

微小領域における 3 次元速度スカラー量同時計測法の開発

086694 越智 大輔

指導教員 染矢 聡 准教授

This paper reports on a defocus method with LIF for visualizing a flow in a small channel. The defocus method makes it possible to measure the 3D velocity field using one camera. This system has a mask with two or three pinholes just behind an objective lens of a microscopic system. The first approach, a simultaneous temperature measurement can be combined to the system by putting different optical filters on pin-holes. In order to realize the concept, a new functional particle was sintered with ruthenium and coumarin dyes. An emission intensity of ruthenium depends on the temperature, while that of coumarin is not affected by the temperature. The second approach, a simultaneous temperature measurement can be combined to the system by particle was sintered Europium. An emission lifetime of Europium depends on the temperature.

There are quite new approaches by the present study. In the present report, the particle was sintered and the temperature effect on its optical property was investigated using a spectrometer and a camera.

Key words: LIF, lifetime, Defocus method

1 緒言

近年,さまざまな科学分野において μ -TAS (Micro-Total Analysis Systems) に代表されるマイクロ流体デバイスの研究や開発, およびその応用が盛んに行われている. マイクロ流体デバイスでは,ほとんどの操作や処理が流体を媒介に行われるため,デバイス内部での流体の挙動がその性能や効率を左右する重要な要因となる. そこで,最近のデバイス開発の現場では,マイクロ～サブミリスケール下での流動現象を把握することへの要求が高まっている. 特にサブミリスケールの流動は乱流流れとなるため, 3 次元流れと 3 次元スカラー量を実験計測から把握することは重要な研究課題である.

微小流路内の流動を調べる可視化計測法としては, マイクロ PIV (Particle Image Velocimetry) ¹⁾ が知られている. 速度 3 成分を計測する方法としてはデフォーカス法 ²⁾ を用いた 3 次元 PTV (Particle Tracking Velocimetry) がある. デフォーカス法とは粒子像のボケを利用する方法で, 光学系が非常に簡単であり, 1 台のカメラで粒子の 3 次元位置計測が可能であるため,顕微鏡を用いた微小領域下の流動計測に適した方法である. また,流動場における温度や pH などのスカラー量を計測する方法として, LIF (Laser Induced Fluorescence) ³⁾ が知られている.

本研究では,デフォーカス法による 3 次元マイクロ PTV と LIF を組み合わせ, 微小領域における 3 次元速度と温度, pH, 酸素濃度などの 3 次元スカラー量の同時計測法を提案し, その開発を試みた.

2 デフォーカス法と LIF

2.1 デフォーカス法

速度 3 成分を計測する 3 次元 PTV では, 粒子の光軸方向の位置計測が必要となるため,本研究では光学系が非常に簡単であるデフォーカス法を用いる. Fig.1 にデフォーカス法の光学的原理を示す. 複数の開孔を持つマスクをレンズに装着し, 粒子を撮影すると粒子 A が焦点面にある場合は像面上の A' に 1 つの粒子像として結像される. これに対して焦点面から離れた位置にある粒子 B は, 像面上でぼけて開孔の数だけ粒子像が分かれる. ボケ量を分かれた粒子像 B'1, B'2 間の距離 d'_{AB} と定義すると, d'_{AB} は焦点面から B までの距離と一対一対応する. また粒子が

焦点面の光軸方向手前にあるか, 奥にあるかで観察される粒子像 B'1, B'2 の位置関係が逆転する. デフォーカス法はこれらの現象を利用して, 撮影された多重粒子画像から, その粒子の 3 次元位置と速度 3 成分を測定する方法である.

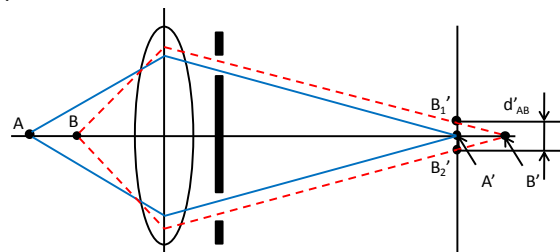


Fig.1 Schematic diagram of defocus method .

