

工学院大学
総合研究所年報
第27号 2019年度



令和3年2月発行

工学院大学総合研究所

RESEARCH INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
KOGAKUIN UNIVERSITY

密な連携への期待

学長 佐藤 光史

2019 年度版年報の発刊に当たり、総合研究所の活動に協力頂いたすべての皆様に感謝いたします。本年報は、例年であれば次年度の 6 月にはまとめられてきました。今回の当該年度版が例年よりも大幅に遅れたのは、もちろん世界を混乱させている新型コロナウイルス”COVID-19”の猛威に寄ります。感染発生から 1 年となる今でも収束が見通せず、各研究室の運営や日頃の教育研究に苦労が重くのし掛かっていることと思います。

このような中で、大阪大学免疫学フロンティア研究センター招へい教授の宮坂昌之先生に、「新型コロナウイルス感染症の今後：敵を正しく知る」と題して 11 月半ばにご講演頂き、先生と親交の深い数馬広二・本学教授の司会による FD 活動の一環として全学に公開しました。免疫の仕組みから、ワクチンの考え方やモノクローナル抗体の可能性など、ユーモアも交えながらの有意義なお話でした。剣道 8 段への昇段を目指す宮坂先生から、敵を知るための科学的な作法の手ほどきを頂き、ウイルスを恐れつつも立ち向かう所作を教わることができました。先生の近著を下記しますが、本学でのご講演翌朝に衆議院厚生労働委員会の参考人として招致され、ご発言は第 203 回国国会議録でも参照できます。

さて、COVID-19 は、人間が未開の地に踏み込むことによって、野生動物を経由してヒトに感染したとされています。一方で、最近頻繁な熊の人里への出没は、その過疎化に伴って奥山や里山に居た熊が行動範囲を広げたことが一因のようです。目視の可否はあるものの、いずれも自然と人間の活動との関係が発端です。生物多様性は守るべき事柄としても、人に危害を加えて味を占めた野生の熊は、残念ながら駆除以外に安全を保つ方法はないようです。本来一線を引いて生息域を分けておくことが望まれるウイルスや野生動物と、いかに棲み分けながら地球上で共生するか、次世代に引継ぐ社会が持続的に発展するための大きな課題です。

総合研究所の運営委員会での議論を経て、本年度から募集する総合研究所プロジェクト研究には、申請者が設定する研究課題の公募に加えて、特定課題への応募も募ることとなりました。いずれも科学技術で持続的な発展を支える 1) AI と理工学の融合技術に係る研究、2) 感染症対策に係る研究、3) 低炭素社会の実現に向けた研究の 3 課題で、今年度の採択優先権はないものの、多くの研究者が「密」に連携して、本学のブランディングとなる研究として大きく育てて頂くように期待しています。

著書紹介：宮坂昌之著「新型コロナ7つの謎」講談社ブルーバックス

転換の時代に向けて

総合研究所 所長 鷹野 一郎

令和2年ある日の新聞に目を通すと、「世界のオフィスが一変」「テレワーク進化系」（日経新聞）「寄り添うヒントオンラインでも」「HER-SYS 道半ば」（朝日新聞）のような見出しが躍り、いずれも新型コロナウイルスの影響による記事です。社会面には、いつからか全国の新型コロナウイルス感染者数を示す表が掲載されています。年度初めにはまさかと思っていた、ウィズコロナの時代が徐々に広がっていることをひしひしと感じさせられます。一方で、「コロナ注目論文、米中が圧倒」「米中、量子革命を主導、日本脱落の懸念も」（日経新聞）の記事は、日本の科学技術の低下を如実に示しており、急速に転換する社会に追いつくことができていない、もどかしさを感じます。資源の乏しい日本は、科学技術や新製品開発で世界をリードしなければならないと教育されてきた世代にとっては、日本の将来に危機感を感じざるを得ません。家電製品や自動車産業のようなハードを主体とする産業によって日本の高度経済成長は牽引されてきましたが、その影響が強すぎたためにソフト産業への注力を疎かにしていたのではないか、社会がどんどん変わっていくのを見過ごしていたのではないか、とも思われます。これからは、ハードとソフトを巧みに融合させたオリジナルの情報技術を日本の牽引産業へと成長させることが必要でしょう。

さて、本学の情報発信は、令和元年度も「JST 技術説明会」「りそな技術懇親会」「たましん技術説明会」「諏訪圏工業メッセ」「テクノトランスファーin かわさき」「第9回おおた研究・開発フェア」「日中大学フェア（武漢）」などに継続展開しました。平成30年度より申請分野内での評価方式に変更した科学研究費採択奨励研究では、令和元年度は68名に研究費を配分しました。令和元年度プロジェクト研究では、（新規応募課題12件、採択課題5件、継続課題9件）を決定しました。新規採択課題の種類としては、一般プロジェクト研究2件、大学間連携プロジェクト研究2件、国際プロジェクト研究Bが1件となり例年のようにバランスのとれた配分となっております。次に、外部資金導入の根幹を成す令和元年度科研費採択は新規継続合わせて89件、申請率74.8%、新規採択率13.3%で減少傾向にあり、今後対応を検討する必要があります。

日本社会への貢献として一私学ができることは限られますが、山椒のような小粒でも刺激のある本学独自の研究を発信していきたいと思っております。その一つとして、令和2年度は東京医科大学との医工連携研究をこれまでとは異なる形で新しくスタートさせ、その中でAIとVRによる医・情報プロジェクト研究を重点課題として位置付けております。また、「イノベーション・ジャパン2020」では、27件の研究テーマが採択されました。

最後に、本年報をまとめるにあたり、ご協力いただいた教職員の方々に御礼申し上げますとともに、研究者の皆様のさらなる発展を祈念いたします。

目 次

学 長 佐藤 光史
総合研究所所長 鷹野 一朗

1. 総合研究所プロジェクト研究報告（2019年度研究終了）

- ・革新的金属基圧電複合材料の創製と特性設計手法構築
責任者 柳迫 徹郎…………… 3
- ・均質化とトポロジー最適化を援用した多孔質吸音材微視構造設計法の構築
責任者 山本 崇史…………… 10
- ・体性感覚と視聴覚刺激を組み合わせた行動誘発メカニズムに関する基礎検討
責任者 近藤 公久…………… 25
- ・Ⅲ族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの開発
責任者 尾沼 猛儀…………… 36
- ・ガラスナノピペットのガスフローコンダクタンスの研究
責任者 高見 知秀…………… 47

2. 総合研究所プロジェクト研究報告（2020年度継続研究）

- ・大型蓄電池の新しい設置形態を実現する複相電解質を用いた全固体電池開発
責任者 関 志朗…………… 61
- ・キチン・キトサン・哺乳類キチナーゼの医薬工領域への新展開
責任者 小山 文隆…………… 70
- ・Non-destructive estimation of three-dimensional residual stresses for FSW joints using the eigenstrain methodology and X-ray diffraction
責任者 小川 雅…………… 98
- ・拡張ヒッグスセクターを伴う新物理学模型とその現象論的性質の探究
責任者 進藤 哲央…………… 107
- ・血管新生時の細胞外微小環境形成機構の解明
責任者 辛 英哲…………… 110
- ・屋内IoTステーションを実現する可視光給電・可視光通信システムの構築
責任者 山口 智広…………… 116
- ・光合成微生物によるバイオ燃料生産のための壁面培養法の開発研究
責任者 油井 信弘…………… 126
- ・非常時における拠点連携を考慮した音声通信トラフィック制御手法
責任者 馬場 健一…………… 133
- ・光駆動電荷輸送による全固体リチウムイオン電池の創製と水の光分解
責任者 佐藤 光史…………… 144

3. 総合研究所科学研究費採択奨励研究報告（2019年度）

- ・無限次代数体上の数論的対象の研究
森澤 貴之…………… 155
- ・プレカーサー錯体の光化学転換による高機能性薄膜形成
永井 裕己…………… 156
- ・下肢人工関節シミュレータの足部機構の開発
桐山 善守…………… 157
- ・生理心理学の手法による人のインタラクション解析
見崎 大悟…………… 158
- ・ゲージ結合定数統一が切り拓く大統一理論の現象論的分類と探究
進藤 哲央…………… 159
- ・透明導電酸化物における小イオン半径ドーパントの歪み効果と薄膜太陽電池電極への展開
相川 慎也…………… 160
- ・複数対話ロボットにおける対話感向上を目指したマルチモーダル行動デザイン
大和 淳司…………… 161
- ・高度汚染環境下で使用されるエアフィルタろ材の汚染粉塵の飛散防止技術の確立
並木 則和…………… 162
- ・蓄電池用電解液の溶媒・電解質塩・希釈剤の物理化学的機能分担
関 史朗…………… 163
- ・3本らせんをとらないコラーゲンポリペプチドと腫瘍
今村 保忠…………… 164
- ・他波長データアーカイブを利用した多変数星形成則の構築
小麥 真也…………… 165
- ・物質性の観点からの近現代都市空間史の探求
初田 香成…………… 166
- ・音場浮遊法を活用した非接触流体制御：浮遊液滴の微粒化メカニズムの解明
長谷川浩司…………… 167
- ・プラズマアクチュエータが誘起するスパン渦と縦渦をスマートに利用した高性能剥離制御
佐藤 允…………… 168
- ・レーザーポストイオン化による電界蒸発機構の解明とアトムプローブ顕微鏡の高精度化
坂本 哲夫…………… 169
- ・IoTによる路線バス最適化の研究
三木 良雄…………… 170
- ・超高並列環境に対応する時空間多重格子法
藤井 昭宏…………… 171

2020度 総合研究所運営委員

学長	佐藤 光史 (応用物理学科 教授)
総合研究所所長	鷹野 一朗 (電気電子工学科 教授)
所長代理	長嶋 祐二 (情報デザイン学科 教授)
大学院研究科長	今村 保忠 (生命化学科 教授)
先進工学部 (生命・応化・環境) 互選	伊藤 雄三 (応用化学科 教授)
先進工学部 (応物) 互選	坂本 哲夫 (応用物理学科 教授)
先進工学部 (機理) 互選	金丸 隆志 (機械理工学科 教授)
工学部 (機械・機シス) 互選	西村 一仁 (機械工学科 教授)
工学部 (電気電子) 互選	於保 英作 (電気電子工学科 教授)
建築学部 互選	山下 哲郎 (建築学科 教授)
情報学部 互選	長嶋 祐二 (情報デザイン学科 教授)
教育推進機構 互選	高見 知秀 (基礎・教養科 教授)
都市減災研究センター長 (UDM)	久田 嘉章 (まちづくり学科 教授)
ソーラービークル研究センター長 (SV)	雑賀 高 (機械理工学科 教授)
共生工学研究センター長	長澤 泰 (総合研究所 特任教授)

2019年度 総合研究所研究一覧（学内研究費）

（プロジェクト研究）

研 究 課 題	研究責任者	所属学科・職名は2019年度
・ 2019年度研究終了		
革新的金属基圧電複合材料の創製と特性設計手法構築	柳迫 徹郎	機械工学科 助教
均質化とトポロジー最適化を援用した多孔質吸音材微視構造設計法の構築	山本 崇史	機械工学科 准教授
体性感覚と視聴覚刺激を組み合わせた行動誘発メカニズムに関する基礎検討	近藤 公久	情報デザイン学科 教授
Ⅲ族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの開発	尾沼 猛儀	応用物理学科 教授
ガラスナノピペットのガスフローコンダクタンスの研究	高見 知秀	基礎・教養科 教授
・ 2020年度継続研究		
大型蓄電池の新しい設置形態を実現する複相電解質を用いた全固体電池開発	関 志朗	環境化学科 准教授
キチン・キトサン・哺乳類キチナーゼの医薬工領域への新展開	小山 文隆	生命化学科 教授
Non-destructive estimation of three-dimensional residual stresses for FSW joints using the eigenstrain methodology and X-ray diffraction	小川 雅	機械システム工学科 准教授
拡張ヒッグスセクターを伴う新物理学模型とその現象論的性質の探究	進藤 哲央	基礎・教養科 教授
血管新生時の細胞外微小環境形成機構の解明	辛 英哲	生命化学科 准教授
屋内IoTステーションを実現する可視光給電・可視光通信システムの構築	山口 智広	応用物理学科 准教授
光合成微生物によるバイオ燃料生産のための壁面培養法の開発研究	油井 信弘	生命化学科 准教授
非常時における拠点連携を考慮した音声通信トラフィック制御手法	馬場 健一	情報通信工学科 教授
光駆動電荷輸送による全固体リチウムイオン電池の創製と水の光分解	佐藤 光史	応用物理学科 教授

(科学研究費採択奨励研究)

研 究 課 題	研究者	所属学科・職名は2019年度
無限次代数体上の数論的対象の研究	森澤 貴之	基礎・教養科 准教授
プレカーサー錯体の光化学転換による高機能性薄膜形成	永井 裕己	応用物理学科 准教授
下肢人工関節シミュレータの足部機構の開発	桐山 善守	機械システム工学科 准教授
生理心理学の手法による人のインタラクション解析	見崎 大悟	機械システム工学科 准教授
ゲージ結合定数統一が切り拓く大統一理論の現象論的分類と探究	進藤 哲央	基礎・教養科 教授
透明導電酸化物における小イオン半径ドーパントの歪み効果と薄膜太陽電池電極への展開	相川 慎也	電気電子工学科 准教授
複数対話ロボットにおける対話感向上を目指したマルチモーダル行動デザイン	大和 淳司	システム数理学科 教授
高度汚染環境下で使用されるエアフィルタろ材の汚染粉塵の飛散防止技術の確立	並木 則和	環境化学科 教授
蓄電池用電解液の溶媒・電解質塩・希釈剤の物理化学的機能分担	関 志朗	環境化学科 准教授
3本らせんをとらないコラーゲンポリペプチドと腫瘍	今村 保忠	生命化学科 教授
他波長データアーカイブを利用した多変数星形成則の構築	小麥 真也	基礎・教養科 准教授
物質性の観点からの近現代都市空間史の探求	初田 香成	建築デザイン学科 准教授
音場浮遊法を活用した非接触流体制御：浮遊液滴の微粒化メカニズムの解明	長谷川浩司	機械工学科 准教授
プラズマアクチュエータが誘起するスパン渦と縦渦をスマートに利用した高性能剥離制御	佐藤 允	機械理工学科 准教授
レーザーポストイオン化による電界蒸発機構の解明とアトムプローブ顕微鏡の高精度化	坂本 哲夫	応用物理学科 教授
IoTによる路線バス最適化の研究	三木 良雄	システム数理学科 教授
超高並列環境に対応する時空間多重格子法	藤井 昭宏	コンピュータ科学科 准教授

1. 総合研究所プロジェクト研究報告

(2019年度研究終了)

革新的金属基圧電複合材料の創製と特性設計手法構築

工学院大学 機械工学科 柳迫徹郎
工学院大学 機械工学科 久保木功
千葉大学 機械工学科 浅沼博
産業技術総合研究所 製造技術研究部門 佐藤宏司

Fabrication of Innovative Metal-Based Piezoelectric Composite and Establishment of Its Characteristic Design Method

Tetsuro Yanaseko, Dept. of Mechanical Engineering
Isao Kuboki, Dept. of Mechanical Engineering
Hiroshi Asanuma, Dept. of Mechanical Engineering, Chiba Univ.
Hiroshi Sato, Advanced Manufacturing Process Institute, AIST

ABSTRACT : Piezoelectric ceramics are used widely as sensor and actuator materials due to its excellent mechanical-electrical energy conversion function. However, piezoelectric ceramic has poor mechanical properties such as fragility (fracture elongation of piezoelectric ceramics is almost less than 0.1%). In order to improve the mechanical properties of piezoelectric ceramics, authors developed surface oxidized nickel fiber/piezoelectric ceramics/aluminum composite. Surface oxide film of nickel fiber is worked as insulator between nickel fiber and aluminum matrix, also worked as barrier from reaction between nickel and piezoelectric ceramics during sintering the ceramics. To embed surface oxidized metal fiber and piezoelectric ceramics in aluminum matrix without losing functions, Interphase forming/bonding (IF/B) method was used. As a result, the surface oxidized nickel fiber and the piezoelectric ceramics can be embedded without fracture in aluminum matrix by using IF/B method. It is confirmed that output voltage was generated by applying impact to the fabricated composite, and it was confirmed that the piezoelectric ceramics and oxidized metal fiber were embedded without losing their function. And optimization of embedding conditions was performed.

1. 諸言

圧電セラミックスはエネルギー変換材料として広く応用されている。しかし、脆性材料であるという問題を抱えており用途に制限がある。著者らはこの問題に対して、金属コア圧電ファイバ⁽¹⁾を界面層形成・接合法⁽²⁾にてアルミニウム中に複合化し、機械的強度の大幅な向上に成功した⁽³⁾。しかし、出力電圧特性が圧電材料として用いる金属コア圧電ファイバの物性値および形状・寸法に依存し、用途に合わせた材料設計が不可能であることが判明している⁽⁴⁾。

本研究では、上記の課題を解決するために、複合化する圧電セラミックスの形状に自由度のある、表面酸化金属繊維/圧電セラミックス/金属マトリックス複合材料 (Fig. 1) の創製を試みた。本圧電複合材料は、金属マトリックス、圧電セラミックスおよび内部電極となる表面酸化金属繊維から構成されており、要求特性に応じて各部の材料および寸法・形状を変更できる材料システムであり、上述のようにセンサ特性が任意に決定可能である。

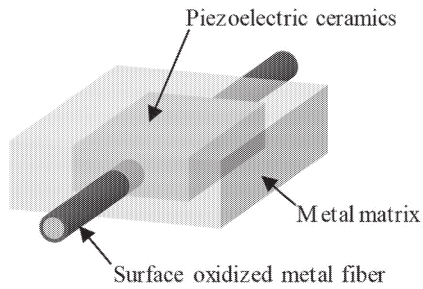


Fig. 1 Schematic of proposed innovative metal matrix piezoelectric composite.

また、上述の圧電セラミックスのぜい弱性を、機械的強度、信頼性に優れる金属材料中に圧電セラミックスを複合化することで、克服が可能である。

この圧電複合材料において、表面が酸化膜で覆われた金属繊維を内部電極として用いることが、提案する材料システムの最大の特徴となっている。従来の圧電複合材料の多くは、内部電極と外部電極となる金属マトリックスと絶縁が確保できず、高分子系マトリックスを採用することが多かったが、本研究では表面酸化膜を絶縁層として用いることにより問題を解決し、従来成し得なかった金属マトリックス、圧電セラミックス、表面酸化金属繊維の各々の材質、形状・寸法の選択性を実現する。また、内部電極は圧電セラミックス焼結時に高温にさらされ、電極材料と圧電セラミックスが反応し、圧電特性を低下させる化合物が生成される可能性がある。反応性の低い酸化膜を電極—圧電セラミックス間に設けることにより、この反応を防止する効果も期待できる (Fig. 2)。

本年度においては、提案した新規圧電複合材料の創製手法の確立を目的とし、表面に酸化膜を生成したニッケル繊維を内部電極として有する圧電セラミックスを作製し、作製した圧電セラミックスを界面層形成・接合法にてアルミニウム母材へ複合化を行った。また、圧力やインサート材の量を変化させることにより複合化条件の最適化を図った。加えて、単純形状の圧電セラミックスを金属中へ複合化し、複合化前後の機械的特性を評価することで、金属中への複合化による強度向上を評価した。この機械的特性においては、圧電セラミックスは内包するき裂に起因するばらつきが非常に大きいため、統計的手法を用いて評価を行った。

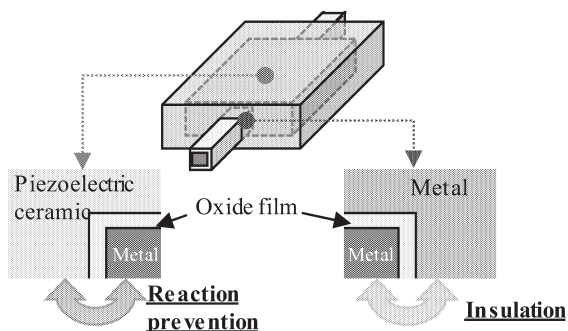


Fig. 2 Reaction prevention and insulation by oxide film.

2. 実験方法

2. 1 供試材

金属繊維として純ニッケル線 (直径: 0.5mm, 純度: 99.5%), 圧電セラミックスとしてチタン酸ジルコン酸鉛 ($\text{Pb}(\text{Zr}, \text{Ti})\text{O}_3$, PZT, 林化学工業製, MPT, 平均粒径: 0.4 μm), 金属マトリックスとして純アルミニウム板 (A1050P-O, 厚さ 0.8, 2.5 mm) および純銅箔 (純度: 99.90% 以上, 厚さ 0.01 mm) をインサート材として用いた。また, PZT 粉はバインダー (ポリビニルアルコール水溶液, 1wt%) と重量比 1:1 で混合し, 室温で 48 h 乾燥させ, 粉碎した後ふるいにかけることで造粒を行った。

2. 2 熱処理による金属繊維表面への酸化膜生成

内部電極として用いるニッケル繊維の表面に、熱処理により酸化膜を付与した。

ニッケル繊維を 40 mm に切断し、マuffle 炉により大気中で熱処理し、酸化させた。保持時間は $t_0 = 0.9, 1.8, 3.6, 7.2$ および 10.8 ks, 酸化温度は $T_0 = 1073, 1173, 1273$ および 1373 K とした。酸化した金属繊維を長手方向中央で切断し、断面を走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察することで、酸化条件が酸化膜の膜厚と構造に及ぼす影響を検討した。

2. 3 内部電極を有する圧電セラミックスの作製

表面酸化金属繊維の周囲に PZT 粉を成形し、焼結することにより、内部電極を有する圧電セラミックスを作製した。この際に PZT の作製条件として成形圧力、焼結温度および保持時間が挙げられるが、焼結温度、保持時間に関しては材料メーカー推奨値で焼結を行い、成形圧力の検討を行った。

造粒した PZT 粉を金型に投入し、成形圧力 P を 20 から 90 MPa まで 10 MPa 毎に変化させ、保持時間 60 s にて一軸成型を行った。その後、金型内に表面酸化膜金属繊維を設置し、PZT 粉を投入し、再度同条件にて一軸成型を行うことで圧粉体を作製し、得られた圧粉体をマuffle 炉にて大気中で焼結した。焼結の条件は焼結温度 $T_s = 1323$ K, 保持時間 $t_s = 7.2$ ks とした。焼結後、焼結体の密度およびビッカース硬度を計測することにより評価を行った。

2. 4 焼結体のアルミニウム中への複合化

Fig. 3 に示すように、焼結体および金属繊維を配置するためのくぼみとU溝を、アルミニウム板 (厚さ 2.5 mm) を切削することで形成した。このくぼみの底部に銅箔を設置し、その上に焼結体および金属繊維を設置した。これらの上に、インサート材の銅箔および厚さ 0.8 mm のアルミニウム板を被せ、ホットプレス機により複合化した。ホットプレスの条件は、温度 873 K, 圧力 2.2 MPa, 保持時間 2.4 ks および真空度 100 Pa とした。

複合化後、母材外部に突出している金属繊維の表面酸化部を耐水研磨紙 (#220) で除去し、導通を確保した。この金属繊維と母材に電圧 300 V, 保持時間 1.8 ks の直流電圧を印加することで圧電セラミックスの分極処理を行った。

分極処理後、落錘試験により本複合材料の圧電セラミックスがセンサとして機能するかを確認した。作製した複合材料をバイスで固定し、鋼球 (直径 9.8 mm, 質量 3.5 g) を高さ 150 mm から落下させることで衝撃を印加し、その際の信号をオシロスコープにより計測した (Fig. 4)。

加えて、作製した試料を金属繊維と直角に切断し、断面を SEM にて観察することで材料組織の評価を行った。

2. 5 複合化条件の最適化

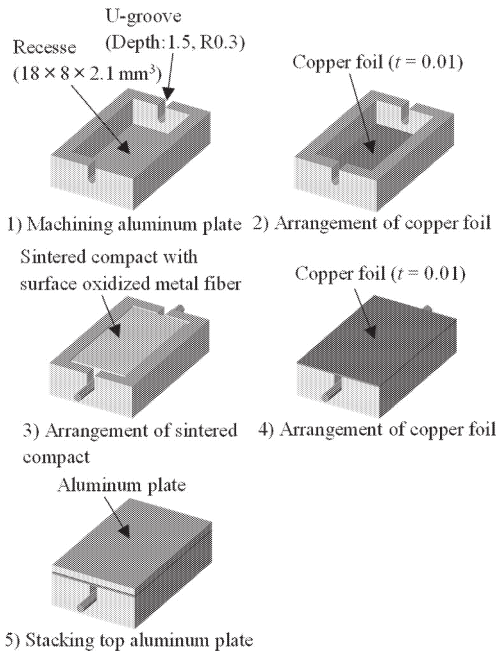


Fig. 3 Arrangement of aluminum plate, sintered compact and copper foil.

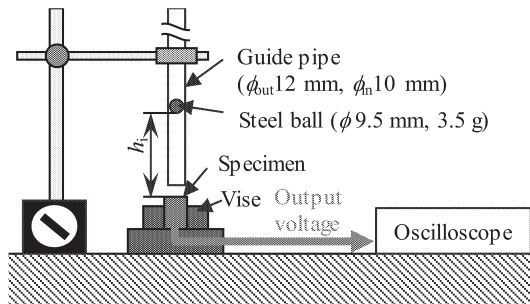


Fig. 4 Schematic of the impact test system.

複合化条件を最適化させるため、インサート材の量および圧力を変化させた。まず、インサート材の量は銅箔の厚さ T_1 を 20 および 50 μm とし、圧力を 2.2 および 4.4 MPa と変化させた。温度は 933K、保持時間 2.4 ks で N2 雰囲気において複合化を行った。なお、作製した内部電極を有する圧電セラミックスは 2 mm \times 2 mm の断面形状になるように切断および研磨を行ったものを複合化している。加えて、作製した試料を金属繊維に直角および水平に切断し、内部組織を SEM で観察することで評価を行った。

上記実験の結果を受けて、インサート材の量および挿入箇所を決定後、圧力を 2.2, 4.4, 6.6 および 8.8 MPa に変化させ複合化圧力の最適化を図った。評価方法は上記と同様に SEM 観察である。

2. 6 機械的特性向上の評価

圧電セラミックス単体の試験片を、造粒した PZT 粉を圧力 50 MPa、保持時間 60 s で一軸成型した後、温度 1323 K、保持時間 7.2 ks で焼結することで作製した。得られた PZT 焼結体を切断・研磨することで、JIS R 1601 (ファインセラミックスの室温曲げ強さ試験方法)⁽⁵⁾の半分の寸法、長さ 20.0 mm、厚さ 1.5 mm、幅 2.0 mm に加工した。加えて試験片の面の粗さ

を算術平均粗さ $Ra = 0.2 \mu\text{m}$ 以下、面取りを 0.1 mm から 0.3 mm とした。また、研磨後の試験片の密度を測定し、相対密度 95 % (7.6 g/cm³) 以上を 3 点曲げ試験に供した。3 点曲げ試験条件は支点間距離 15mm、クロスヘッド移動速度 0.5mm/min とした。

複合化による機械的特性向上の評価を行うため、上記の加工した圧電セラミックス 3 点曲げ試験片をアルミニウム中に複合化し、3 点曲げ試験を行った。複合化条件は温度 873 K、圧力 4.4 MPa、保持時間 2.4 ks とし、3 点曲げ試験場版は上記と同様とした。加えて複合化した圧電セラミックスには材料物性の差から応力集中が生じる可能性があったため、有限要素解析ソフト (MARC, MSC software) を用いて解析を行い応力集中係数を求めた。

3. 結果および考察

3. 1 熱処理による金属繊維表面への酸化膜生成

Fig. 5 に $T_0 = 1373 \text{ K}$, $t_0 = 10.8 \text{ ks}$ の条件で酸化膜を生成したニッケル繊維の SEM 像を示し、Fig. 6 に生じた酸化膜の厚さと各熱処理条件との関係を示す、Fig. 6 より各熱処理温度において膜厚が熱処理時間の平方根と線形であることが分かり、酸化膜厚さは放物線則に従って増加することが分かる。また、同図の各温度における傾きを拡散係数とし、アレニウスプロットにより、必要な膜厚を得る酸化条件の予測ができることが確認された。この結果から、内部電極に用いるための熱処理条件は膜厚が 10 μm 以上得られる $t_0 = 3.6 \text{ ks}$, $T_0 = 1273 \text{ K}$ を選定し、以降の試料作製にはこの酸化条件により酸化膜を付与した金属繊維を使用した。

3. 2 内部電極を有する圧電セラミックスの作製

Fig. 7 に成形圧力が焼結体のビッカース硬さおよび密度に及ぼす影響を示す。同図から 50 MPa 以上において、ビッカース硬さおよび密度共にほぼ変化しないことが分かる。これは 50 MPa で粉体の充填密度が最大になり、50 MPa 以上に圧力を向上させても充填密度が向上しなかったためと考えられる。このことから成形圧力は 50 MPa が最適と判断した。この条件で作製された内部電極を有する圧電セラミックスの外観を Fig. 8 に示す。同図より圧電セラミックスの外径が鼓状になっていることが分かる。この鼓状変形は焼結および冷却時の圧電セラミックスとニッケル繊維の熱膨張係数の差に起因するものと考えられるため、冷却速度の低減により変形の縮小が期待できる。

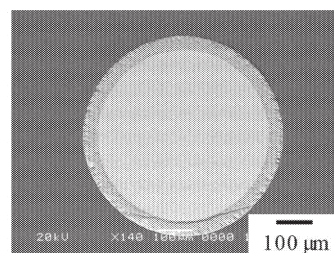


Fig. 5 Cross section of surface oxidized nickel fiber ($T=1373 \text{ K}$, $t=10.8 \text{ ks}$)

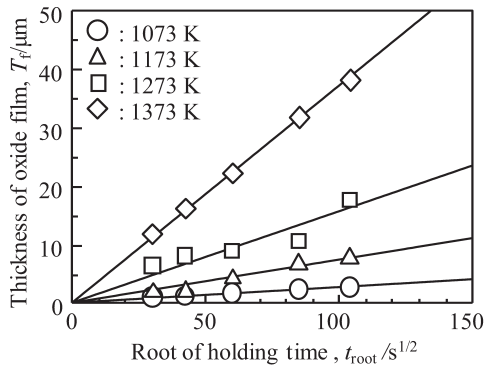


Fig. 6 Effect of root of holding time on thickness of oxide film of nickel fiber.

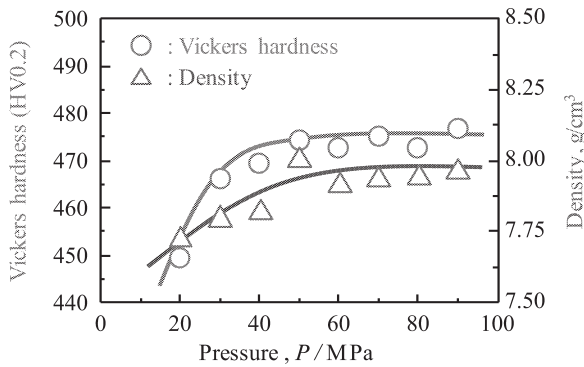


Fig. 7 Effect of pressure on Vickers hardness and density of sintered compact.

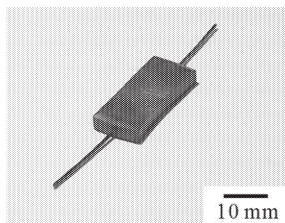


Fig. 8 Sintered compact with surface oxidized nickel fiber.

3. 3 焼結体のアルミニウム中への複合化

Fig. 9 に作製した表面酸化ニッケル繊維/PZT/アルミニウム複合材料の外観を示す。概観を確認した結果、ニッケル繊維および酸化被膜が破断することなく複合化されていることが確認できた。Fig. 10 に落錘試験による複合材料から得られた出力電圧の波形を示す。同図から、圧電セラミックスの機能を損なうことなくアルミニウム中へ複合化することに成功していることが確認された。しかしながら出力電圧は Peak to Peak で約 5 mV と圧電材料を用いたセンサとしては極めて低い値であった。これは、金属酸化膜の誘電率が圧電セラミックスと比較して極めて低いことにより、分極時に印加された電界が圧電セラミックスに有効に負荷されなかったためと考えられる。このため、分極条件に加え、酸化膜および圧電セラミックスの厚さの最適化が必要である。また、SEM による断面観察結果を Fig. 11 に示す。Fig. 11(a)はニッケル繊維とアルミニウムが直接接触している箇所の断面であり、

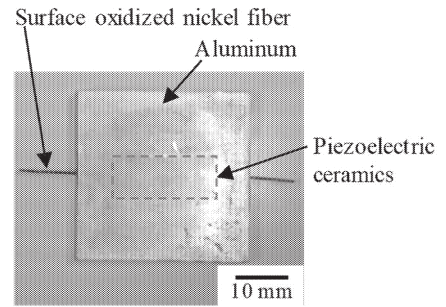


Fig. 9 General appearance of surface oxidized nickel fiber/piezoelectric ceramics/aluminum composite.

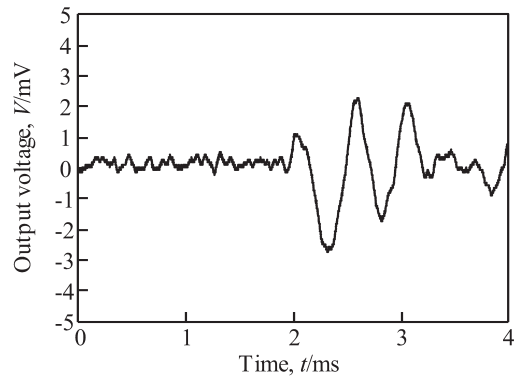
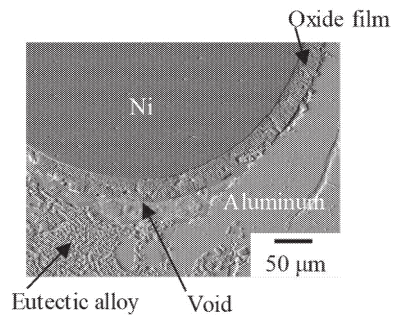
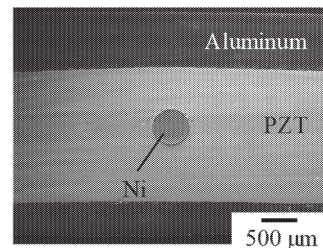


Fig. 10 Waveform of output voltage from the fabricated composite.



(a) Cross section of the composite where oxide film touch to aluminum



(b) Cross section of the center of the composite

Fig. 11 Cross sections of fabricated composite.

(b)はPZTとアルミニウムが接触している部位である。この図から、酸化膜が破壊されずに複合化されていること、PZTと酸化膜で反応物が生成されていないことおよびPZTとアルミニウムが反応することなく、またPZTに破壊が生じずにアルミニウム中に複合化できていることが確認できた。しかしながら、Fig. 11(a)において、銅-アルミニウム共晶合金の残留や酸化膜とアルミニウム間に

ポイドが存在していることが確認できる。これらの存在は、機械的特性を低下させる要因となるのみならず、マトリックス-圧電セラミックス間の応力伝達を阻害することによる出力電圧低下の要因ともなるため、できるだけ低減することが望ましい。

3. 4 複合化条件の最適化

Fig. 12 にインサート材の厚さおよび圧力を変化させた際の試料断面観察結果を示す。全条件において、共晶合金の残留がみられ、U 溝部を十分共晶合金で充填していることが確認された。特に圧電セラミックス下部、および金属繊維周辺に残留が多くみられ、 $P = 4.4 \text{ MPa}$, $T_1 = 50 \mu\text{m}$ では過剰な共晶合金の排出により、圧電セラミックス下部のマトリックスが破損していることが確認された。このことから、インサート材を圧電セラミックス下部への挿入は適切ではないこと、 $20 \mu\text{m}$ のインサート材の量でも十分に重点が可能であることから、 $T_1 = 20 \mu\text{m}$ を最

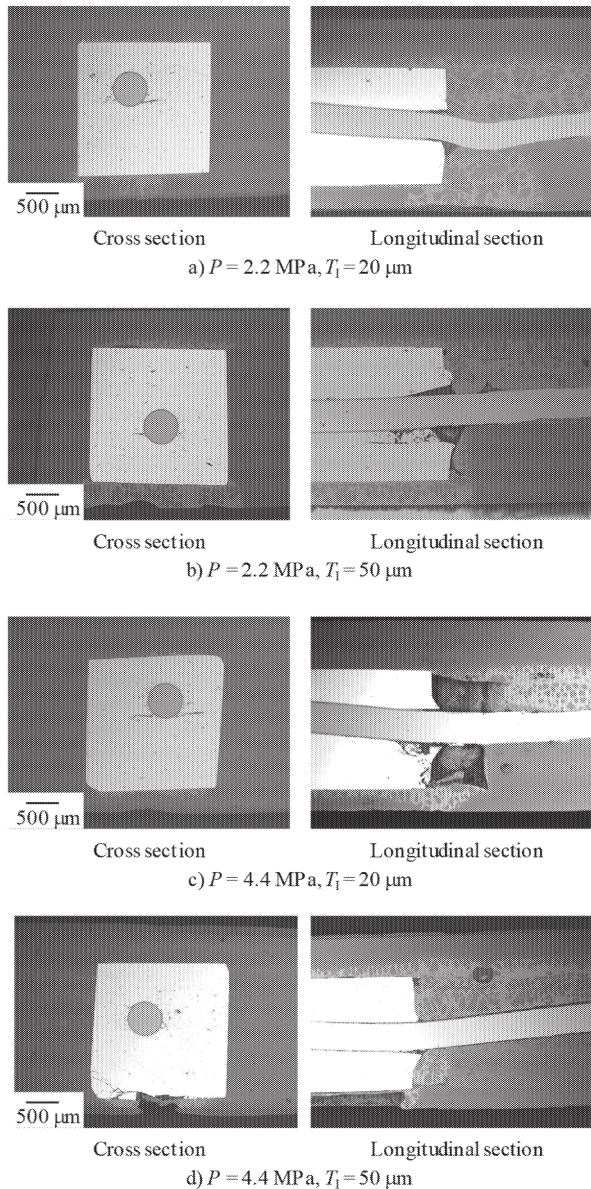


Fig. 12 Cross and longitudinal section of specimens; a) $P = 2.2 \text{ MPa}$, $T_1 = 20 \mu\text{m}$, b) $P = 2.2 \text{ MPa}$, $T_1 = 50 \mu\text{m}$, c) $P = 4.4 \text{ MPa}$, $T_1 = 20 \mu\text{m}$, d) $P = 4.4 \text{ MPa}$, $T_1 = 50 \mu\text{m}$.

適な挿入量とし、挿入箇所は圧電セラミックス上部のみが適正と判断した。なお、金属繊維周辺においてみられるき裂、空隙等は圧電セラミックス焼結時において生じたものであり、複合化により生じたものではないため、複合化圧力は適正範囲内であったと考えられる。加えて、圧電セラミックスの形状が安定していないのは手作業による研磨にて加工を行っていたため、機械加工に置き換えることにより改善可能である。

上記結果を受け、複合化圧力を変化させた際の試料断面観察結果を Fig. 13 に示す。これら横断面観察画像から、圧力が向上により共晶合金の排出が促され、良好な組織が得られることが確認された。反面、縦断面観察画像の $P = 4.4$ および 6.6 MPa の結果を比較すると、 6.6 MPa における空隙が大きいことが確認できる。これは、高温でのプレスによる過剰なマトリックスの塑性流動により空隙が拡大されたものと考えられる。この塑性流動の大きさは画像における複合材料の厚さ減少に見て取れる。 $P = 8.8 \text{ MPa}$ においては、どちらの画像においても良好な組織が得られたが、試料中央部付近で圧電セラミックスおよび

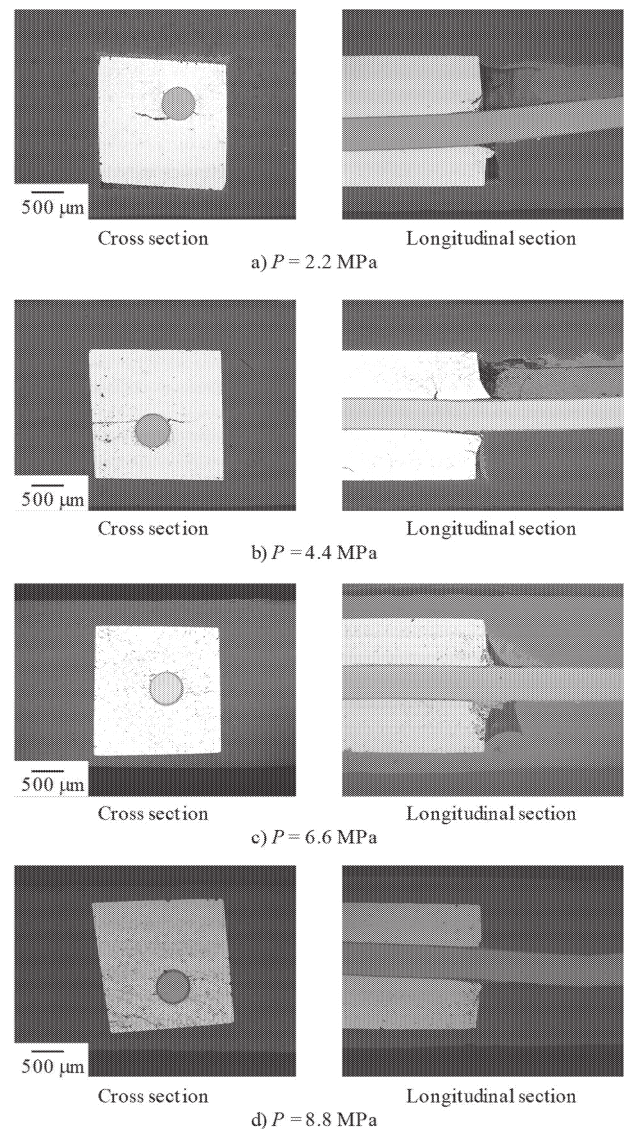


Fig. 13 Cross and longitudinal section of specimens fabricated under various pressure.

