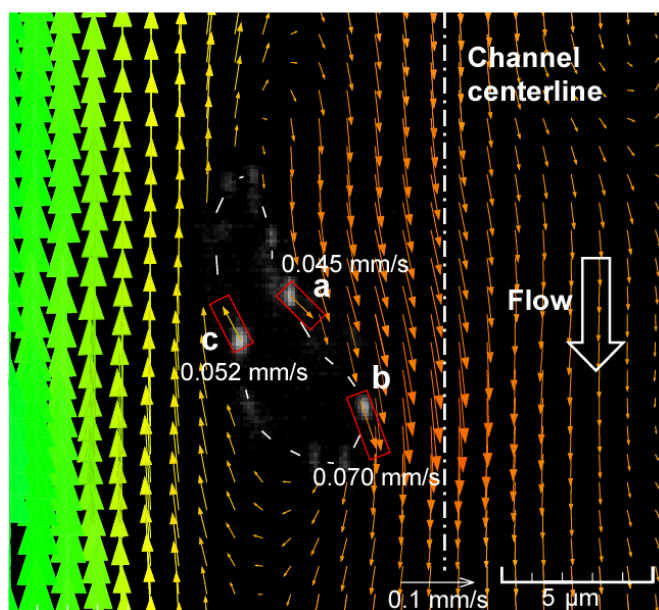


図 D.8 赤血球膜と周囲流動の相対速度分布. Oishi et al., 2012 より転載.

以上の結果により、細胞単体スケールの高倍率観察において、共焦点マイクロ PIV の弱点である高速流への対応と計測対象の長時間追従計測が実現できた。