2.2 LIF(強度法)

強度法は蛍光強度がスカラー量 (温度, pH, 酸素濃度など) に依存する染料をレーザーなどで励起し, その蛍光強度からスカラー量を計測する方法である. 強度法には, 1 種類の染料を用いる単色 LIF と 2 種類の染料を用いる 2 色 LIF がある. 単色 LIF は 1 種類の染料からの蛍光強度でスカラー量を評価するため, レーザー光の照射強度の揺らぎなどによるノイズに弱く, 時系列データ取得の面で精度が劣る. 2 色 LIF は, 場に感応する染料と不感応な染料を用い, 両者の蛍光強度比を取ってスカラー量を評価するため, 各瞬間における励起光の 2 次元強度分布や染料濃度分布のむらを考慮した計測ができる. そのため, 強度法を用いて高い精度でスカラー量計測をする際には 2 色 LIF を用いるのが望ましい.

2.3 LIF(寿命法)

寿命法は, スカラー量に依存して変化する燐光寿命からスカラー量を評価する. Fig.2 に簡単な寿命法の計測チャートを示す. レーザーなどの励起光を短い時間で染料に照射し, その直後の区間 A1 を Δt の露光時間で撮影する. その後区間 A2 を同じ Δt の露光時間で撮影すると, 燐光強度が減衰しているため 2 枚目の画像は 1 枚目の画像に比べて暗くなる. 例えば, 燐光寿命が温度に依存する染料であればこの 2 つの画像の強度比が温度に依存して変化するため, 温度計測が可能となる. 燐光寿命は光源や染料の状態の影響を受けないため, 寿命法では高精度なスカラー量計測が可能である.

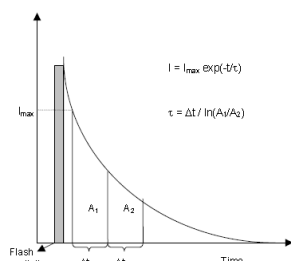


Fig.2 Measuring scalar quantity by lifetime method.

2.4 同時計測法のコンセプト

本研究では、計測する流動場に追従させるトレーサー粒子にスカラー量に依存性を持つ染料を吸着させておく。これにより、デフォーカス法で撮影した粒子像から粒子の3次元位置情報と共に3次元スカラー量を得ることが出来る。Table.1に提案するデフォーカス法とLIFを組み合わせた3次元速度スカラー量の同時計測法を示す。提案した手法はいずれも研究例が無く、新しい計測法である。本研究では、③と⑥の手法について詳細に検討を行った。

Table.1 Simultaneous measurement method of 3D velocity field and scalar quantity.

	マスク	LIF	検討	備考
①	無し	2色強度法	△	カメラ2台
②	無し	寿命法	△	
③	2孔	2色強度法	◎	カラーカメラ
④	3孔	2色強度法	×	③とほぼ同様
⑤	3孔	1色強度法	○	
⑥	3孔	寿命法	◎	

3 強度法による温度計測実験

3.1 2色強度法による3次元計測方法の概念

Fig.3に強度法、2ピンホールマスク利用による3次元速度スカラー量同時計測システムの模式図を示す。励起光を照射したとき2種類の蛍光を発するように、スカラー量に対して依存・非依存2種類の染料から作成した粒子をトレーサー粒子として用いる。2つのピンホール上にそれぞれ高波長、低波長の光のみを透過させるフィルタを設置すると、ピンホールを通して映し出される2つの粒子像はそれぞれ高波長、低波長の蛍光のみになる。これにより2つに分けられた粒子像の強度比からスカラー量を計測することが可能である。また、カラーカメラを計測に用いれば、粒子像が色分けされるため、粒子のペアを分析する際に非常に有利である。粒子の3次元位置は2つの粒子像の中心間距離と中心位置から計測でき、これをもとに速度3成分はPTV処理によって得る。

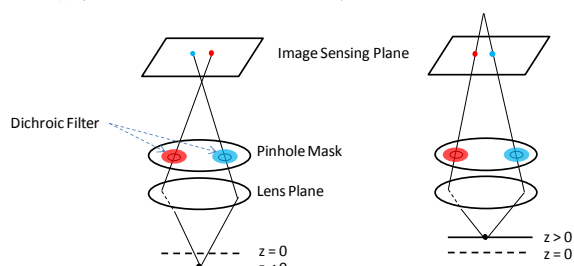


Fig.3 Schematic diagram of defocus method with 2 dichroic filters.