金属繊維の破断が確認された (Fig. 14). これは圧力過剰によるマトリックスの大きな塑性流動に伴う変形に、圧電セラミックスおよび金属繊維が耐えられなかったと考えられる. 以上の結果から、本実験範囲において、 $T_1 = 20 \mu\text{m}$ 、 $P = 4.4 \text{ MPa}$ が最適な複合化条件であることが判明した.

3. 5 機械的特性の向上

Fig. 15 に PZT 単体および PZT/アルミニウム複合材料のワイブルプロットを示す. PZT/アルミニウム複合材料においては有限要素解析により得られた応力集中係数 2.272 を用いている. この図において傾き、すなわちワイブル係数はばらつきを程度を表しており、傾きが高いほどばらつきが小さいことを意味している. PZT 単体および PZT/アルミニウム複合材料のワイブル係数はそれぞれ、4.30 および 10.98 となり、複合化によりワイブル係数が向上、すなわちばらつきが低下したことがわかる. また、ワイブルプロットにおける強度の代表値は PZT 単体および PZT/アルミニウム複合材料がそれぞれ、106.8 MPa および 161.8 MPa となった. このことから機械的強度も複合化より向上することがわかる. これはセラミックスが作製時に内包しているき裂が複合化時に圧電セラミックスと金属の熱膨張係数の差から生じる圧縮応力により閉口したことに起因していると考えられる. しかしながら、試験数が少ないため、試験数を増加させより正確な統計処理が必要である.

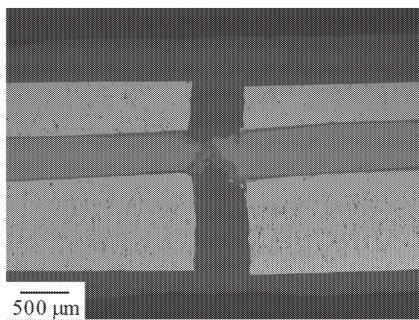


Fig. 14 Fracture part of piezoelectric ceramics and metal fiber of specimen ($P = 8.8 \text{ MPa}$).

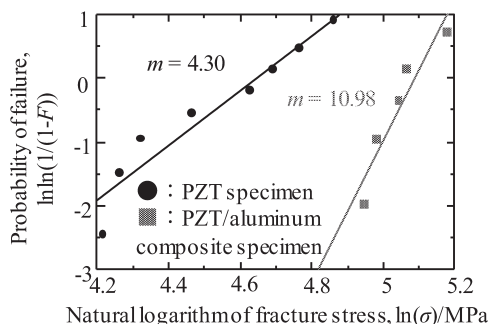


Fig. 15 Weibull plot of PZT and PZT/aluminum composite.

4. 結言

新たな金属基圧電複合材料として、複合化する圧電セラミックスの形状に自由度のある、表面酸化金属繊維/圧電セラミックス/金属マトリックス複合材料を提案しその創製を試みた.

結果として、下記の知見が得られた.

- 1) 絶縁層および反応防止の役割を持つ金属酸化膜は、金属繊維を大気中で熱処理することで容易に得ることができる. また、生成される酸化膜の厚さは熱処理時間の平方根に比例するという放物線則に従うことが判明し、このことを利用することで任意の厚さの酸化膜を得ることができることが判明した.
- 2) 圧電セラミックスの焼結において、一軸成型時の圧力が 50 MPa が最適であることが分かった. また金属繊維と圧電セラミックスの熱膨張係数の差から焼結体が鼓状に変形することが判明した.
- 3) 界面層形成接合法を用いることで金属酸化膜および圧電セラミックスの機能を損なうことなくアルミニウム中へ複合化することに成功した.
- 4) 圧力およびインサート材の量などの複合化条件を最適化することで、共晶合金の残留やポイドなどを減少させ、材料組織が良好な試料を得ることができた.
- 5) 圧電セラミックス単体および圧電セラミックス/アルミニウム複合材料の 3 点曲げ試験により複合化による圧電セラミックスの機械的特性向上が定量的に評価できた.

参考文献

- (1) 佐藤宏司, 下条善朗, 関谷忠, “チタン酸ジルコン酸鉛ファイバ, チタン酸ジルコン酸鉛ファイバを用いたスマートボードならびにスマートボードを利用したアクチュエータおよびセンサ”, 特許第 3968430 号.
- (2) Asanuma, H., “Development of metal-based smart composites,” JOM, Vol. 52, No. 10(2000), pp. 21-25.
- (3) 浅沼博, 武田直浩, 千葉高充, 佐藤宏司, “金属コア圧電ファイバ/アルミニウム複合材料の創製”, 日本機械学会第 14 回機械材料・材料加工技術講演会講演論文集, (2006), pp. 21-22.
- (4) Yanaseko, T., Asanuma, H., Sato, H., “Output Voltage Characteristics of Piezoelectric Fiber/Aluminum Composites Fabricated by Interphase Forming/Bonding Method,” Trans. Mat. Res. Soc. Japan, Vol. 39, No. 3(2014), pp. 325-329.
- (5) JIS R 1601 2008 (ファインセラミックスの室温曲げ強さ試験方法)

投稿論文 (4 件)

- (1) K. Horikiri, T. Yanaseko, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Development of surface oxidized metal fiber/piezoelectric ceramics/aluminum composite, Mechanical Engineering Journal, 6, 3(2019), 18-00556.

- (2) T. Yanaseko, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Investigation of fabrication condition of metal matrix piezoelectric composite using surface oxidized metal fiber as internal electrode, Proc. of International Conference on Leading Edge Manufacturing/Materials & Processing (Accepted)
- (3) K. Iijima, T. Yanaseko, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Investigation of fracture behavior of piezoelectric ceramics embedded in metal matrix, Proc. of International Conference on Leading Edge Manufacturing/Materials & Processing (Accepted)
- (4) K. Horikiri, T. Yanaseko, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Fabrication of metal matrix piezoelectric composite using surface oxidized metal fiber as internal electrode, Proc. of International Conference of Materials and Processing 2017(ICM&P2017)
- (11) 柳迫徹郎, 堀切一輝, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 表面酸化ニッケル繊維/圧電セラミックス/アルミニウム複合材料の開発, 2017 年度機械学会年次大会

学会発表(11 件)

- (1) 飯島夏鈴, 柳迫徹郎, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, アルミニウムに複合化された PZT 試験片の 3 点曲げ強度, 第 27 回機械材料・材料加工技術講演会 (M&P2019) .
- (2) 柳迫徹郎, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 内部電極に表面酸化金属繊維を用いた圧電セラミックス/アルミニウム複合材料の開発, 第 27 回機械材料・材料加工技術講演会 (M&P2019).
- (3) 柳迫徹郎, 飯島夏鈴, 久保木功, 佐藤宏司, 成田史生, 浅沼博, 金属基圧電複合材料における圧電セラミックスの強度向上, M&M2019 材料力学カンファレンス.
- (4) T. Yanaseko, K. Horikiri, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Development of metal matrix piezoelectric composite using surface oxidized metal as internal electrode, 5th International Conference on Mechanics of Composites(Mechcomp2019)
- (5) 飯島夏鈴, 柳迫徹郎, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 金属中に複合化された圧電セラミックスの機械的特性, 日本機械学会関東学生会第 58 回学生員卒業研究発表講演会
- (6) 堀切一輝, 柳迫徹郎, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 表面酸化ニッケル繊維を内部電極として用いた金属基圧電複合材料の作製条件の検討, 2018 年材料技術研究協会討論会.
- (7) 柳迫徹郎, 堀切一輝, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 表面酸化ニッケル繊維/チタン酸ジルコン酸鉛/アルミニウム複合材料の作製条件の検討, 第 26 回機械材料・材料加工技術講演会
- (8) K. Horikiri, T. Yanaseko, I. Kuboki, H. Sato, H. Asanuma, Effect of fabricating conditions on microstructure of metal matrix piezoelectric composite using surface oxidized metal fiber as internal electrode, The ASME 2018 Conference on Smart Materials, Adaptive Structures and Intelligent Systems(SMASIS2018)
- (9) 柳迫徹郎, 堀切一輝, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博, 表面酸化ニッケル繊維を内部電極として用いたアルミニウム基圧電複合材料の開発, 2018 年度機械学会年次大会
- (10) 堀切一輝, 柳迫徹郎, 久保木功, 佐藤宏司, 浅沼博,

均質化とトポロジー最適化を援用した 多孔質吸音材微視構造設計法の構築

工学院大学 工学部 機械工学科 山本 崇史¹⁾

京都大学大学院 工学研究科 機械理工学専攻 西脇 眞二²⁾

Optimization of microstructure of sound-absorbing poroelastic material by homogenization method and topology optimization method

Takashi Yamamoto, Department of Mechanical Engineering, Kogakuin University
Shinji Nishiwaki, Graduate School of Engineering, Kyoto University

ABSTRACT: Two optimization methods to design micro structures of sound-absorbing poroelastic media based on the homogenization method by an asymptotic expansion are proposed in this study. One is a parametric optimization method utilizing Biot's model. In this method, Biot's parameters are first identified for various micro structure of sound-absorbing material by using homogenization method and the linkage between Biot's parameters and the parameters of micro structures such as pore radius, fiber diameter and pore radius of cell membranes is derived. Then, the parameters of poroelastic materials are optimized by using transfer matrix method and genetic algorithm to maximize sound absorption coefficient at prescribed target frequency range. The other is a topology optimization method based on the density approach. In this method, the topology of a micro structure of acoustic poroelastic material is directly optimized. Design variables to describe material distributions are defined at nodes in a prescribed design domain, and are optimized to have values 0 or 1. Here, the design sensitivities that are inevitably important for the topology optimization method are derived by using the adjoint variable method.

1. はじめに

自動車などの輸送機器や建物など室内における静粛性の向上は、快適性を高める重要な要素であり、その代表的な方策の一つとして、多孔質吸音材が多用されている。多孔質吸音材の性能を示す代表的な特性は吸音率であり、その予測は多孔質吸音材の設計に欠かすことができない。

一般的に、基材となる固体相と、数 μm から数百 μm の径の流路からなる流体相が混在した構造をしており、吸音特性は微視構造に依存することが知られている。吸

音率を予測するために、これまでに適用されてきたモデルの一つは、Delany と Bazley⁽¹⁾ による経験則に基づいたモデルであり、必要となるパラメータは空気流れ抵抗のみである。しかし、流体相しか考慮されておらず、さらに流体相の体積分率が 100% に近い繊維系の吸音材に適用は限定される。また、Biot^(2, 3), Allard⁽⁴⁾, Atalla⁽⁵⁾ によるモデル (Biot's model) も近年広く適用されている。このモデルは、固体相と流体相の両方の特性を考慮しており、弾性定数や空気流れ抵抗など 8 つのパラメータで表現されている。パラメータはマクロスケールで定義されており、多孔質吸音材の微視構造と直接関係付けることはできない。ただ、これらのパラメータの値が得られていれば、吸音率や透過損失などの音響的性能を比較的少ない計算コストで求めることができる。

1) 工学院大学 工学部 機械工学科
(〒192-0015 東京都八王子市中野町 2665-1)
2) 京都大学大学院 工学研究科 機械理工学専攻
(〒615-8540 京都市西京区京都大学桂 C3 棟)

一方、多孔質体の微視構造からマクロスケールにおける特性や支配方程式を導出することを目的とした研究がこれまでにいくつか報告されている⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾。多くの研究は多孔質吸音材における物理現象の一部を扱ったものになっており、そのまま多孔質吸音材に適用することはできない。著者は従来の均質化法を多孔質吸音材に適用できるよう拡張し、微視構造から吸音率を直接計算する方法を提案している。本手法により、微視的なユニットセルモデルからマクロ特性を算出し、そのマクロ特性を用いて吸音率などの性能を予測することができる。しかし、多孔質吸音材の微視構造を直接設計することは可能となるものの、計算負荷が大きく、多様な微視構造を検討することは容易ではない。

そこで、本研究では、均質化法により求めたマクロ特性から Biot パラメータを同定し、Biot パラメータと空孔径、繊維径や繊維間距離などの微視構造を特徴づける寸法パラメータと関連付ける。また、それを用いて微視構造の最適設計を行う手法を提案する。

以下、2 章では本研究で提案する多孔質吸音材の微視構造の最適設計法の概略を説明し、3, 4, 5 章ではそのベースとなる多孔質吸音材の均質化について概説する。6 章では均質化法による計算から得られるマクロ特性より Biot パラメータを同定する方法について述べ、7 章では発泡系吸音材を Kelvin セルでモデル化して適用する。8 章では既存の微視構造には依存しない最適設計を行う手法として、トポロジー最適化を適用することを検討する。最後に本研究のまとめと今後の課題について述べる。

2. 提案する最適設計法

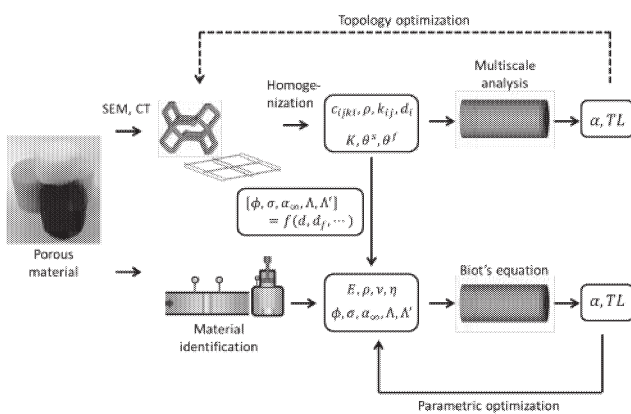


Fig.1 Process to design sound-absorbing poroelastic materials.

多孔質吸音材の吸音率や透過損失などの音響的性能を予測する手法として、現在、図に示すような 2 つの方法がある。一つは、Biot のパラメータを実験的に同定し、Biot のモデルを用いる方法である。もう一つは、SEM や X 線 CT などから得られた情報をもとに微視構造モデルを構築し、均質化法を用いる方法である。前者の方法では、微視構造を扱うことはできないが、Biot パラメータの値が得られれば、吸音率や透過損失などの音響的性能を比較的少ない計算コストで効率よく求めることができる。後者の方法では、微視構造を直接扱うことができるが、マクロ特性を算出する計算の負荷が大きく、多くの微視構造を検討することは容易ではない。

そこで、図に示すように、微視構造を取り扱うことのできる均質化法と、効率よく吸音率などの音響的性能を算出することのできる Biot のモデルを併用し、多孔質吸音材の微視構造をパラメトリックに最適化する手法を提案する。すなわち、多孔質吸音材の微視構造に対して空孔径などをパラメータにしたモデルを複数作成し、それらに均質化法を用いて流体相の等価密度などのマクロ特性を算出する。次に、Biot のモデルにおいて、得られたマクロ特性と一致するように Biot のパラメータを同定し、微視構造パラメータと Biot のパラメータを関連付ける。これにより微視構造のパラメータを変更した場合でも、容易に吸音率などの音響的性能算出することのできる。そして、ここでは遺伝的アルゴリズムを用い、吸音率が最大となる微視構造のパラメータを求める。

3. 多孔質吸音材の均質化

本研究で適用する多孔質吸音材に適用可能な均質化法について概略を説明する。詳細は文献⁽¹⁰⁾を参照いただきたい。

図 9 に示すように周期的な微視構造を有する多孔質吸音材を考える。ミクロスケールにおける支配方程式について、まず、固体相は線形弾性体の平衡式・構成式・変位-ひずみ関係式とし、流体相の流れ場は微小変位を仮定し線形化した Navier-Stokes の方程式とする。また、流体相の温度場は、熱力学の第一法則とし、固体相の比熱が流体相の比熱に比して十分大きく、平衡状態での温度を保持すると仮定すると、流体相のみに適用すればよい。質量保存則および状態方程式も支配方程式として考慮し、また、固体相と流体相の境界において速度、垂直応力および温度が連続であるという境界条件を課している。

漸近展開をした解を仮定し、ミクロスケールにおける

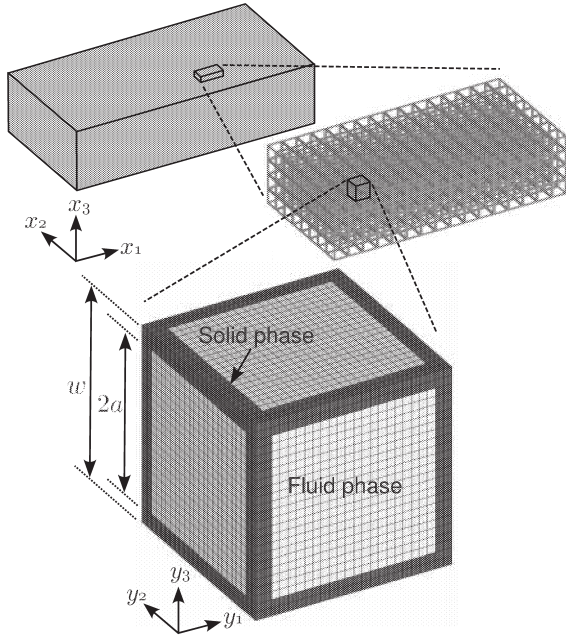


Fig.2 Schematic view of homogenization of sound-absorbing poroelastic material.

一連の支配方程式に代入すると、ミクروسケールにおける境界値問題を求めることができる。これを解いて得られた解を体積平均することでマクروسケールにおける特性を得ることができる。また、ミクروسケールにおける支配方程式を平均化することで、マクロスケールにおける固体相および流体相の支配方程式をそれぞれ導出することができる。これを解くことで吸音率などのマクロスケールにおける応答を求めることができる。

4. ミクロスケールにおける基礎支配方程式

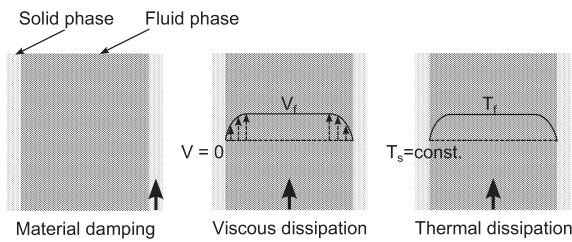


Fig.3 Dissipation mechanism in poroelastic material.

多孔質吸音材のミクロスケールにおける支配方程式について説明する。固体相は等方性の線形弾性体、流体相は圧縮性の粘性係数 μ^f の粘性流体で構成され、流体相は全て連結しているものとする。固体相の支配方程式は弾

性テンソルを c_{ijkl}^s とすると、以下に示す式で表される。

$$-\rho^s \omega^2 u_i^s = \frac{\partial \sigma_{ij}^s}{\partial x_j}, \quad (1)$$

$$\sigma_{ij}^s = c_{ijkl}^s \varepsilon_{kl}^s, \quad (2)$$

$$\varepsilon_{kl}^s = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_k^s}{\partial x_l} + \frac{\partial u_l^s}{\partial x_k} \right). \quad (3)$$

流体相の速度を v_i^f 、質量密度を δ^f 、温度を τ^f とすると、流体相に関する質量保存則および状態方程式はそれぞれ

$$\rho^f \frac{\partial v_i^f}{\partial x_i} + j\omega \delta^f = 0, \quad (4)$$

$$\frac{p^f}{P^f} = \frac{\delta^f}{\rho^f} + \frac{\tau^f}{T^f}. \quad (5)$$

流体相の流れ場に関する支配方程式は微小振幅であることを考慮すると、線形化された Navier-Stokes の方程式で表される

$$\rho^f j\omega v_i^f = \frac{\partial \sigma_{ij}^f}{\partial x_j}, \quad (6)$$

$$\sigma_{ij}^f = -p^f \delta_{ij} + 2\mu^f \dot{\varepsilon}_{ij}^f - \frac{2}{3}\mu^f \delta_{ij} \dot{\varepsilon}_{kk}^f, \quad (7)$$

$$\dot{\varepsilon}_{ij}^f = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial v_i^f}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j^f}{\partial x_i} \right). \quad (8)$$

固体相の比熱は流体相の比熱に比して十分大きく、平衡状態での温度 T_0 を維持すると仮定すると、温度場は流体相のみを考慮すればよく、支配方程式は熱力学の第一法則より次式のように表すことができる。

$$-\frac{\partial q_i^f}{\partial x_i} = j\omega \rho^f C_v^f \tau^f + (j\omega \rho^f R \tau^f - j\omega p^f), \quad (9)$$

$$q_i^f = -\kappa_{ij}^f \frac{\partial \tau^f}{\partial x_j}. \quad (10)$$

ここで、 C_v^f は定積比熱、 R は気体定数、 q_i^f は熱流速、 κ_{ij}^f は熱伝導率である。固体相と流体相の境界 Γ^{sf} における境界条件は、速度、境界垂直方向の応力、および温度の連続性から、以下の式で与えられる。

$$j\omega u_i^s = v_i^f, \quad (11)$$

$$\sigma_{ij}^s n_j^s + \sigma_{ij}^f n_j^f = 0, \quad (12)$$

$$\tau^f = 0. \quad (13)$$

ここで、 n_i^s 、 n_i^f はそれぞれ、 Γ^{sf} に立てた固体相、流体相の領域外向きの単位法線ベクトルである。

5. 漸近展開法に基づく吸音材の均質化

5.1 漸近展開

微視構造は周期的であると仮定し、その単位領域（ユニットセル）を Y 、ユニットセルの大きさを l とする。マクロスケールの代表長さ L は多孔質体における波長の長さとし、ミクロスケールとマクロスケールの代表長さの比を $\epsilon = l/L$ とする。また、マクロスケールにおける空間変数を \mathbf{x} 、ミクロスケールにおける空間変数を $\mathbf{y} = \mathbf{x}/\epsilon$ ($\epsilon \ll 1$) とする。

Gilbert ら⁽¹¹⁾ や Clopeau ら⁽¹²⁾ が two-scale 収束論を適用し数学的に明らかにしているように、多孔質体の問題においても漸近展開形の解が成り立つ。ここでは、状態量 u_i^s , v_i^f , p^f , τ^f , δ^f に対して、次式のような漸近展開形の解⁽¹³⁾を仮定する。

$$u_i^s = u_i^{s(0)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon u_i^{s(1)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon^2 u_i^{s(2)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \dots \quad (14)$$

$$v_i^f = v_i^{f(0)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon v_i^{f(1)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon^2 v_i^{f(2)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \dots \quad (15)$$

$$p^f = p^{f(0)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon p^{f(1)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon^2 p^{f(2)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \dots \quad (16)$$

$$\tau^f = \tau^{f(0)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon \tau^{f(1)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon^2 \tau^{f(2)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \dots \quad (17)$$

$$\delta^f = \delta^{f(0)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon \delta^{f(1)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \epsilon^2 \delta^{f(2)}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) + \dots \quad (18)$$

ここで、右辺における全ての項は \mathbf{y} について周期的（ Y -periodic）である。

5.2 境界値問題

固体相の ϵ^{-1} のオーダーの関係式に Galerkin 法を適用すると以下に示す式を導出することができる。

$$\int_Y \left(c_{ijkl}^s - c_{ijpq}^s \frac{\partial \chi_p^{kl}(\mathbf{y})}{\partial y_q} \right) \frac{\partial \delta u_i^s}{\partial y_j} dY = 0, \quad (19)$$

Y -periodic な特性関数 $\chi_i^{kl}(\mathbf{y})$ は、剛体変位を除くため $\int_Y \chi_i^{kl}(\mathbf{y}) dY = 0$ の条件を付加して上式を解くことで求めることができる。

ϵ^0 のオーダーにおける流体相の固体相に対する相対速度 $w_i^{f(0)} = v_i^{f(0)} - j\omega u_i^{s(0)}$ を考え、 $v_i^{f(0)}$ を $w^{f(0)} + j\omega u_i^{s(0)}$ で置き換える。 ϵ^{-1} のオーダーの関係式より流体相の流れ場に関して、次のミクロスケールにおける境

界値問題を得ることができる。

$$\begin{aligned} & \int_Y \rho^f j\omega \xi_i^k(\mathbf{y}) \delta w_i^f dY + \int_Y \mu^f \frac{\partial \xi_i^k(\mathbf{y})}{\partial y_j} \frac{\partial \delta w_i^f}{\partial y_j} dY \\ & + \int_Y \frac{1}{3} \mu^f \frac{\partial \xi_i^k(\mathbf{y})}{\partial y_i} \frac{\partial \delta w_i^f}{\partial y_i} dY - \int_Y \frac{\partial \xi_i^k(\mathbf{y})}{\partial y_i} \delta p^f dY \\ & - \int_Y \frac{\partial \delta w_i^f}{\partial y_i} \pi^k(\mathbf{y}) dY = \int_Y \delta \xi_k^k(\mathbf{y}) dY \quad (20) \end{aligned}$$

ここで $\xi_i^k(\mathbf{y})$ および $\pi^k(\mathbf{y})$ はそれぞれ相対速度、圧力に関する Y -periodic な特性関数である。なお、 Γ^{sf} において $\xi_i^k(\mathbf{y}) = 0$ である。一定圧力の成分を除くため $\int_Y \pi^k(\mathbf{y}) dY = 0$ の条件を付加して解くことで $\xi_i^k(\mathbf{y})$ および $\pi^k(\mathbf{y})$ を求めることができる。

ϵ^0 のオーダーにおける流体相の温度 $\tau^{f(0)}$ についての関係式より、次の境界値問題を得ることができる。

$$\begin{aligned} & \int_Y \frac{1}{j\omega \rho^f C_p^f} \kappa_{ij}^f \frac{\partial \zeta(\mathbf{y})}{\partial y_j} \frac{\partial \delta \tau^f}{\partial y_i} dY \\ & + \int_Y \zeta(\mathbf{y}) \delta \tau^f dY = \int_Y \delta \tau^f dY, \quad (21) \end{aligned}$$

ここで $\zeta(\mathbf{y})$ は温度に関する Y -periodic な特性関数であり、 Γ^{sf} において等温条件 $\zeta(\mathbf{y}) = 0$ をみたす。

5.3 均質化特性

境界値問題を解き得られた特性関数 $\chi_i^{kl}(\mathbf{y})$ をユニットセル Y において体積平均をとることで、固体相の均質化された弾性テンソル $\langle c_{ijkl}^s \rangle$ は Terada ら⁽¹⁴⁾ と同様、次式により求めることができる。

$$\langle c_{ijkl}^s \rangle = \frac{1}{|Y|} \int_Y \left[c_{ijkl}^s - c_{ijpq}^s \frac{\partial \chi_p^{kl}(\mathbf{y})}{\partial y_q} \right] dY, \quad (22)$$

ここで、 $|Y|$ は多孔質体のユニットセル Y の体積、 $\langle \rangle$ は Y における体積平均を表している。

また、ユニットセル中の流体相 Y^f において $\xi_i^k(\mathbf{y})$ の体積平均をとると、流体相の等価密度 ρ_{ki}^{fc} を求めることができる。

$$\rho_{ki}^{fc} = \frac{1}{j\omega} \langle \xi_i^k(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f}^{-1}, \quad (23)$$

ただし、 $|Y^f|$ をユニットセル中の流体相 Y^f の体積、 $\langle \rangle_{Y^f}$ は Y^f における体積平均である。

流体相の等価体積弾性率 K^f はユニットセル中の流体相 Y^f において $\zeta(\mathbf{y})$ の体積平均をとることで

$$K^f = \frac{\gamma^f P^f}{\gamma^f - (\gamma^f - 1) \langle \zeta(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f}}. \quad (24)$$

と求めることができる。

5.4 マクロスケールの支配方程式

均質化特性を用いて、マクロスケールにおける固体相および流体相の支配方程式をそれぞれ導出することができる。導出の詳細は文献^(2, 7, 10)を参照されたい。ここでは結果のみを示す。固体相の支配方程式は次式となる。

$$\begin{aligned} \frac{\partial \hat{\sigma}_{ij}^{s(0)}}{\partial x_j} + \bar{\rho}\omega^2 u_i^{s(0)} - \rho_0^f \omega^2 d_i^k u_k^{s(0)} - j\omega d_i^k \frac{\partial \psi^f(0)}{\partial x_k} \\ + j\omega \phi \frac{\partial \psi^f(0)}{\partial x_i} + j\omega k_{ij}^H \frac{\partial \psi^f(0)}{\partial x_j} = 0 \quad (25) \end{aligned}$$

また、流体相の支配方程式は以下のようになる。

$$\begin{aligned} \frac{d_i^k}{\rho_0^f} \frac{\partial^2 \psi^f(0)}{\partial x_k \partial x_i} + \omega^2 \left(\theta^f + \frac{\phi}{K^f} \right) \psi^f(0) - j\omega d_i^k \frac{\partial u_k^{s(0)}}{\partial x_i} \\ + j\omega \phi \frac{\partial u_i^{s(0)}}{\partial x_i} + j\omega \theta^{s,pq} \epsilon_{pq}^{s(0)} = 0 \quad (26) \end{aligned}$$

ここで、 $\psi^f(0)$ は $p^f(0) = -j\omega \psi^f(0)$ と定義されるポテンシャル関数、 $\hat{\sigma}_{ij}^{s(0)}$ は流体相との連成を考慮しない場合の固体相の応力、 ϕ はポロシティ、 $\bar{\rho}$ は多孔質体の平均質量密度で $(1-\phi)\rho^s + \phi\rho_0^f$ である。また、 c_{ijkl}^H 、 k_{ij}^H 、 $\theta^{s,pq}$ は固体相の均質化特性、 θ^f 、 K^f 、 d_i^k は流体相の均質化特性である。

計算手順としては、まずユニットセルを対象にミクロスケールにおける計算を行い固体相の変位、流体相の速度および温度を求める。次に、それらをユニットセル内で平均化して上述した6つの均質化特性を算出する。最後に、マクロスケールにおける支配方程式を用いて、音響管を模擬したモデルで計算を行い、垂直入射吸音率を求める。

6. Biot パラメータの同定

均質化法による計算から得られたマクロ特性より、Biot パラメータを同定する手法について述べる。

6.1 弾性率、ポアソン比および質量密度

Biot のモデルでは、固体相は等方性の線形弾性体として扱う。ここでは、均質化法による計算から得られた均質化弾性テンソル c_{ijkl}^H を用いて、等方性線形弾性体の弾性テンソル

$$\hat{c}_{ijkl} = \begin{bmatrix} \lambda + 2\mu & \lambda & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda + 2\mu & \lambda & 0 & 0 & 0 \\ \lambda & \lambda & \lambda + 2\mu & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \mu & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \mu & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & \mu \end{bmatrix} \quad (27)$$

の各成分との残差二乗和 f が最小となるヤング率 E とポアソン比 ν を求める。ただし、 λ 、 μ は Lamé の定数で、 $\lambda = \frac{\nu}{(1+\nu)(1-2\nu)}E$ 、 $\mu = \frac{1}{2(1+\nu)}E$ である。残差二乗和 f は以下のように書くことができる。

$$\begin{aligned} f = (\lambda + 2\mu - c_{1111})^2 + (\lambda + 2\mu - c_{2222})^2 + (\lambda + 2\mu - c_{3333})^2 \\ + (\lambda - c_{1122})^2 + (\lambda - c_{1133})^2 + (\lambda - c_{2233})^2 \\ + (\mu - c_{2323})^2 + (\mu - c_{3131})^2 + (\mu - c_{1212})^2 \quad (28) \end{aligned}$$

f の λ 、 μ に関する停留条件 $\frac{\partial f}{\partial \lambda} = \frac{\partial f}{\partial \mu} = 0$ より

$$\lambda = \frac{5}{18}C_1 - \frac{1}{9}C_2, \quad \mu = -\frac{1}{9}C_1 + \frac{1}{9}C_2 \quad (29)$$

と求めることができる。ただし、

$$C_1 = c_{1111} + c_{2222} + c_{3333} + c_{1122} + c_{1133} + c_{2233} \quad (30)$$

$$C_2 = 2c_{1111} + 2c_{2222} + 2c_{3333} + c_{2323} + c_{3131} + c_{1212} \quad (31)$$

である。これより、ヤング率 E とポアソン比 ν は次式で求められる。

$$E = \frac{(3\lambda + 2\mu)\mu}{\lambda + \mu}, \quad \nu = \frac{\lambda}{2(\lambda + \mu)} \quad (32)$$

見かけ密度 ρ_s は空孔率 ϕ を用いて $\rho_s = (1-\phi)\rho_{s0}$ と求めることができる。

6.2 空孔率

空孔率 ϕ は流体相の体積分率であり、微視構造の有限要素モデルから次式で容易に求めることができる。

$$\phi = |Y^f|/|Y| \quad (33)$$

ここで、 $|Y^f|$ はユニットセルの流体相の体積、 $|Y|$ はユニットセルの体積である。

6.3 空気流れ抵抗

空気流れ抵抗テンソル σ_{ij} は流速 v_i で空気を多孔質吸音材に流入させたときに x_j 方向に生じる圧力損失であり次式で定義される。

$$\sigma_{ij} v_i = -\frac{\partial p}{\partial x_j} \quad (34)$$

一方、流体相の均質化計算より平均流速 $\langle w_i^{(0)} \rangle_{Y^f}$ は以下で求められる。

$$\langle w_i^{(0)} \rangle_{Y^f} = \langle \xi_i^j(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f} \left(-\frac{\partial p^{(0)}}{\partial x_i} \right) \quad (35)$$

上の二式を比較すると空気流れ抵抗テンソル σ_{ij} は以下で求めることができる。

$$\sigma_{ij} = \langle \xi_i^j(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f}^{-1} \quad (36)$$

6.4 トーチュオシティと粘性代表長さ

均質化法による計算から得られる流体相の等価密度と Biot のモデルにおける等価密度の残差二乗和が最小になるよう、トーチュオシティ α_∞ と粘性代表長さ Λ の値を同定する。Biot のモデルにおける流体相の等価密度 ρ^{fc} は、 ρ_0^f を空気の質量密度として次式で表される。

$$\rho^{fc} = \rho_0^f \alpha_\infty + \frac{\sigma\phi}{j\omega} G, \quad G = \left(1 + \frac{4j\omega\nu \rho_0^{f2} \alpha_\infty^2}{\Lambda^2 \sigma^2 \phi^2} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (37)$$

ここで、 ν は動的粘性係数で、 $\nu = \mu/\rho_0^f$ である。また、 $\rho_0 = 1.2\text{kg/m}^3$, $\mu = 1.84 \times 10^{-5}\text{Ns/m}^2$ としている。等価密度は周波数に関する複素の関数であるから、非線形最小二乗法である Levenberg-Marquardt 法を適用する。なお、Levenberg-Marquardt 法を複素の関数に適用する場合、複素残差 r の絶対値の二乗 rr^* の和を最小にするものとする。Levenberg-Marquardt 法は反復計算による方法で初期値を与える必要があり、同定する未知数が 2 つの場合、初期値により得られる解が異なる場合がある。ここでは、等価密度の実部が $\omega \rightarrow 0$ のときに一定値に収束することを利用し、同定する未知数を 1 つにする。すなわち $\omega \rightarrow 0$ のとき

$$G \approx 1 + \frac{2j\omega\nu \rho_0^{f2} \alpha_\infty^2}{\Lambda^2 \sigma^2 \phi^2} \quad (38)$$

より、

$$\frac{\rho^{fc}}{\rho_0^f} \approx \alpha_\infty + \frac{\sigma\phi}{j\omega\rho_0^f} \left(1 + \frac{2j\omega\nu \rho_0^{f2} \alpha_\infty^2}{\Lambda^2 \sigma^2 \phi^2} \right) \quad (39)$$

$$= \alpha_\infty + \frac{2\mu \alpha_\infty^2}{\sigma\phi \Lambda^2} + \frac{\sigma\phi}{j\omega\rho_0^f} \quad (40)$$

となり、等価密度の実部は次式のように一定値 c となることが分かる。

$$\alpha_\infty + \frac{2\mu \alpha_\infty^2}{\sigma\phi \Lambda^2} = c \quad (41)$$

これより、

$$\Lambda^2 = \frac{2\mu \alpha_\infty^2}{\sigma\phi c - \alpha_\infty} \quad (42)$$

となり、元の式に代入すると

$$\rho^{fc} = \rho_0^f \alpha_\infty + \frac{\sigma\phi}{j\omega} G, \quad G = \left(1 + \frac{2j\omega\rho_0^f(c - \alpha_\infty)}{\sigma\phi} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (43)$$

となり、Levenberg-Marquardt 法で同定すべき未知数はトーチュオシティの 1 つとなる。なお、一定値 c は均質化法による計算から得られる。

6.5 温度代表長さ

均質化法による計算から得られる等価体積弾性率と Biot のモデルにおける等価体積弾性率の残差二乗和が最小になるよう、温度代表長さ Λ' の値を同定する。Biot のモデルにおける等価体積弾性率 K^f は次式で表される。

$$K^f = \frac{\gamma P_0}{\gamma - (\gamma - 1) \left(1 + \frac{8\nu'}{j\omega\Lambda'^2} G' \right)^{-1}}, \quad G' = \left(1 + \frac{j\omega\Lambda'^2}{16\nu'} \right)^{\frac{1}{2}} \quad (44)$$

ここで、 ν' は温度拡散率、 P_0 は大気圧、 γ は比熱比であり、定圧比熱を C_p とすると $\nu' = \kappa/(\rho_0 C_p)$ である。なお、ここでは $c_0 = 344 \text{ m/s}$, $\gamma = 1.4$ としている。等価体積弾性率も周波数に関する複素の関数で表されることから Levenberg-Marquardt 法を適用する。この場合、同定する未知数は温度代表長さの 1 つである。

6.6 複素関数に拡張した Levenberg-Marquardt 法

実数関数に対する非線形最小二乗法である Levenberg-Marquardt 法を複素の関数に拡張する。すなわち、複素残差 r_i ($i = 1, 2, \dots, m$) の絶対値二乗和 $S = \sum_{i=1}^m r_i r_i^*$ を Levenberg-Marquardt 法と同様のアルゴリズムで最小化することを考える。データ (x_i, y_i) と係数 β_j を有する関数 $f(x, \beta_j)$ ($j = 1, 2, \dots, n$) の残差二乗和 S は以下のように書くことができる。

$$S(x_i, y_i, \beta_j) = \sum_{i=1}^m r_i r_i^* \quad (45)$$

$$= \sum_{i=1}^m (y_i - f(x_i, \beta_j))(y_i - f(x_i, \beta_j))^* \quad (46)$$

係数 β_j による偏微分は

$$\frac{\partial S}{\partial \beta_j} = \sum_{i=1}^m r_i \frac{\partial r_i^*}{\partial \beta_j} + \frac{\partial r_i}{\partial \beta_j} r_i^* \quad (47)$$

$$= - \sum_{i=1}^m (y_i - f(x_i, \beta_j)) \frac{\partial f(x_i, \beta_j)^*}{\partial \beta_j} \quad (48)$$

$$+ \frac{\partial f(x_i, \beta_j)}{\partial \beta_j} (y_i - f(x_i, \beta_j))^* \quad (49)$$

$\Delta \beta_j = \beta_j - \beta_j^{(k)}$ として, すなわち $\beta_j = \beta_j^{(k)} + \Delta \beta_j$ として, $f(x_i, \beta_j)$ を $\beta_j^{(k)}$ のまわりで展開し 1 次式で近似すると以下のように書くことができる.

$$f(x_i, \beta_j) = f(x_i, \beta_j^{(k)}) + \sum_{j=1}^n \frac{\partial f(x_i, \beta_j)}{\partial \beta_j} (\beta_j - \beta_j^{(k)}) + \dots \quad (50)$$

$$\approx f(x_i, \beta_j^{(k)}) + \sum_{j=1}^n J_{ij} \Delta \beta_j \quad (51)$$

ここで, $\frac{\partial f(x_i, \beta_j)}{\partial \beta_j} = J_{ij}$ である. $\Delta y_i = y_i - f(x_i, \beta_j^{(k)})$ として

$$\frac{\partial S}{\partial \beta_j} = - \sum_{i=1}^m [(y_i - f(x_i, \beta_j)) J_{ij}^* + (y_i - f(x_i, \beta_j))^* J_{ij}] \quad (52)$$

$$= \sum_{i=1}^m \sum_{l=1}^n (J_{ij}^* J_{il} + J_{ij} J_{il}^*) \Delta \beta_l \quad (53)$$

$$- \sum_{i=1}^m (J_{ij}^* \Delta y_i + J_{ij} \Delta y_i^*) \quad (54)$$

S が最小のとき $\frac{\partial S}{\partial \beta_j} = 0$ となることから,

$$\sum_{i=1}^m \sum_{l=1}^n (J_{ij}^* J_{il} + J_{ij} J_{il}^*) \Delta \beta_l = \sum_{i=1}^m (J_{ij}^* \Delta y_i + J_{ij} \Delta y_i^*), \quad j = 1 \dots n \quad (55)$$

これは $n \times n$ の方程式になり, マトリックスで表記すると次式で表すことができる.

$$(\mathbf{J}^{*T} \mathbf{J} + \mathbf{J}^T \mathbf{J}^*) \Delta \boldsymbol{\beta} = \mathbf{J}^{*T} \Delta \mathbf{y} + \mathbf{J}^T \Delta \mathbf{y}^* \quad (56)$$

なお, 安定性のため Levenberg - Marquardt 法では次式を用いている.

$$(\mathbf{J}^{*T} \mathbf{J} + \mathbf{J}^T \mathbf{J}^* + \lambda \text{diag}(\mathbf{J}^{*T} \mathbf{J} + \mathbf{J}^T \mathbf{J}^*)) \Delta \boldsymbol{\beta} = \mathbf{J}^{*T} \Delta \mathbf{y} + \mathbf{J}^T \Delta \mathbf{y}^*, \quad \lambda \geq 0 \quad (57)$$

得られた解より $\boldsymbol{\beta}^{(k)}$ を $\boldsymbol{\beta}^{(k+1)} = \boldsymbol{\beta}^{(k)} + \Delta \boldsymbol{\beta}$ で更新し, 上記のプロセスを S が所定の閾値より小さくなるまで繰り返す.

7. 多孔質発泡材料の最適化

7.1 Kelvin セルモデル

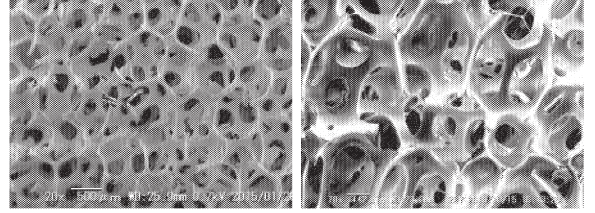


Fig.4 SEM images of typical foam materials (polyurethane foam).

図は代表的な発泡材料であるポリウレタンフォームを走査型電子顕微鏡により撮像したものである. 吸音材として使用される場合, 吸音性能を高めるため連続気泡になっていることが多い.

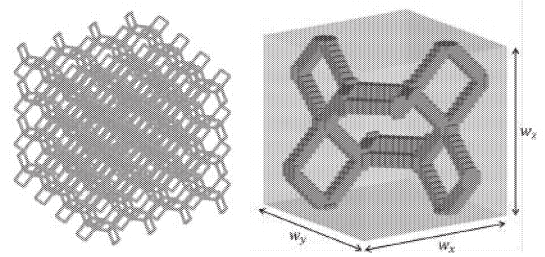


Fig.5 Finite element model of a typical foam material by Kelvin cell model.

こうした材料の微視構造を表現するものとして図に示す Kelvin セルモデルが使われている. 図 (b) には Kelvin セルモデルのユニットセルを示す. 図から分かるように, 微視構造は棒状のリガメントによる四角形と六角形で構成されている. ユニットセルの 3 辺の長さが同じで場合 ($w_x = w_y = w_z = w_f$), 四角形および六角形の空孔の大きさはそれぞれおよそ $1/3w_f$ および $2/3w_f$ である.

7.2 Biot パラメータと微視的パラメータの関係式

固体相のマクロ特性であるヤング率とポアソン比, 流体相のマクロ特性である空気流れ抵抗については, 構造を単純化したりすることで解析的に表現することも検討されている. 工学的な定義が明確でないトーチュオシティや粘性特性長については, 微視構造の寸法との関係式を

実験的に検討している事例もある。いずれの検討事例においても、同一のモデルあるいは仮定に基づいて、全ての Biot パラメータを導出している事例はない。ここでは、本研究で提案する手法を Kelvin セルモデルに適用し、前節と同じ方法でユニットセルモデルから全ての Biot パラメータを導出する。

ユニットセルの 3 辺の長さが同じとし、ユニットセルサイズ w_f と空孔率 ϕ を微視構造のパラメータにとり、ユニットセルサイズ w_f を 1, 5, 10, 20, 40, 100, 200, 300, 400, 1000 μm の 10 種、空孔率 ϕ を 0.9915, 0.9685, 0.9528, 0.9326, 0.9047 の 5 種、合計 50 種類の微視構造を作成し、均質化法によりマクロ特性を算出する。また、その結果より Biot パラメータの値を求め、各 Biot パラメータと微視パラメータについての関係式を最小二乗法により以下のように得た。

$$\alpha_\infty = 1.43 - 0.43\phi \quad (58)$$

$$\sigma = 3.88 \times 10^{-3} w_f^{-2.00} (1 - \phi)^{0.355} \quad (59)$$

$$\Lambda = 0.094 w_f (1 - \phi)^{-0.359} \quad (60)$$

$$\Lambda' = 0.383 w_f (1 - \phi)^{-0.149} \quad (61)$$

$$E^s = \frac{2(1 - \phi)^2}{3(1.9 - 0.9\phi)} E_0 \quad (62)$$

$$\nu^s = \frac{\phi}{2(2 - \phi)} \quad (63)$$

なお、ヤング率とポアソン比については Warren and Kraynik の式を用いている。

7.3 微視構造の寸法最適化

微視構造のパラメータであるユニットセルサイズ w_f 、空孔率 ϕ 、固体相を構成する材料のヤング率 E_0^s 、質量密度 ρ_0^s 、損失係数 η_0^s を設計変数とし、指定周波数における垂直入射吸音率の最大化を目的に遺伝的アルゴリズムを用いて最適化する。ここでは、2 つの周波数ラインにおける垂直入射吸音率の平均値を最大化することを考える。周波数は、500 Hz + 1 kHz, 500 Hz + 2 kHz, 500 Hz + 4 kHz, 1 kHz + 2 kHz, 1 kHz + 4 kHz の 5 ケースとし、設計変数の上下限は、現実的な材料構成を考慮して、 $0.1 \mu\text{m} \leq w_f \leq 500 \mu\text{m}$, $0.90 \leq \phi \leq 0.99$, $200 \leq E_0^s \leq 500 \text{ MPa}$, $1000 \text{ kg/m}^3 \leq \rho_0^s \leq 2000 \text{ kg/m}^3$, $0.01 \leq \eta_0^s \leq 0.300$ とする。また、吸音材の厚さは 20 mm とした。

表 1 は、各ケースにおける設計変数の最適値を示している。また、図 6 は、そのときの垂直入射吸音率の周波数特性を示している。図から 500 Hz + 4 kHz, 1 kHz + 4 kHz のケースでは 2 つの指定周波数において吸音率の

Tab.1 Optimal microscopic parameters.

Freq	w_f [μm]	ϕ [-]	E_0^s [MPa]	ρ_0^s [kg/m^3]
500Hz + 1kHz	62.1	0.974	500.	1832.
500Hz + 2kHz	69.4	0.969	500.	1959.
500Hz + 4kHz	51.6	0.964	349.	1843.
1kHz + 2kHz	75.1	0.989	500.	1174.
1kHz + 4kHz	66.8	0.986	221.	1262.

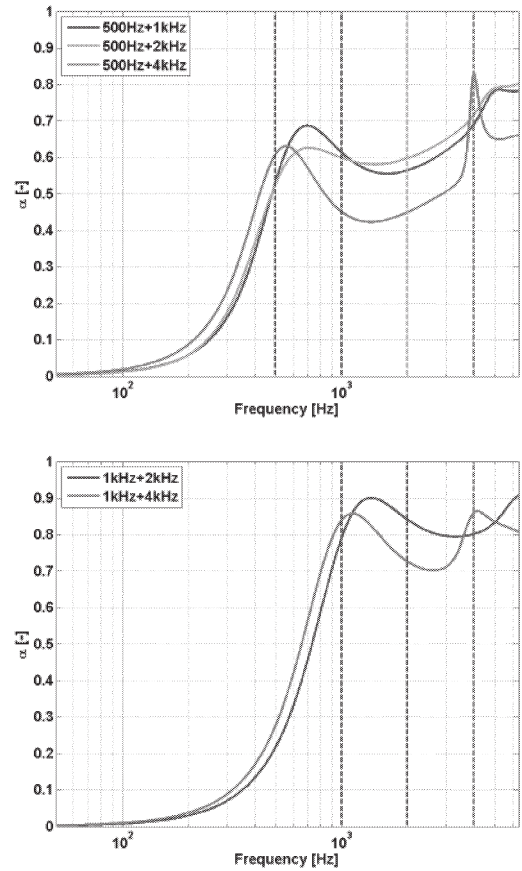


Fig.6 Optimal sound absorption coefficients for normal incident.

周波数特性がピークになっている。しかし、他の指定周波数のケースでは、吸音率の値は大きいもののピークにはなっていない。

8. 多孔質吸音材微視構造のトポロジー最適化

ここまでで検討してきた手法は、既存材料をもとに構築した微視構造のパラメトリックの最適化であり、微視

構造の抜本的な設計にはつながり難い。そこで、既存の微視構造には依存しないトポロジー最適化により多孔質吸音材の微視構造を設計する方法論を構築する。まず、マクロスケールにおける材料分布は固定し、材料微視構造のトポロジー最適化を考える。目的関数には、吸音材の代表特性である吸音率と等価であり、かつトポロジー最適化において扱いやすい、散逸エネルギー和を用いる。トポロジー最適化では、従来、随伴変数法を用いて目的関数の設計感度を求めており、その場合、マクロスケールにおける材料特性の設計感度が必要になる。マクロスケールにおける材料特性は、一般的には基準となる材料特性値と、設計変数による密度関数を用いて表現され、設計感度は解析的に求めることができる場合が多い。しかし、本研究で対象としているマルチスケールトポロジー最適化では、マクロスケールにおける材料特性は、ミクロスケールにおける境界値問題の解の体積平均で求めているため、マクロスケールにおける材料特性の設計感度を陽に求めることができない。ここでは、マクロスケールにおける材料特性の設計感度を、ミクロスケールにおいても随伴変数法を適用し求める方法を提案する。

8.1 多孔質体固体相における散逸エネルギーの最大化

材料全体の散逸エネルギー和は正の実数値であることから、その負値を最小化することを考える。散逸エネルギーの和はマクロスケール、設計変数 μ_i はミクロスケールで定義することに注意する。 μ はミクロスケールすなわちユニットセルモデルにおける連続化した特性関数 $\mu(\mathbf{y})$ ($0 \leq \mu(\mathbf{y}) \leq 1$)。特性関数 $\mu(\mathbf{y})$ は、ミクロスケールモデルの各節点において定義した設計変数 μ_i ($0 \leq \mu(\mathbf{y}) \leq 1$) で離散的に表現するものとする。ミクロスケールモデルおよびマクロスケールモデルの位置、節点数、要素数をそれぞれ \mathbf{y}, n_d, n_e 、および \mathbf{x}, N_d, N_e とし、体積 (質量) 制約条件のもと、次式に示すマクロスケールにおける散逸エネルギー和の負値最小化問題を考える。

$$\text{Min}_{\mu} g = -\frac{1}{2} \Re \left[(-j\omega) \int_{\Omega} (\sigma_{ij}^H \varepsilon_{ij}^{H*} - \rho^H \omega^2 u_i^H u_i^{H*}) d\Omega \right]$$

Subject to:

$$\int_Y \mu(\mathbf{y}) dY - V_{10} \leq 0$$

$$\frac{\partial \sigma_{ij}^H}{\partial x_j} + \rho^H \omega^2 u_i^H = 0$$

$$\sigma_{ij}^H = c_{ijkl}^H \varepsilon_{kl}^H$$

(64)

$$\begin{aligned} c_{ijkl}^H &= \frac{1}{|Y|} \int_Y \left\{ c_{ijkl}^s(\mathbf{y}) - c_{ijpq}^s(\mathbf{y}) \frac{\partial \chi_p^{kl}(\mathbf{y})}{\partial y_q} \right\} dY \\ \rho^H &= \frac{1}{|Y|} \int_Y \mu(\mathbf{y}) \rho^s(\mathbf{y}) dY \\ \int_Y \left(c_{ijkl}^s - c_{ijpq}^s \frac{\partial \chi_p^{kl}(\mathbf{y})}{\partial y_q} \right) \frac{\partial \delta u_i^s}{\partial y_j} dY &= 0 \\ c_{ijkl}^s(\mathbf{y}) &= (1 - \mu(\mathbf{y})^p) c_{ijkl0}^s + \mu(\mathbf{y})^p c_{ijkl1}^s \\ \rho^s(\mathbf{y}) &= (1 - \mu(\mathbf{y})) \rho_0^s + \mu(\mathbf{y}) \rho_1^s \\ \mu(\mathbf{y}) &= \sum_{i=1}^{n_d} N_i \mu_i \\ 0 \leq \mu_i &\leq 1 \quad (i = 1, 2, \dots, n_d) \end{aligned} \quad (65)$$

なお、* は複素共役を示している。 ρ^H は実数であるから、 $\Re(z) = \frac{1}{2}(z + z^*)$ より、

$$\begin{aligned} 4g &= - \left[(-j\omega) \int_{\Omega} (\sigma_{ij}^H \varepsilon_{ij}^{H*} - \rho^H \omega^2 u_i^H u_i^{H*}) d\Omega \right] \\ &\quad - \left[(j\omega) \int_{\Omega} (\sigma_{ij}^{H*} \varepsilon_{ij}^H - \rho^H \omega^2 u_i^{H*} u_i^H) d\Omega \right] \\ &= j\omega \left[\int_{\Omega} (\sigma_{ij}^H \varepsilon_{ij}^{H*} - \sigma_{ij}^{H*} \varepsilon_{ij}^H) d\Omega \right] \end{aligned}$$

\mathbf{B} マトリックスは実数であることから、

$$\sigma_{ij}^H \varepsilon_{ij}^{H*} = c_{ijkl}^H \varepsilon_{kl}^H \varepsilon_{ij}^{H*} = \mathbf{U}^{s*T} \mathbf{K}^s \mathbf{U}^s \quad (66)$$

$$\sigma_{ij}^{H*} \varepsilon_{ij}^H = c_{ijkl}^{H*} \varepsilon_{kl}^{H*} \varepsilon_{ij}^H = \mathbf{U}^{sT} \mathbf{K}^{s*} \mathbf{U}^{s*} \quad (67)$$

したがって、

$$4g = j\omega (\mathbf{U}^{s*T} \mathbf{K}^s \mathbf{U}^s - \mathbf{U}^{sT} \mathbf{K}^{s*} \mathbf{U}^{s*}) \quad (68)$$

8.2 散逸エネルギーの設計感度

音響管のマクロスケールモデルを想定すると、弾性体 (e)・音場 (a)・多孔質材 (s) のマクロスケール連成系全体の平衡式は

$$\mathbf{D}\mathbf{X} - \mathbf{F} = \mathbf{O} \quad (69)$$

$$\mathbf{D} = \begin{bmatrix} \mathbf{K}^e - \omega^2 \mathbf{M}^e & -j\omega \mathbf{C}^{ea} & \mathbf{O} \\ -j\omega \mathbf{C}^{eaT} & \mathbf{K}^a - \omega^2 \mathbf{M}^a & -j\omega \mathbf{C}^{sa} \\ \mathbf{O} & -j\omega \mathbf{C}^{saT} & \mathbf{K}^s - \omega^2 \mathbf{M}^s \end{bmatrix} \quad (70)$$

マクロスケールモデル全体の系と次元とあわせるため

$$\mathbf{D}^q = \begin{bmatrix} \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{O} \\ \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{O} \\ \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{K}^s \end{bmatrix} \quad (71)$$

\mathbf{Y} をマクロスケール連成系全体に対する随伴変数とし、 \mathbf{Y} と支配方程式の積を目的関数に付加すると、拡張した

目的関数 g_{ext} は,

$$g_{ext} = j\omega(\mathbf{X}^{*T} \mathbf{D}^q \mathbf{X} - \mathbf{X}^T \mathbf{D}^{q*} \mathbf{X}^*) + \mathbf{Y}^T (\mathbf{F} - \mathbf{D} \mathbf{X}) + \mathbf{Y}^{*T} (\mathbf{F}^* - \mathbf{D}^* \mathbf{X}^*) \quad (72)$$

拡張した目的関数について, 設計変数 μ_i に対する感度は

$$\begin{aligned} \frac{\partial g_{ext}}{\partial \mu_i} &= (j\omega \mathbf{X}^{*T} (\mathbf{D}^q - \mathbf{D}^{q*}) - \mathbf{Y}^T \mathbf{D}) \frac{\partial \mathbf{X}}{\partial \mu_i} \\ &+ (j\omega \mathbf{X}^T (\mathbf{D}^q - \mathbf{D}^{q*}) - \mathbf{Y}^{*T} \mathbf{D}^*) \frac{\partial \mathbf{X}^*}{\partial \mu_i} \\ &+ j\omega \mathbf{X}^{*T} \frac{\partial \mathbf{D}^q}{\partial \mu_i} \mathbf{X} - j\omega \mathbf{X}^T \frac{\partial \mathbf{D}^{q*}}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* \\ &- \mathbf{Y}^T \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial \mu_i} \mathbf{X} - \mathbf{Y}^{*T} \frac{\partial \mathbf{D}^*}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* \end{aligned}$$

したがって, 随伴方程式

$$\mathbf{D} \mathbf{Y} = j\omega (\mathbf{D}^q - \mathbf{D}^{q*}) \mathbf{X}^* \quad (73)$$

を満たす随伴変数 \mathbf{Y} を用いると, 目的関数 g_{ext} の設計変数 μ_i に対するマクロスケールにおける感度は次式で求められる.

$$\begin{aligned} \frac{\partial g_{ext}}{\partial \mu_i} &= j\omega \mathbf{X}^{*T} \frac{\partial \mathbf{D}^q}{\partial \mu_i} \mathbf{X} - j\omega \mathbf{X}^T \frac{\partial \mathbf{D}^{q*}}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* \\ &- \mathbf{Y}^T \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial \mu_i} \mathbf{X} - \mathbf{Y}^{*T} \frac{\partial \mathbf{D}^*}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* \quad (74) \end{aligned}$$

また,

$$\frac{\partial \mathbf{D}^q}{\partial \mu_i} = \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial \mu_i}, \quad \frac{\partial \mathbf{K}^s}{\partial \mu_i} = \mathbf{B}^{sT} \frac{\partial \mathbf{C}^H}{\partial \mu_i} \mathbf{B}^{sT} \quad (75)$$

8.3 弾性テンソルの設計感度

固体相の均質化弾性テンソルは次式で求めることができる.

$$\mathbf{C}^H = \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \sum_{i=1}^{N_e} \int_{Y_i} ([\mathbf{C}^s] - [\mathbf{C}^s][\mathbf{B}][\Psi]) dY \quad (76)$$

固体相の均質化弾性テンソルに, \mathbf{Y} -periodic な随伴変数マトリックス Φ と支配方程式の積を加えると,

$$\mathbf{C}^H = \mathbf{C}^H + \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \Phi^T (\mathbf{K} \Psi - \mathbf{F}) \quad (77)$$

自己随伴であるからことから, \mathbf{C}^H のミクロスケールにおける設計変数 μ_i に対する設計感度は次式で表すことが

できる.

$$\begin{aligned} \frac{\partial \mathbf{C}^H}{\partial \mu_i} &= \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \sum_{i=1}^{n_e} \int_{Y_i} \frac{\partial [\mathbf{C}^s]}{\partial \mu_i} dY \\ &- \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \sum_{i=1}^{n_e} \int_{Y_i} \frac{\partial [\mathbf{C}^s]}{\partial \mu_i} [\mathbf{B}][\Psi]_{3n \times 6} dY \\ &- \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \left(\sum_{i=1}^{n_e} \int_{Y_i} [\Phi]^T [\mathbf{B}]^T \frac{\partial [\mathbf{C}^s]}{\partial \mu_i} dY \right) \\ &+ \frac{1}{|\mathbf{Y}|} \left(\sum_{i=1}^{n_e} \int_{Y_i} [\Phi]^T [\mathbf{B}]^T \frac{\partial [\mathbf{C}^s]}{\partial \mu_i} [\mathbf{B}][\Psi] dY \right) \quad (78) \end{aligned}$$

8.4 多孔質体流体相における散逸エネルギーの最大化

多孔質材料の流体相において散逸するエネルギー和を最大化するトポロジー最適化を考える. 散逸エネルギーの和はマクロスケール, 設計変数 μ_i はミクロスケールで定義することに注意する. トポロジー最適化問題としての定式化は以下のように書くことができる.

$$\begin{aligned} \text{Min } g &= -\frac{1}{2} \Re \int_{\Omega^p} (j\omega) \left(-\frac{d_i^k}{\rho_0^f} \frac{\partial \psi^f}{\partial x_k} \frac{\partial \psi^{f*}}{\partial x_i} \right. \\ &\left. + \omega^2 \frac{\phi}{K^f} \psi^f \psi^{f*} \right) d\Omega \\ \text{Subject to } &\int_Y \mu(\mathbf{y}) dY - V_{10} \leq 0 \\ &\frac{d_i^k}{\rho_0^f} \frac{\partial^2 \psi^{f(0)}(x)}{\partial x_k \partial x_i} + \omega^2 \frac{\phi}{K^f} \psi^{f(0)}(x) = 0 \quad (79) \\ &d_i^k = \rho_0^f j\omega \langle \xi_i^k(\mathbf{y}) \rangle = \rho_0^f j\omega \langle \xi_i^k(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f} \\ &K^f = \frac{\gamma P_0}{\gamma - (\gamma - 1) \langle \zeta(\mathbf{y}) \rangle_{Y^f}} \\ &\mu(\mathbf{y}) = \sum_{i=1}^{n_d} N_i \mu_i \\ &0 \leq \mu_i \leq 1 \quad (i = 1, 2, \dots, n_d) \end{aligned}$$

目的関数 g を系の動剛性マトリックスで表現すると次式となる.

$$g = -\frac{1}{2} \Re (j\omega \Psi^{fT} \mathbf{D}^f \Psi^{f*}) \quad (80)$$

\mathbf{d}, K_f が複素数であることから, $\Re(z) = \frac{1}{2}(z + z^*)$ より

$$4g = -(j\omega \Psi^{fT} \mathbf{D}^f \Psi^{f*} - j\omega \Psi^{f*T} \mathbf{D}^{f*} \Psi^f) \quad (81)$$

8.5 散逸エネルギーの設計感度

マクロスケールモデル全体の系と状態変数の次元を合わせるため,

$$\mathbf{D}^q = \begin{bmatrix} \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{O} \\ \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{O} \\ \mathbf{O} & \mathbf{O} & \mathbf{D}^f \end{bmatrix} \quad (82)$$

とおき、 \mathbf{Y} をマクロスケール連成系全体に対する随伴変数とする。 \mathbf{Y} と支配方程式の積を目的関数に付加すると、拡張した目的関数 g_{ext} は、以下のように書くことができる。

$$g_{ext} = -(j\omega \mathbf{X}^T \mathbf{D}^q \mathbf{X}^* - j\omega \mathbf{X}^{*T} \mathbf{D}^{q*} \mathbf{X}) + \mathbf{Y}^T (\mathbf{F} - \mathbf{D} \mathbf{X}) + \mathbf{Y}^{*T} (\mathbf{F}^* - \mathbf{D}^* \mathbf{X}^*) \quad (83)$$

拡張した目的関数 g_{ext} の、設計変数 μ_i に対する設計感度は、随伴方程式

$$\mathbf{D} \mathbf{Y} = -j\omega (\mathbf{D}^q - \mathbf{D}^{q*}) \mathbf{X}^* \quad (84)$$

を満たす \mathbf{Y} を用いると、次式で求めることができる。

$$\frac{\partial g_{ext}}{\partial \mu_i} = -j\omega \mathbf{X}^T \frac{\partial (\mathbf{D}^q - \mathbf{D}^{q*})}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* - \mathbf{Y}^T \frac{\partial \mathbf{D}}{\partial \mu_i} \mathbf{X} - \mathbf{Y}^{*T} \frac{\partial \mathbf{D}^*}{\partial \mu_i} \mathbf{X}^* \quad (85)$$

8.6 等価密度の設計感度

等価密度に相当する相対速度の特性関数 \mathbf{d} に、 \mathbf{X} に対応する随伴変数を \mathbf{Y} として、系の支配方程式との積を加えると、以下のように書くことができる。

$$\mathbf{d} = \mathbf{d} - \mathbf{Y}^T (\mathbf{L} \mathbf{X} - \mathbf{F}) \quad (86)$$

随伴方程式

$$\mathbf{L} \mathbf{Y} = \left(\frac{\partial \mathbf{d}}{\partial \mathbf{X}} \right)^T \quad (87)$$

の解を用いると、ミクロスケールモデルの各節点において定義された設計変数 μ_i ($i = 1, 2, \dots, n_d$) による設計感度は、次式で求めることができる。

$$\frac{\partial \mathbf{d}}{\partial \mu_i} = -\mathbf{Y}^T \frac{\partial \mathbf{L}}{\partial \mu_i} \mathbf{X} \quad (88)$$

8.7 等価体積弾性率の設計感度

等価体積弾性率は次式で求めることができる。

$$K^f = \frac{\gamma P_0}{\gamma - (\gamma - 1) \langle \zeta(y) \rangle_{Y^f}} \quad (89)$$

積分と微分が置換可能であるとすると、等価体積弾性率のミクロスケールの設計変数についての設計感度は

$$\frac{\partial K^f}{\partial \mu_i} = -\frac{\gamma P_0}{\gamma - (\gamma - 1) \langle \zeta(y) \rangle_{Y^f}^2} \frac{1}{|Y^f|} \int_{Y^f} \frac{\partial \zeta(y)}{\partial \mu_i} dY \quad (90)$$

均質化した特性関数 $h = \frac{1}{|Y^f|} \int_{Y^f} \frac{\partial \zeta(y)}{\partial \mu_i} dY$ に随伴変数 \mathbf{Y} と支配方程式の積を加えて

$$h = N_p \Theta - \mathbf{Y}^T [(\mathbf{K} + \mathbf{M}) \Theta - \mathbf{F}] \quad (91)$$

とすると、 h のミクロスケールにおける設計変数 μ_i による設計感度は、自己随伴問題であることから、次式で求めることができる。

$$\frac{\partial h}{\partial \mu_i} = -\mathbf{Y}^T \frac{\partial \mathbf{K}}{\partial \mu_i} \Theta \quad (92)$$

8.8 設計空間の緩和

材料分布の連続性を仮定した設計空間の離散化手法では、特性関数 $\mu(\mathbf{y})$ を固定設計領域 Ω^Y において C^0 以上の連続関数であると仮定し、離散化要素の各節点に割り当てた設計変数、内挿関数 $N_i(\mathbf{y})$ ($i = 1, 2, \dots, n_d$) を構成要素とする関数ベクトル \mathbf{N} を用いて、次式のように離散化する。

$$\mu(\mathbf{y}) \simeq \mathbf{N}^T \boldsymbol{\mu} = \sum_{i=1}^{n_d} N_i \mu_i \quad (93)$$

ミクロスケールモデルの各節点で定義した設計変数 μ_i ($i = 1, 2, \dots, N_d$) による均質化弾性テンソル \mathbf{C}^H の設計感度は、

$$\frac{\partial \mathbf{C}^H}{\partial \mu_i} = \frac{\partial \boldsymbol{\mu}}{\partial \mu_i} \frac{\partial \mathbf{C}^H}{\partial \boldsymbol{\mu}} \quad (94)$$

8.9 材料表現

ミクロスケールのユニットセルモデルにおける特性関数 $\mu(\mathbf{y})$ による材料特性の表現

$$E^s(\mu(\mathbf{y})) = \{1 - \mu(\mathbf{y})^p\} E_0^s + \mu(\mathbf{y})^p E_1^s \quad (95)$$

$$\nu^s(\mu(\mathbf{y})) = \{1 - \mu(\mathbf{y})^p\} \nu_0^s + \mu(\mathbf{y})^p \nu_1^s \quad (96)$$

$$\rho^s(\mu(\mathbf{y})) = \{1 - \mu(\mathbf{y})\} \rho_0^s + \mu(\mathbf{y}) \rho_1^s \quad (97)$$

μ_i が割り当てられている節点を含む要素において、

$$\frac{\partial \mu}{\partial \mu_i} = N_i \quad (98)$$

であり、その他の節点においてはゼロである。また、 $\nu_0^s = \nu_1^s = \nu^s$ とすると、

$$\frac{\partial [C^s]}{\partial \mu} = p \mu^{p-1} ([C^s]_1 - [C^s]_0) \quad (99)$$

したがって、 μ_i が割り当てられている節点を含む要素において積分し和をとるものとする。

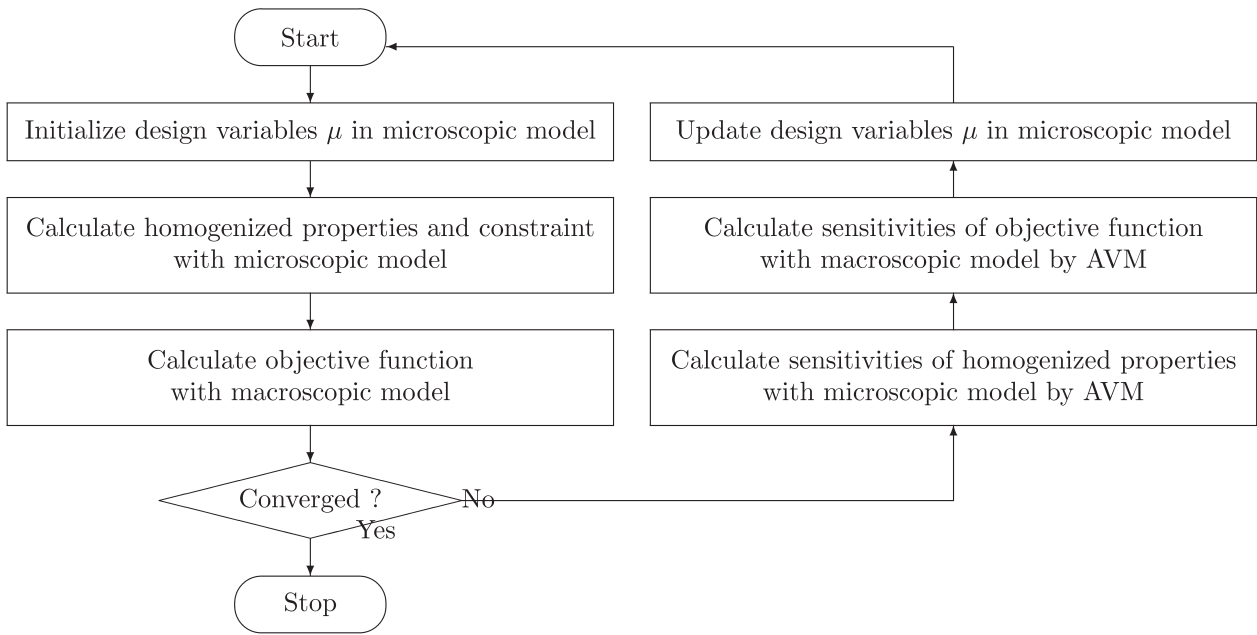


Fig.7 Flowchart of optimization process

8.10 最適化のアルゴリズム

本最適化問題を解くアルゴリズムを図 7 に示す。最初にミクロスケールモデルにおいて定義された設計関数 μ を初期値に設定し、以下の計算過程を収束するまで繰り返す。まず、ミクロスケールにおける境界値問題を有限要素法で解き、均質化特性および均質化質量密度を求める。次に、求めた均質化特性を用いて、マクロスケールにおける境界値問題を有限要素法で解き、材料内部における散逸エネルギーを求める。そして、目的汎関数の値を計算し収束していれば計算終了である。収束していなければ、随伴方程式の解より、ミクロスケールにおける均質化特性の設計感度を求める。さらに、求めたミクロスケールにおける設計感度と随伴方程式の解より、マクロスケールにおける目的関数の設計感度を求める。最後に設計変数を Method of Moving Asymptotes (MMA)^(?) を用いて更新し最初のステップに戻る。

9. 数値例

9.1 ミクロスケールの設計感度

微視構造のユニットセルは 1 辺の長さが $120 \mu\text{m}$ の立方体ですべて固体相とし、ヤング率は $E_0^s = 0.0 \text{ MPa}$, $E_1^s = 1.0 \text{ MPa}$, ポアソン比は $\nu_0^s = \nu_1^s = 0.30$, 質量密度は $\rho_0^s = 0 \text{ kg/m}^3$, $\rho_1^s = 1000 \text{ kg/m}^3$, 損失係数は $\eta_0^s = \eta^s = 0.1$ とする。すなわち、ヤング率と質量密度は設計変数にしたがって変動するが、ポアソン比と損失係

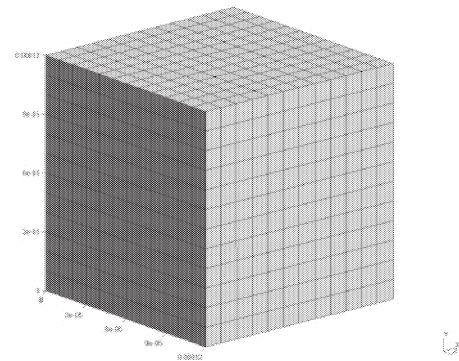


Fig.8 Microscopic unit cell model.

数は設計変数に依らず一定とする。また、初期の設計変数は $\mu = 0.5$, ペナルティ係数は $p = 3$ とする。

ここでは、ユニットセルモデルの節点において定義された設計変数について、 $\mu = 0.50$ のとき理論的に求めた弾性テンソルの設計感度 $\frac{\partial C^H}{\partial \mu}$ と、 $\mu = 0.495$ から $\mu = 0.505$ に変化させたときに弾性テンソルの差分より求めた設計感度 $\frac{\Delta C^H}{\Delta \mu}$ を比較し、均質化弾性テンソルの設計感度を検証する。なお、ミクロスケールの構造は常に周期的である必要があることから、ユニットセルモデルの中央に関して対称な位置にある 8 つの節点に定義された設計変数はすべて連動して変化するものとする。

表 2 は、随伴変数法により求めた弾性テンソルの設計感度と、差分法により求めた設計感度の比較である。弾

性テンソルの各成分の設計感度の誤差は 10^{-3} % 程度であり、十分な精度で求められていることが分かる。

Tab.2 Microscopic sensitivities of elastic tensor.

	$\frac{\Delta C^H}{\Delta \mu}$ [Pa]	$\frac{\partial C^H}{\partial \mu}$ [Pa]	Error [%]
C_{1111}	1516.904630	1516.894619	6.600×10^{-4}
C_{1122}	650.150283	650.144322	9.169×10^{-4}
C_{1133}	650.150283	650.144696	8.595×10^{-4}
C_{2222}	1516.904630	1516.894619	6.600×10^{-4}
C_{2233}	650.150283	650.144696	8.595×10^{-4}
C_{3333}	1516.904630	1516.898059	4.332×10^{-4}
C_{2323}	433.433522	433.431387	4.926×10^{-4}
C_{3131}	433.433522	433.431387	4.926×10^{-4}
C_{1212}	433.433522	433.430994	5.834×10^{-4}

9.2 マクロスケールの設計感度

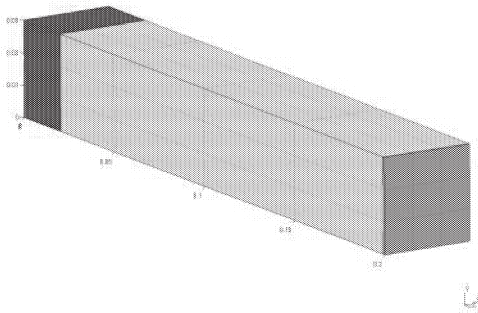


Fig.9 Macroscopic finite element model.

垂直入射吸音率をマクロスケールの評価指標とするため、マクロスケールモデルは 1 次元的な音響管モデルを用いる。材料は音響管モデルの一端に設置され、他端に音響加振するための十分剛なピストン板を設ける。材料とピストン板の間は、空気、音速は 345.53 m/s、質量密度は 1.193 kg/m^3 とする。ここでは、吸音率に等価な指標で、最適化計算において扱いやすい、材料内部での散逸エネルギー和の負値を目的関数とする。なお、材料の厚さは 20 mm とし、音響管の背面剛壁に接着されて

いないものとする。

前節と同様に、微視構造のユニットセルモデルの節点に定義された設計変数について、 $\mu = 0.50$ のとき理論的に求めた散逸エネルギーの負値の設計感度 $\frac{\partial g}{\partial \mu}$ と、 $\mu = 0.495$ から $\mu = 0.505$ に変化させたときに散逸エネルギーの差分より求めた設計感度 $\frac{\Delta g}{\Delta \mu}$ を比較し、散逸エネルギーの設計感度を検証する。

図 10 は、目的関数としている散逸エネルギーであり、図 11 は、随伴変数法により求めた散逸エネルギーの設計感度と、差分法により求めた設計感度の比較である。設計感度の誤差は 0.005 % 程度であり、十分な精度で求められていることが分かる。

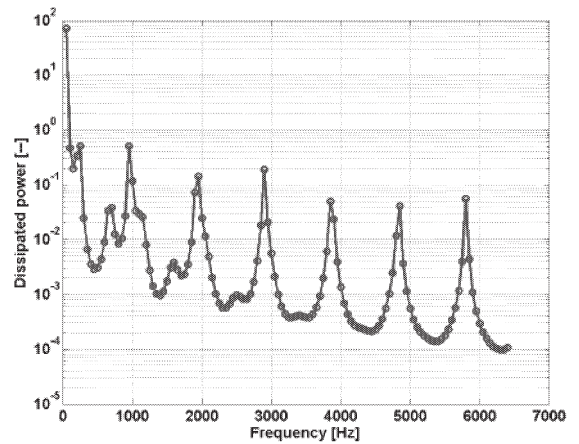


Fig.10 Dissipated power.

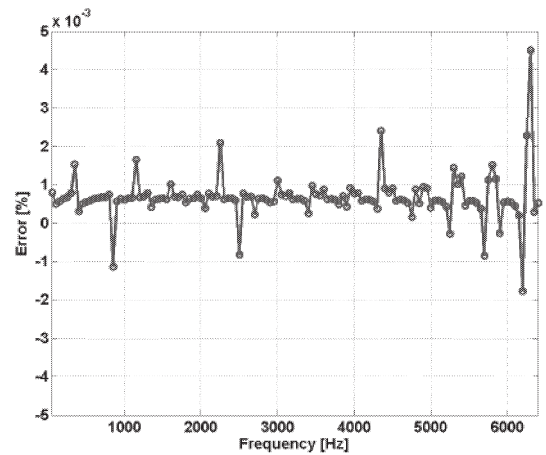


Fig.11 Error of design sensitivities for objective function.

図 12 は、3 kHz における最適化な固体相のトポロジーを示している。なお、体積制約として固定設計領域の体

を受けたものです。

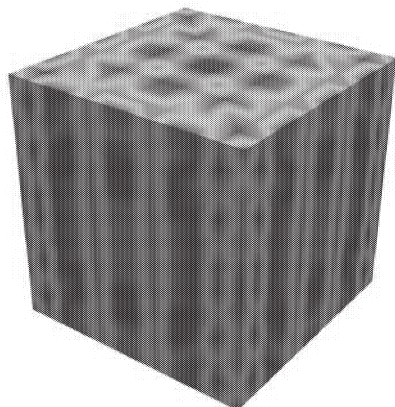


Fig.12 Optimal topology of solid phase.

積の 10% を上限に設定した。また、設計変数の初期値は全節点で μ は 0.1 とし、中央に対称な 8 点を連動させることで、構造の対称性を維持するようにしている。固体相の振動による散逸エネルギーのみを考慮しているため、入射方向と並行な方向に固体相が生成されていると考えられる。

10. まとめ

本研究では、多孔質吸音材の微視構造を直接扱うことのできる均質化法と吸音率を効率良く予測できる Biot のモデルを併用し、多孔質吸音材の微視構造の寸法を最適化する手法を構築した。発泡材料については、Kelvin セルモデルでモデル化し、ユニットセルサイズや空孔率の微視パラメータと Biot パラメータを関係付ける式を最小二乗法により同定した。また、その関係式に遺伝的アルゴリズムを用いて、指定周波数において垂直入射吸音率を最大にする最適な微視構造パラメータを得ることができた。さらに、既存の微視構造には依存しないトポロジー最適化手法について検討し、随伴変数を二段階で用いることで、マクロスケールにおいて定義される目的関数の、微視構造において定義された設計変数に対する設計感度を求める手法を提案した。

謝辞

本研究の一部は、工学院大学総合研究所プロジェクト研究費、JSPS 科研費 17K06238、内閣府「ひろしまのづくりデジタルイノベーション創出プログラム」の助成

学会発表

- 1) 山本 崇史, 山川 啓介, 桂 大詞, 遊川 秀幸, 大下 浄治, 散逸エネルギー最大化を目的とした均質化法に基づく多孔質材微視構造のトポロジー最適化, 日本音響学会 春季研究発表会 (2020).
- 2) 山本 崇史, 山川 啓介, 桂 大詞, 遊川 秀幸, 大下 浄治, 均質化法とトポロジー最適化を併用した多孔質材微視構造の設計法, 制振工学研究会 技術交流会, SDT19019 (2019).
- 3) 山川 啓介, 桂 大詞, 山本 崇史, 均質化法による発泡樹脂吸音材の材料内部構造モデル化技術の開発, 自動車技術会 秋季学術講演会 (2019).
- 4) 山本 崇史, 吸音材微視構造のマルチスケールトポロジー最適化, 日本機械学会 第 29 回設計工学・システム部門講演会 (2019).
- 5) 山本 崇史, 散逸エネルギー最大化を目的とした多孔質吸音材微視構造のトポロジー最適化, 日本機械学会 機械力学・計測制御部門 Dynamics and Design Conference 2019 (2019).
- 6) 山本 崇史, 均質化法による多孔質吸音材微視構造の寸法最適化, 日本機械学会 機械力学・計測制御部門 Dynamics and Design Conference (2018).
- 7) 山本 崇史, 均質化法による吸音材微視構造の最適設計法, 自動車技術会 春季学術講演会, No. 72-3 (2018).
- 8) T. Yamamoto, Y. Imae, Design of micro structure of poroelastic material to control sound absorption by homogenization method, *Proceedings of ICSV24*, (2017).
- 9) T. Yamamoto, Y. Imae, Prediction of sound absorption coefficients from microscopic structures of poroelastic material by homogenization method, *Proceedings of International Conference on Technology and Social Science*, (2017).
- 10) 川畑 翔, 山本 崇史, 吸音材微視構造の最適設計, 制振工学研究会 技術交流会, SDT17006 (2017).
- 11) 川畑 翔, 山本 崇史, 吸音率最大化を目的とした多孔質吸音材の空孔径最適化, 日本機械学会 機械力学・計測制御部門 Dynamics and Design Conference 2017, No. 415 (2017).

参考文献

- 1) M. E. Delany and E. N. Bazley. Acoustical properties of fibrous absorbent materials. *Applied Acoustics*, 3:105–116, 1970.
- 2) M. A. Biot. Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. I. Low-frequency range. *Journal of Acoustical Society of America*, 28:168–178, 1956.
- 3) M. A. Biot. Theory of propagation of elastic waves in a fluid-saturated porous solid. II. Higher frequency range. *Journal of Acoustical Society of America*, 28:179–191, 1956.
- 4) J. F. Allard and N. Atalla. *Propagation of Sound in Porous Media*. Wiley, 2009.
- 5) N. Atalla, R. Panneton, and P. Debergue. A mixed displacement-pressure formulation for poroelastic materials. *Journal of Acoustical Society of America*, 104:1444–1452, 1998.
- 6) J. L. Auriault, L. Borne, and R. Chambon. Dynamics of porous saturated media, checking of the generalized law of Darcy. *Journal of Acoustical Society of America*, 77:1641–1650, 1985.
- 7) T. Levy. Propagation of waves in a fluid-saturated porous elastic solid. *International Journal of Engineering Science*, 17:1005–1014, 1979.
- 8) R. Burridge and J. B. Keller. Poroelasticity equations derived from microstructure. *Journal of Acoustical Society of America*, 70:1140–1146, 1981.
- 9) C. Boutin, P. Royer, and J. L. Auriault. Acoustic absorption of porous surfacing with dual porosity. *International Journal of Solids and Structures*, 35:4709–4737, 1998.
- 10) T. Yamamoto, S. Maruyama, K. Terada, K. Izui, and S. Nishiwaki. A generalized macroscopic model for sound-absorbing poroelastic media using a homogenization method. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 200:251 – 264, 2011.
- 11) R. P. Gilbert and A. Mikelić. Homogenizing the acoustic properties of the seabed: Part I. *Nonlinear Analysis*, 40:185–212, 2000.
- 12) TH. Clopeau, J. L. Ferrín, R. P. Gilbert, and A. Mikelić. Homogenizing the acoustic properties of the seabed: Part II. *Mathematical and Computer Modelling*, 33:821–841, 2001.
- 13) E. Sanchez-Palencia. *Non-Homogeneous Media and Vibration Theory, Lecture Notes in Physics 127*. Springer-Verlag, 1980.
- 14) K. Terada, T. Ito, and N. Kikuchi. Characterization of the mechanical behaviours of solid-fluid mixture by the homogenization method. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 153:223–257, 1998.