3.2 2ピンホールマスク

本手法で用いる2ピンホールマスクを作成し、その特性を調べた。Fig.4が実験装置であり、Fig.5に撮影画像を示す。焦点面から離れるに従って像間距離が広がっていく様子が確認出来る。ピンホールの孔間距離による合焦点位置からの奥行き方向に対する粒子像間距離の関係をFig.6(a)に示す。Fig.6(a)から孔間距離が大きい程ほど像間距離の広がり方が大きく、奥行き方向の分解能が高いことがわかる。Fig.6(b)にはzと蛍光強度の比の関係を示した。Fig.6(b)からzが大きくなると輝度比が指数関数的に小さくなる事が分かる。また、ピンホールの孔径が大きいほど像が明るくなり感度は良くなる。

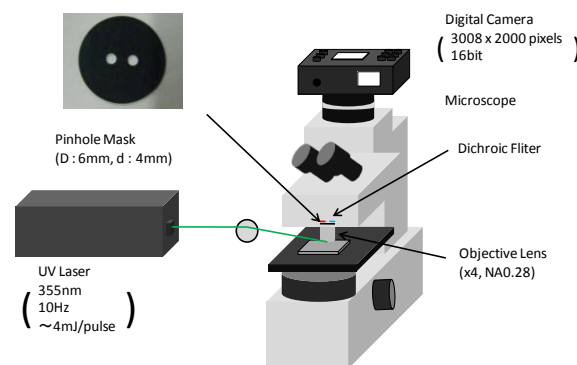


Fig.4 Schematic illustration of experimental setup.

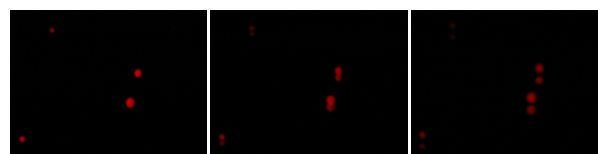


Fig.5 Particle image by defocus method.

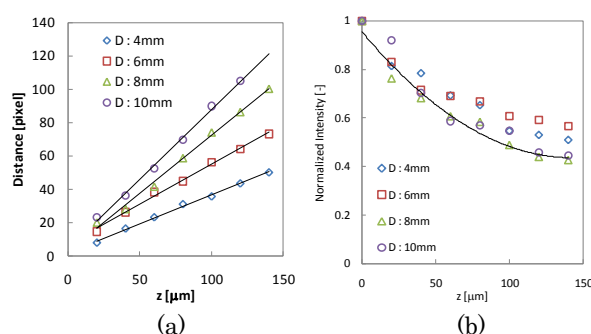


Fig.6 Effect of pinhole's distance.

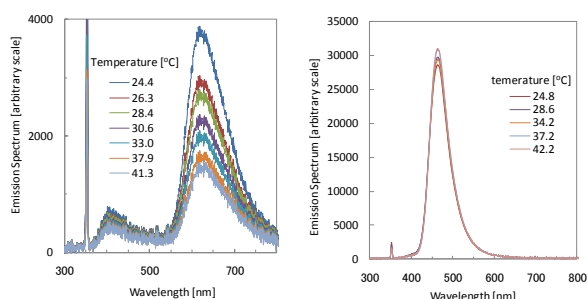
3.3 2色蛍光粒子

本研究で2色LIFによりスカラー量計測を行うにあたって、温度に依存・非依存の染料を相互の蛍光特性を考慮しつつ選定した。励起光はパルスレーザー(355nm, 10Hz, 4mJ)を利用し、その蛍光を分光器で計測した。Fig.7に選定した2種類の染料の蛍光スペクトル特性を示す。ルテニウム錯体の蛍光スペクトルからは温度依存性が確認でき、クマリンの蛍光スペクトルからは温度依存性はほとんど無いことが確認できた。2種類の蛍光ピーク波長が大きく離れていることから、2ピンホール上に設置するフィルタによって粒子像を2色に色分けして得るのに適してい