体性感覚と視聴覚刺激を組み合わせた行動誘発メカニズムに関する基礎検討

工学院大学 情報学部 近藤 公久, 中島 弘史

(株)国際電気通信基礎技術研究所 内海 章, 須佐見 憲史

Study on Action Inducing Mechanisms with Somatosenses and Audio-Visual Stimuli

Tadahisa Kondo, Hirofumi Nakajima, Department of Informatics
Akira Utsumi, Kenji Susami, Advanced Telecommunications Research Institute International

ABSTRACT: This project aims to construct a model of action inducing mechanisms by somatosenses and audio-visual stimuli. This paper describes results of the project. First, virtual reality system was constructed for demonstrating the moving sound reproduction. Second, attention drawing effects using moving sound was investigated. Finally, effects of somatosenses on the position recognition by comparing between haptic information and visual information. The results showed that the 3D drawing sound was prior to 2D sound, and the different driving positions might affect the drivers' recognition. These results also suggested that further investigations could achieve the aims of the project.

1. はじめに

自動走行している車における運転者や同乗者の挙動については、様々な場面を想定した実験を通して知見の蓄積が進められている状況にある¹⁾²⁾。そのなかで、運転者の緊急時の反応がシステムに関する知識・経験、運転者の状態（覚醒度、運転以外の作業の種類）によって異なるなど、情報呈示の方法を含めた運転権限委譲の困難さ、危険性が指摘されている。しかし、適切な行動変容のためにどのような工夫や検討が必要かまでは示されていない。そこで本研究では、視聴覚と体性感覚を融合したVR技術を含む刺激呈示を用いた実験によるデータ収集と最先端解析手法を用いた行動誘発メカニズムの検討を開始した。著者らは、付加的な視聴覚情報を与えることでヒトの外界からの情報獲得に影響を与えることができることを確認した³⁾⁴⁾⁵⁾。また、自動車運転者の緊急時の反応を調べる実験では、視覚刺激の呈示が緊急時のヒトの行動に大きな影響を及ぼし得ることを明らかにした⁶⁾。一方でこの実験では、視覚刺激によってとるべき行動を認知させるだけではヒトが十分に状況に対応できず、過半数の被験者において、反応が遅れる、または極端な反応を起し車両制御に失敗する事例も併せて確認された。そのためヒトの適切な行動誘発のためには“乖離”の認知的側面だけでは不十分であり、身体的側面と組み合わ

せた方法論が必要であることを指摘した。

そこで本研究では、図1-1に示すように様々な場面における「漫然状態」によって引き起こされる危険状態を、「認知的乖離」および「身体的乖離」の観点に分けて検討、分析する。つまり、これまでの「認知的乖離」に対する検討に加えて、新たな視点として「身体的乖離」を加える。これによって、認知的乖離、身体的乖離両面を考慮した行動誘発手法の確立を目指す。

自動運転を例とした場合、運転者の“漫然状態”はこれまで運転者の認知が運転タスクから離れ必要な情報取得ができなくなる状態（「認知的乖離」）を指していたが、自動運転ではさらにハンドルやペダルから手足を離して通常の運転姿勢とは異なる体勢をとっているため、緊急

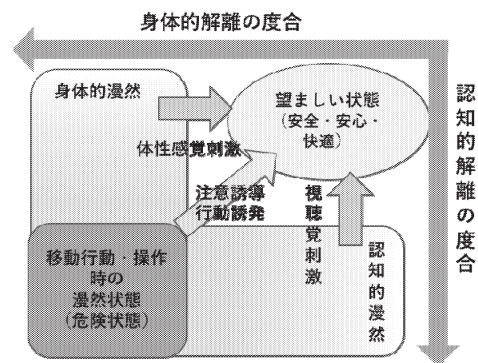


図1 認知的／身体的乖離と注意誘導および行動誘発

時に必要な操作が行えないという問題が生じる(「身体的乖離」)。さらに、このような不適切な姿勢状態は運転に必要な情報取得を妨げるため認知的乖離をさらに助長するなど両者には負の相互作用がある。

自動運転システムの制御からドライバーの制御下に安全に運転移譲を行うには「認知的乖離」,「身体的乖離」の両方を短時間で解消しなければならない。また、近未来に実現されるであろう完全自動運転の状態においても、「認知的乖離」,「身体的乖離」の状態で、安心かつ心地よい状態を維持するために必要な、システムとのインタラクションが不可欠である。さらに、人の状態を、安心で心地よい状態に導く、注意誘導や行動誘発のモデル化は重要な課題である。

具体的には、1. 視聴覚を中心としたVR環境を用いた注意誘導効果の検証を行い、2. 動作、姿勢が制約される条件下におけるヒトの行動誘発メカニズムを解明し、3. 視聴覚と体性感覚を組み合わせた注意誘導・行動誘発システムの提案を目指す。

本報告では、2018年度の工学院大学総合研究所プロジェクト報告⁷⁾に引き続き、上述の最終到達目標達成のために行った、VR環境の構築、立体音響を用いた注意誘導効果の確認、体性感覚を伴う場面での運動の違いの基礎的検討結果を示す。

2. 立体音響収録再生システムの構築と臨場感

音場の収録・再生を高精度に行うシステムの構築を進めるにあたり解決しなければならない課題は、室内・野外問わず、また音源の数や音源の指向性によらず、リアルタイムで音場の収録と再生を実現することである。

本章では、既報⁷⁾で示したVRシアター(八王子校舎2号館1階02-156室)の音響システムについて再度概説したのち、この環境における臨場感印象評価実験、移動音源の再現精度向上に向けて行った検討結果を示す。

2.1 立体音響収録再生システムの概要

VRシアターは、立体音響の収録・再生や音刺激を用いた心理実験などの研究を行うための機器が備わっている。天井に配置した16個のマイクロホン(マイクアレイ)と32個のスピーカ(Speaker Array)が、アンプやオーディオインタフェースを介して、音響信号処理PCに接続されている。また、多チャンネル信号をリアルタイムに処理するための音響信号処理用ハードウェアシステム(DSP System)が備わっている。

図2-1にDSP SystemとSpeaker Arrayの配置図を示す。32個のスピーカ配置は、NHK⁸⁾の22.2chサラウンドシステム(上段9ch,中段11ch,下段3chにスピーカを配置)に加え天井面に8個のスピーカを加えた形となっている。

DSPシステムは、MediaMatrix社のNION nEを導入している。音響用のDSPが3基搭載されているハードウェアで、安定性・保守性に定評があり、多くのスタジオやアミューズメント施設に導入されているものである。

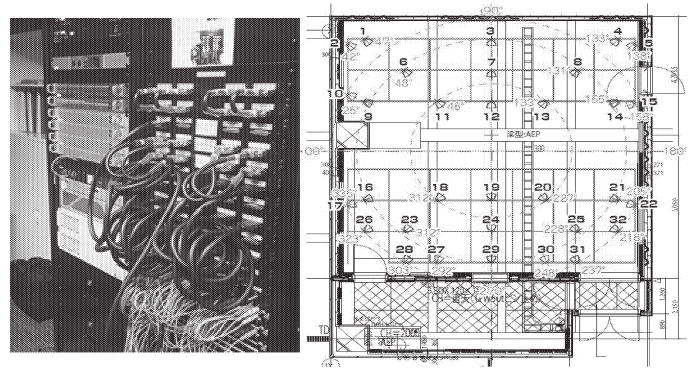


図 2-1 DSP system and Loudspeaker array.

2.2 環境音に対する臨場感印象評価実験⁹⁾

本実験は様々な音響方式によって表現された音環境に対する臨場感の違いを確認するために、印象評価実験を実施した。

2.2.1 実験方法

被験者: 被験者は工学院大学生15名(男性12名,女性3名)であった。

刺激: 実験には、ZOOMのHandy Recorder(H3-VR)を用いてAmbisonicsのA-format方式で環境音を録音した音源4種類と商用CD(5.1ch)音源2種類の計6種類(雨,雑踏,道路,バッティングセンター,鳥のさえずり,ヘリコプター)を、それぞれ4種類の音響方式(monaural, stereo, 5.0ch, 32ch)に変換し、合計24種類を刺激として用いた。変換はまず、AmbisonicsA方式で録音した音源4種をZOOM Ambisonics Playerを用いて5.1chの音源に変換した。次に、以上で得た6種の5.1ch音源からサウンドエディタを使用して、正面方向の音源のみを取り出したものをmonaural音としてスピーカ7番に設定、前方左右方向の音源を取り出したものをstereo音としてスピーカ6番,8番に設定、ウーハー音を除いた5.1chを5.0ch音として、前左,前中央,前右,後左,後右の順に、スピーカ6,7,8,23,25番に設定した(図2-1右)。また、32ch音は、5.1chの音源をNwareにより32chに拡張した(図2-1右)。音呈示には、Windows PCとMediaMatrix社のDSPマルチオーディオプロセッシングNion nEを用いて、1~32のスピーカ(図2-1右)から音源を呈示した。呈示音圧レベルは、被験者の位置で環境音毎にすべての音響方式で一定になるように設定した。

刺激: 被験者は呈示される音刺激に対し両極7段階尺度で印象評価を行った。評価項目(次節表1の因子負荷量の評価項目列を参照)には、寺本¹⁰⁾の評価項目の中から12種類(Img1-Img12)を用いた。音声刺激は順序効果をキャンセルするために、被験者ごとにランダム順とした。まず、monaural・stereo・5.0chの音源を対象に実験を行った。その後休憩をはさみ32chの音源を対象に実験を行った。

2.2.2 結果と考察

実験によって得られた各環境音に対する評価値を用いて、各環境音の共通因子を探るために因子分析(主因子法, Varimax回転)を行った。固有値1以上の因子を採用し、

3 因子で累積寄与率が約 60%であった。表 3 より、第 1 因子には、「すっきりーくすんだ」、「明るいー暗い」、「素早いーのろい」、「感じのいいー感じの悪い」といった評価尺度が小さい（評価形容詞対の左側が 1，右側が 7）評価項目の因子負荷量の絶対値が大きいことから、「評価性因子」と名付けた。これは寺本⁹⁾で示されている臨場感の構成要素のうちの 1 つ「好印象を与える」に対応した結果となった。第 2 因子には、「迫力があるー物足りない」、「力強いー弱々しい」、「重いー軽い」、「印象深いー印象が薄い」、「興奮したー落ち着いた」、「その場にいるようなー人工的な」といった評価尺度が小さいことから、「迫力性因子」と名付けた。これもまた寺本⁹⁾で示された「迫力がある」に関する評価項目に対応した結果となった。第 3 因子は、「広がりがあるー広がりがない」、「伸びやかー伸びやかでない」といった評価尺度が小さいことから、「空間性因子」と名付けた。この結果は寺本らの「動きが分かる」に関する評価項目より臨場感に直結するため、「活動性因子」ではなく「空間性因子」と名付けた。寺本らは「臨場感」という言葉のイメージに対して印象評価を行ったのに対して、本実験では実際に臨場感があるとされる多チャンネル音響の音を聞いて評価したため、より臨場感に直結するような因子構成となったことが考えられる。

表 3 環境音の因子負荷量

	1	7	Img	評価性因子	迫力性因子	空間性因子
すっきりーくすんだ			Img8	0.935	-0.051	-0.047
明るいー暗い			Img7	0.889	-0.056	0.001
素早いーのろい			Img9	0.67	0.184	-0.161
感じのいいー感じの悪い			Img6	0.637	-0.021	0.23
迫力があるーものたりない			Img10	0.107	0.843	0.052
力強いー弱々しい			Img11	0.021	0.806	0.074
重いー軽い			Img1	-0.206	0.673	0.03
印象深いー印象が薄い			Img12	0.303	0.511	0.136
興奮したー落ち着いた			Img2	-0.146	0.469	-0.251
その場にいるようなー人工的な			Img5	0.272	0.385	0.277
広がりがあるー広がりがない			Img3	-0.034	0.06	0.871
伸びやかー伸びやかでない			Img4	0.15	0.015	0.793

次に、それぞれの環境音に対する 12 項目別の印象評価値の被験者 15 名の平均値を図 2-2(上)に示す。図から大きく分けて 2 つのグループがあることがわかる。1 つ目のグループが[バッティングセンター、鳥のさえずり、ヘリコプター]で、2 つ目のグループが[雨、道路、雑踏]である。1 つ目のグループは動きが明確にわかる音のグループであるのに対して、2 つ目のグループは動きがわかりにくい音であるといえる。動きのわかる音のグループは、評価項目の値が変化しているのに対して、動きがわかりにくい音のグループは、評価項目の値があまり変化しない傾向が見られた。

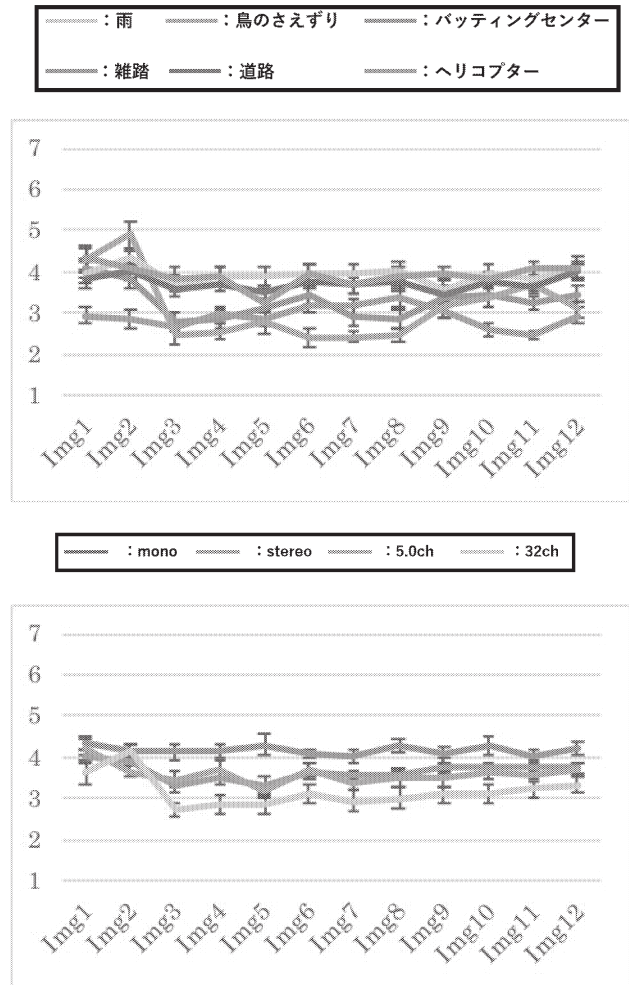


図 2-2 環境音(上)および音響方式(下)別の平均評価値

さらに音響方式間の比較を行った。被験者 15 名のそれぞれの音響方式に対する平均を図 2-2(下)に示す。各印象評価項目で stereo と 5.0ch の評価値が同じような値になっていることがわかる。今回の実験の刺激として用いた音が左右の移動の音が多く、前後の音の移動が少ない為、stereo と 5.0ch では印象が変わらないことが考えられる。monaural と 32ch では、大きく異なる結果になった。これは 32ch が空間全体を使って音を提示したためと考えられる。「重い - 軽い」、「興奮した - 落ち着いた」の評価項目は、すべての音響方式間で有意な差は見られなかった。つまり、迫力のような印象は今回の音響方式では影響を与えなかった。これは、音圧レベルを環境音毎に統一して刺激を提示したため、音響方式による迫力の印象を上手く表現できていないことが考えられる。本実験より、monaural を基準にしたとき、stereo・5.0ch は 7 段階評価で 1 段階ほど良い印象を与え、32ch は 2 段階程度良い印象を与えることが分かった。このことから、チャンネル数に応じて臨場感が増加し、32ch まで拡張すれば、臨場感をかなり表現できるといえる。また、チャンネル数に応じて全ての評価項目の印象が増すことが明らかになった。

以上の結果から、VR シアタにおける 32ch 音響システム

ムによる臨場感再生が有効であることが示された。ただし、元の環境音によってはチャンネル数による違いが少ないものもあり、対象となる音の性質によって、臨場感のとらえ方が異なることも示唆された。

また、これらの音の言語的臨場感表現に関する検討も行った¹¹⁾。

2. 3 移動音源の再現精度向上¹²⁾

仮想音源の位置再生システムについては、近接した2つのスピーカによる音量差と時間差の制御(ステレオ再生でのパン制御)で開発を行った¹³⁾。図2-3にその概要を示す。次に、仮想音源の再現システムをベースに、再生する音源を切り出し、フレーム毎に音源位置を移動させることにより移動音の再現を実現した⁷⁾。しかし、この手法では、直線的に移動しているにも関わらず歪んで移動しているように感じたり、急激に移動速度が変化する感覚が生じるという問題点があった。そこで本報告では、サンプル単位で処理を行うことで、これらの問題を改善した結果を示す。

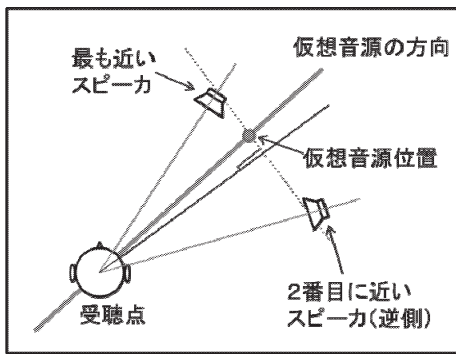


図 2-3 仮想音源の再現概念図。

2.3.1 移動音再現プログラム

構築したプログラムの構成を図2-4に示す。移動させたい音源の座標、スピーカの座標、座標2点間を移動するのにかかる時間[秒]、再生したい音源(以下、入力音源)を入力とし、移動音を出力する。移動させたい音源の座標は、カンマ区切りテキストのcsvファイルでx, y, z座標を指定したものを利用する。スピーカの座標も、csvファイルでx, y, z座標を指定したものを利用する。座標2点間を移動するのにかかる時間は、プログラム内に直接数値を記述する。

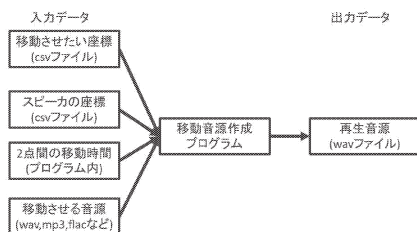


図 2-4 プログラムのデータの流れ。

本プログラムの基本となる全体の流れを図2.5に示す。図中の[コア処理]は、移動を再現するにあたって行った音の大きさと、聞こえるタイミングを調整する

処理である。図中の[処理単位]は、繰り返し行うコア処理と座標移動において、1回のコア処理で扱う音源データのサンプル数が異なる。

[コア処理]は音の大きさの処理で、「通常処理」と「角度減衰処理」の2種類ある。「通常処理」はスピーカと音源位置の距離から減衰量を決める。「角度減衰処理」は通常処理に加え、試聴位置と音源位置とスピーカのなす角度から減衰量を決める。

[処理単位]は音源データをまとめて処理するサンプル数の単位で、「フレーム処理」と「サンプル処理」の2種類ある。「フレーム処理」は音源を一定の長さに区切ってまとめて処理をする。「サンプル処理」はデータの1点ずつに対し処理をする。

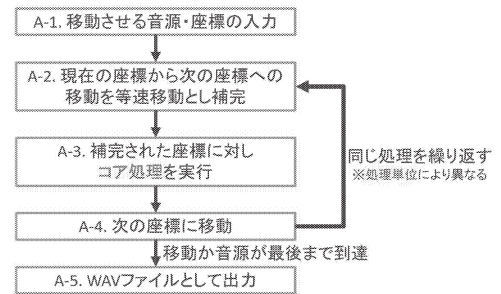


図 2-5 プログラムのブロック図

2.3.2 移動音評価

コア処理では音の出力を遅延させる処理と減衰させる処理を行う。処理単位にはフレーム処理とサンプル処理がある。ここでは、これらの組み合わせ4種類の比較を行う。

音源：入力音源は振幅0.95の440Hzの正弦波をサンプリング周波数48000Hzで作成した。再現する移動は、試聴位置に対し、右側50mから左側50mに1分間かけて一定速度で移動するx軸移動と、前方50mから後方50mに1分間かけて等速で移動するy軸移動の二種類であった。この二種類の動きを、処理方法4種類で作成し、音源は全部で8種類であった。図2-6にx軸方向に移動するフレーム単位で通常処理を施した波形を示す。このグラフは32チャンネルの音源を1チャンネルずつ重ねて表示したものである。

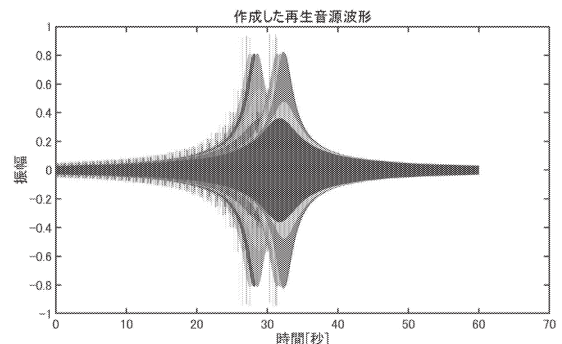


図 2-5 x軸方向に移動する音源の波形。

実験条件：工学院大学八王子キャンパス2号館02-156にあるVRシアターで再生音源の再生および評価のための録音を行った。計測には、リオン社製NA-20を用い、A特製フィルタを適用した。

実験結果と考察：フレーム通常処理とフレーム角度減衰処理において録音波形が小刻みに震え音量の増減が細かく繰り返された(図2-6)。一方サンプル通常処理とサ

ンプル角度減衰処理の録音波形の変化は滑らかであり、音量の変化は滑らかな曲線となった。

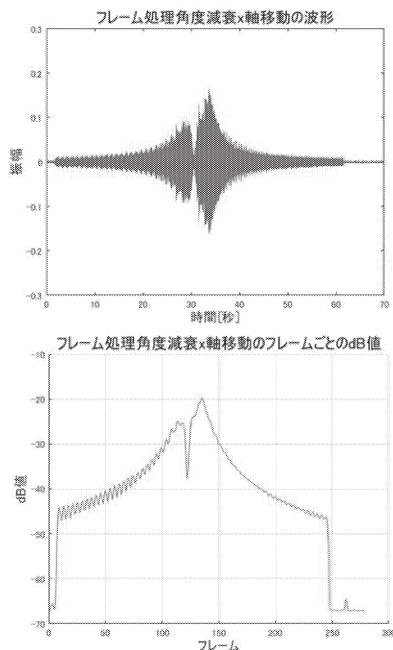


図 2-6 x 軸方向に移動する音の測定結果 (フレーム処理・角度減衰処理の場合)

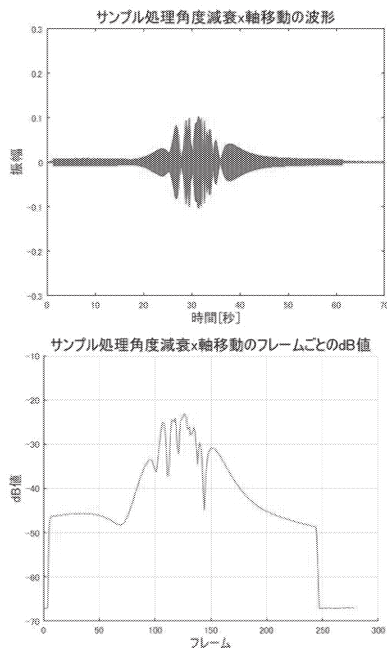


図 2-7 x 軸方向に移動する音の測定結果 (サンプル処理・角度減衰処理の場合)

しかし、すべての録音波形において 30 秒から 40 秒の周辺で波形が大きく乱れていた。これにより移動音源座標が最接近時に大きくなるべき音量が小さくなった。これは移動音源の座標が VR シアターの内部かその周辺の時に発生していることからスピーカ位置と移動音源の座標が近い時の処理に問題があると考えられる。フレーム通常処理とフレーム角度減衰処理の音量の推移では y 軸移動より x 軸移動のほうが dB 値が大きくなった。しかし、サンプル通常処理とサンプル角度減衰処理では x 軸移動と y 軸移動で大きな差は見られなかつ

た。音量の差が発生したのは VR シアターのスピーカ配置が前後左右で均一に配置されておらず前方と後方に多く配置されているためである。フレーム通常処理とフレーム角度減衰処理においてこの影響を大きく受けたと考えられる。

2.3.3 今後の課題

今後の課題として、移動音源の位置が近いときに音が安定しない問題の原因の分析や、使うスピーカ数を減らし配置を考慮したうえでの出力により移動方向によって生じた音量の差の低減が挙げられる。

3. 奥行き感のある移動音による注意誘導効果¹⁴⁾

本論においては注意誘導とは何かしらの対象に意識が向いている状態から他の対象へ意識を向けさせる、または注意の配分を変えさせることを指す。例えば自動車運転中は、前方車両をはじめ、信号、歩行者、曲がり角、各種メーターなど様々な対象を見る必要があり、通常はその時々で必要なことに集中している。その通常状態から危険を知らせることによって注意の配分を変えさせる様な場面を想定する。

聴覚的情報提示方法において、立体音響を用いることで、従来実現しえなかった臨場感やコミュニケーションサービスが可能になると期待されている。立体音響を用いた情報提示方法の一つとして、高尾¹⁵⁾は、聴覚、音声情報に空間的な意味づけを行い、これを車載情報機器から提示する手法を提案した。そして音源数が増えた場合に情報獲得の向上が見られるという報告を行った。これらのことから、立体的な音を用いれば臨場感や奥行き感と言ったりリアルさを運転手に感じさせ、従来の刺激より誘導効果を得られる可能性が期待される。

実際、前報¹³⁾において 4ch(図 3-1)の誘導音による情報提示を行い、注意誘導効果を検討した結果、移動すること、音が存在していること(持続)の効果が示された。しかし、奥行き感の効果については強い効果としては示されなかった。さらに、眼球運動測定を用いることにより、誘導による誘導時の注意を妨害しないことや、誘導効果が出るのは実施に目が移動してからの判断に大きく影響している可能性が示唆された。つまり、誘導によって尚早に注意を変化させるのではなく、事前準備として待ちの状態を確保し、事が生じてからの判断や動作開始までの時間を速くしている可能性が示された。しかし、移動音、特に奥行き方向の動きや奥行き感、引き込まれ感の有用性は示唆されるもの、明確には示されていない。

そこで昨年度⁷⁾は、仮想的な移動音の聞こえを実験により検討し、奥行き間のある移動音の注意誘導効果を検証した。しかし、狭いスペースで反響のある状況では、そもそもの音源の定位は困難であり、奥行き移動の方向の特定も困難であった。また、ダミーヘッドを用いた検証実験でも、ダミーヘッドの向きが少しずれただけでも影響が大きいことも示された。これらの影響により、奥行き方向に移動する音による注意誘導効果は、実験の設

備要件に依存し、かつ、被験者の頭の動きなどで大きく異なることが示された。さらに、実験で用いたディスプレイの影響は無視できず、音響透過スクリーンの使用が有効であることが確認された。

そこで本年度は、VR シアタの広い空間に音響透過スクリーンを用いた環境で、奥行き方向に移動することを確実に認識できる仮想的移動音を用いた注意誘導効果を検討した。

3. 1 実験1(奥行き移動知覚実験)

本実験では奥行き方向への移動を正確に知覚できる移動音を作成し、その効果を検証するために音源定位実験を行った。移動音との比較対象として静止音を用いた。

3.1.1. 方法

被験者: 被験者は正常な聴力を持つと認められた工学院大学の学生9名(男性8名,女性1名)であった。

実験環境と装置: 実験は工学院大学八王子キャンパス2号館1階にあるVRシアター(02-156)で行った。使用したスピーカはFOSTEX, FS-4AS 7台でD/A変換機はTASCAM US-20x20を用いた。スピーカの配置を図3-1に示す。

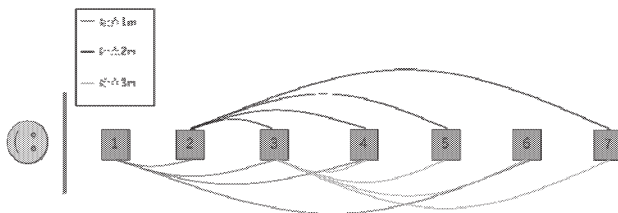


図3-1 スピーカの配置図

図3-1に示すように、被験者の位置から1メートル地点に最初のスピーカを設置し、そこから1m間隔で7台のスピーカを被験者の正面方向に設置した。なお、被験者とスピーカの間には音響透過スクリーンを下ろし、実験中は被験者の位置からスピーカが見えない状況で実験を行った。

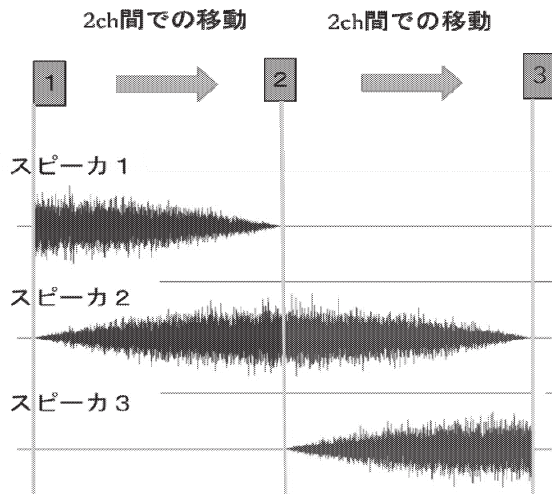


図3-2 移動する音刺激例

刺激: 刺激はwhitenoiseを加工して作成した。実際に実験で使用した移動音の波形を図3-2に示す。音の移動は

二つのスピーカ間の音圧レベルの二乗和が常に1になるように調整することで仮想的に再現している。これを複数回組み合わせることで7台のスピーカの任意の地点から任意の地点まで音を移動させた。

移動音の種類は移動の始点3種類(1m, 2m, 3m) × 移動速度3種類(1mあたり100ms, 200ms, 300ms: 10m/s, 5m/s, 3.33m/sに相当) × 終点4種類の計36種類用意した。終点は移動の始点によって異なり、始点が1mの時は2m, 3m, 4m, 6m, 2mの時は3m, 4m, 5m, 7m, 3mの時は4m, 5m, 6m, 7mが終点となる。図3-1に実験に用いた移動音の始点と終点を矢印で示している。さらに比較のために12種類(鳴動時間3種[200ms, 400ms, 600ms] × 鳴動地点4種[2m, 3m, 4m, 6m])の計48種類の静止音を用いた。

手続き: 被験者には、頭部をなるべく動かさないようにするため、極力テンキーを見たまま実験を実施するように教示した。テンキーは被験者の正面の台に固定した。刺激音の種類はランダム順で呈示され、移動音の場合は音がどこに移動したように感じたか(終点)を、静止音の場合はどこで鳴っているように感じたか(鳴動位置)をテンキー入力によって1~7のスピーカ番号で答えてもらった(以後ターゲット位置と呼ぶ)。以上、48試行(移動音36種+静止音12種)を1セットとし、これを5セット、計240試行実施した。また、前報⁷⁾で指摘した頭部の傾きの影響を検討するため、5セット終了後に被験者を左に30°回転させた状態で同じ実験を行い、合計で480試行となった。

3.1.2. 結果

図3-3(1-3)に移動音の始点が1mのとき、2mのとき、3mのときの平均定位位置を示す。各図ではa(左)が正面時、b(右)が被験者を30°傾けた時の結果となっている。図3-3(1)では呈示位置から一番近いターゲット位置が2mの場合でも全ての条件において前より(約1m)に定位した。静止音に着目するとターゲット位置が3m以上で定位位置がすべて4m付近となり、鳴動位置による変化がほとんどない。移動音では全体的に前寄りに定位する傾向があるものの、終点位置が奥になるにつれて定位位置も奥にシフトしていることから奥行き方向への移動を知覚出来ていると考えられる。ただし、移動速度が1mあたり0.1sで移動する音に関しては、ターゲット位置(終点位置)が奥になっても定位位置が奥に遷移していない。また被験者を30°傾けた場合の結果(図3-3(1)b)は、正面方向の時とほとんど同じ傾向を示している。このことから、今回実験に使用した移動音は頭部のずれによる影響を受けにくく自動車運転時の注意誘導に適していると言える。さらに、始点が異なる場合の結果(図3-3(2-3))も始点1mの場合とほとんど同じ傾向を示しており、始点の違いによる影響はみられない。

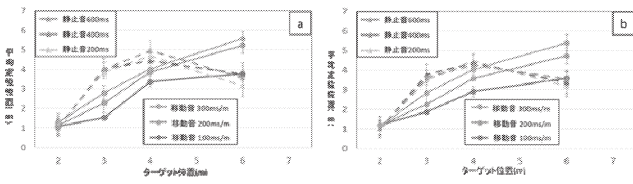


図 3-3(1) 静止音と移動音始点 1m 時の平均定位位置

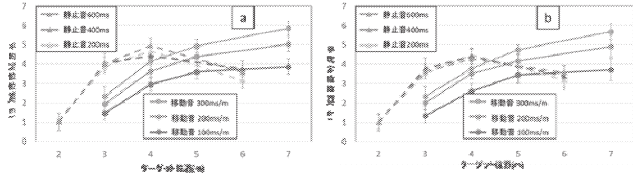


図 3-3(2) 静止音と移動音始点 2m 時の平均定位位置

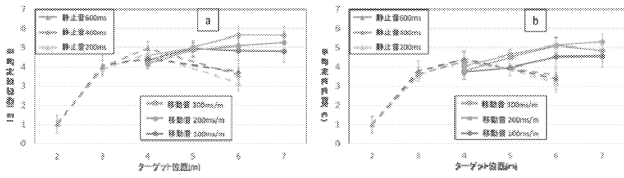


図 3-3(3) 静止音と移動音始点 3m 時の平均定位位置

3.1.3. 考察

実験 1 で静止音の鳴動位置が 3m 以上で奥行きを知覚が困難になるが、移動音では奥行方向への移動（終点）を知覚出来ていた。このことから、移動音は音の定位が連続で変化することで、距離を押し量ることが容易になるといえる。ただし、1m あたり 300ms で移動する場合に比較すると、1m あたり 100ms で移動する音では距離が遠い奥行方向への移動を知覚できていなかった。このことから移動を知覚させるにはある程度時間をかけて移動させる必要があると言える。

移動速度が速いと奥行方向への移動の知覚が困難になる理由として、移動の速度が速いと音の連続変化を知覚しにくくなってしまふことが挙げられる。また、移動音であっても終点が 6m, 7m の時には定位が思うように奥まで遷移しなかった。これは呈示位置が奥になるにつれて、呈示位置が 1m 奥にずれた時の受聴音圧レベルの変化が小さくなるのが原因だと考えられる。実験 1 で使用した静止音の呈示位置毎の音圧レベルの実測値でも明らかであった。

飯田ら¹⁶⁾が述べているとおり、受聴音圧レベルが距離感に影響を与えていることは間違いないなく、距離知覚におけるもっとも大きな要素であることから、移動音の場合でも終点位置が奥になるにつれて定位が難しくなっていると考えられる。また、飯田らは、Bekesy の実験で示された音源距離と音像距離の関係から、音像は任意の広範囲の距離には生じず、音像距離を感じる聴空間には限界があるとしている。今回移動音を用いる事で、ある程度奥まで定位位置を伸ばすことが出来たが、移動音であっても距離を知覚するには限界があるといえる。

また、被験者の正面方向にスピーカがある時と、被験者を 30° 傾けた時で同様の傾向を示すことから、実験 1

で用いた刺激は頭部の傾きによる影響を受けにくく、自動車運転時の注意誘導に向いている刺激であることが示された。

3. 2 実験 2（移動音による注意誘導効果）

実験 1 から、奥行方向への移動の知覚には移動スピードが重要であることが示された。そこで本実験では、最も奥行方向への移動を知覚出来ていた、1m あたり 300ms で移動する刺激と、さらに遅い 1m あたり 600ms で移動する音を誘導刺激として加えた 2 種類の速さで移動する注意誘導刺激を用いることで、スピード、タイミング、移動距離の 3 要素に着目して移動音の注意誘導効果を検討した。

3.2.1. 方法

被験者：被験者は正常な聴力を有すると認められた工学院大学生 15 名（男性 12 名、女性 3 名）であった。

実験環境と装置：実験は工学院大学八王子キャンパス 2 号館 1 階にある VR シアター (02-156) で行った。使用したスピーカは YAMAHA/MSP3 を 5 台用いた。D/A 変換機は (Scarlett 18i20 2nd generation 18-in/20-out USB audio interface) を用いて実験を行った。スピーカの配置と実験風景を図 3-4 に示す。

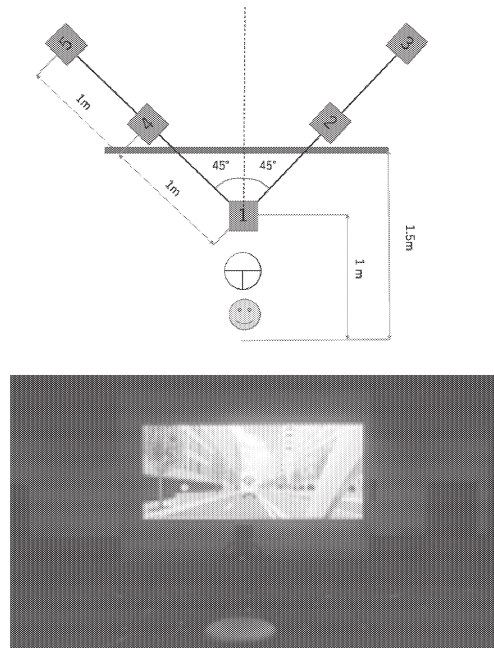


図 3-4 実験 2 スピーカ配置図と実験風景

スピーカの配置は、被験者から 1 m の位置に一台配置し、その中心から左右に 45 度斜め方向に 1m 間隔でスピーカを 2 台ずつ配置した。視覚刺激を提示するスクリーンは被験者から 150cm の位置に設置した。刺激に対する反応時間を取るためドライブシミュレータのフットペダル(logicool 社製)を使用した。

移動音には実験 1 で使用した 1m あたり 300ms で移動する音(A3)に加えて、1m あたり 600ms で移動する音(A6)

の2種類のwhitenoiseを用いた。移動音は図3-4のスピーカ1からスピーカ3と5へ移動する2種類であった。静止音(A0)は図3-4のスピーカ1で2000ms間呈示した。なお移動音は移動開始前に500msの静止部分を付け、刺激呈示開始500ms後に移動を開始するように統一した。したがって、静止音、移動音ともに、刺激呈示開始500msまでは違いがない。

背景画像としてドライビングシミュレータの走行中の画面をキャプチャしたものを1種類用いた(図3-4中を参照)。ターゲット刺激として図3-5に示す五角形を用いた。実験では背景画像上に中央から約20°離れた位置で、五角形の大きさはスクリーン上で60mm、視野角にして2度の幅であった。これは周辺視野では五角形の上下方向を判断する事が出来ない形状となっており、この五角形が上向きか下向きかを判断するには呈示後に視線を移動させ、上下方向の判断を行う必要がある。このタスクは、自動車運転時の危険を察知し対処すべきか判断し、回避行動をとるというタスクを模擬している。

ターゲットの呈示タイミングは、音刺激の開始から650ms, 800ms, 1100ms, 1700msであった。これらの呈示タイミングと誘導条件の関係を図3-6に示す。A3刺激(図3-6上)の時は呈示タイミング650ms, 800ms, 1100msでそれぞれ0.5m, 1m, 2mの地点まで移動している。A6刺激(図3-6下)のときは呈示タイミング800ms, 1100ms, 1700msでそれぞれ0.5m, 1m, 2mの地点まで移動しており誘導条件ごとに移動距離による比較ができるようになっている。

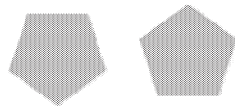


図3-5 ターゲット刺激

手続き: 実験手続きを図3-7に示す。最初に背景画像を表示し、被験者には画面中央の先行車を見てもらい、右足をドライブシミュレータのアクセルペダルに置いてもらった。音刺激が呈示された後、ターゲット刺激が左右どちらかに呈示された。被験者は、ターゲット刺激が上向きだった場合のみ素早くブレーキペダルを踏みこむように教示し、ターゲット刺激呈示からブレーキペダルが踏み込まれるまでを反応時間として計測した。ターゲット刺激が下向きの場合はそのままアクセルペダルに右足を置いて次の試行に備えてもらった。音刺激5種(誘導刺激4+静止音1)、ターゲット刺激の呈示位置2種、ターゲット刺激の向き2種、ターゲット刺激の呈示タイミング3種を組み合わせた48試行をランダムに実施するものを1セットとし、実験全体では、このセットを5回繰り返し、計240試行を実施した。実験は全体で、約35分を要した。

3.2.2. 結果

解析においては、左右は対称とみなして同一に扱った。また欠損値の多かった被験者1名のデータを除いた14

名のデータを解析に用いた。誘導なし(A0)、誘導あり0.3s(A3)と0.6s(A6)の3条件で反応時間の平均値を算出した。但し、反応時間が500ms以下と1200ms以上のデータは除外した。図3-8に音刺激と、ターゲット刺激の呈示タイミング毎の平均反応時間を示す。

図3-8から、移動速度に関わらず、誘導ありの場合は誘導なし条件よりも反応時間が速くなっている。タイミング毎にボンフェローニ補正の多重比較を行ったところ、誘導なしのA0と比べて、誘導ありのA3, A6は全てのタイミングで有意差が認められた。また、誘導刺激毎に多重比較を行ったところ、A3刺激では呈示タイミング650msと800ms, 800msと1100ms間に有意な差がみられ(p<.05)、誘導ありのA6刺激では呈示タイミング800msと1100ms, 800msと1700ms間で有意差が認められた(p<.05)。またA3刺激(呈示タイミング800ms)と比べてA6刺激(呈示タイミング1100ms)の方が平均反応時間が速くなる傾向がある。

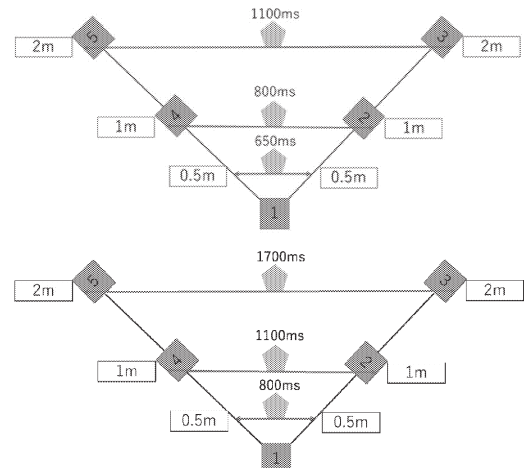


図3-6 ターゲットの呈示タイミング
300ms/m(A3)の時(上) 600ms/m(A6)の時(下)

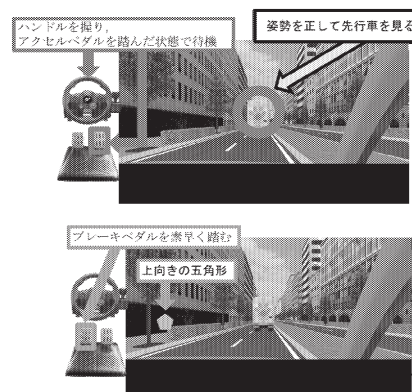


図3-7 実験手続き(a 待機画面, b ターゲット呈示画面)

3.2.3. 考察

全ての呈示タイミングにおいて誘導なしA0と誘導ありA3, A6の間に有意差がみられたことから、奥行方向への移動音による注意誘導効果が示された。また誘導ありのA3刺激では呈示タイミング650msの時には移動開始後150msしか経過しておらず、僅かな時間経過であ

っても奥行方向の移動を知覚した段階で誘導効果が得られていると言える。これは限られた時間の中で注意を誘導しなければならない自動車運転時の危険回避において非常に重要な結果である。また移動距離 1m の段階では、A3 刺激(呈示タイミング 800ms)と比べて A6 刺激(呈示タイミング 1100ms)の方が平均反応時間が速くなる傾向が見られたことから、同じ移動距離であれば A6 刺激のように時間をかけて動かす方が高い誘導効果が得られる可能性がある。このことから時間的な余裕がある時には A6 刺激のように時間をかけて注意誘導を行い、時間的な余裕がない場合には A3 刺激のように素早く注意を誘導するなど、状況に応じた誘導刺激の使い分けが可能であるといえる。また今回の実験で最も反応時間が短くなったのは A3 刺激の呈示タイミング 1100ms であった。これは移動距離に直すと 2m 移動したタイミングである。このことから、より奥に音が移動したとき高い誘導効果が得られる可能性が指摘できる。

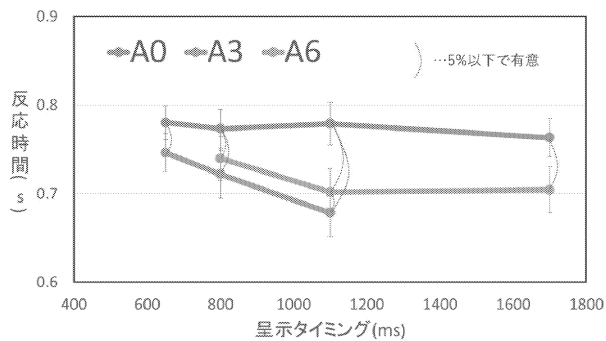


図 3-8 音刺激と呈示タイミング別の反応時間

3. 3 全体的考察

今回の実験では移動を知覚させるにはある程度の時間をかける必要があることが分かった。その上で実験 2 では A6 刺激の呈示タイミング 1100ms と 1700ms の間で差が見られなかったことから、移動を知覚できる中でなるべく素早く移動をさせることが重要である可能性がある。今回の実験では 2 種類の移動速度で注意誘導を行ったが、今回用いた A3 刺激と A6 刺激の間の速度に注意誘導に最適な速度が含まれている可能性がある。また、移動速度によって危険対象までの距離や、いつ危険が起こるのかなど、時間的な情報が与えられないか探っていくことでさらに大きな効果が得られると期待できる。

4. 体性感覚フィードバックに関する基礎検討

本プロジェクトでは自動運転時に生じる“望ましい運転状態からの身体的乖離”を迅速に解消するための要素技術として体性感覚フィードバックについて引き続き検討を進めている¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾。

人間が空間を知覚する際、物理量と心理物理的な感覚量との間にズレがあることが知られている。例えば、視覚においては Helmholtz のホロプターとよばれる現象

がよく知られている²⁰⁾。これは目の高さと同じ平面上において、心理物理的に等距離となる点の分布が物理的なものとは必ずしも一致しない現象である²¹⁾。他方で人間の空間知覚は視覚によるもののほかに、体性感覚を通しても行われている。永井らが行った研究¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾より、体性感覚を用いた空間知覚においても肩峰点を中心として物理的に等距離となる点の分布と心理物理的に等距離となる点の分布の間にズレが生じていることがわかり、さらにこの分布は重力加速度といった外的要因の影響を受けることも示唆された。

岡田ら²²⁾²³⁾は、一連の研究課題において、体性感覚フィードバックによる利き手の違いの検討、触力覚呈示による手応えが認知および操作パフォーマンスに与える影響について明らかにしてきた。

本章では、体性感覚による操作ターゲット位置の把握が重力加速度方向の変化によってどのような影響を受けるかについてこれまでの結果をまとめ、今後の課題について述べる。

4. 1 二姿勢の違いによる実験

被験者の姿勢を立位と仰臥位の 2 通りとすることで身体に対する重力加速度の方向を変化させ、体性感覚による位置知覚の変化を調べた。その結果、立位に比べて仰臥位ではマーク位置がより身体から離れる方向(仰臥位における鉛直上方)になる傾向がみられたものの、その変化は大きくなかった。実験結果から身体に対する重力方向の違いによって体性感覚による位置知覚に変化が生じる可能性が示された一方で、この実験では北川ら²⁴⁾²⁵⁾が行った視覚遮断のない条件との比較ではなく、視覚は常に遮断し隣接する 2 か所の突起の中央位置を回答させたため参照する突起との距離は小さく身体からの距離の違いによる変化が生じにくかったと考えられる。

4. 2 重力加速度・姿勢変化の影響

重力加速度および姿勢変化による影響を検討するため、立位状態で水平面へのポインティングを行う「立位条件」、立位条件と同様の位置関係を異なる角度で行う「伏臥位条件」、「仰臥位条件」「右横臥位」「左横臥位」の合計 5 姿勢で、被験者がタッチした場所と原点との直線距離を基に知覚距離の分析を行った。その結果、重量物を取り付けた状態でポインティング課題を行うことで、回答距離が長くなっており、距離知覚への影響が示唆された。

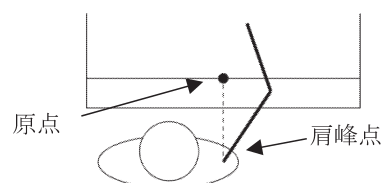


図 4-1 ポインティング課題の模式図

4. 3 今後の課題

二つの実験結果より、負荷が距離知覚に影響を与えていることが示唆された。触覚的な手掛かりにより回答距離を提示した立位と仰臥位の比較では、回答距離が短くなった。それに対して、5姿勢の実験では仰臥位において回答距離が長くなっている。今後は負荷の種類を増やすことで負荷と距離知覚の関係性について検討を行う予定である。なお、条件の提示方法によって、回答距離が異なっていることは既往研究²⁶⁾でも報告されている。今後は提示方法が回答距離に与える影響も考慮する必要があると考えられる。

5. まとめ

本プロジェクトでは、自動運転下でスマホの操作やビデオ視聴を行う運転者のように、本来タスクから認知的にも身体的にも乖離した状態にある人間に対して、視聴覚刺激によって認知的な乖離を解消するとともに、身体的乖離によって生じる体性感覚の差異を考慮した身体挙動の補正により、適切な行動を引き出す行動誘発メカニズムの実現を目指して幅広い検討を行ってきた。

視聴覚刺激による注意喚起・注意誘導については、これまでの検討によって、周辺視野に対するフロー刺激の提示によって中心視野の妨害を避けながら注意誘導を行う手法や、聴覚刺激の立体提示によって奥行き方向を含む注意誘導を行なう手法、さらに注意誘導刺激の効率的な時間制御のために視線挙動の計測によって対象物の視認完了を推定する視認推定アルゴリズムなどを開発した。これらの成果は、認知的乖離状態にある人の注意を危険物等の注意対象に向けさせ、必要な行動の生起に導くことにつながる。

体性感覚を考慮した身体挙動の補正については、本来タスクからの身体的な乖離によって生じる姿勢変化等が人の挙動にどのような影響を与えるのかについてポインティングタスクを中心とした詳細な検討を実施した。その結果、姿勢の違いによって体性感覚によって知覚される距離空間が変化し身体動作がその影響を受けて変化することが確認された。本成果を活用することで、距離空間の歪みの影響を受けにくいボタン・タッチパネル等のインタフェースの開発や、身体動作への影響の大きい姿勢変化の発生を抑制するシートデザインなど、体性感覚を考慮した車両設計が可能になる。

今後の課題としては、本プロジェクトで得られた成果を統合したシステムを構築し、緊急時の行動誘発における提案手法の有効性の確認を進めることが考えられる。我々のグループでは体性感覚フィードバックにより人の操舵挙動を安定化させる検討も別途行っており、これらを組み合わせることで、手動運転、自動運転および両者間の遷移状態を含む総合的な運転支援の枠組みが実現することが期待される。

参考文献

- (1) Bianchi Piccinini, et al., Reaction to a critical situation during driving with Adaptive Cruise Control for users and nonusers of the system, *Safety Science*, 72, 116-126, 2015.
- (2) 本間亮平ほか, “高度自動運転における権限移譲方法の基礎的検討-運転以外の作業種類による比較,” *JARI Research Journal*, Vol. 47, No. 2, pp. 537-542, 2017.
- (3) 鈴木, 近藤, 内海, 須佐見 (2017). “移動する視聴覚刺激による注意誘導効果,” 電子情報通信学会総合大会.
- (4) Y. Inoue, T. Tanizawa, A. Utsumi, K. Susami, T. Kondo, et al., “Visual attention control using peripheral vision stimulation”, *Proc. SMC2017*, pp. 1363-1368, 2017.
- (5) 谷澤, 井上, 内海, 須佐見, 近藤, 和田 (2016). “運転時における周辺視野への視覚刺激による注意誘導に関する検討,” 映像情報メディア学会技術報告, 40(9), 25-28.
- (6) Ikeda, T., Utsumi, A., Kawanishi, N., Nagasawa, I., Shiokawa, T., Uchikata, K., & Hagita, N. (2016). “Reaction to Critical Situations during Automated Driving in Different Driving Positions,” *JSAE Congress Proceedings (Autumn)*, 478-482.
- (7) 近藤公久, 中島弘史, チャンドラシリ, 内海章, 須佐見憲史, “体性感覚と視聴覚刺激を組み合わせた行動誘発メカニズムに関する基礎検討,” 総合研究所プロジェクト研究報告書, 26, 工学院大学総合研究所, (2019).
- (8) 松井 健太郎: 家庭用22.2マルチチャンネル音響再生システム, *NHK 技研 R&D*, No.148 (2014-11) pp. 45-54.
- (9) 諏訪隆司 “臨場感強調されたオノマトペ表現 ～多チャンネル音響方式との印象比較～,” 2019年度工学院大学情報学部卒業論文, (2020).
- (10) 寺本 渉, 吉田 和博, 浅井 暢子, 日高 聡太, 行場 次朗, 鈴木 陽一, “臨場感の素朴な理解”, *日本バーチャルリティ学会*, Vol.15, No.1, pp. 7-16 (2010).
- (11) 諏訪 隆司, 近藤 公久, “オノマトペの臨場感表現力,” 電子情報通信学会総合大会, 2020年3月.
- (12) 茂木 裕紀, “VR シアターでの複数スピーカによる移動音再現ソフトウェアの開発,” 2019年度工学院大学情報学部卒業論文, (2020).
- (13) 近藤公久, 中島弘史, チャンドラシリ, 内海章, 須佐見憲史, “体性感覚と視聴覚刺激を組み合わせた行動誘発メカニズムに関する基礎検討,” 総合研究所プロジェクト研究報告書, 25, 工学院大学総合研究所, (2018).
- (14) 清水 基, “奥行き方向への移動音を用いた注意誘導の効果,” 2019年度工学院大学情報学部卒業論文, (2020).
- (15) 高尾秀伸: 立体音響を用いた車載情報機器の音声ユーザーインターフェースの研究, 早稲田大学大学院, 人間科学研究科, 博士学位論文 (2003).
- (16) 飯田一博, 森本政之, 福留公利, 三好正人, 宇佐川毅 (2010年4月) 空間音響学, 日本音響学会編 音響サイエンスシリーズ 2, コロナ社.

- (17)永井正太郎, 須佐見憲史, 内海章, 山下久仁子, 岡田明, “体性感覚版ホロプターに関する予備的検討,” 電子情報通信学会技術研究報告. MVE, vol. 118, no. 211, pp.49-52, Sep. 2018.
- (18)永井正太郎, 内海章, 山下久仁子, 岡田明:体性感覚版ホロプターに重力加速度が及ぼす影響, 人類動態学会第43回西日本地方会, 2018年12月.
- (19)永井正太郎, 内海章, 須佐見憲史, 山下久仁子, 岡田明:姿勢変化が体性感覚版ホロプターに与える影響の分析, 信学技報, vol. 118, no. 502, MVE2018-84, pp. 179-182, 2019年3月.
- (20)H. V. Helmholtz, “Treatise on physiological optics, ed. J. P. C. Southall, Section 31, Dover Publications, Inc. , New York, 1925.
- (21)大倉典子, 前田太郎, 館暲, “人間の空間知覚特性 - ホロプタとアレイの知覚-,” 日本バーチャルリアリティ学会論文誌, vol.9, no.1, pp.41-49, 2004.
- (22)岡田, 陣内, 中島 (2011). “モバイル機器における体性感覚フィードバックの有効性について”, モバイル学会研究報告集, Vol.7.
- (23)森, 岡田, 大野 (2015). 体性感覚フィードバックが操作方向の認知に及ぼす影響, シンポジウム「モバイル'15」, pp.37-38.
- (24)北川 哲生, 香川 高弘, 福田 浩士, 宇野 洋二: ヒトの手先位置に関する知覚誤差の解析, 第18回生体・生理光学シンポジウム論文集 (2003) pp.101-102.
- (25)北川 哲生, 福田 浩士, 福村 直博, 宇野 洋二: ヒトの運動における手先の位置知覚の誤差, 電子情報通信学会論文誌 D, Vol. J89-D, No.6 (2006) pp.1429-1439.
- (26)呉景龍, 三宅俊生, 西川禎一, “人間視触覚の空間距離知覚特性について,” システム制御情報学会, vol.13, no.8, pp.360-368, 2000

【研究成果 (2017~2019 年度)】

論文: 投稿準備中 2 件

学会発表:

- [1] Y. Inoue, T. Tanizawa, A. Utsumi, K. Susami, T. Kondo, et al., "Visual attention control using peripheral vision stimulation1," Proc. SMC2017, pp. 1363-1368, Oct., 2017.
- [2] Hideho Sakaguchi, Akira Utsumi, Kenji Susami, Tadahisa Kondo, Masayuki Kanbara, and Norihiro Hagita, "Analysis of Relationship between Target Visual Cognition Difficulties and Gaze Movements in Visual Search Task," Proc. SMC2017, pp. 1423-1428, Oct., 2017.
- [3] 阪口栄穂, 内海章, 須佐見憲史, 近藤公久, 神原誠之, 萩田紀博, "視認推定モデル構築のための視認難易度と視線挙動の関係性分析" ヒューマン情報処理研究会, 2017年10月.
- [4] 阪口 栄穂, 内海 章, 須佐見 憲史, 近藤 公久, 神原 誠之, 萩田 紀博 "視線挙動と対象の視認難易度に基づく視認推定手法の検討" 2018年3月.
- [5] 諏訪 隆司, 近藤 公久, "オノマトペの臨場感表現力" 信学会大会, 2020年3月.

特許: なし

Ⅲ 族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの開発

工学院大学 先進工学部 応用物理学科 尾沼猛儀

工学院大学 先進工学部 応用物理学科 山口智広

工学院大学 先進工学部 応用物理学科 本田徹

Institut Jaume Almera, Spanish National Research Council (CSIC), Spain, Luis Artús
School of Semiconductor and Chemical Engineering, Semiconductor Physics Research Center,
Chonbuk National University, Korea, Jaehee Cho

Development of Deep UV Photosensor using III-VI Oxide Semiconductor

Takeyoshi Onuma, Department of Applied Physics, Kogakuin University

Tomohiro Yamaguchi, Department of Applied Physics, Kogakuin University

Tohru Honda, Department of Applied Physics, Kogakuin University

Luis Artús, Institut Jaume Almera, Spanish National Research Council (CSIC), Spain

Jaehee Cho, School of Semiconductor and Chemical Engineering, Semiconductor Physics Research
Center, Chonbuk National University, Korea

ABSTRACT : Epitaxial growth, fundamental material property, and their correlation with the device performance were consistently studied to realize functional deep UV photosensor using III-VI oxide semiconductor. By stacking thin α -(Al_{0.04}Ga_{0.96})₂O₃ film on the α -Ga₂O₃-based metal-semiconductor-metal type solar-blind deep UV photosensor, maximum responsivity of 0.2 A/W was achieved at around 230 nm by eliminating responsivity drop in the short wavelength region. The value corresponds to the theoretical responsivity, and was well beyond the reported values for the AlGaN-based deep UV photosensors.

1. 背景と目的

波長 280 nm 以下の深紫外線光源は、オゾン層で吸収されるため地表に降り注ぐ太陽光には存在しないが、産業的には、殺菌・医療、公害物質の高速分解処理などへ応用されている（図 1 参照）。255～350 nm の紫外線 LED が市販されているが、大面積照射という観点から、水銀やエキシマガスなどの放電ベースのランプが用いられることが多い。さらに、エキシマランプは水銀灯に比べると高価なため、現状では水銀灯がまだまだ主流である。し

かし、2013 年 10 月 10 日に熊本県で開催された国連環境計画（UNEP）の外交会議で、水銀汚染防止に向けた国際的な水銀規制「水銀に関する水俣条約」が採択された。2017 年 8 月 16 日に発効された当条約によって、水銀を使った製品の製造・輸出・輸入が原則禁止となり、水銀使用製品の撤廃に向けた社会的努力が研究者に求められている。

本研究では、発光デバイスの双璧をなす受光デバイス

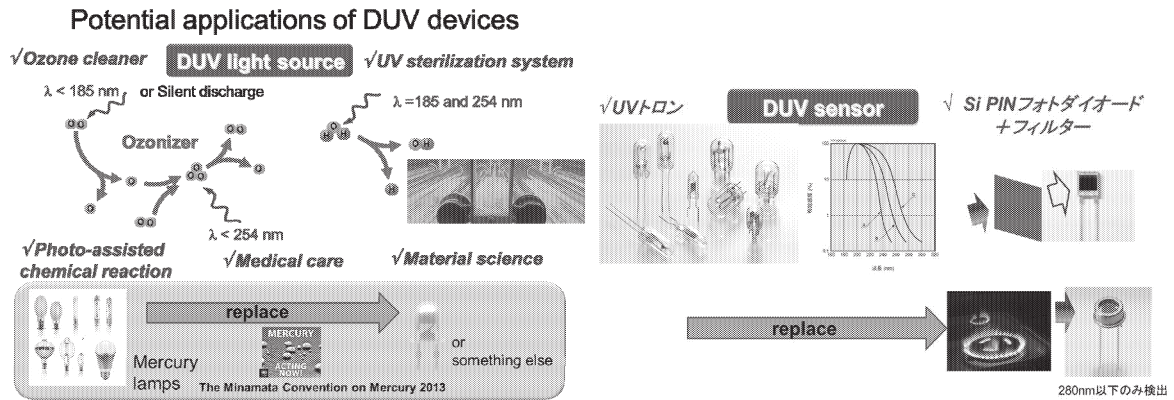


図1 期待される深紫外線デバイスの応用展開

に焦点を当てる。特に波長 280 nm 以下のセンサーは、地表に届く太陽光に含まれない光を検出することから、ソーラーブラインド検出器と呼ばれる。当該波長の発光は、炎に含まれるため、火炎センサーとしての利用が考えられる。また、人体に有害な紫外線の検出、オゾンホール観測、深紫外線照射装置の制御回路などへの応用も考えられる。

現状の深紫外線センサーは光電子増倍管、UV トロンが主流であるが高電圧電源が必要となり小型化はできない。安価なものとして、Si PIN フォトダイオードとフィルターを組み合わせたものもあるが、感度、応答性が悪い。

代替の第一候補として、III 族窒化物半導体系の AlGaIn の利用が考えられる。実際、デバイス製作が国内外の機関で盛んに行われている。しかし、AlGaIn の Al 組成が高くなると、高品質結晶を得るための結晶成長が格段に難しくなり、デバイス特性が劣化する。

そこで、本研究では III 族酸化物半導体に着目している。Al₂O₃、Ga₂O₃、In₂O₃ を中心とする III 族酸化物半導体は、図 2 に示すように、バンドギャップエネルギー (E_g) が 8.5 eV (Al₂O₃) から 3.8 eV (In₂O₃) と、紫外線領域に広く分布している。波長 240nm 以下では、III 族窒化物半導体で結晶成長が非常に難しい高 Al 組成 AlGaIn 混晶が必要

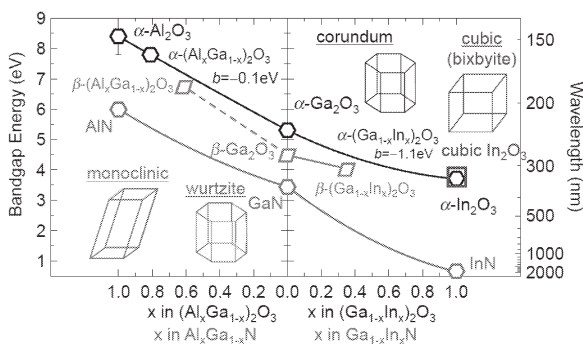


図2 III族酸化物・III族窒化物半導体のバンドギャップエネルギー

となるが、III 族酸化物半導体では、バンドギャップ波長が 240 nm 付近の酸化ガリウム (Ga₂O₃) をベースとしてデバイスを製作できるメリットがある。

Ga₂O₃ は 5 種類の結晶多型をもち、β-Ga₂O₃ は融液成長法による大型単結晶基板作製が可能であり、イオン注入による電子濃度制御もできることから、高耐圧、低損失のパワーデバイスを低コスト・低エネルギーで製造できる材料として世界中の研究者から注目を集めている。本研究で注目する α-Ga₂O₃ は、単結晶基板は得られないが、ミスト気相成長 (CVD) 法を用いることで Al₂O₃ から In₂O₃ の全ての混晶組成領域でエピタキシャル成長を行うことができる。ミスト CVD 法は、安全かつ省エネルギーであり、装置構成が簡素なため、デバイス製造の低コスト化に貢献する成長技術として注目を集めている。

以上のような背景から、本研究では、図 3 に示す共同研究体制のもとで、以下の項目に関する研究を行うことを目的とした。

- ① Ga₂O₃ 材料を中心とした III 族酸化物半導体の結晶高品質化
- ② 材料物性情報の乏しい III 族酸化物半導体の基礎物性評価
- ③ 比較として、高 Al 組成 AlGaIn 材料を中心とした III 族窒化物半導体の結晶高品質化
- ④ III 族酸化物半導体を用いた深紫外光センサーの製作とデバイス特性評価。また AlGaIn 系センサーとの比較

III 族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの開発

<p>試料の準備・作製</p> <p>○酸化物薄膜成長 (山口智広, 尾沼猛儀 (工学院大))</p> <p>○(Al, In, Ga)N 窒化物薄膜成長 (比較サンプルとして) (尾沼猛儀, 山口智広, 本田徹 (工学院大), Cho (Chonbuk National University))</p>	<p>結晶評価</p> <p>○結晶構造・光学的特性解析 (尾沼猛儀 (工学院大), Artus (CSIC))</p>
<p>デバイス製作</p> <p>○デバイスプロセス, デバイス評価 (尾沼猛儀 (工学院大))</p>	

図3 本研究課題の共同研究者とその役割

深紫外半導体発光・受光デバイスは図1に示すように非常に大きな市場規模を有している。本研究では、新しい材料であるⅢ族酸化物半導体材料に着目し、その結晶成長、物性評価、そしてデバイス応用展開までを一貫して行う。

2. 研究成果

目的に掲げた各項目に対し、期間中に行った主な研究成果として以下の5項目が挙げられる。

- ① Ga₂O₃ 材料を中心としたⅢ族酸化物半導体の結晶高品質化
- ② 材料物性情報の乏しいⅢ族酸化物半導体の基礎物性評価
- ③ 高Al組成AlGaN材料を中心としたⅢ族窒化物半導体の結晶成長
- ④ Ⅲ族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの製作とデバイス特性評価
- ⑤ AlGaNを用いた深紫外線センサーの製作とデバイス特性評価及びGa₂O₃センサーとの比較

以下に、詳細を記述する。

2.1 Ga₂O₃ 材料を中心としたⅢ族酸化物半導体の結晶高品質化

α -Ga₂O₃ 材料を中心としたⅢ族酸化物半導体のミストCVD成長は、山口智広准教授と山口研で修士課程を修

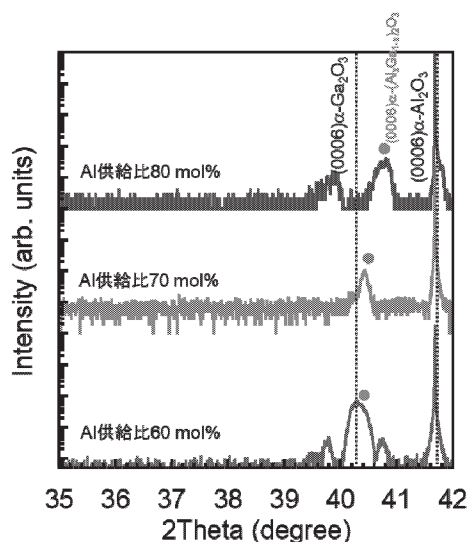


図4 (0001) α -Al₂O₃ 基板上に成長した α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜の 2 θ - ω パターン

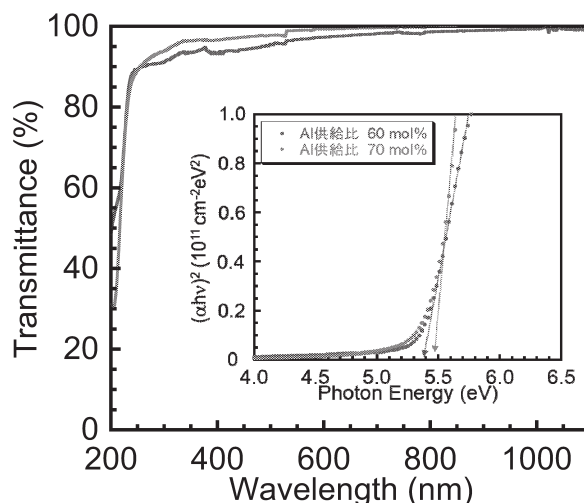


図5 (0001) α -Al₂O₃ 基板上に成長した α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜の室温透過スペクトルと Tauc プロット

了した力武健一郎氏を主担当として実施した。2017年度は、まず(0001) α -Al₂O₃ 基板上への Sn ドープ Ga₂O₃ の結晶成長に取り組んだ。Ga (C₅H₇O₂)₃ 粉末を希塩酸溶液に溶解し、0.05 mol L⁻¹ の Ga 溶液を合成した。また、塩化スズ(II) 二水和物 (SnCl₂·2H₂O) 粉末を希塩酸溶液に溶解し、0.05 mol L⁻¹ の Sn 溶液を合成した。Ga 溶液に Sn 溶液を 0、0.002、0.01、0.4% と変化させて混合した。原料溶液をミスト発生装置 (2.4MHz の超音波振動子) にて霧状にし、N₂ キャリアガスにより反応部へ輸送し 450°C で 1 時間成長した。

無添加薄膜は高抵抗であったが、原料 Sn 濃度を 0.4% までを増加させることにより、抵抗率を $\rho=1.1 \times 10^{-1} \Omega \cdot \text{cm}$ まで減少させることができた。しかし、後述するように、電極での接触抵抗低減のため、Sn ドープ薄膜を受光層としてショットキーバリアダイオード (SBD) 型の紫外線センサーを製作したところ、230 nm 付近での光応答が観測できたものの、300 nm 付近にギャップ内準位に起因する光応答が観測された。そこで、以降は、無添加の α -Ga₂O₃ 薄膜を受光層とし、さらにパッシベーション層として用いるため、 α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜の成長に取り組んだ。

成長温度を 400、450、500°C と変化させ約 1 μm 厚の無添加の α -Ga₂O₃ 薄膜を成膜した。X線回折 (XRD) 測定から成長温度 400、450°C の試料では α 相が単相で成長していることが確認されたが、成長温度 500°C では β 相が混入することが分かった。X線ロックアップカーブ (XRC) 測定から、成長温度 400、450、500°C の薄膜の対称面 (0006) 回折ピークの半値全幅は、それぞれ 34、27、28 arcsec、非対称面 (10 $\bar{1}2$) 回折ピークの半値全幅は、それぞれ 2317、2726、2641 arcsec であることが分かった。得られた値から、成長した薄膜の刃状転位密度は成長温度に寄らず、いずれも 10¹⁰ cm⁻² オーダーと高い反面、らせん転位密度は 450°C 成長で 10⁶ cm⁻² オーダーまで低減できることが分かった。

次に、パッシベーション層として用いるため、 α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜の成長に取り組んだ。Ga 溶液と同様に、Al(C₂H₃O₂)₃ 粉末を希塩酸溶液に溶解し、0.05 mol L⁻¹ の Al 溶液を合成した。Ga 溶液に Al 溶液を 60、70、80 mol% と変化させて混合した。温度 450°C で 30 分間成長した。図 4 に X 線回折の 2 θ - ω パターンを示す。測定から Al 供給比 60、70、80 mol% で成長を行った薄膜試料での Al 組成はそれぞれ 4、12、37% であることが分かった。また、断面 SEM 観察から成長レートは 120 nm/h 程度であることが分かった。図 5 に示すように、透過率測定から、Al 組成が 4、12% のとき、バンドギャップは、それぞれ 5.4、5.5 eV と見積もられ、 α -Ga₂O₃ の値 (5.3 eV) に比べて増加していることが分かった。Al 組成が 37% の試料に関しては、透過率測定系が波長 200 nm 以上に限られているためバンドギャップを決定することができなかった。以上の結果は、ミスト CVD 法により α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜の成長に成功したことを示している。

2.2 材料物性情報の乏しいⅢ族酸化物半導体の基礎物性評価

深紫外線センサーの構造を設計する上で、材料の光学特性に関する情報は必要不可欠である。2017 年度は、分光エリプソメーターを用い、(0001) α -Al₂O₃ 基板にミスト CVD 法により成長した 240 nm 厚の無添加(0001)

α -Ga₂O₃ 薄膜の測定を行った。測定には J. A. Woolam 社の M2000 システムを用いた。測定波長範囲は、245-1700 nm (0.7-5.1 eV) であった。残念ながら α -Ga₂O₃ のバンドギャップ 5.3 eV (234 nm) を網羅していないため、バンドギャップ以下のデータを解析し検討を行った。

Prof. Artus 他¹⁾の分光エリプソメトリ測定[1]では、エリオット-豊沢モデルに基づく解析から 5.61 eV と 6.44 eV に Γ 点における直接遷移構造を観測している。今回は測定範囲外であるため、同様な構造を直接観測することはできなかったが、Tauc-Lorentz モデルにおいて中心エネルギー E_0 を 5.6 eV とすることで上手くフィットすることができたことから、5.6 eV 付近に同様な直接遷移構造が存在することが示唆された。ただし、得られた遷移エネルギーはこれまでのバンドギャップの報告値 5.3 eV に比べ大きいことから、エネルギー差の発生起因に関しては、今後も継続して調査する必要がある。測定から α -Ga₂O₃ は、波長 245 nm 付近で吸収係数 α が 10⁴ cm⁻¹ を超え、波長 220 nm 付近で $\alpha > 10^5$ cm⁻¹ に達することが確認できたことから、深紫外線センサーとして有望な材料であることが示唆された。

2018 年度は、電界変調反射 (ER) 分光システムを構築し、 β -Ga₂O₃ における励起子遷移構造を観測した。ER 法は、バンド構造を詳細に調査する上で大変有効な手法であるが、これまでに酸化ガリウムに適用した報告例は殆どなかった。そこで、単結晶基板をベースとした β -Ga₂O₃ ショットキーバリアダイオード用いて ER スペクトルの観測を試みた。測定は 2018 年度卒の田中広也氏を主担当として実施した。

測定に用いたショットキーバリアダイオードには、

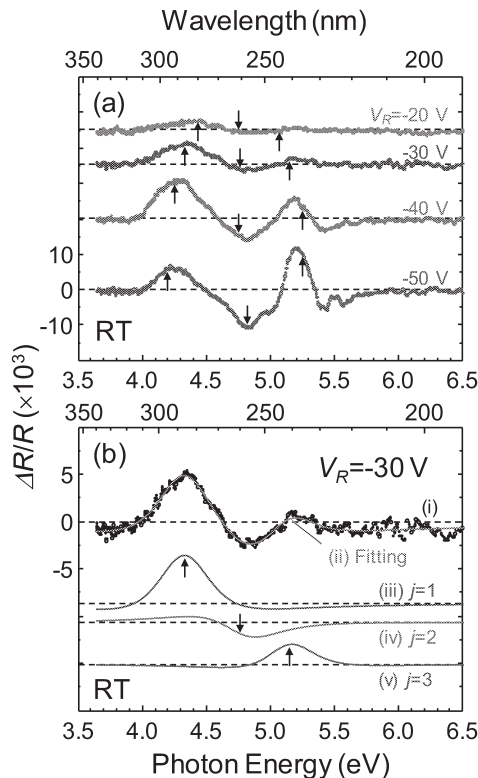


図 6 (a) β -Ga₂O₃ の室温における変調反射スペクトルと (b) -30 V におけるフィッティング結果

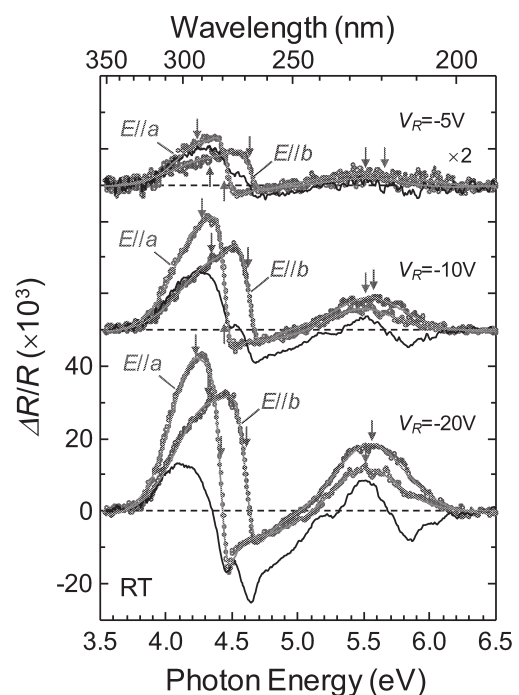


図 7 β -Ga₂O₃ の室温における偏光変調反射スペクトル

(001) Sn ドープ基板上にHVPE法によって成長した10 μm厚、ドナー濃度 $1.7 \times 10^{16} \text{ cm}^{-3}$ のSi ドープ層がドリフト層として設けられており、カソード電極にはTi/Au、アノード電極にはPt/Ti/Auが用いられている。光源には300 WのXeランプを用い、変調電界として-5 ~ -50 Vの矩形波を印加した。変調信号($\Delta R/R$)は、ロックイン増幅器を用いて検出した。測定は室温で行った。

結晶のb軸がs偏光配置(入射面に垂直)となるように配置して観測したERスペクトルを図6(a)に示す。得られた波形に対し、図6(b)に示すように、3つの波形が重畳したものであると考え解析した。これらのうち、高エネルギー側の2つの成分は電界を変えても遷移エネルギーが殆ど変化せず、最も低エネルギー側の成分は遷移エネルギーが低エネルギー側に大きくシフトした。得られた遷移エネルギーの電界依存性を線形フィットした結果、三成分の0 Vにおける遷移エネルギーが、それぞれ $4.57 \pm 0.03 \text{ eV}$ 、 $4.71 \pm 0.04 \text{ eV}$ 、 $4.96 \pm 0.05 \text{ eV}$ と見積もられた。最も低エネルギー側の成分は裾状態によるものと考えられ、後者2つの遷移エネルギーは、光の電場ベクトルEとb軸が平行なときの励起子遷移エネルギー[2]とよく一致した。以上の結果から、β-Ga₂O₃でも、ER法がバンド構造を調査する有効な手段であることが示された。

さらに2019年度は、深紫外線域で高い透過率をもつ偏光子を用いて、偏光ER測定を行った。図7に示すように、偏光子なしでは図6と同様に3つの成分が現れたが、4.4 ~ 4.7 eVに現れる2つ目の成分がさらに2つの成分として観測された。これに対し、偏光ER測定を行ったところ、結晶の面方位に対応した成分に分離され、β-Ga₂O₃の特異な光学異方性を反映していることが分かった。

2.3 高Al組成AlGaN材料を中心としたIII族窒化物半導体の結晶成長

AlGaNは、Al組成を制御することで、GaNのバンドギャップ3.4 eVからAlNのバンドギャップ6.0 eVまでバンドギャップエネルギーを変化させることができる材料である。波長に換算すると207~365 nmであり、深紫外線から近紫外線領域に相当する。RFプラズマ援用分子線エピタキシー(RF-MBE)法による結晶成長は主に尾沼と2018年度卒、現大学院所属の橋直純氏と2019年度卒、現大学院所属の橋本真里氏を主担当として実施した。また、有機金属気相エピタキシー(MOVPE)法による成長はCho博士が担当した。

2017年度は、成長チャンバー用ターボ分子ポンプの整備、窒素ガスフィルターならびにガス供給のための配管整備を行った。そして、2018年度には、尾沼が工学院大学に赴任して初めて、RF-MBE装置を用いた結晶成長を開始することが出来た。

2018年度は、(0001) α-Al₂O₃基板上へ2 μm厚のGaN層をMOVPE法により成長したGaNテンプレート基板上へ、

RF-MBE法によりAl_xGa_{1-x}N薄膜の成長を行った。窒素流量とRF出力はそれぞれ1 sccm、200 Wとした。III族原料の全平衡蒸気圧は $1.0 \times 10^{-7} \text{ Torr}$ 、成長時の圧力は $2.0 \times 10^{-5} \text{ Torr}$ とした。バッファ層としてGaN層を基板温度650°Cで20分成長した後、AlGaN層を700°Cで1時間成長した。製作した試料に対し、XRD、分光エリプソメトリ(SE)、および原子間力顕微鏡(AFM)測定を行い評価した。SE測定からGaNバッファ層の膜厚は150 nm、Al_xGa_{1-x}N層の膜厚は100~200 nmと見積もられた。

成長したAlGaN薄膜の膜厚は、臨界膜厚近辺であることから、面内の引っ張り歪みが内包されていることが示唆された。このため、X線逆格子空間マッピング(RSM)測定から、面内と面外の格子定数を求め、擬立方晶近似からAl組成を求めた。その結果、図8(c)に示すように、成長したAlGaN薄膜の膜厚はAl組成の増加により臨界膜厚を上回る膜厚で成長していることが分かった。図8(a)、8(b)にAl_{0.18}Ga_{0.82}N薄膜とAl_{0.69}Ga_{0.31}N薄膜の表面AFM像を示す。平均二乗粗さ(RMS)値はそれぞれ59.7 nmと72.9 nmであった。GaNテンプレートのRMS値が47.0 nmと大きいことから、これが引き継がれたことが示唆される。図8(b)に示すように、臨界膜厚より厚いAl_{0.69}Ga_{0.31}N薄膜には表面にクラックが発生していた。また、XRC測定からAl組成の増加に伴い、対称面(0002)回折ピークの半値全幅が、GaNテンプレートの値0.14°から0.4°程度まで増加し、非対称面(10 $\bar{1}$ 2)回折ピークの半値全幅が、

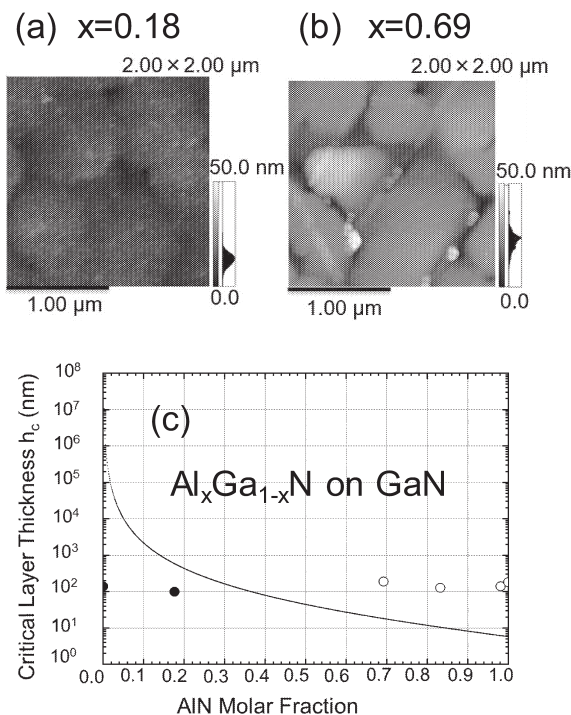


図8 RF-MBE法で成長した(a)Al_{0.18}Ga_{0.82}N薄膜と(b)Al_{0.69}Ga_{0.31}N薄膜の表面AFM像、(c)People and Beanモデル[3]を用いて計算したGaN上のAl_xGa_{1-x}N成長における臨界膜厚(実線)と成長した薄膜の膜厚(丸印)。