る。そこで、強度法による温度計測に用いる染料はこの 2 種類の染料の組み合わせとした。粒子は $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ のルテニウム溶液と $1.3 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ のクマリン溶液を混合した溶液を粒径約 $100\mu\text{m}$ のイオン交換樹脂に吸着させた後、乾燥させ作成した。

3.4 実験方法

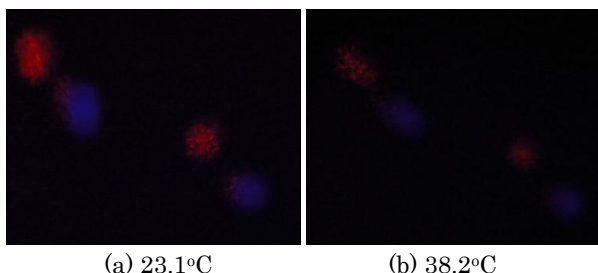
4 倍の対物レンズを用い、レンズ上には孔径 4mm 、孔間距離 6mm の 2 ピンホールマスクを設置し、2 つのピンホールを覆う様にそれぞれ 580nm 以上と 500nm 以下の波長の光を透過させるダイクロイックフィルターを設置した。計測対象は作成した 2 色蛍光粒子をスライドガラス上に置き、水を数滴垂らしてカバーガラスで封入したプレパラートで、これを透明な温度制御用容器に固定した後、容器内の水温を変えながら温度依存性検証実験を行う。UV レーザーを粒子近傍に照射し、デジタルカラーカメラで蛍光粒子像を撮影する。このときの露光時間は 4sec とし、合焦点位置から $250\mu\text{m}$ 離れた位置を撮影した。



(a) Ruthenium (b) Coumarin
Fig.7 Temperature effects on fluorescence.

3.5 実験結果

Fig.8 に撮影した粒子画像の一部を拡大した画像を示す。図から赤色と青色の粒子像がペアになっていることが確認でき、それぞれがルテニウム、クマリンからの蛍光による粒子像である。(a)の 23.1°C の画像と(b)の 38.2°C の画像を比較すると、低温である(a)の画像の赤い蛍光が強いことがわかる。温度依存性の評価は、図中の各粒子像の中心 $10 \times 10\text{pixels}$ の領域について蛍光強度を検出し、ルテニウムの強度をクマリンの強度で割った比を用いた。これを Fig.9 に温度と蛍光強度および強度比の関係として示す。ルテニウムの蛍光強度に注目すると $22.5\text{--}32.5^\circ\text{C}$ の範囲で高温になるほど蛍光強度が小さくなることがわかり、強度比に注目しても同様の蛍光が見られた。このことから、作成した粒子の蛍光強度比が温度依存性を持つことが確認できた。強度比は $22.5^\circ\text{C}\text{--}32.5^\circ\text{C}$ の間で $1.25\text{--}0.85$



(a) 23.1°C (b) 38.2°C
Fig.8 Particle image obtained by the defocus method with 2 dichroic filters.

まで大きく変化しており、 $-3.2\%/^\circ\text{C}$ の変化率は、ローダミン B の変化率 $-1.57\%/^\circ\text{C}$ より大きく、高感度で温度計測が行えると言える。 35°C 以上で温度依存性を失っている理由については、Fig.8(b)の画像の様に、高温では蛍光が全体的に小さいためと考えられる。また、この蛍光強度に関しては露光時間が長時間でないと蛍光画像が得られず、高速度カラーカメラで撮影するには蛍光強度が充分ではないと言える。

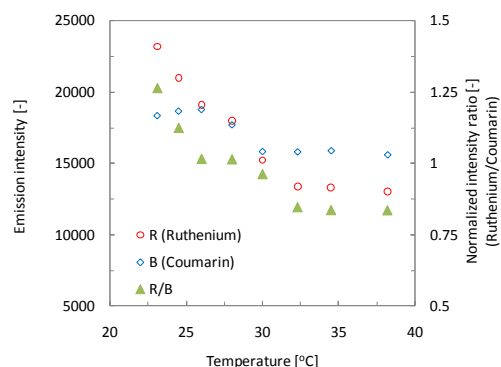


Fig.9 Calibration data between temperature and normalized intensity.