GaNテンプレートの値 0.26° から $0.7\sim 1.1^\circ$ に増加しており、Al組成の増加により、らせん、刃状転位が共に増大し、光吸収層として用いるには問題があることが示唆された。

そこで、2019年度は(0001) α -Al₂O₃ 基板上へ430 nm厚のAlN層を成長したAlNテンプレート上に、RF-MBE法によりAl_xGa_{1-x}N薄膜の成長を行った。バッファ層としてAlN層を700°Cで20分成長した後、AlGa_xN層を700°Cで1時間成長した。窒素流量0.5 sccm (0.3 sccm)、III族原料の全平衡蒸気圧を 2.7×10^{-7} Torr (9.1×10^{-8} Torr)としたとき、成長時の圧力は 1.0×10^{-5} Torr (6.0×10^{-6} Torr)であった。RFパワーは200 Wとした。SE測定からAl_xGa_{1-x}N層の膜厚は、430 nm (106 nm) と見積もられた。

成長したAlGa_xN薄膜には、面内圧縮歪みが内包されていることが示唆されるため、GaNテンプレート上の薄膜と同様に、RSM測定から擬立方晶近似よりAl組成を求めた。その結果、図9(c)に示すように、成長したAlGa_xN薄膜の膜厚はAl組成の減少により僅かに臨界膜厚を上回る膜厚で成長していることが分かった。図9(a)、9(b)にAl_{0.77}Ga_{0.23}N薄膜とAl_{0.83}Ga_{0.17}N薄膜の表面AFM像を示す。RMS値はそれぞれ2.67 nmと0.61 nmであった。特に後者では、AlNテンプレートのRMS値0.22 nmに迫る平坦性が得られた。XRC測定から、Al組成の減少に伴い、対称面(0002)回折ピークの半値全幅が、AlNテンプレートの値 92 arcsec (0.026°) から $208\sim 327\text{ arcsec}$ ($0.058\sim 0.091^\circ$)まで増加し、非対称面(10 $\bar{1}2$)回折ピークの半値全幅が、AlNテンプレートの値 247 arcsec (0.069°) から $807\sim 1795\text{ arcsec}$ ($0.22\sim 0.50^\circ$)に増加しており、Al組成の減少により、らせん、刃状転位が共に増大した。以上の結果から、厚さ106 nmのAl_{0.83}Ga_{0.17}N薄膜を光吸収層として採用し、深紫外線センサーを製作した。詳細は2.5節に記す。

MOVPE成長はCho博士が担当した。(0001) α -Al₂O₃ 基板上へ430 nm厚のAlN層を成長したAlNテンプレート上に、MOVPE法によりAl_xGa_{1-x}N薄膜の成長が行われた[4]。本学でSE測定を行いAl_xGa_{1-x}N層の膜厚は、1 μm 程度と見積もられた。RSM測定から擬立方晶近似よりAl組成を求めたところ、 $x=0.59\sim 0.73$ であった。AFM測定からRMS値は $0.86\sim 2.23\text{ nm}$ と見積もられた。既知ではあるが、図9(c)によると膜厚は臨界膜厚以上ではあるが、MOVPE法では極めて高い平坦性が保たれることが改めて示された。特筆すべきは、当研究室でRF-MBE法で成長したAl_xGa_{1-x}N薄膜が同等の表面平坦性を有することであろう。XRC測定から対称面(0002)回折ピークの半値全幅は 67 arcsec (0.019°)であったが、非対称面(10 $\bar{1}2$)回折ピークの半値全幅は $216\sim 1440\text{ arcsec}$ ($0.06\sim 0.40^\circ$)とRF-MBE薄膜と同様にAl組成の減少に伴い増大した。

MOVPE成長はCho博士が担当した。(0001) α -Al₂O₃ 基板上へ430 nm厚のAlN層を成長したAlNテンプレート上に、MOVPE法によりAl_xGa_{1-x}N薄膜の成長が行われた[4]。本学でSE測定を行いAl_xGa_{1-x}N層の膜厚は、1 μm 程度と見積もられた。RSM測定から擬立方晶近似よりAl組成を求めたところ、 $x=0.59\sim 0.73$ であった。AFM測定からRMS値は $0.86\sim 2.23\text{ nm}$ と見積もられた。既知ではあるが、図9(c)によると膜厚は臨界膜厚以上ではあるが、MOVPE法では極めて高い平坦性が保たれることが改めて示された。特筆すべきは、当研究室でRF-MBE法で成長したAl_xGa_{1-x}N薄膜が同等の表面平坦性を有することであろう。XRC測定から対称面(0002)回折ピークの半値全幅は 67 arcsec (0.019°)であったが、非対称面(10 $\bar{1}2$)回折ピークの半値全幅は $216\sim 1440\text{ arcsec}$ ($0.06\sim 0.40^\circ$)とRF-MBE薄膜と同様にAl組成の減少に伴い増大した。

2.4 III族酸化物半導体を用いた深紫外線センサーの製作とデバイス特性評価

2.1節でも述べたように、2017年度は、まず、ミスT CVD法により(0001) α -Al₂O₃ 基板上へSn添加 α -Ga₂O₃薄膜成長を行い、ショットキーバリアダイオード型の深紫外線センサーを製作した。デバイスの外観写真と受光感度特性を図10に示す。光電流測定では450 WのXeランプを分光器で単色化し、集光してセンサーに照射した。外部バイアスは印加せず、室温で測定を行った。図に示すように、バンドギャップに対応する 5.3 eV (230 nm)付近に光応答のピークを観測した。受光感度は最大で $2.5\times 10^{-4}\text{ A/W}$ であった。しかし、 4.2 eV (300 nm)付近にギャップ内準位に起因する光応答が観測された。そこで2017年度後半には、Metal-Semiconductor-Metal (MSM)電極蒸着用のメタルマスクを準備し、光吸収層を無添加の α -Ga₂O₃としてMSM型の紫外線センサーを製作した。図11に示すように、 5.0 eV 付近から光応答の増加を確認し、ソーラーブラインド検出器の製作に成功した。無添加 α -Ga₂O₃薄膜の成長温度を400、450、500°Cと変化させた試料に対し比較をしたところ、結晶性を反映し450°Cの試料で最も高い受光感度となり、最大で約 $2.0\times 10^{-1}\text{ A/W}$ 程度と理論限界に迫る値が得られた。しかし、短波長域での光応答の低下が確認された。これは波長が短くなるに伴い、光の侵入深さが減少し、キャリアの表面再結合損失の増加が起因していると考えられる。

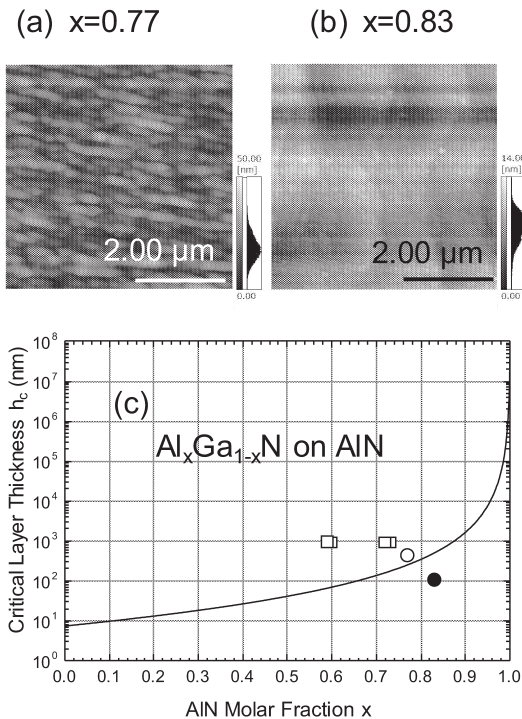


図9 RE-MBE法で成長した(a)Al_{0.77}Ga_{0.23}N薄膜と(b)Al_{0.83}Ga_{0.17}N薄膜の表面AFM像、(c)People and Beanモデル[3]を用いて計算したAlN上のAl_xGa_{1-x}N成長における臨界膜厚(実線)と成長した薄膜の膜厚(丸印)。MOVPE法で成長した薄膜の膜厚を□で示す。

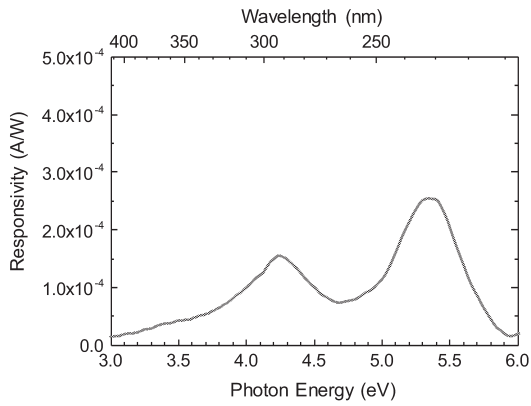
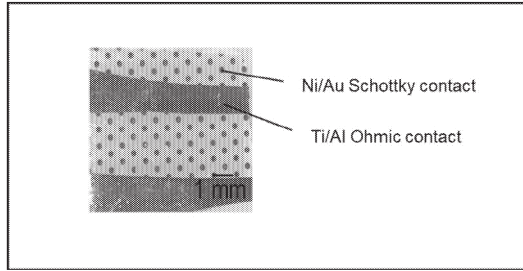


図 1 0 Sn 添加 α -Ga₂O₃ によるショットキー型深紫外線センサーの外観写真と受光感度特性

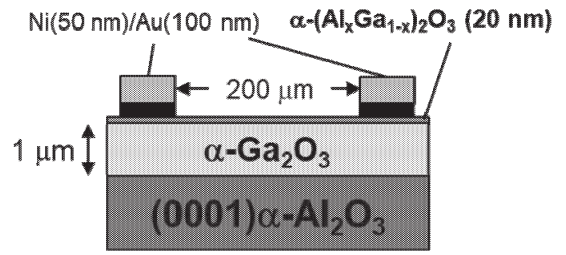


図 1 2 α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃/ α -Ga₂O₃ 積層構造をもつ MSM 型深紫外線センサーの構造

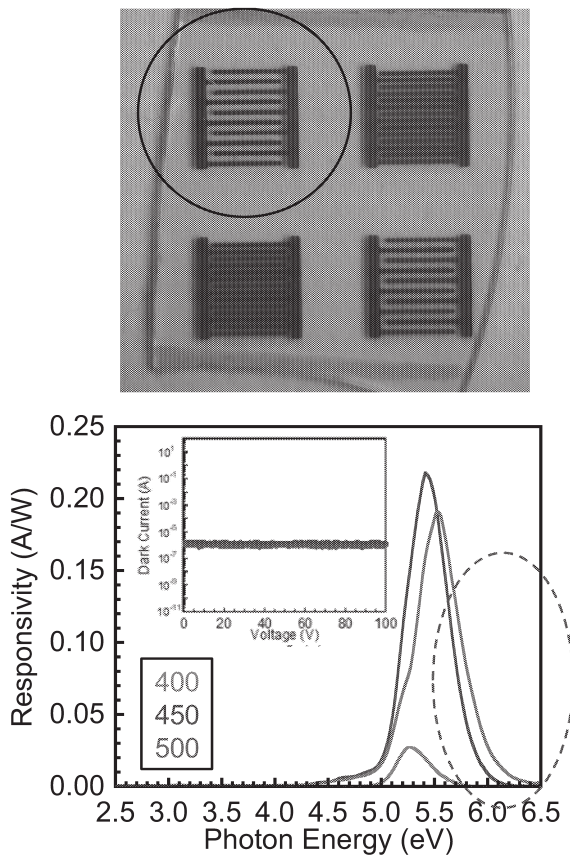
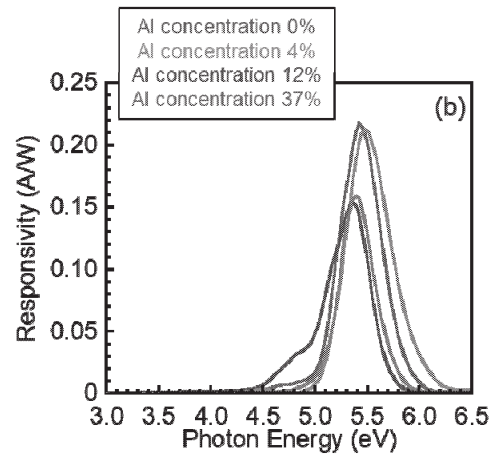
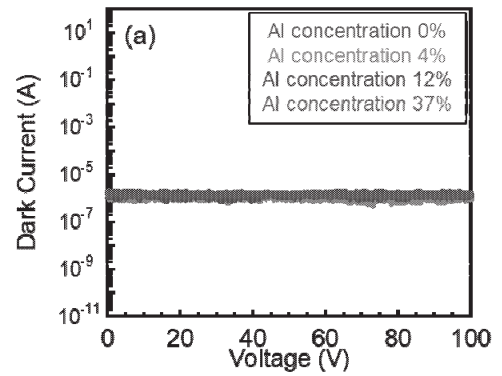


図 1 1 MSM 型深紫外線センサーの外観写真と、異なる温度で成膜した無添加 α -Ga₂O₃ 薄膜により製作した MSM 型深紫外線センサーの受光感度特性の比較。破線の囲いは感度が減少した短波長域を表す。挿入図は暗電流測定結果を示す。

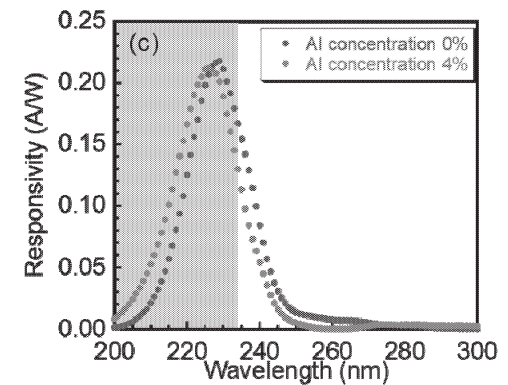


図 1 3 α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃/ α -Ga₂O₃ 積層構造をもつ MSM 型深紫外線センサーの (a) 暗電流測定結果、(b) 受光感度特性、(c) (b) のうち、 $x=0$ と $x=0.04$ の受光感度特性の比較。黄色の領域は強度積分範囲を示す。

これに対し、Yuan 等 [5] より、 β -Ga₂O₃ 上へ β -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜を成長し MSM 型センサーを製作することで、表面パッシベーション効果により、短波長側の光応答特性の改善が観られることが報告された。そこで、2. 1 節で述べたように、 α -Ga₂O₃ 薄膜上へさらに α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜を成長し、センサーを製作することで、同様な効果が得られるか検証した。

デバイス構造を図 1 2 に示す。ミスト CVD 法により (0001) α -Al₂O₃ 基板上へ 1 μ m 厚の α -Ga₂O₃ 薄膜を成長し、さらに 20 nm 厚の α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜を成長した。Al 供給比を 2. 1 節に述べたように 60、70、80 mol% と変化させた。そして、電子ビーム蒸着法により、Ni (50 nm)/Au (100 nm) の MSM 電極を形成した。受光感度特性を図 1 3 (b) に示す。Al 供給比 60 mol% (x=0.04) のとき最大感度は 2.0×10^{-1} A/W となり、図 1 1 に示す α -Ga₂O₃ ベースのセンサーと同程度の受光感度が得られた。また、バンドギャップの増加に伴い感度波長が短波長側にシフトしていることが分かる。図 1 3 (c) に示すように Al 組成 0% と 4% の試料で短波長域の強度を波長積分し比較したところ、 α -(Al_{0.04}Ga_{0.96})₂O₃ 薄膜を積層することで約 33% 向上していることが分かった。しかし、Al 供給比を 70、80 mol% (x=0.12、0.37) とさらに増加させると、受光感度の低下が観られた。高 Al 組成の α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜を成長したことによる界面準位の影響や、欠陥の発生、もしくはバンドギャップの増加によるショットキー障壁高さの変化などの複数の要因が影響していると考えられる。以上より、 α -Ga₂O₃ 系深紫外線センサーにおいても、Al 組成を上手く制御して α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ 薄膜を積層することにより表面パッシベーション効果が得られることが示された。

2. 5 AlGaIn を用いた深紫外線センサーの製作とデバイス特性評価及び Ga₂O₃ センサーとの比較

メタルマスクでは、受光部の大きさを 3 mm×3 mm、ライン電極幅を 100 μ m とし、オープンスペース幅を 100 μ m と 200 μ m の 2 種類を用いた。2019 年度は、さらなる受光感度の増大を目指し、フォトリソグラフィ技術を用

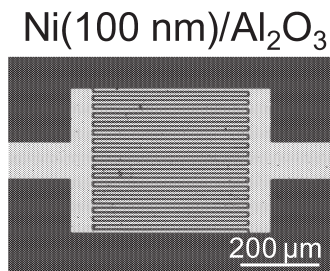


図 1 4 サファイア基板上に形成した MSM 電極パターンの光学顕微鏡写真。ライン電極幅 4 μ m、オープンスペース幅 8 μ m とした。

いたセンサーの微細化検討を行った。受光部の大きさを 400 μ m×400 μ m とし、ライン電極幅 (オープンスペース幅) を 1 μ m (3 μ m)、2 μ m (5 μ m)、4 μ m (8 μ m) の 3 種類のフォトリソマスクを用意した。サファイア基板上へポジレジストによりパターンニングし、電子ビーム蒸着法により 100 nm 厚の Ni を蒸着し、リフトオフにより積層電極パターンを形成した結果を図 1 4 に示す。楕形の電極パターンが上手く形成できていることが分かる。

2. 3 節で述べたように、RF-MBE 法を用いて AlN テンプレート上に成長した厚さ 106 nm の Al_{0.83}Ga_{0.17}N 薄膜が表面平坦性、結晶性ともに比較的優れていたため、これを光吸収層として MSM 型深紫外線センサーを製作した。上述したフォトリソグラフィによる電極形成は、プロセス条件の最適化が困難であったため、前節に述べた α -Ga₂O₃ の MSM 型センサーと同様に、メタルマスクを用い、電子ビーム蒸着法により、Ni (100 nm)/Au (100 nm) の MSM 電極を形成した。デバイスの外観写真と受光感度特性を図 1 5 に示す。図に示すように、4.6 eV (270 nm) 付近に光応答のピークを観測し、高エネルギー側にいくつかのショルダーを観測した。受光感度は最大で 1.4×10^{-4} A/W

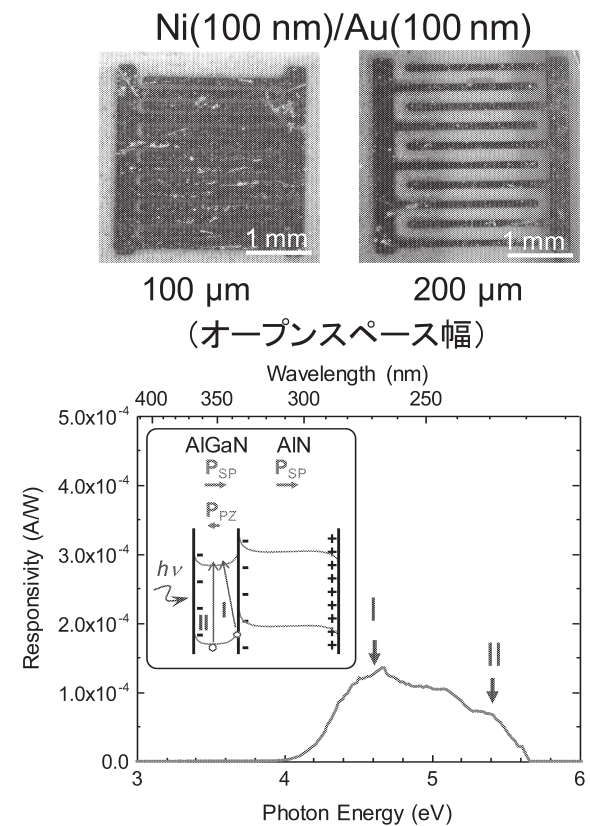


図 1 5 RF-MBE 法により成長した Al_{0.83}Ga_{0.17}N 薄膜による MSM 型深紫外線センサーの外観写真と受光感度特性。スペクトルの挿入図は、AlGaIn/AlN の模式的なバンド図を表す。P_{SP}、P_{PZ} はそれぞれ自発分極と圧電分極を表し、界面の+、-記号は固定電荷を表す。

であった。しかし、 $\text{Al}_{0.83}\text{Ga}_{0.17}\text{N}$ のバンドギャップは 5.4 eV (230 nm) であるのに対し、光応答のピークは 0.8 eV 近く低エネルギー側に観測された。この原因として、次の 2 つのモデルが考えられる。1 つ目は、AlGaIn 層が薄いことで AlGaIn/AlN の界面付近で光吸収が起きていることが考えられる。図 1 5 のスペクトルの挿入図に示すように、AlGaIn、AlN の表面や界面には自発分極 P_{SP} 、圧電分極 P_{PZ} に伴う固定電荷が発生 [6] し、表面、界面でバンドが曲がる。AlGaIn 層が厚い場合、ほとんどがバンド曲がりのないフラットな領域で光吸収が起こる。しかし、本実験で製作した 106 nm 厚の $\text{Al}_{0.83}\text{Ga}_{0.17}\text{N}$ 薄膜は薄いため、AlGaIn/AlN の界面付近でも光吸収が起こると考えられる。この場合、矢印で表した I、II の光学遷移は、スペクトルに示すそれぞれの場所に対応していると考えられる。一方、2 つ目のモデルとしては、AlN テンプレート中のギャップ内準位が関与した光吸収が考えられる。AlN では、炭素濃度の増加と共に、265 nm を中心とする吸収が大きくなり、300 nm 以下の光を吸収することが知られている [7]。実際、炭素原子が窒素サイトを置換することで深いアクセプタ準位を形成し、265 nm の吸収バンドを形成することが解明されている [8]。この起源に関しては、今後も詳細に検討を行う必要がある。

Cho 博士より提供いただいた MOVPE 成長された $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ 薄膜についても、2. 3 節で述べた結晶評価の後、メタルマスクを用い、電子ビーム蒸着法により、Ni (100 nm)/Au (100 nm) の MSM 電極を形成した。しかし、コロナ禍の影響により、本報告書の提出までに受光感度特性の測定に至らなかった。今後の課題としたい。

最後に、これまでに報告 [9] された深紫外線センサーの受光感度と暗電流の関係を図 1 6 に示し、比較として本研究で製作したセンサーの値を示す。図には波長 230–290 nm で、量子効率を 100% としたときの受光感度の理論限界を灰色の帯で示した。AlGaIn 系深紫外線センサーの殆どは MOVPE 法によりサファイア基板あるいは AlN テンプレート上に製作されたものだが、外部バイアスの有無に関わらず理論限界よりも若干低い値が報告されている。本研究で製作した MSM 型 AlGaIn 深紫外線センサーは、報告値よりも 3 桁近く低く、さらなる結晶の高品質化が求められる。一方、 $\beta\text{-Ga}_2\text{O}_3$ 深紫外線センサーは、MSM 型のような簡易な構造でも、バイアス印加により理論限界を超える受光感度が報告されている。実際、本研究で製作した MSM 型 $\alpha\text{-Ga}_2\text{O}_3$ 深紫外線センサーでも、表面パッシベーションを採用することで、外部バイアス無しでも理論限界に近い受光感度を得ることができた。転位の多い薄膜で比較的高い受光感度が得られたことは特筆すべきことだが、高い受光感度が得られるメカニズムは今後の検討課題としたい。

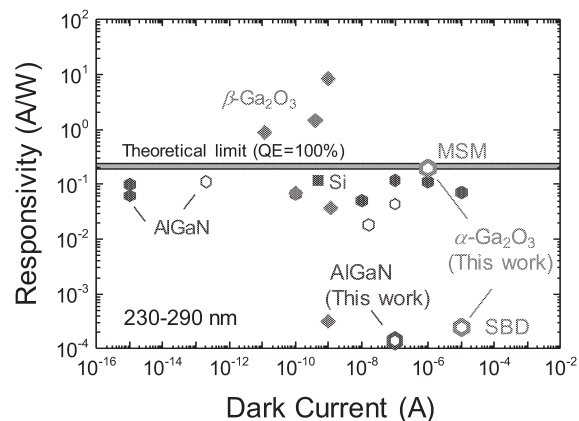


図 1 6 深紫外線センサーの受光感度と暗電流の報告値 [9] と本研究で得られた値との比較

3. まとめ

III 族化合物半導体材料に着目し、その結晶成長、物性評価、そしてデバイス応用展開までを一貫して行った。ミスト CVD 法により (0001) $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ 基板上へ、無添加の $\alpha\text{-Ga}_2\text{O}_3$ 薄膜を成長し、これを受光層として MSM 型の深紫外線センサーを製作することで、5.2 eV (240 nm) 付近より高エネルギー側 (短波長側) のみで光応答するソーラーブラインド検出器の製作に成功した。さらに、 $\alpha\text{-(Al}_x\text{Ga}_{1-x})_2\text{O}_3$ 薄膜を積層させることで表面パッシベーション効果が得られ、最大受光感度は 2.0×10^{-1} A/W となり、理論限界に迫る値が得られた。また、積層により、波長 235 nm 以下の受光感度が約 33% 向上した。比較として、RF-MBE 法を用い AlN テンプレート上へ高 Al 組成 $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{N}$ 薄膜の結晶成長を行った。成長条件を検討することで、MOVPE で成長された薄膜に匹敵する結晶性の薄膜が得られた。 $\text{Al}_{0.83}\text{Ga}_{0.17}\text{N}$ 薄膜を光吸収層として MSM 型深紫外線センサーを製作し、4.2 eV (295 nm) から 5.6 eV (220 nm) まで広い領域に渡り、深紫外線を受光することに成功した。

謝 辞

ミスト CVD 成長に関してご助言いただいた京都大学 藤田静雄教授、金子健太郎講師および工学院大学 佐藤光史教授、永井裕己准教授に深く感謝申し上げます。本研究に用いた RF-MBE 装置を提供して頂いた千葉大学吉川明彦名誉教授に感謝申し上げます。本研究の一部は、JSPS 科研費 JP16H06417、「物質・デバイス領域共同研究拠点」の共同研究プログラム (#20171119) の援助を受けて行われた。

参考文献

- [1] A. Segura, L. Artús, R. Cuscó, R. Goldhahn, and M. Feneberg, Phys. Rev. Mater. **1**, 024604

- (2017).
- [2] T. Onuma, S. Saito, K. Sasaki, T. Masui, T. Yamaguchi, T. Honda, and M. Higashiwaki, *Jpn. J. Appl. Phys.* **54**, 112601 (2015).
- [3] R. People and J. P. Bean, *Appl. Phys. Lett.* **47**, 322 (1985).
- [4] B. Pandit and J. Cho, *Appl. Sci.* **8**, 2098 (2018).
- [5] S.-H. Yuan, C.-C. Wang, S.-Y. Huang, and D.-S. Wu, *IEEE Electron Device Lett.* **39**, 220 (2018).
- [6] M. Brendel, M. Helbling, A. Knigge, F. Brunner, and M. Weyers, *J. Appl. Phys.* **118**, 244504 (2015).
- [7] 熊谷義直, 永島徹, 木下亨, 額綱明伯, *日本結晶成長学会誌* **41**, 131 (2014).
- [8] R. Collazo, J. Xie, B. E. Gaddy, Z. Bryan, R. Kirste, M. Hoffmann, R. Dalmau, B. Moody, Y. Kumagai, T. Nagashima, Y. Kubota, T. Kinoshita, A. Koukitu, D. L. Irving, and Z. Sitar, *Appl. Phys. Lett.* **100**, 191914 (2012).
- [9] A. S. Pratiyush, S. Krishnamoorthy, S. V. Solanke, Z. Xia, R. Muralidharan, S. Rajan, and D. N. Nath, *Appl. Phys. Lett.* **110**, 221107 (2017) および、論文中で引用している参考文献.

研究 成 果

発 表 論 文

- [1] T. Onuma, K. Tanaka, K. Sasaki, T. Yamaguchi, T. Honda, A. Kuramata, S. Yamakoshi, and M. Higashiwaki, “Electroreflectance study on optical anisotropy in β -Ga₂O₃”, *Appl. Phys. Lett.* **115** (23), pp.231102 1-5 (2019). DOI: 10.1063/1.5123985
- [2] N. Tachibana, K. Kudo, and T. Onuma, “Growth and optical characterization of ultra-wide bandgap semiconductors for solid-state DUV and VUV light emitters”, The 6th Innovation Forum of Advanced Engineering and Education (IFAE6), Tokyo, Japan, Oct. 30 (2019).
- [3] T. Onuma, K. Tanaka, K. Sasaki, T. Yamaguchi, T. Honda, A. Kuramata, S. Yamakoshi, and M. Higashiwaki, “Optical Transitions in β -Ga₂O₃ Single Crystal Studied by Electroreflectance Measurements”, The 3rd International Workshop on Gallium Oxide and Related Materials, Columbus, USA, Aug. 15, (2019), CHA2.5.
- [4] N. Tachibana, T. Onuma, T. Honda, and T. Yamaguchi, “Strain Relaxation in Al-rich Al_xGa_{1-x}N Films Grown by RF Plasma-Assisted Molecular Beam Epitaxy”, 13th International Conference On Nitride Semiconductors (ICNS-13), Bellevue, Washington, July 9 (2019), GP02.28.
- [5] S. Mochizuki, T. Yamaguchi, K. Rikitake, T. Onuma, and T. Honda, “Electrical and structural properties of Sn-doped α -Ga₂O₃ thin films grown by mist chemical vapor deposition”, Compound Semiconductor Week 2019 (CSW 2019), Nara, Japan, May 21 (2019), No. TuP-SS1-8.
- [6] T. Onuma, K. Tanaka, K. Sasaki, T. Yamaguchi, T. Honda, A. Kuramata, S. Yamakoshi, and M. Higashiwaki, “Observation of Electroreflectance Spectra of β -Ga₂O₃ Single Crystal”, Compound Semiconductor Week 2019 (CSW 2019), Nara, Japan, May 21 (2019), No. TuD2-2.
- [7] N. Tachibana, T. Yamaguchi, T. Honda, and T. Onuma, “Growth of Al_xGa_{1-x}N Films by RF Plasma-assisted Molecular Beam Epitaxy for Deep UV Optical Devices”, International Conference on Light-Emitting Devices and Their Industrial Applications '19 (LEDIA '19), Yokohama, Japan, Apr. 24, (2019) No. LEDIA-P-12.
- [8] K. Rikitake, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Effect of α -(Al_xGa_{1-x})₂O₃ Overgrowth on MSM-Type α -Ga₂O₃ Ultraviolet Photodetectors Grown by Mist CVD”, Pacific Rim Symposium on Surfaces, Coatings and Interfaces (Pacsurf2018), Hawaii, USA, Dec. 5 (2018), TF-WeP3.
- [9] K. Rikitake, T. Kobayashi, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Growth of Ga_{2-x}Sn_xO₃ Films by Mist Chemical Vapor Deposition”, Materials Research Society, 2017 Fall Meeting & Exhibit, Symposium EM04: Poster Session, Boston, MA, USA, Nov. 30, (2017), EM04.09.13.
- [10] K. Rikitake, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Bandgap Engineering of α -Ga₂O₃ Films Grown by Mist Chemical Vapor Deposition”, The 16th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-16), Hachioji, Tokyo, Japan, Nov. 2 (2017) No P014.
- [11] K. Rikitake, T. Kobayashi, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Fabrication of MSM-Type Photodetector Using Sn-Doped α -Ga₂O₃ Films Grown by Mist Chemical Vapor Deposition”, International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM2017), Sendai, Japan, Sep. 20 (2017), No. N-2-05.
- [12] K. Rikitake, T. Kobayashi, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Photoresponsivity of α -Ga₂O₃-based deep UV photodetector grown by mist CVD”, 2nd International Workshop on Gallium Oxide and Related Materials, Parma, Italy, Sep. 14, (2017), P29.
- [13] K. Rikitake, T. Kobayashi, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, “Mist CVD growth of Sn-doped Ga₂O₃ thin films and its device application”, International Conference on Light-Emitting Devices and Their Industrial Applications '17 (LEDIA '17), Yokohama, Japan, Apr. 19-21, (2017) No. LEDp2-14.

国内学会発表

- [14] K. Rikitake, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, "Fabrication of double Schottky type photodetector using corundum-structured gallium oxide", 37th Electronic Materials Symposium, Nagahama, Shiga, Japan, Oct. 11 (2018). Session Th1-19.
- [15] K. Rikitake, T. Kobayashi, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, "MSM-type solar-blind photodetector with α -Ga₂O₃ film grown by mist CVD", 36th Electronic Materials Symposium, Nagahama, Shiga, Japan, Nov. 8 (2017). Session We3-2.
- [16] 尾沼猛儀, "深紫外発光受光デバイスの現状と酸化ガリウム系材料受光デバイスの可能性", 日本フォトニクス協議会アカデミック・パートナーシップ・ゼミナール, 2017年9月26日
- [17] 尾沼猛儀, "酸化ガリウムショットキーバリアダイオードを用いた電界変調反射分光", 2019年度先端ICTデバイスラボ・ワークショップ, 2020年1月15日, ミリ波研究棟-19-108-M
- [18] 橋直純, 橋本真里, 山口智広, 本田徹, 尾沼猛儀, "RF-MBE法によるGa₂O₃を用いたダブルショットキー型光検出器の製作", 2018年春季応用物理学会 (19p-P11-7)
- [19] 橋直純, 尾沼猛儀, 山口智広, 本田徹, "AlGa₂O₃成長におけるGa₂O₃バッファ層のV/III比依存性の検討", 第2回結晶工学 x ISYSE 合同研究会, 2019年11月20日, No. 1P10
- [20] 力武健一郎, 尾沼猛儀, 山口智広, 本田徹, "深紫外光検出器のためのGa₂O₃薄膜のミストCVD成長", 第41回光通信研究会, 2018年8月28日, P1-23
- [21] 力武健一郎, 小林拓也, 尾沼猛儀, 本田徹, 山口智広, "コランダム構造酸化ガリウムソーラーブラインド光検出器の開発", 第9回大学コンソーシアム八王子, 2017年12月9-10日.
- [22] 力武健一郎, 尾沼猛儀, 山口智広, 本田徹, "ミストCVD法によるSn添加Ga₂O₃成長とそのデバイス応用", 第40回光通信研究会, 2017年8月9日, P3-32
- [23] 橋直純, 橋本真里, 山口智弘, 本田徹, 尾沼猛儀, "RF-MBE法によるGa₂O₃及びAlNテンプレートへのGa₂O₃成長にV/III比が及ぼす影響", 2020年春季応用物理学会 (13p-PB1-2)
- [24] 田中広也, 佐々木公平, 山口智広, 本田徹, 倉又朗人, 山腰茂伸, 東脇正高, 尾沼猛儀, "酸化ガリウム結晶における電界変調反射スペクトルの観測", 2019年春季応用物理学会 (11p-S011-7)
- [25] 力武健一郎, 山口智広, 尾沼猛儀, 本田徹, "α-Ga₂O₃を用いたダブルショットキー型光検出器の製作", 2018年春季応用物理学会 (19p-P11-7)
- [26] 力武健一郎, 小林拓也, 山口智広, 尾沼猛儀, 本田徹, "Ga_{2-x}Sn_xO₃膜のミストCVD成長", 2017年秋季応用物理学会 (8a-PA4-16)

ガラスナノピペットのガスフローコンダクタンスの研究

工学院大学 教育推進機構 基礎・教養科 高見知秀

工学院大学 学習支援センター 関口 敦

Study on Gas Flow Conductance through Glass Nanopipette

Tomohide Takami, College of Arts and Sciences,
Center for Promotion of Higher Education

Atsushi Sekiguchi, Learning Support Center

ABSTRACT : Glass nanopipette is widely used for the transfer of the various kinds of the small amount liquid less than femtoliter, and many applications have been explored. The evaluation of the inner condition of nanopipettes is necessary for the stable use of nanopipettes for these studies. However, the evaluation of prepared nanopipettes with an optical microscope is beyond Abbe's resolution limit. We proposed a new nondestructive gas flow method to test glass nanopipettes before using them. We observe the exit gas pressure of nanopipettes by changing the entrance pressure of nitrogen or argon gas up to atmospheric pressure. In addition, water gas flow through the hole and pipette was investigated. We have found several problems on the measurements, such as the dependence of entrance pressure increasing speed and the choice of vacuum gauge.

1. はじめに

ピペットは様々な体積の液体を移送するための道具として使用されてきた。[1]ピペット先端のサイズがマイクロやナノメートルまで減少すると、多くの新規な現象や応用が期待される。[2]例えば、先端内径が数百ナノメートル以下のパイレックス製ナノピペットは単一細胞への化学物質の注入に用いられており、Eppendorf社などによって既に市販されている。しかしながら実際にこのようなナノピペットを使用すると、1回の注入の後にピペットが詰まることが頻繁に起こり、これがインジェクションの確度を下げる要因の一つとなっている。

実際に研究をする上では、ナノピペットの直径および内部の清浄度の管理および制御が必須である。[3,4]インジェクションの高い成功率を達成するためには、注入ピペットの形状評価が重要となっている。[5]したがって、ナノピペットの形状の評価(特に先端部の穴の直径)は、これらの研究のためのナノピペットを安定して使用する

ために必要である。

しかしながら、光学顕微鏡を用いて調製されたナノピペットの評価はアッベの解像限界を超えている。走査型電子顕微鏡(SEM)観察では試料は導電性でなければならず、通常はガラス製のナノピペット表面を金属でコーティングした後、SEM観察する必要がある。このためSEM観察後に堆積ナノピペットを使用することができない。さらに、SEMを用いてガラスナノピペットの内部を画像化するためには、破壊的測定が避けられない。

使用前にガラスマイクロピペットを検査する従来の他の方法は、それらの先端を液体中に浸し、広い直径の入口に気圧を加えて先端からの気泡を観察する手法が存在する。しかしながらこの方法は、ナノピペットへ適用する場合には内径が小さすぎて適用することができない。[6]したがって、使用前にナノピペットの評価に非破壊で汚染のない測定が期待されている。

本研究は、ガラスナノピペットを使用する前に非破壊で先端部の穴径を求める試験に関する内容であって、新

しい非破壊ガスフロー法を提案するとともにこの手法を検証することを目的としておこなった。加えて、高真空槽における残留ガスの大半を占める水分子すなわち気体の水について、直径 1 mm のステンレスブランクフランジ、そしてそこに装着した様々な口径のガラスキャピラリーにおける気体の水分子のガスフローを調べた。

2. 実験

2. 1 コンダクタンス計測の原理

本研究は、ナノピペットの先端径を非破壊で調査し決定することにある。ここでは真空中の気体の流れのコンダクタンスを測定して、ナノピペットの先端径を見積もるまでの原理を説明する。

ここでのコンダクタンスとは、管やオリフィスの中を気体が行くとき生じる気体の流れの抵抗を排気抵抗と呼び、この抵抗の逆数をコンダクタンス C といい、気体の流れやすさを表す。単位は(m³/s)である。[7]

真空中の気体の流れからナノピペットのコンダクタンスを求める方法を説明する。コンダクタンス測定の実験図を Fig. 1 に示す。

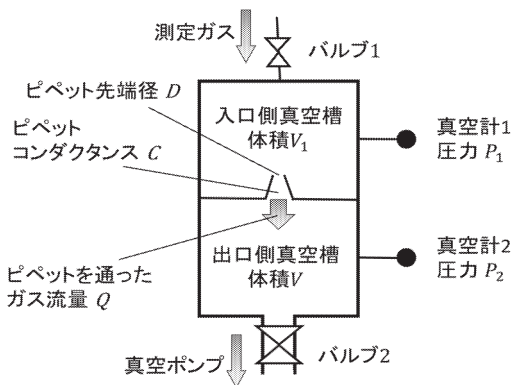


Fig.1 Schematics showing the principle how to measure the vacuum conductance through nanopipette using vacuum chambers.

あらかじめ高真空まで排気可能な真空ポンプを使用して、入口側真空槽および出口側真空槽内を十分に排気しておく。排気側のバルブ 2 を閉じ、バルブ 1 をゆっくり開いて一定流量の測定用気体を入口側真空槽内へ導入する。ここで、ナノピペット内を通過するガス流量 Q (Pa・m³/s) に注目する。

一般的にガス流量 Q (Pa・m³/s) は、入口側真空槽の圧力 P_1 (Pa) と出口側真空槽の圧力 P_2 (Pa) との差圧とガスが通る管のコンダクタンス C (m³/s) で決定される。すなわち、式(1)で表すことができる。

$$Q = C(P_1 - P_2) \quad (1)$$

次に、出口側真空槽の圧力変化量 ΔP_2 (Pa) に注目する。出口側真空槽の体積 V (m³)、時間経過 t (s)、圧力変化の時間 Δt (s) とすると、出口側真空槽の圧力上昇速度 ΔP_2

$/ \Delta t$ はガス流量 Q (Pa・m³/s) と出口側真空槽の体積 V (m³) との間に式(2)が成り立つ。

$$\frac{\Delta P_2}{\Delta t} = \frac{Q}{V} \quad (2)$$

ここで P_2 は圧力が大変に小さい。出口側真空槽の壁に吸着した気体が再放出することに起因するガス放出からの圧力上昇 ΔP_0 を無視することができない。このため、バルブ 1 を閉じたままの状態バルブ 2 を閉じ、出口側真空槽の壁に吸着した気体が再放出することに起因するガス放出からの圧力上昇 ΔP_0 (ビルドアップと呼ばれる) を測定した。 P_2 の値は実測した P_2 の値に対して、この P_0 値を引いた補正をおこなって式(3)によって算出した。

$$\frac{\Delta(P_2 - P_0)}{\Delta t} = \frac{Q}{V} \quad (3)$$

ゆえに、ガス流量 Q (Pa・m³/s) は式(4)で表すことができる。

$$Q = V \frac{\Delta(P_2 - P_0)}{\Delta t} \quad (4)$$

コンダクタンス C の式(1)と式(4)を用いて Q を消去すると式(5)が得られる。

$$Q = C(P_1 - P_2) = V \frac{\Delta(P_2 - P_0)}{\Delta t} \quad (5)$$

ここからコンダクタンス C (m³/s) は式(6)で表すことができる。[6]

$$C = \frac{V}{(P_1 - P_2)} \frac{\Delta(P_2 - P_0)}{\Delta t} \quad (6)$$

上記の式は実際にコンダクタンスを求めるために使用した。本研究で用いた実験装置において、 V は 0.79432 (m³) と見積もった。

2. 2 穴の直径とそこを通過する気体のコンダクタンスとの関係

直径 D (m) の穴を気体が通過するときの穴径 D と、ここを通過する気体のコンダクタンス C との関係を示す図を Fig. 2 に示した。

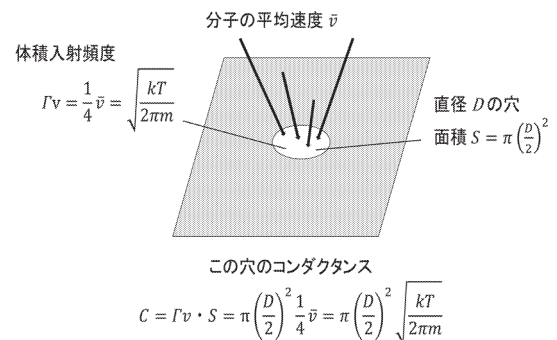


Fig.2 Schematics showing the relation between the hole diameter D and the conductance C through the hole.

直径 D (m) の穴を通過するときの気体のコンダクタンス C (m^3/s) は、穴の面積 S (m^2) と気体の体積入射頻度 Γ_v ($\text{m}^3/(\text{s} \cdot \text{m}^2)$) は気体の平均分子速度 \bar{v} (m/s), 分子の質量 m (kg), ボルツマン定数 k (1.28065×10^{-23} J/s), 気体の絶対温度 T (K)から以下の式(7)で表される. [8]

$$\Gamma_v = \frac{1}{4} \bar{v} = \sqrt{\frac{kT}{2\pi m}} \quad (7)$$

また、穴の面積 S (m^2) は穴の直径 D (m) から下記の式(8)で表される.

$$S = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 \quad (8)$$

ゆえに、気体の体積入射頻度 Γ_v ($\text{m}^3/(\text{s} \cdot \text{m}^2)$) から下記の式(9)で表される.

$$C = \Gamma_v \cdot S = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 \frac{1}{4} \bar{v} = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 \sqrt{\frac{kT}{2\pi m}} \quad (9)$$

この式から、ナノピペットのコンダクタンス C (m^3/s) を測定によって求め、測定に使用した気体の質量 m (kg), 測定時の気体の絶対温度 T (K) からナノピペットの先端径 D (m)を算出することができる. 計算時に $(1/4)\bar{v}$ はアルゴンで $98.4(5)$ m/s , 窒素で $117.(6)$ m/s の値を用いた.

2. 3 使用装置と器具

本実験に用いた装置と器具を Table 1 に示す.

Table 1 Apparatus and instruments.

装置	メーカー 製品名
アルゴンガス	市村酸素株式会社 高純度 Ar ガス PLT61467
窒素ガス	市村酸素株式会社 圧縮 N ₂ ガス SLL62799
真空装置用ポンペ ギュレーター	YUTAKA 精密圧力調整器 P40741C
	ヤマト産業 分析用二段圧力調整器 MSR-1B
静電容量型隔膜真空計 (高精度ダイヤフラム真空計)	MKS バラトロン 626CT3TQE
冷陰極・クリスタル複合ゲージ	東京電子 CC-10
ターボ分子ポンプ	ライボルト社 TURBOVAC 50
ドライポンプ (2台)	Kashiyama NeoDry 7E-1
バラトロン制御装置	MKS PDR2000
データロガー	TANDO Voltage Recorder VR-71 804278
バルブ	VAT 22028-KA01-0003/0447 A-1902536
	VAT 24436-Q A01-0002/0012
	VAT 22024-KA01-0003/2249
ナノピペット	Femtotips Eppendorf 5242 952.008
倒立型光学顕微鏡	OLYMPUS CKX31

本実験で使用した装置と概略図を以下の Fig. 3 と Fig. 4 に示す.

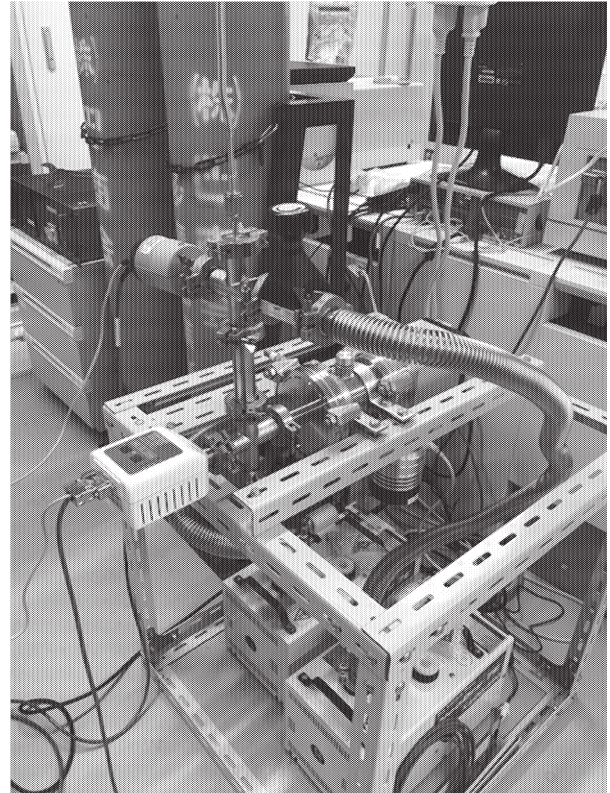


Fig.3 Photo of the apparatus used in this study.

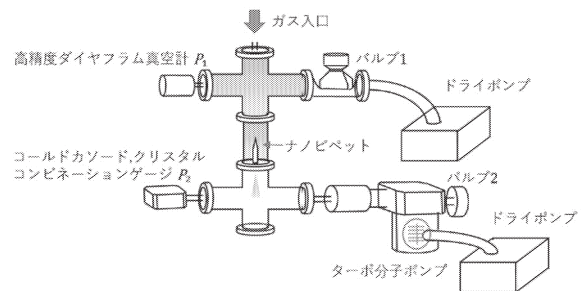


Fig.4 Schematics of the apparatus.

気体の水は、イオン交換水を入れた自作のホウ珪酸ガラスボトルを、上段の真空槽に接続して導入した. 流量調節は最大流量係数 (C_v 値) 0.04 のバーニアハンドルメータリングバルブ(Swagelok SS-4MG-VCR-MH)を用いた. 導入する前の水には大気が混入していたので、液体窒素とドライヤーを用いた脱気サイクル(freeze-pump-thaw cycling)を3回行った.

2. 4 実験準備

設置個所がネジ状になっているナノピペットにテフロンシールテープを巻き付け、金属円盤に設置した. 必要に応じて (次章で説明する), この設置部分にエポキシ系

接着剤(商品名:アラルダイト)を使用して固定しシール特性を改善した。この接着剤を充分乾燥させた後、金属円盤に設置したピペットを図のナノピペットが記されている所に設置し、装置内を真空に引いた。

ナノピペットの先端が小さいほど真空に引くのに長い時間が必要であって、通常約2~3日の放置が必要であった。実際に測定実験が可能となるには、コールドカソードクリスタルコンビネーションゲージの値が 10^{-5} Pa を確認する必要がある。この値になるまで十分に放置してから実験を行わないと、バックグラウンドの圧力 P_0 が大きく上昇してしまい妥当な値を得ることができない。

2. 5 操作手順

下記の手順で操作をおこなった。

1. コールドカソードクリスタルコンビネーションゲージで読み取った P_2 の値が 10^{-5} Pa になったことを確認してから実験を開始した。
2. 最初に、バラトロン制御装置(PDR2000)の電源を入れ1時間待った。次にガスボンベの上部にある栓を1/3左に回し開き、ストップ弁を開いた。レギュレーターの低圧側圧力計を0MPa以上に設定した。データロガーの電源を入れパソコンに繋ぎ、データ解析用ソフトウェア Voltage Recorder for Windows を起動した。データロガーはCh.1に高精度ダイヤフラム真空計で読み取った P_1 の値を、Ch.2にコールドカソードクリスタルコンビネーションゲージ P_2 の値を記録するよう設定した。
3. データロガーの記録秒数を1秒に設定し実験を開始した。
4. 実験を開始したらバルブ2, バルブ1の順で閉め排気を止めた状態にした。
5. ガスをナノピペットの先端側から流した。
6. ナノピペットの入口側(P_1)と出口側(P_2)の圧力を、高精度ダイヤフラム真空計とコールドカソードクリスタルコンビネーションゲージでそれぞれ測定をした。
7. 高精度ダイヤフラム真空計の値が9.0Vになったら、実験を終了した。

2. 6 実験終了時

測定実験の終了後、下記の手順で終了操作を行った。

1. 実験が終了したら、データロガーの記録を停止させガスも止めた。
2. バルブ1, バルブ2の順に開き排気を開始した。
3. 実験結果をテキストファイルで保存した。
4. データロガーの電源を切り、バラトロン制御装置(PDR2000)の電源を切った。
5. 次にガスボンベの上部にある栓を1/3左に回し閉じ、ストップ弁を閉じた。
6. 保存した結果をエクセル上で解析した。

2. 7 気体の水での実験時の留意点

水を排気するためにドライポンプは原則ガスバラス

トを「開」にして使用した。

3. 結果と考察

3. 1 予備実験

窒素ガスを使用して実験を行い、その結果を式(5)を用いて解析した。入口側圧力 P_1 に対して得られたコンダクタンスの値を Fig. 5 に示した。

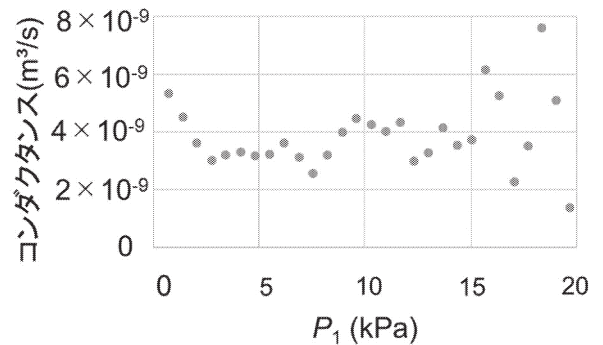


Fig.5 Entrance pressure (P_1) dependence of the vacuum conductance through a nanopipette using nitrogen gas.

下に凸の特性が得られたが、約3~15 kPaの領域で一定のコンダクタンス値を得る事ができた。入口側圧力 P_1 が3 kPaより低い領域ではコンダクタンスが大きくなる。また P_1 圧力が15 kPaより大きい領域ではコンダクタンスはばらつく傾向が確認された。このコンダクタンスが大きくなる原因は明確ではないが、 P_1 より低い領域ではコンダクタンス計算に使用した出口側圧力 P_2 が非常に低く、測定の初期のため導入された分子が壁に吸着して P_2 の値の上昇となって検出されなかった事によるものと考えられる。一方、 P_1 が15 kPaより大きな領域では、後述するようにピペットの設置が不安定であることが原因で、測定値のばらつきが出ている。

以上の結果から、「コンダクタンスの値が一定になった領域」すなわち約3~15 kPaの領域の値をコンダクタンスの測定値とし、この値を基にナノピペットの先端径を算出した。3~15 kPaの分子流領域でのコンダクタンスの平均値は 3.2×10^{-9} m³/s であり、25 °Cにおける窒素分子の平均速度470 m/sと式(8)を用いて算出すると、先端径は5.9 μmと求められた。

同様にアルゴンガスを使用して実験を行い、その結果を式(5)を用いて解析した。入口側圧力 P_1 に対して得られたコンダクタンスの値を Fig. 6 に示した。窒素ガスと同様に下に凸の特性があり、約3~7 kPaの領域で一定のコンダクタンス値を得る事が出来た。アルゴンガスでも入口側圧力 P_1 が7 kPaより大きい領域でコンダクタ

ンスはばらつく傾向が確認された。しかし、 P_1 が 3 kPa より低い領域では、コンダクタンスが 0 kPa まで下がっている。これはガスを導入初期のため P_1 とバックグラウンド値の差が小さかったことが原因である。

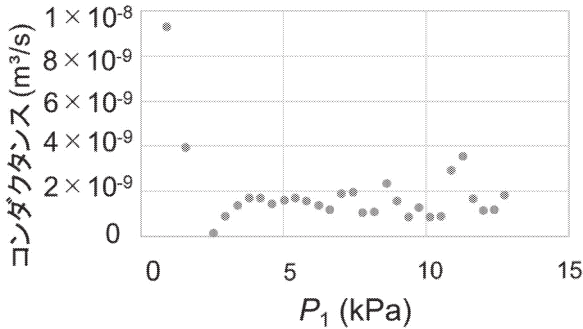


Fig.6 Entrance pressure (P_1) dependence of the vacuum conductance through a nanopipette using argon gas.

この結果から、「コンダクタンスの値が一定になった領域」すなわち約 3~7 kPa の領域の値をコンダクタンスの測定値とし、この値を基にナノピペットの先端径を算出した。3~7 kPa の分子流領域でのコンダクタンスの平均値は $1.5 \times 10^{-9} \text{ m}^3/\text{s}$ であり、25 °C におけるアルゴン分子の平均速度 394 m/s と式 (8) を用いて算出すると先端径は 4.4 μm と求められた。

しかし、今回測定したピペットはマイクロピペットではなくナノピペットとされているものである。今回得られた値は 5.9 μm および 4.4 μm であり数百ナノメートルのオーダーではない。この原因は下記の 2 点と考えられる。

1. 先端が折れていて広がっている。
2. 先端以外の場所に漏れがある。

この原因を調査するために光学顕微鏡でナノピペットの先端を観察した。その結果を Fig. 7 に示す。

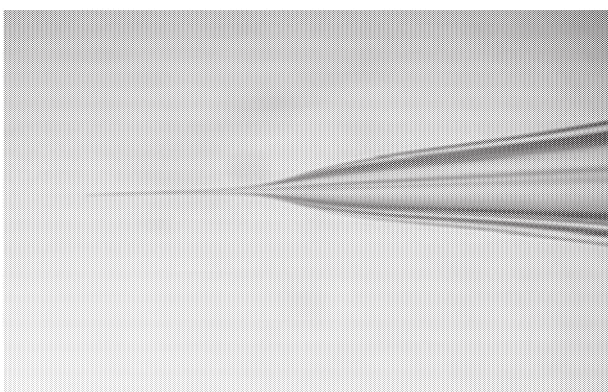


Fig.7 Optical microscope image of the pipette used for

the conductance experiments shown in Figs.5&6.

この光学顕微鏡像で先端が折れている事は確認できなかった。

次に原因 2 のガス漏れの可能性を検証するために、ナノピペットの設置方法を変更した。その変更を示す図を Fig. 8 に示した。

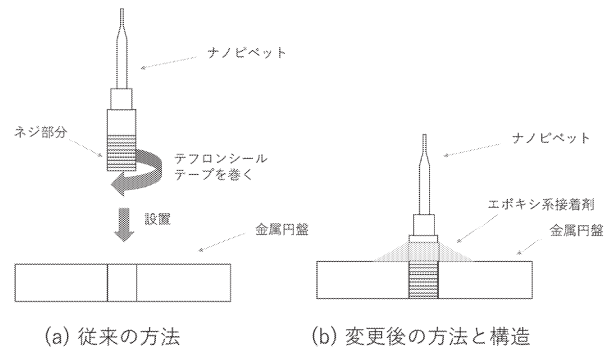


Fig.8 Modification of the setting of nanopipette to the metal base; (a) previous method and (b) modified method using an epoxy glue.

従来はネジ部分にテフロンシールテープを巻き金属円盤に設置した状態で測定していた。テフロンシールテープだけでは隙間を埋めきれないのではないのかと考えた。そこで、従来の方法を変更して、隙間を埋めるようにエポキシ系接着剤（商品名：アラルダイト）を塗布した。

3. 2 本実験(1)：窒素とアルゴン

本実験の結果を示す。ナノピペットの設置方法を変更して測定を行った。窒素ガスを使用して実験を行い、その結果を式 (5) を用いて解析した。入口側圧力 P_1 に対して得られたコンダクタンスの値を Fig. 9 に示す。

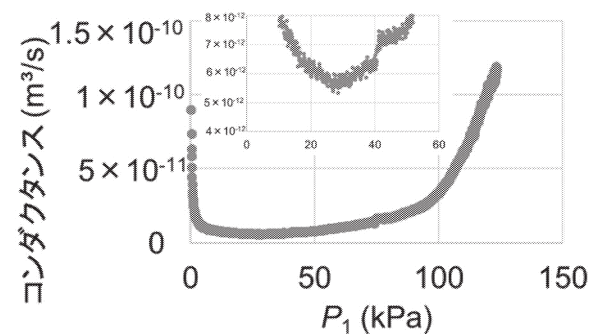


Fig.9 Entrance pressure (P_1) dependence of the vacuum conductance through a nanopipette using nitrogen gas, where the setting method of the

nanopipette between the vacuum chambers was modified as shown in Fig.8(b).

そしてコンダクタンスの値から算出したピペット内径の値の入口側圧力依存性を Fig. 10 に示す.

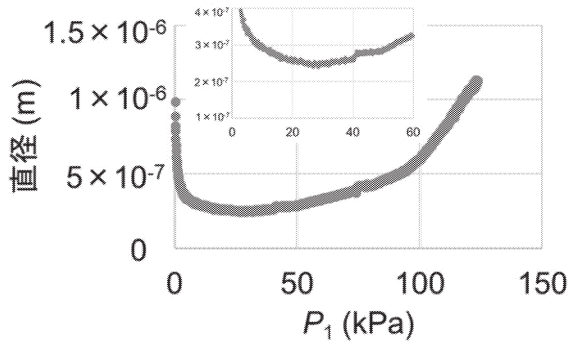


Fig.10 Entrance pressure (P_1) dependence of the estimated nanopipette inner diameters vacuum conductance through a nanopipette using nitrogen gas, from the data shown in Fig.9, where the setting method of the nanopipette between the vacuum chambers was modified as shown in Fig.8(b).

また、ナノピペットの設置方法を変更しても同様に下に凸の特性がみられ、約 20~40 kPa の領域で一定のコンダクタンスの値を得る事ができた。42 kPa と 75 kPa の付近で値がずれる箇所があるが、そこはデーターロガーの計測レンジが切り替わる点である。

以上の結果から、コンダクタンスの値が一定になった領域すなわち約 20~40 kPa の領域の値をコンダクタンスの測定値とし、この値を基にナノピペットの先端径を算出した。20~40 kPa の分領域でのコンダクタンスの平均値は $5.94 \times 10^{-12} \text{ m}^3/\text{s}$ であり、窒素分子の平均速度 470 m/s と式(8) を用いて算出すると先端径は 252 nm となった。以上、変更後に設置したナノピペットで測定を行うとナノメートルオーダーの妥当な測定結果を得る事ができるようになった。したがって、先の実験において先端径が数百ナノメートルオーダーにならず妥当な値が得られなかったのは「2. 先端以外の場所に漏れがある。」事が原因であると判断した。ここで用いたアラルダイトは、乾燥させた状態で測定装置に設置しないとエポキシ内に含まれる低分子量の分子が残留し、装置内を低圧にする事ができないので注意が必要である。今回の実験によりナノピペットの設置方法を変更する前と比べてコンダクタンスは妥当な値が得られた。

この測定の再現性を知るために測定を複数回実施した。その結果を Table 2 に示す。

Table 2 Vacuum conductances and estimated inner diameter D using N_2 gas.

	コンダクタンス m^3/s	先端径 nm
1 回目	5.94×10^{-12}	252
2 回目	4.25×10^{-12}	213
3 回目	2.63×10^{-12}	168
4 回目	4.12×10^{-12}	210

平均値はコンダクタンスが $4.12 \times 10^{-12} \text{ m}^3/\text{s}$ で内径が 211 nm と求められ、標準偏差で 16%の誤差となった。

同様にアルゴンガスを用いて実験を行った結果をまとめたものを Table 3 に示す。

Table 3 Vacuum conductances and estimated inner diameter D using Ar gas.

	コンダクタンス m^3/s	先端径 nm
1 回目	5.95×10^{-12}	276
2 回目	2.93×10^{-12}	194
3 回目	4.48×10^{-12}	239
4 回目	5.39×10^{-12}	263

平均値はコンダクタンスが $4.69 \times 10^{-12} \text{ m}^3/\text{s}$ で内径が 243 nm と求められ、標準偏差で 15%の誤差となった。

3. 3 本実験(2) : 気体の水

まず、厚さ 4 mm の NW25 ステンレス(SUS304)ブラックフランジを上段と下段の仕切りにセットした状態で、下段の圧力の変化、すなわち水の導入に依存しない条件での、排気バルブ (L型バルブ) を閉じてからの圧力の変化を調べた。その結果を Fig. 11 に示す。圧力の計測でクリスタル/コールドカソード コンビネーションゲージを用いているため、0.02~0.04 Pa においてゲージが切り替わることによりプロットが不連続になっている。この不連続については曲線を外挿することによって補正することもできるが、Fig. 11 では補正しないデータを示している。また、Fig. 11 の(a)と(b)は、測定の再現性を確認するために、異なる日において測定した結果を示している。

まず、濃い青色で示したプロットは、ドライポンプのガスバラストを開く前に測定しており、異なる日に測定してもほぼ再現する結果となった。(a)、(b)共に以降の測定ではガスバラストは「開」の状態での測定を行った。次に、オレンジで示したプロットも同じ履歴であるため、ほぼ再現性の良い結果となっている。灰色で示したプロットで 20 分までのところは(a)と(b)ともに同じ履歴だが、(a)では 20 分で測定を終了したのに対して(b)では 30 分測定を行った。ここで履歴が異なる計測となり、その後の黄色

で示したプロットの傾きが、(a)よりも(b)の方が大きくなっている。ここで、(a)の実験では(b)の実験よりも 50 分長く排気を行ったところ、その直後の測定で傾きに顕著な違いが表れた(水色で示したプロット)。以上のように、背圧の経時変化は真空槽の履歴に大きく依存することがわかる。ガスフローそしてコンダクタンスの計測において、この履歴を統一して実験を行うことが重要であることが、この実験結果から示唆された。

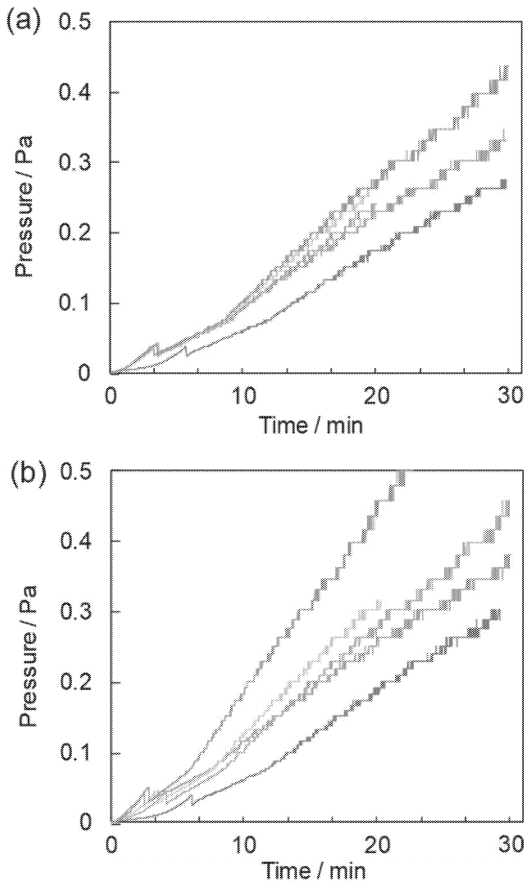


Fig. 11 Background pressures after closing the pumping valve, in case of using the partition (A) in Fig. 1 (blank flange). (a) and (b) are the same measurement but the following time sequence is different: (a): measured for 30 minutes (dark blue plot), ballast valve of the backup drypump opened and angle valve opened for 2 minutes, measured for 30 minutes (orange plot), angle valve opened for 20 minutes, measured for 20 minutes (gray plot), angle valve opened for 20 minutes, measured for 20 minutes (yellow plot), angle valve open for 70 minutes, and measured for 30 minutes (light blue plot); (b): measured for 30 minutes (dark blue plot), ballast valve of the backup drypump opened and angle valve opened for 2 minutes, measured for 30 minutes (orange plot), angle valve opened for 30 minutes, measured for 30 minutes (gray plot), angle valve opened for 20 minutes, measured for 20 minutes (yellow plot), angle

valve open for 23 minutes, and measured for 20 minutes (light blue plot).

今度は、上段の真空槽において、排気バルブ(ストップバルブ)を閉じた後に、水をメータリングバルブを開けて導入したときの圧力の経時変化を調べた。メータリングバルブの値は、閉じた状態のときのマイクロメータの読み取り値と開けたときの読み取り値との差の値を記録した。その結果を Fig. 12 に示す。測定開始とともに排気バルブ(ストップバルブ)を閉じて、その 30 秒後に室温(22 °C)の気体の水をメータリングバルブを開けて導入した。メータリングバルブの開け具合はそれぞれ、閉じている状態から付属のマイクロメータの値で 0.35 mm (青色のプロット), 0.45 mm (オレンジ色のプロット), 0.60 mm (灰色のプロット) 開けた状態とした。

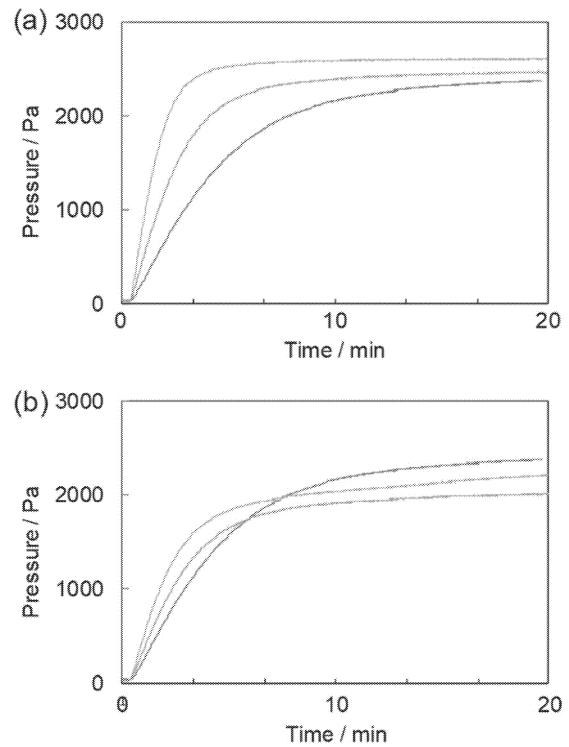


Fig. 12 Time dependent pressures after closing the pumping valve (0 minute) and water exposure started at 0.5 minutes by opening the metering valve, in case of using the partition. (a) and (b) are the same measurement but the following time sequence is different: (a): opened the metering valve 0.35 mm and water exposure for 20 minutes (blue plot), exposure stop and exhausted with a drypump for 30 minutes, then opened the metering valve 0.45 mm and measured for 20 minutes (orange plot), exposure stop and exhausted with a drypump for 150 minutes, then opened the metering valve 0.60 mm and measured for 20 minutes (gray plot); (b): opened the metering valve 0.35 mm and

water exposure for 30 minutes; up to saturated vapor pressure of water (blue plot), exposure stop and exhausted with a drypump for for 30 minutes, then opened the metering valve 0.45 mm and measured for 20 minutes (orange plot), exposure stop and exhausted with a drypump for 60 minutes, then opened the metering valve 0.60 mm and measured for 20 minutes (gray plot).

Fig. 12(a)で示した結果から、メータリングバルブを開けてから 3 分までは、直線的に圧力が上昇していることがわかる。室温(22 °C)での水の飽和蒸気圧は 2.6 kPa であり、灰色のプロットでは 6 分程度でその飽和に到達していることがわかる。一方 Fig. 12(b)には、最初の測定(青色のプロット)で、グラフで示されている範囲外となるが、水の飽和蒸気圧に達した後で測定を行った結果が示されている。青色のプロット、すなわち最初の計測では、(a)で示した結果をよく再現しているが、それ以降の計測では、見かけ上の圧力が 15~20%低下していることがわかる。クリスタルゲージのセンサ部分が飽和蒸気圧に達して液体の水が一旦付着すると、想定された計測ができなくなることがわかる。本研究ではこの結果を踏まえて、クリスタルゲージが水の飽和蒸気圧に達しないように、以降の実験に留意した。

次に、ガラスキャピラリーがセットされていない状態のフランジ、すなわち厚さ 4 mm の NW25 ステンレス(SUS304)ブランクフランジに直径 1 mm の貫通穴を開けたものを作製して、その穴を気体の水が通過するときの上段と下段の真空槽の圧力差の経時変化から、ガスフローの押し圧依存性を調べた。Fig. 13 の(a)に上段側の圧力(P_1)の経時変化、(b)に下段側の圧力(P_2)の経時変化、(c)には(b)を測定した後に背圧(P_0)の経時変化をそれぞれ示す。これらのデータから求めた水のガス流量の押し圧依存性を Fig. 13(d)に示す。

コンダクタンスを求める式(6)を用いて、Fig. 13 (a)-(c)のデータから、上段の真空槽の圧力(押し圧) P_1 に対する真空コンダクタンス C を計算した結果を Fig. 14 に示す。 P_1 が 200 Pa 未満のデータについては、式(4)の最初の項の分母にあたる($P_1 - P_2$)の値が小さくなるため、計算した数値の誤差は大きい。また、1000 Pa 以上のときは、 P_1 の圧力上昇度が直線からずれてくることと、分子流から粘性流に状態が変化することにより、式(6)が成立しなくなる。そこで、 P_1 に C があまり依存していない 500-1000 Pa の領域でのコンダクタンスの平均値を求めると、 $8.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ という値が得られた。更に式(9)を用いて内径を求めたところ、 $9.6 \times 10^{-4} \text{ m}$ と求められた。実際の穴の直径は $1.0 \times 10^{-3} \text{ m}$ なので、よい一致が得られた。

直径 1 mm の穴において P_0 は P_2 に比べて無視できるほど小さいので、この場合には式(2)でもガスフローレートやコンダクタンスは求められる。しかし後述の細管に

おいては P_0 が無視できなくなるので、背圧の補正を行った式(4)を用いる必要がある。

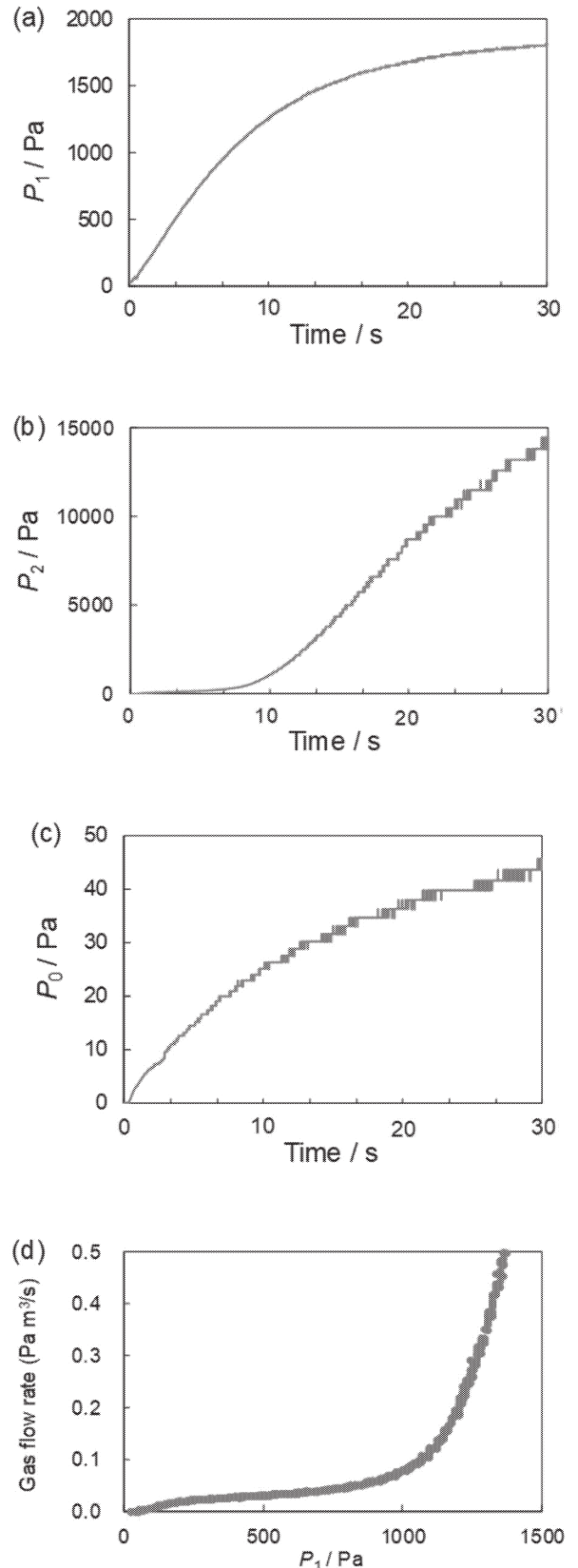


Fig. 13 (a)-(c): time dependent pressures after closing

the pumping valve (0 minute) and water exposure started at 0.5 minutes by opening the metering valve, in case of using the partition (B) in Fig. 1 (flange with a 1 mm hole); upper chamber pressure P_1 (a), lower chamber pressure P_2 (b), background pressure of lower chamber P_0 (c). (d): stagnation pressure (upper chamber pressure P_1) dependence of calculated gas flow rate from the data (a)-(c) using the equation (2) in the text.

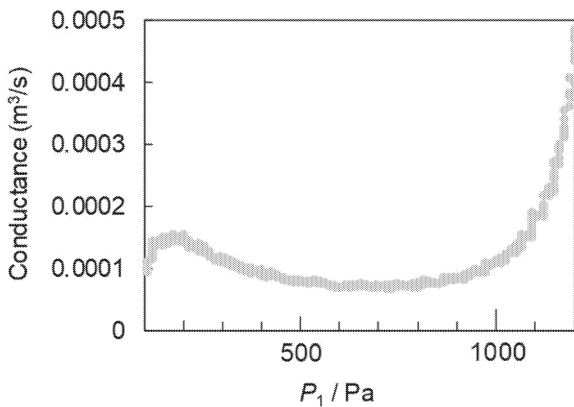


Fig. 14 Stagnation pressure (upper chamber pressure P_1 , from 100 to 1200 Pa) dependence of calculated vacuum conductance from the data in Fig. 13(a)-(c) using the equation (6) in the text.

最後に、ガラスキャピラリが接着された状態のフランジをセットして、その細管を気体の水が通過するときの上段と下段の真空槽の圧力差の経時変化から、ガスフローの押し圧依存性を調べた。ピペットの内径が 500 nm 未満の場合、 P_2 と P_0 の圧力経時変化の差異を認めることが出来なかった。これは、ピペット内部で水が詰まって下段の真空槽に水分子が到達できなかったことが示唆される。どの径まで水分子の通過が可能かどうかについては、更なる実験が必要となる。

先端内径 4 μm (光学顕微鏡で観察) のマイクロピペットについて、計測に成功したので、その結果を Fig. 6 に示す。(a)に水を導入したときの上段側の圧力(P_1)の経時変化、(b)に下段側の圧力で水を導入したとき(P_2)の経時変化を計測したとき(青色のプロット)そして導入せずに背圧の経時変化を計測したとき(オレンジ色のプロット)のグラフ、(c)に(a)と(b)のデータから式(2)を用いて計算したガスフローレートの経時変化をそれぞれ示す。前章と同様に 500-1000 Pa の領域での真空コンダクタンスの平均値を求めると、 $1.3 \times 10^{-9} \text{ m}^3/\text{s}$ という値が得られて、式(4)を用いてピペットの内径の平均値を見積もったところ、 $3.2 \times 10^{-6} \text{ m}$ という値が得られた。

しかし Fig. 6 の(b)に示すように、 P_2 と P_0 の差異は小

さく、前述のように真空槽の履歴による P_0 の計測結果のばらつき、更に電離真空計での計測によるガス放出の問題を鑑みると、測定の精度に疑問の余地がある。この点については後述のように、より詳細な実験を検討している。

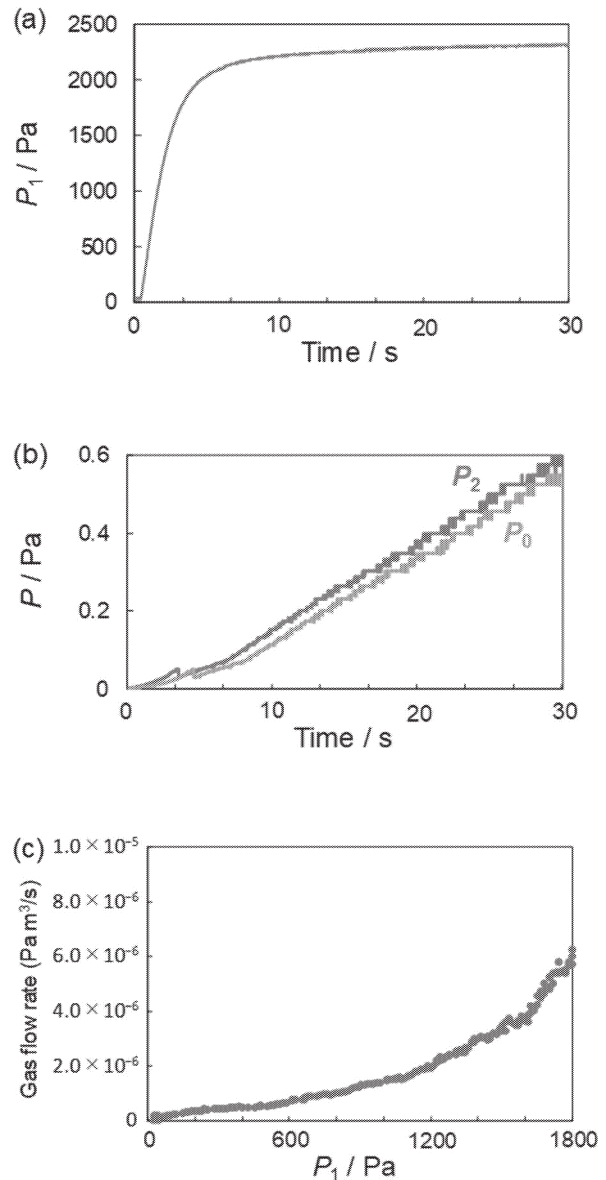


Fig. 15 (a): time dependent pressures after closing the pumping valve (0 minute) and water exposure started at 0.5 minutes by opening the metering valve, in case of using the partition (C) in Fig. 1 (flange with a glass capillary); upper chamber pressure P_1 (a), lower chamber pressure exposing water P_2 (blue plot) and background pressure P_0 (orange plot) (b). (c): stagnation pressure (upper chamber pressure P_1) dependence of calculated gas flow rate from the data (a)-(c) using the equation (4) in the text.

3. 3 温度効果のシミュレーションによる検討

測定時の環境温度は分子の平均速度に影響する．そこで、測定をする室温の影響をシミュレーションにより調査した．温度はコンダクタンスには影響しないため、先端径のみで考えた．窒素ガスの 1 回目の結果でシミュレーションした結果を Fig. 16 に示す．

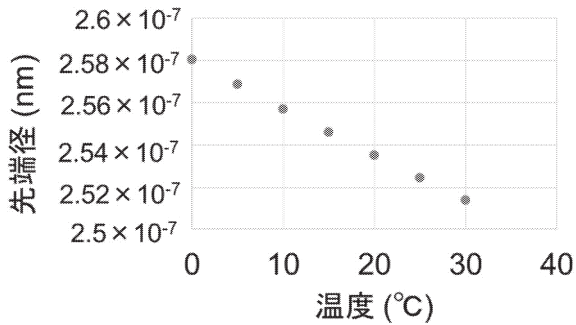


Fig.16 Simulated temperature dependence of the estimated nanopipette inner diameter using the data of N₂ gas vacuum conductance shown in Table 2.

この結果から、0~30 °C で先端径は $2.58 \times 10^{-7} \sim 2.51 \times 10^{-7} \text{ m}$ に変化することが分かった．

同様にしてアルゴンでもシミュレーションを行ったところ、0~30 °C で先端径は $2.82 \times 10^{-7} \sim 2.75 \times 10^{-7} \text{ m}$ に変化することが分かった．

以上の事から測定時の室温の影響は有効数字 3 桁目の変化で小さいといえるが、室温が影響して多少の誤差が生じる可能性があるということが分かった．

3. 4 入口圧力上昇速度（測定ガスの導入速度）の影響

コンダクタンスの測定結果が入口圧力上昇速度（測定ガスの導入速度）によって違いが出るのが従来の研究 [6] から指摘されていたので、その詳細を検討した．その結果を Fig. 17 に示す．

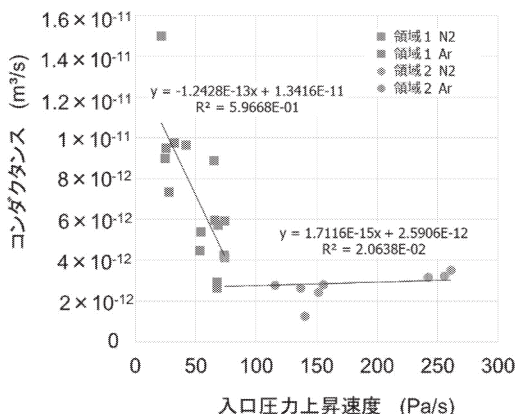


Fig.17 Entrance pressure increasing speed (Pa/s) dependence of the vacuum conductance at the decreasing dependence stage 1 (square plots) and flat dependence stage 2 (round plots), using N₂ (shown orange) and Ar (shown blue) gas, respectively.