4 寿命法による実験及び考察

4.1 寿命法による 3 次元計測法の概念

寿命法では、スカラー量に依存して燐光寿命が変化する染料を吸着させたトレーサー粒子の燐光の減衰率からスカラー量を得る。粒子からの燐光は 1 種類であるため、合焦点位置から奥行き方向のどの位置に粒子が存在するか判断は 3 ピンホールマスクを用いることで、Fig.10 の様に撮像面で結像される粒子像の形成する図形の向きから行う。

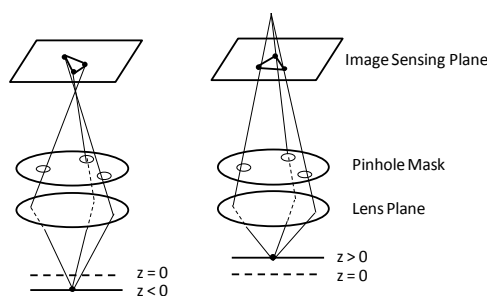


Fig.10 Schematic of defocus method with 3-pinhole.

4.2 単色粒子

寿命法でスカラー量計測を行うにあたって、燐光寿命が温度に依存して変化する染料を選定する。Fig.11 にユーロピウム錯体の燐光特性を示す。励起光はパルスレーザー ($355\text{nm}, 10\text{Hz}, 4\text{mJ}$) を用いた。温度に依存して燐光寿命が変化しており、寿命法によるスカラー量計測に充分適応可能であるといえる。粒子は、ユーロピウム錯体の飽和溶液を粒径 $30\mu\text{m}$ のイオン交換樹脂に吸着させて作成した。

4.3 実験方法

Fig.11 に示されるように燐光寿命はマイクロ秒オーダーで大きく減衰するため、減衰率を用いてスカラー量を評

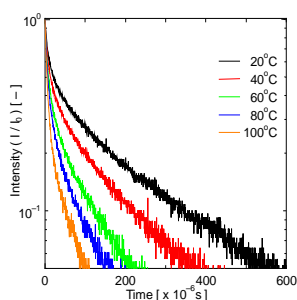
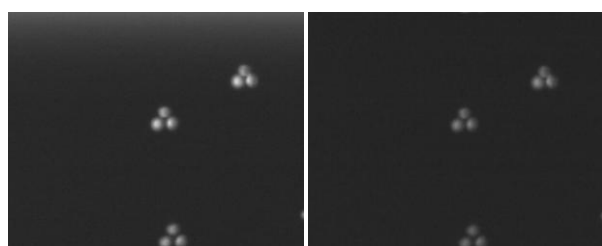


Fig.11 Temperature effects on lifetime.

価する寿命法では、減衰率を求めるために用いる複数の画像間の時間間隔及び露光時間が短くなくてはならない。そのため、撮影するカメラには短い時間間隔で 2 枚の画像を取得できる冷却 CCD カメラ(14bit, 1600 x 1200pixels)を用いる。1 枚目の画像は励起光となる UV パルスレーザーが照射されてから 10 μ sec 後に 230 μ sec 露光して撮影し、2 枚目の画像は 1 枚目のシャッターが閉じてから 150nsec 後に撮影が開始される。2 枚目の画像の露光時間は制御できず、1/30 秒で一定である。レンズは 10 倍 (NA 0.30)、ピンホールマスクは孔間距離が 6mm、孔の大きさが 4mm の 3 ピンホールマスクを用いた。

4.4 実験結果

Fig.12 に焦点面から 100 μ m 離れた位置の粒子の燐光画像を示す。1 枚目の画像に比べ、2 枚目の画像が暗くなっていることが確認出来る。減衰率から温度依存性を確認するため、この 2 枚の画像から粒子の燐光強度の比を取る。粒子の燐光強度は焦点面の粒子に関しては、粒子中央 10 x 10pixels を、焦点面から離れて粒子像が 3 つに分かれていた粒子に関しては、3 つの粒子像それぞれの粒子中央 10 x 10pixels の燐光強度の平均を取った。Fig.13 に各温度における燐光減衰率を示す。焦点面に存在する粒子の燐光減衰率は、温度に依存し変化していることが確認でき、10-35 $^{\circ}$ C の範囲で 0.4% / $^{\circ}$ C の感度を持っている。しかし、焦点面から離れた位置に存在する粒子に関しては、低温側では温度に依存するような勾配が見られたが、高温側では温度依存性は見られない。これは、高温では寿命が短くなるため 2 枚目の画像が暗くなること、また、奥行き方向に離れるほど粒子像が暗くなることによる誤差であると考えられる。粒子の燐光寿命は、温度が同じであれば一定であるため、焦点面から奥行き方向にずれていても焦点面と同様に減衰率が温度に依存して変化していくと予想していた。しかし、Fig.13 から低温側では傾きがほぼ同じであるが、奥行き方向の位置によって減衰率の値がシフトしていることから、奥行き方向に関しても校正の必要性が考えられる。



(a) 1st image (b) 2nd image
Fig.12 Particle image obtained defocus method using 3pinhole mask (10 $^{\circ}$ C).

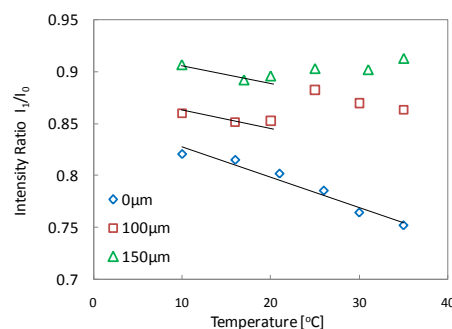


Fig.13 Calibration data between temperature and intensity ratio.

5 その他手法の検討

Table.1 に表記した他の手法については詳細な検討を行っていないが、以下の様なことが考えられる。

- ① マスク無し, 2 色強度法: カメラを 2 台要し, ダイクロイックミラー・フィルターを必要とするなど光学系が複雑となるため, 顕微鏡を用いる計測には困難である。
- ② マスク無し, 寿命法: 輝度は充分に取れるが, 被写界深度を深く取らないと奥行き方向に計測できる範囲が狭くなる。また, 結像される粒子像のサイズと明るさが PTV 解析による速度計測に影響を与える。
- ⑤ 3 ピンホール, 1 色強度法: 励起光のムラや各粒子の輝度の個体差に影響を受けるためスカラー量計測が困難である。

6 結言

本研究では、微小領域における 3 次元速度スカラー量の同時計測法を提案し、検証試験を行った。その結果、以下のことがわかった。

1. 作成した 2 色蛍光粒子の蛍光から 2 色 LIF によりスカラー量を計測することが可能である。
2. 燐光寿命が温度に依存するユーロピウム錯体から作成した単色粒子の燐光の減衰率からスカラー量を計測することが可能である。
3. スカラー量を計測するためには、奥行き方向に対しても校正を取る必要性が考えられる。
4. ピンホールマスクにより、撮像面へ入る光量が絞られるため、粒子の蛍光・燐光強度が不足する。

以上のことから、2 ピンホールマスクの孔上にダイクロイックフィルターを用いて行う 2 色 LIF と、3 ピンホールマスクを用いる寿命法による計測では、粒子からの蛍光・燐光が強ければ、十分に 3 次元スカラー量を計測できる。例えば、2 色 LIF では、各染料を一定の濃度比で吸着させる必要があるが困難なため、重合した粒子を作成することで、寿命法では 1 枚目の露光時間を調整するなどにより、蛍光・燐光の強度を大きくできれば 3 次元速度スカラー量の同時計測法が確立できると考えられる。

文献

- 1) J.G.Santiago et al.: Exp. Fluids, 25, 384-391 (1998)
- 2) K.C.Kim, et al.: Meas. Sci, 17, 2897-2905 (2006)
- 3) J.Sakakibara, et al.: Exp. Fluids, 26, 7-15 (1999)