入口圧力上昇速度が 100 Pa/s 以上の領域は誤差が少なく、ほぼ同じ値が得られた．入口圧力上昇速度に依存しない領域（領域 2）での測定結果から本研究ではナノピペットの先端径の見積において妥当な結果を得ている．しかし入口圧力上昇速度が 100 Pa/s 未満の領域（領域 1）では、コンダクタンスは一定の結果にはなっていないが、この原因はまだわかっていない．現時点で考えられることは、異なる種類のピペットを使用し同じ測定をすると領域 1 の傾きや一定になる入口圧力上昇速度が変化するのではないかと考えられる．この現象はピペットを流れるガスの流れ方に影響されているものではないかと考えられる．

3. 5 先行研究との比較検討

ナノピペットではないがマイクロメートルオーダーの先端径を持っているマイクロピペットに関し、その気体のコンダクタンス測定と先端径を調査した阪上の報告 [9] がある．この報告では、大気下の外界と真空容器との間にマイクロピペットを設置し、本研究第一章で示した (1) 式と同じ式からコンダクタンスを算出している．

実験目的や方法は異なるがコンダクタンスを測定したことには変わらない．阪上の報告では 2.5 μm 時のコンダクタンスは $5.94 \times 10^{-11} \text{ m}^3/\text{s}$ という結果であった．

我々の計算ではコンダクタンスが $5.94 \times 10^{-11} \text{ m}^3/\text{s}$ の場合、先端直径は 40.1 μm となる．阪上の報告の 2.5 μm とは大きく異なっている．我々の実験では、入口側圧力が高い領域ではコンダクタンス値が極端に大きくなる傾向を確認していて、この領域で測定したコンダクタンス値は先端径の計算に使用できない．阪上の報告ではこの入口側圧力は大気圧であって、当然この測定から求めたコンダクタンス値から先端径を算出すると非常に大きな値になることは妥当である．

さらに、阪上の報告のコンダクタンス算出方法は式(1)から求めている．この式からコンダクタンス値 C を算出するためには、ガス流量 Q (Pa · m³/s) が決定されている必要がある．阪上は、この値は真空ポンプの排気速度 (m³/s) のカタログ値と平衡圧力 (P_2) から算出している．真空ポンプの排気速度 (m³/s) のカタログ値は真空ポンプ直上での排気速度値であって、実際の配管・バルブを経由するとカタログ値より極端に小さな値になることは一般的に知られている現象である．このため阪上の報告の計

算で使用しているガス流量 Q ($\text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{s}$) の値は大きく見積もられていて、コンダクタンス値 C が大きくなっていることは妥当である。

分子流領域ではコンダクタンス値は圧力に依存しなく一定である。我々の実験で確認した「入口側圧力が上昇するとコンダクタンス値が上昇する。」領域は、分子流領域から外れて中間流または粘性流の特性領域に入ったことを意味している。阪上の報告ではコンダクタンス値から先端径を求める式は分子流を仮定した式を使用して算出しているが、入口側圧力が大気圧の場合、分子流の特性ではないことがわかっている。

本研究のコンダクタンスの測定方法では、真空中にピペットを設置している。しかし、阪上の報告はピペットの先端部が外に出ている状態（すなわち大気圧の状態）で測定を行っているため、ピペット内部の清浄度が保たれない。このような測定方法の違いがコンダクタンスの値に影響が出るのではないかと考えられる。さらに、本研究で先端径の算出に使用するコンダクタンス値は入口側圧力に依存しない領域のコンダクタンス値を採用している。これは分子流領域と判断することができて、コンダクタンス値の平均を使用して算出をおこなっている。しかし、阪上の報告のコンダクタンス値は入口側圧力が大気圧であるので我々の実験結果から分子流領域のものでないと判断できる。さらに先端径を算出する際に使用している計算式は分子流領域の式である。このことから、算出に使用するコンダクタンス値は分子流領域から求めた値でなければ妥当な値を得ることができない。

先端径を精度良く求めるためには、本研究のようにピペットを真空中に設置してコンダクタンスの測定を行い、分子流領域でコンダクタンスの値を得ることが必要である。

4. ま と め

本研究では、ガラスナノピペットを使用する前に試験する非破壊ガスフロー法の提案をすることを目的として行った。今回は窒素及びアルゴンガスを用いガラスナノピペットの真空コンダクタンスを測定し、その結果から先端径を算出した。

実際の実験手法ではナノピペットの設置方法が重要なポイントであった。ネジ部分にテフロンシールテープを巻き付け金属円盤に設置しただけではガス漏れが起ってしまう。その隙間を埋めるようにエポキシ系接着剤を接着することでガス漏れが起きなくなるという確認ができた。

今回実験に使用した先端直径 200 nm 程度のナノピペットでは入口圧力上昇速度が 100 Pa/s 以上であると非破壊ガスフロー法において先端径を有効数字 2 桁の精度

で値を特定することができることを確認した。

本研究では、上記のように当初の目的である非破壊測定でナノピペット先端径を求めることを実現するとともに、実際に求めた先端径が妥当な値であることを確認した。しかしながら、この実験・検証の過程で多くの未解決な現象が生じていた。測定した際に非常に低い圧力で起こるコンダクタンスが上がる現象の解明が必要である。これはナノメートルスケールの径でのみ起こる現象である。さらに、入口圧力上昇速度が 100 Pa/s 未満の領域で起こる現象も未解明である。これはピペットそれぞれに依存するものではないかと考えられる。これらの原因解明のためには、先端の詰まっていないピペットでの測定が必要とされる。また、多くのサイズのナノピペットでの測定結果を検証する必要がある。その結果と今回の結果との比較から、入口圧力上昇速度が 100 Pa/s 未満の領域で起こる現象が解明できると考えられる。

また、気体の水を 1 mm の穴やガラス細管を通過するときのガスフローを計測して、ガスフローレートおよび真空コンダクタンスを見積もった。1 mm の穴の場合は有効数字 1 桁の精度での一致を確認した。ガラス細管の場合は、背圧測定の精度の問題があり、信頼性を持たせるにはスピニングローターゲージの導入などを検討している。気体の水の高真空中での挙動は、真空を扱う者にとっては厄介なものである。再吸着の問題については、紹介した Readhead の研究[10]などがあるが、まだ十分解明されていない。今後の研究課題である。

本プロジェクトの副次的な成果、言い換えると serendipity として、後述の研究成果 9. と特許出願 1. がある。これらの成果は、本プロジェクトの遂行時の議論においてシーズとなるアイデアが出て、このような成果が得られたことを最後に付記したい。

5. 謝 辞

本報告で示したデータの多くは、2018 年度工学院大学先進工学部応用化学科の太田望月さん、そして 2019 年度工学院大学先進工学部応用化学科の宮下一帆さんの卒業研究によるものです。ここに感謝いたします。

気体の水を導入するためのホウ珪酸ガラスアダプターは東北大学多元物質科学研究所ガラス工場の工藤友美様に製作していただきましたので、感謝いたします。製作にあたっては、東北大学多元物質科学研究所「物質・デバイス領域共同研究拠点」の基盤共同研究（課題番号：20191072、共同研究者：高桑雄二教授、小川修一博士）の援助をいただきました。

参考文献

- [1] T. Takami, B. H. Park, and T. Kawai, Nano Convergence, Vol.1, (2014) p.17.
- [2] C. A. Morris, A. K. Friedman, and L. A. Baker, Analyst Vol.135, (2010) p.2190.
- [3] C. Wei, A. J. Bard, and S. W. Feldberg, Anal. Chem. Vol.69, (1997) p.4627.
- [4] X. L. Deng, T. Takami, J. W. Son, E. J. Kang, T. Kawai, and B. H. Park, Sci. Rep. Vol.4, (2014) p.4005
- [5] H. Matsuoka, M. Saito, and H. Funabashi, in "Embryonic Stem Cells-Basic Biology to Bioengineering", ed. M. S. Kallos (InTech, Rijeka, 2011) p.149.
- [6] T. Takami, K. Nishimoto, T. Goto, S. Ogawa, F. Iwata, and Y. Takakuwa, Jpn J. Appl. Phys. Vol.55, (2016) p.125202.
- [7] 真空ハンドブック (アルバック編, オーム社, 2002) p.40.
- [8] 松田七美男, J. Vac. Soc. Jpn. (Japanese) Vol.56, (2013) p.199.
- [9] 阪上弘敏, イオンビームの 대기取り出し(1) - ガラスキャピラリの真空コンダクタンスの研究 -, 高知工科大学電子・光システム工学科 卒業論文 (2005).
- [10] P. A. Redhead: J. Vac. Sci. Technol. A Vol.14 (1996) p.2599.
- Alternate Current Electrochemical Etching, ACSIN-14 & ICSPM26, 仙台国際センター, 2018年10月22日.
4. Mizuki Ota, Atsushi Sekiguchi, and Tomohide Takami, Vacuum conductance of nitrogen and argon gas through glass nanopipette, ACSIN-14 & ICSPM26, 仙台国際センター, 2018年10月23日.
5. Tomohide Takami, Nanopipettes exploring and manipulating living single cells (招待講演), ACSIN-14 & ICSPM26, 仙台国際センター, 2018年10月23日.
6. Haruna Omi, Mizuki Ota, Shohei Ota, Kunta Yoshioka, and Tomohide Takami, Development and improvement of ISE nanopipette, Vacuum conductance of N₂ and Ar through glass nanopipette, Improvement of the fabrication method of PtIr tip for STM using AC etching, Evaluation of PtClx particles prepared with AC etching, IFAEE-5 The 5th Innovation Forum of Advanced Engineering and Education, Kogakuin University, 2018年11月1日.
7. 高見 知秀, 太田 望月, 小野 茉奈美, 関口 敦, 後藤 忠彦, 真柄 英之, 高桑 雄二, ガラスナノピペットの評価法の検討, 第66回応用物理学会春季学術講演会, 東京工業大学, 2019年3月12日.
8. Tomohide Takami, Shohei Oki, and Rikuto Kitamura, Development of automatic alternate-current electrochemical etching system for the platinum/iridium probe of scanning tunneling microscopy, 257th ACS National Meeting, Orlando County Convention Center, Florida, USA, 2019年3月31日.
9. 高見 知秀, 大家 溪, 青鹿 溪, 上石 正樹, 真柄 英之, 小川 修一, 高桑 雄二, 交流電解研磨法による塩化金酸の生成, 第67回応用物理学会春季学術講演会, 13p-A404-2, 上智大学, 2020年3月13日(学会中止のため予稿のみの発表).

【研究成果 (2018~2019 年度)】

① 発表論文

- 高見 知秀, 関口 敦, ホールおよびガラス細管における水のガスフロー, J. Vac. Soc. Jpn (投稿予定).
- Tomohide Takami, Application of Atomic Molecular Theory to Beer-Lambert Law, Law of Mass Action, and Henry's Law, Research Reports of Kogakuin University No. 127, 1-6, February (2020). (査読なし)
- Tomohide Takami, Rikuto Kitamura, Takahiro Hiramoto, Shohei Oki, Kunta Yoshioka, and Yoshiki Aoyama, Automatic shutdown system of alternating current electrochemical etching for the preparation of a platinum/iridium tip for scanning tunneling microscopy and the investigation of the byproduct of platinum chloride particles, Japanese Journal of Applied Physics, **58**, SIIC05 (2019). (査読あり)

② 学会発表

- Haruna Omi, Haruka Watanabe, and Tomohide Takami, Preparation and investigation of the ion-selective glass nanopipette, ACSIN-14 & ICSPM26, 仙台国際センター, 2018年10月22日.
- Shohei Oki, Rikuto Kitamura, and Tomohide Takami, Investigation of fabrication method of platinum iridium probe for scanning tunneling microscope by alternating electrochemical etching, ACSIN-14 & ICSPM26, 仙台国際センター, 2018年10月22日.
- Kunta Yoshioka, Naohiro Hiramoto, and Tomohide Takami, Preparation of Platinum Particles with

③ 特許出願

- 大家 溪, 青鹿 溪, 高見 知秀, 塩化金酸の製造方法及び金ナノ粒子の製造方法, 特願 2020-032334, 2020年2月27日.

2. 総合研究所プロジェクト研究報告 (2020年度継続研究)

大型蓄電池の新しい設置形態を実現する複相電解質を用いた 全固体電池開発

工学院大学 環境化学科 関 志朗

工学院大学 機械工学科 須賀 一博

工学院大学 応用化学科 大倉 利典

Development of All-solid-state Battery for Innovative Large-scaled Usages using Polymer / Inorganic Hybrid Electrolytes

Shiro Seki, Department of Environmental Chemistry and Chemical Engineering, Kogakuin University
Kazuhiro Suga, Department of Mechanical Engineering, Kogakuin University
Toshinori Okura, Department of Applied Chemistry, Kogakuin University

ABSTRACT : Polyether-based polymer/cubic $\text{Li}_7\text{La}_3\text{Zr}_2\text{O}_{12}$ (LLZO) composite solid electrolytes were prepared by dispersing LLZO powder in a lithium (Li) conductive polyether-based solid polymer electrolyte. [SUS | electrolyte | SUS] (SUS: stainless steel) and [Li | electrolyte | Li] symmetrical cells were fabricated, and the ionic conductivity, Li/electrolyte interfacial resistance, and Li-cation transport number of the electrolytes were evaluated by electrochemical impedance spectroscopy. The polyether-based polymer/LLZO composite solid electrolytes showed relatively high ionic conductivity of over $10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$ at 333.15 K, along with high electrochemical stability and low interfacial resistance to Li metal electrodes. Remarkable changes of Cole-Cole plots were observed with the variation of LLZO content, which was attributed to the formation of local percolation pathways between LLZO grains in the polymer matrix. Li-ion conduction was faster in the LLZO phase than in the polymer phase. The Li-cation transport number of the polymer/LLZO composite solid electrolytes was almost constant value regardless of LLZO content because of the rate-limiting ionic transport in the polymer phase with a low Li-cation transport number.

1. はじめに

現在二次電池の需要は高まっており、中でもスマートフォンやノートパソコンに搭載されている Li イオン電池は、エネルギー密度が高く良好なサイクル特性を示すため、自然エネルギーの変動調整用の大型蓄電池や電気自動車への普及が期待されている。この Li イオン二次電池の大型化・高容量化に伴い、電池の安全性・信頼性の向上が求められている。固体電解質を用いた全固体型リ

チウム電池は、高い安全性を担保し、単一外装内の積層化等による電池の高エネルギー密度化が可能である[1]。酸化物系固体電解質のひとつである $\text{Li}_7\text{La}_3\text{Zr}_2\text{O}_{12}$ (LLZO) は、室温で $10^{-4} \text{ S cm}^{-1}$ 程度のバルクイオン伝導度を示し、Li 金属へ安定性が高いことから、全固体電池の電解質への応用が期待されている。しかし、内部に粒界を有し、薄膜化した際の機械的強度に乏しく、電極との界面形成が難しい。本研究では、立方晶系 LLZO と自立成形性に優れるポリエーテル系高分子固体電解質を複相化することで、自立成形性・機械的強度を担保した高分子/無機複相型固体電解質の作製を試みた。また、AC インピーダ

ンス法を用いて複相固体電解質の Li 伝導機構及び Li 金属との界面の電気化学的挙動について考察を行った。

2. 実験

Ar 雰囲気グローブボックス内で、ポリエーテル系マクロモノマー(TA-210, 第一工業製薬)へ LiTfSA, DMPA(光開始剤)を[Li] / [O] = 0,1 で溶解させた。その中へ、粉末状の cubic-LLZO(豊島製作所製)を質量比で polymer : LLZO = 1:1-x の割合でそれぞれ混合した。均一溶解を得るために、アセトニトリルを適量加え、攪拌後、サイドボックスにて 12h 以上真空乾燥を行うことによりアセトニトリルを留去した。真空乾燥後の融液をガラス板の上へキャストし、UV 照射によるラジカル重合反応により、高分子/LLZO 複相固体電解質を作製した。複相電解質の電気抵抗を、印加電圧 100mV、測定温度範囲 80°C~5°C で、AC インピーダンス法により測定した。Li 金属-複相固体電解質界面の経時安定性を測定するために、ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質の両端に Li 箔を張り付け、コインセルへ封入・密閉した。コインセルを 60°C の恒温槽で保持し、Li 金属界面抵抗の時間変化を、AC インピーダンス法を用いて測定した。

3. 結果と考察

3. 1 ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質の外観及び SEM による断面観察

室温における(1-x)P(EO/PO)/LiTfSA-xLLZO の外観を図 1(a) に示す。Solution casting 法により作製した(1-x)P(EO/PO)/LiTfSA-xLLZO は、ポリマー中への LLZO 粒子の分散により、白色を呈した。焼結過程を経ずに無機固体電解質薄膜を得る方法の一つとして高分子固体電解質との複相化は有効である可能性がある。一般的に、ポリエーテル系高分子固体電解質は、薄膜化時の自立性及び柔軟性に優れ、電極接合や全固体電池の作製の容易さという点から、全固体電池の電解質として最も有望な固体電解質の一つであると考えられている。(1-x)P(EO/PO)/LiTfSA-xLLZO は、LLZO 濃度が高い組成(>50wt%, $x > 0.33$)であっても、100 μm 以下の薄膜状態において、高分子固体電解質の特性である柔軟性及び自立性の両方の性質を有しており、高い電極接合性及び機械的特性が期待できる。図 1(b)-(d) に、P(EO/PO)/LiTfSA-LLZO の断面の SEM 像($x=0.33$ (b), $x=0.50$ (c), $x=0.66$ (d))を示す。LLZO 組成の増加に伴い、ポリマー中に分散する LLZO 粒子は増大した。加えて、LLZO 濃度の高い電解質において、いくつかの粒子が凝集している部分が存在している。すなわち、電解質内部で局所的に LLZO 粒子同士の粒界の形成が推察される。

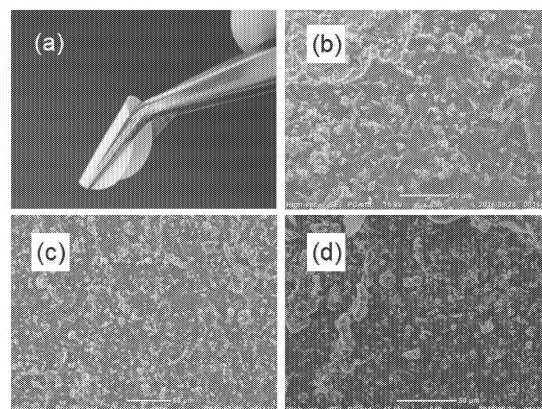


Fig. 1 Appearance of the P(EO/PO)/LiTfSA-LLZO composite solid electrolyte ($x = 0.5$) (a). Cross-sectional SEM images of P(EO/PO)/LiTfSA-LLZO composites with (b) $x = 0.42$, (c) $x = 0.5$ and (d) $x = 0.66$.

3. 2 ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質の XRD 測定

ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質の XRD 測定の結果を図 2 に示す。高分子固体電解質は非晶質のため、ハローピークを示したのに対し、LLZO を複相化した固体電解質($x = 0.66$)は立方晶 LLZO 粉末の XRD パターンと類似した回折角度でピークが現れており、ポリマー相中へ、LLZO 相が結晶構造を保ったまま複相化されていると考えられる。しかし、両者のピーク強度を比較すると、LLZO 粉末のピーク強度に比べ、 $x=0.66$ のピーク強度は非常に低いことが分かる。これは、結晶である LLZO が、非晶質であるポリマー相へ分散しているため、ポリマー相に起因するピークと LLZO に起因するピークが混在しているためと考えられる。

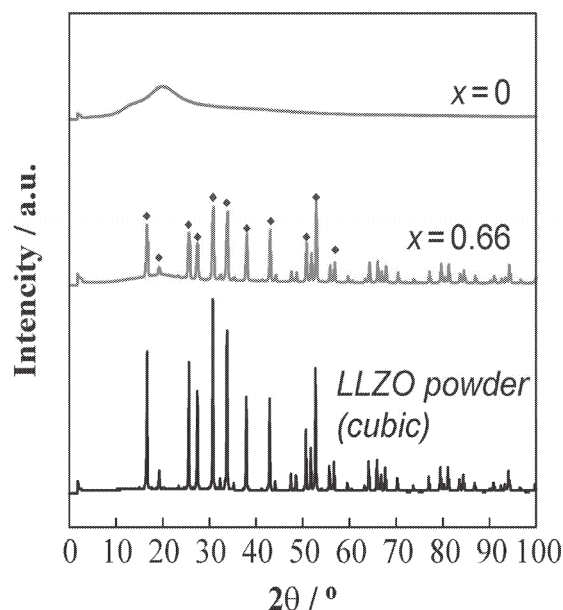


Fig. 2 XRD patterns of P(EO/PO)/LiTfSA-LLZO composites.

3. 3 ガラス転移温度の測定

図 3(a) に昇温過程における $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の DSC サーマグラムを示す。すべての組成において、243K 付近にポリマーの熱的転移に伴う熱容量変化が確認された。この熱転移以外に他のピークは確認されないことから、この熱容量変化は、

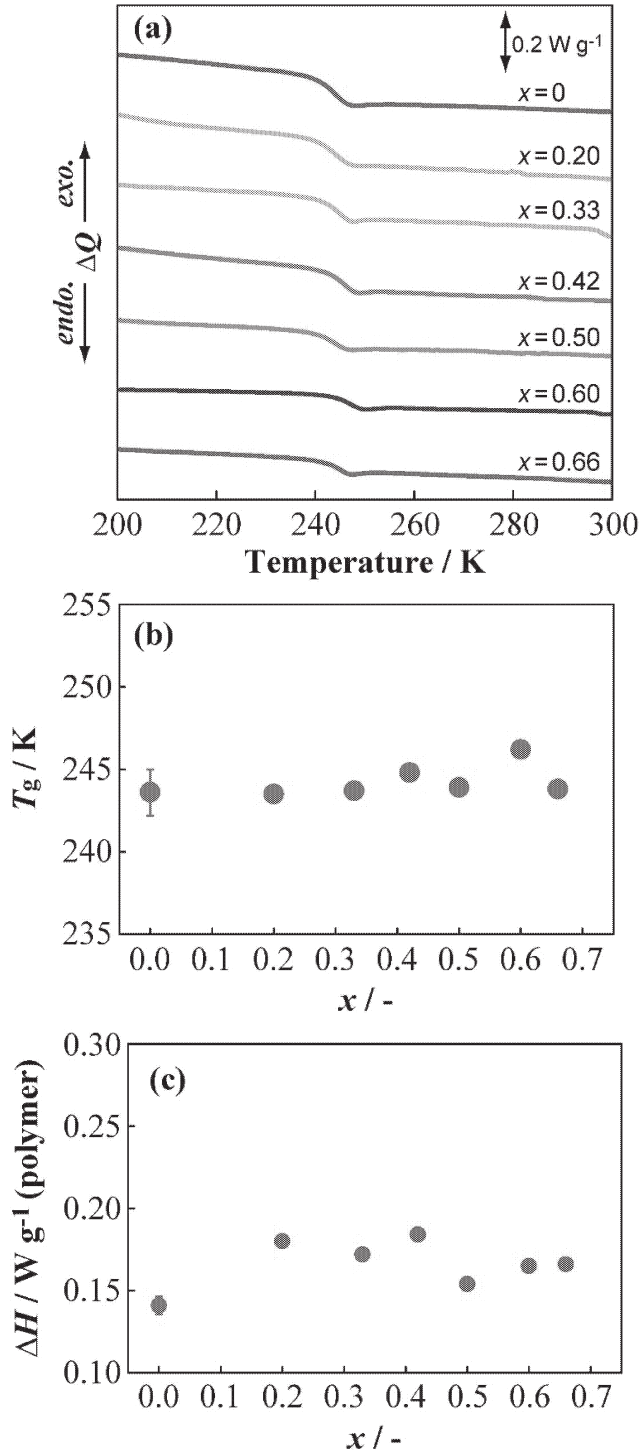


Fig. 3 DSC thermograms (a), dependence of glass transition temperature (T_g) on LLZO concentration (b), and dependence of enthalpy changes of the glass transition (ΔH) on LLZO concentration (c) for $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO}$ composite electrolytes.

ポリマーのガラス転移に起因すると考えられる。DSC サーマグラムより、 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO}$ のガラス転移温度 (T_g) を算出した。 T_g は、熱容量の変化前と変化後の中点を用いて計算した。 T_g にて起こる転移は高分子相における転移であると定義し、図 3(a) で示した DSC サーマグラムの熱容量変化量 ΔQ を $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO}$ に占めるポリエーテル系高分子の重量で除すことにより、各組成における転移熱量変化量を求めた。図 3(b) 及び(c) へ、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ における x と T_g の関係、 x と ΔH の関係を示す。 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}$ ($x=0$) の T_g は 246K 付近に確認された。一方、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の T_g は、高 LLZO 濃度において、わずかに上昇する傾向を示したが、 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}$ ($x=0$) の T_g に極めて近い温度領域に存在することが分かった。一般的にポリエーテル系高分子へ溶解した Li イオンは、高分子のセグメントの酸素原子との間にイオン-双極子相互作用による疑似的架橋点を形成する。電解質内の Li イオンの伝導は、その Li イオンと疑似的架橋点を形成するセグメントの局所的な熱運動と協同的に起こることが知られている。ポリエーテル系高分子固体電解質への LLZO の複相化により、系の T_g の顕著な上昇を引き起こすことなく、電解質内の LLZO 粒子とセグメント中に溶解した Li^+ との間に形成する $\text{O}-\text{Li}^+$ 疑似的架橋点との間の相互作用が弱いことを示唆している。 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}$ のガラス転移に伴う熱容量変化量は 0.141 W g^{-1} であった一方、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の熱容量変化量は、LLZO 濃度との間に明確な相関は認められなかった。このことから、LLZO の複相化によるマトリックス内のセグメントの運動性に与える影響は少ないと考えられる。

3. 4 イオン伝導度の測定

図 4(a) に SUS 電極を用いた場合の $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の 333K におけるコールコールプロットを示す。333K では、高周波領域にバルク抵抗、低周波領域に SUS 電極による発散成分に起因する直線が観察された。バルク抵抗と容量成分を R_b 、 Q_b 、拡散成分を Q_{diff} として、図 5 の等価回路を用いて解析した。303K では、すべての $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO}$ で、高周波領域に電解質の抵抗に起因する半円、低周波領域に SUS 電極による発散成分に起因する直線が確認された。 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}$ のスペクトルは対称性の高い半円を示した一方、 $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO}$ のスペクトルは LLZO 濃度の増大に伴い、半円の時定数の周波数の変化より低周波領域のスペクトルが伸長し、左右非対称な半円へ変化する傾向が確認された。278K では、この傾向がより明確に表れ、LLZO の濃度の上昇に伴い半円の対称性が顕著に低下し、単一の抵抗成分が複数に移行している傾向が確認された。温度の低下とともに LLZO の粒界

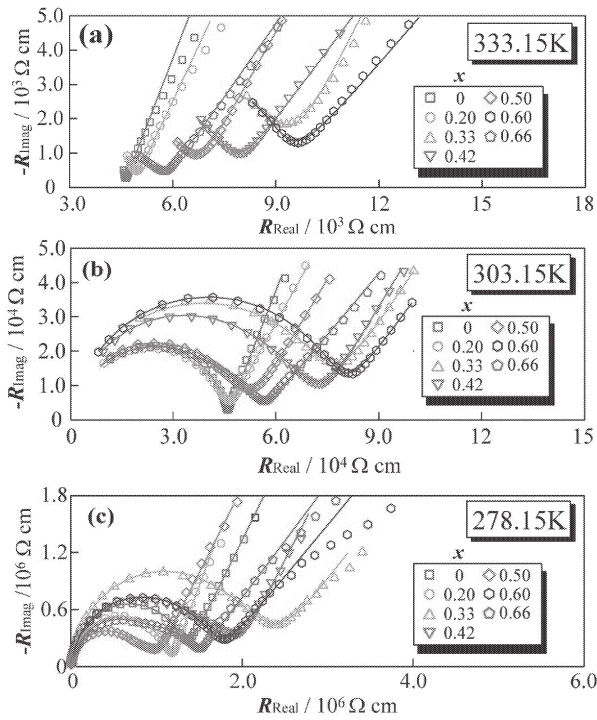


Fig. 4 Cole-Cole plots of P(EO/PO)/LiTFSA-LLZO composite electrolytes using two SUS non-blocking electrodes at 278.15 (a), 303.15 (b) and 333.15 K (c).

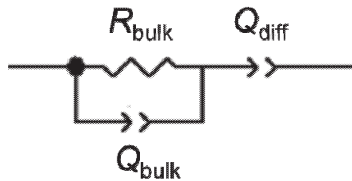


Fig. 5 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 4(a).

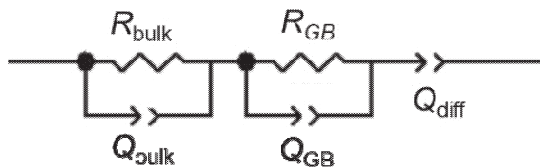


Fig. 6 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 4(b) and (c).

に起因する抵抗成分の増大を示唆し、この結果は、ポリマー相への LLZO の複相化に伴い、電解質内部に LLZO の優先的な伝導相(パーコレーション相)が局所的に形成され、この伝導相を Li イオンが優先的に伝導することを示唆している。このスペクトルでは、等価回路を用い時定数の違いからバルク抵抗成分と粒界抵抗成分を分離することが可能であり、先述の等価回路に粒界に起因する抵抗成分及び容量成分 R_{GB} , Q_{GB} を加えた図 6 の等価回路を用いて解析を行った。

図 7 に R_b 及び R_{GB} を含む全抵抗を電解質膜の厚み及び表面積で規格化することにより算出された $(1-x)$ P(EO/PO)/LiTFSA- x LLZO の σ の温度依存性を示す。

$(1-x)$ P(EO/PO)/LiTFSA- x LLZO の温度依存性は、LLZO 濃度に関係なく無定形の高分子固体電解質の特徴である VFT 型の挙動を示した。加えて、各温度の σ は、P(EO/PO)/LiTFSA の σ に極めて近い値を示し、電解質内部の Li イオン伝導は、ポリマー相で律速していると推定された。高温領域において、 $(1-x)$ P(EO/PO)/LiTFSA- x LLZO のイオン伝導度は $x=0$ と比べ低い傾向があることが確認された。しかし、低温領域では、P(EO/PO)/LiTFSA よりイオン伝導度が高い傾向にあった。これは両者の活性化エネルギーの違いに起因すると考えられる。LLZO のイオン伝導の活性化エネルギーは、ポリエーテル系高分子固体電解質よりも高いことが報告されている。しかし、高温領域ではポリマーのセグメントの運動性が高く、ポリマー相のイオン伝導のエネルギー障壁は少ないと推察される。したがって、高温領域において、Li カチオンは LLZO 相よりもポリマー相を多く伝導すると考えられる。この場合、相対的に LLZO 相を伝導する Li カチオンは少なくなり、Li カチオンが伝導する系の表面積は小さくなるため、イオン伝導度が下がったと考えられる。しかし、低温領域では、両者の活性化エネルギーの差から、LLZO 相における伝導が優勢になると推察される。したがって、低温になるほど LLZO 相を伝導する Li カチオンの数が増えるため、イオン伝導度の温度依存性が緩和され、P(EO/PO)/LiTFSA よりも高いイオン伝導度を示したと推察される。 $(1-x)$ P(EO/PO)/LiTFSA- x LLZO は 60°C において 10^{-4}S/cm 程度の σ を示し、全固体型 Li 電池の電解質として十分に適用可能であると考えられる。

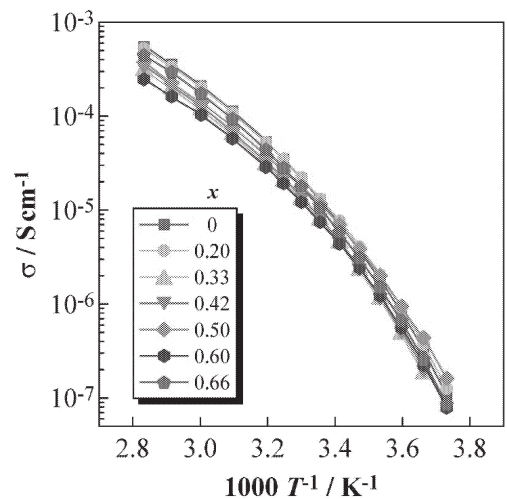


Fig. 7 Arrhenius-type plots of the ionic conductivity of P(EO/PO)/LiTFSA-LLZO composite electrolytes..

3. 5 Li/電解質界面抵抗の経時変化の測定

図 8 (a), (b), (c) は、333K における $\text{LiI}(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}|\text{Li}$ 対称セルの $x = 0$ (a), 0.42 (b), 0.66 (c) のコールコールプロットの時間依存性である。 $x=0$ のコールコールプロットにおいて、電解質のバルク抵抗及び Li/電解質界面における Li 移動抵抗に起因する左右対称の半円が確認された。この半円弧は時間の経過とともに縮小し、時間経過によって電解質/Li 安定界面が形成していることを示唆された。このスペクトルをバルク抵抗及び容量成分を R_b , Q_b 、Li 移動抵抗成分及びその容量成分を R_{Li} , Q_{Li} として図9に示す等価回路を用いて解析を行った。

解析の結果、時間経過 150h 後の R_b 及び R_{Li} はそれぞれ $78.8\Omega\text{cm}^2$, $158.5\Omega\text{cm}^2$ であった。 $x = 0.42$, $x = 0.66$ のコールコールプロットは、 $x = 0$ と比較して、 R_{Li} の時定数の周波数よりも高周波領域のスペクトルが直線状に歪み、

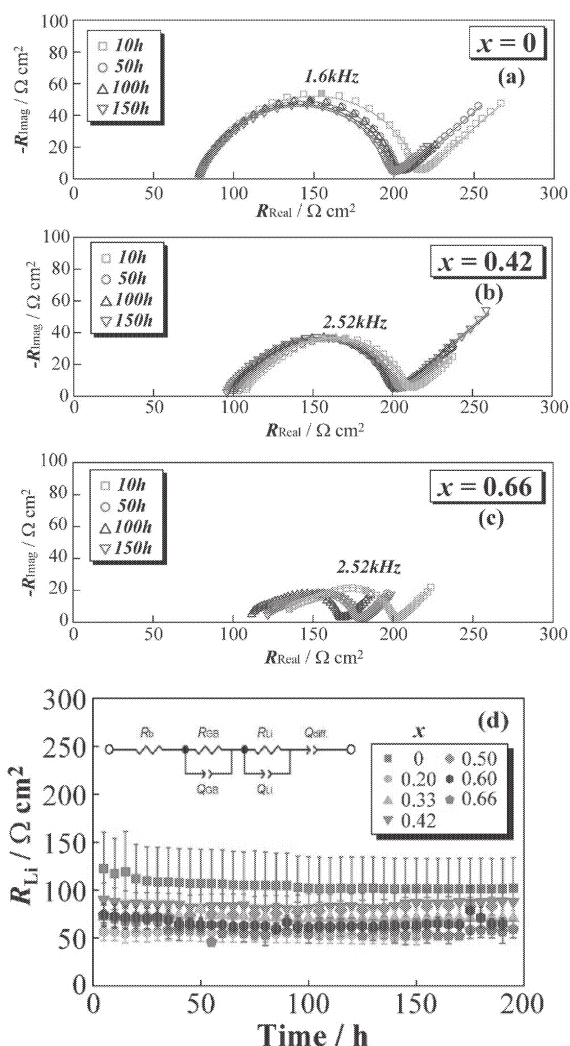


Fig. 8 Time dependence of Cole-Cole plots of $[\text{Li} | \text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-\text{LLZO} | \text{Li}]$ symmetrical cells at 333.15 K with (a) $x = 0$, (b) 0.42 and (c) 0.66), and time dependence of the electrolyte / Li metal interfacial resistance at 333.15K (d).

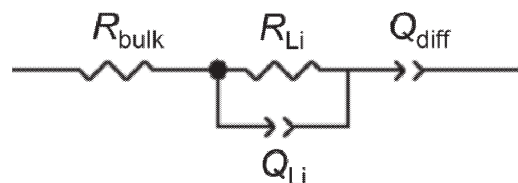


Fig. 9 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 8(a) and (b).

左右非対称に変化した。電解質内部に局所的に形成される LLZO のパーコレーション相と、それに起因する R_{GB} は、LLZO の複相量 (x) に比例して増大すると考えられ、それらは必然的にナイキストプロットのスペクトル形状の変化を誘発することが予想される。時定数の周波数よりも高周波領域のスペクトルに顕著な変化がみられることから、粒界抵抗の時定数は、 R_b と R_{Li} の時定数の中間に存在すると考えられる。 $x = 0.42$ のスペクトルを、先述した等価回路を用いて解析した。 $x = 0.66$ は、粒界の増大によるスペクトルの歪みが大きく、先述した等価回路では解析することができなかった。そこで、等価回路として LLZO の粒界抵抗に起因する抵抗成分及び容量成分を追加し、図 10 に示す等価回路を用いて解析した。

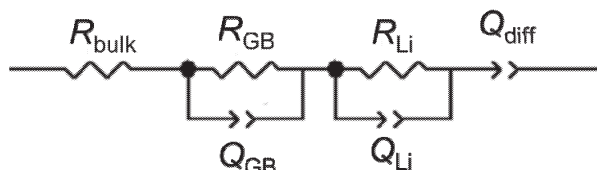


Fig. 10 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 8(c).

図 8(d)に 333K における $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の R_{Li} の時間依存性を示す。 R_{Li} は、時間経過に伴い緩やかに減少した後、安定した値を示したことから、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ と金属 Li との間の安定界面の形成が示唆された。一般的にポリエーテル系高分子固体電解質は、高い自立性及び電気化学的安定性を有し、金属 Li を含む様々な電極と安定な界面を形成することが知られている。同様に、LLZO も、金属 Li 負極の電位に対してまでの耐還元性が高いこと、金属 Li と安定な界面を形成することが可能である。したがって、双方の電解質の中間的な位置づけをとるポリエーテル/LLZO 複相型固体電解質は、これらの既往の研究と同様に、Li 金属との間における安定界面を形成したと考えられる。

一方、 60°C において安定した電解質/Li 界面の抵抗値は、界面における交換電流密度の逆数に比例すると考えられ、 $x=0.2\sim 0.66$ の組成域における抵抗値は、どれも $x=0$ の抵抗値に比べ小さい傾向を示した。この抵抗値の低下傾向は、ポリエーテル系高分子電解質の t_{Li+} は約 0.1 である一方、LLZO の t_{Li+} は約 1 であるため、電解質中の LLZO 組成増大により、Li 界面での Li イオン移動の促進が促されたことが原因と考えられる。

3. 6 Li/電解質界面抵抗の温度依存性

図 11(a) に、278K における Li/(1-x)P(EO/PO)-LiTfSA-xLLZO/Li 対称セルのコールコールプロットを示す。x=0 (P(EO/PO)/Li) のナイキストプロットは、高周波領域にバルク抵抗、低周波領域に電解質/Li 界面の Li 抵抗に起因する 2 つの半円が確認でき、それぞれの時定数は約 15.9kHz, 及び 8.9Hz であった。このスペクトルを電解質バルクの抵抗成分及び容量成分として R_b, Q_b 、電解質/Li 界面の Li 移動抵抗成分及び容量成分を R_{Li}, Q_{Li} として図 12 に示す等価回路を用いてフィッティングを行った。

(1-x)P(EO/PO)/LiTfSA-xLLZO のコールコールプロットからは、LLZO 濃度 (x) の増大に伴い、バルク抵抗と電解質/Li 界面抵抗の半円の中間の周波数領域に新たな半円弧成分が確認された。この結果は、LLZO 濃度の増加とともに、電解質内部の LLZO のパーコレーション相

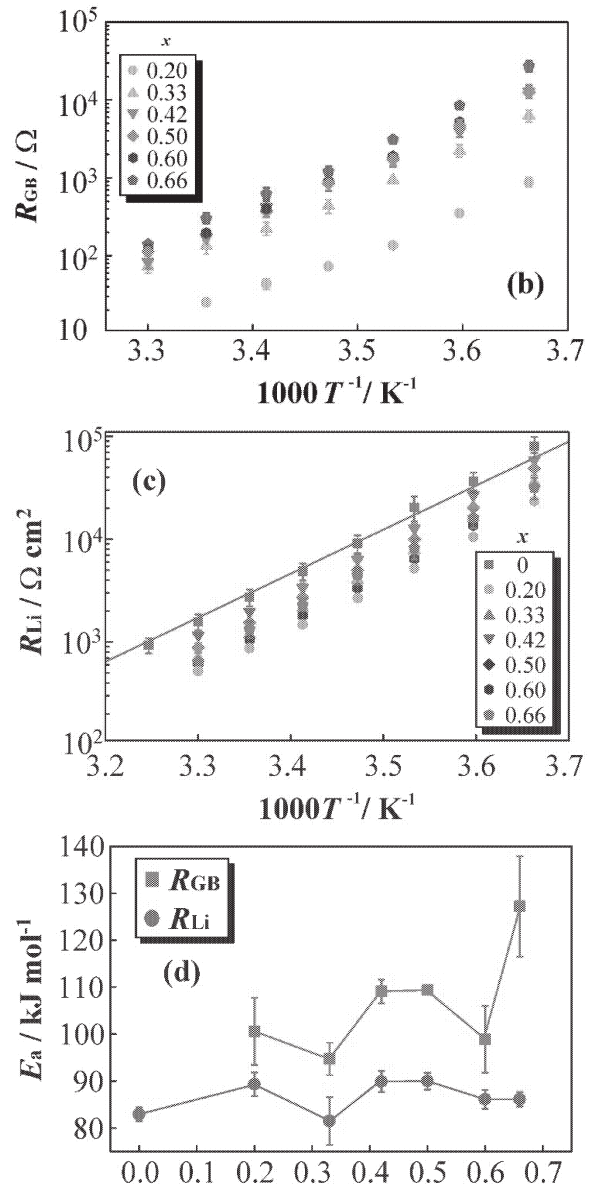
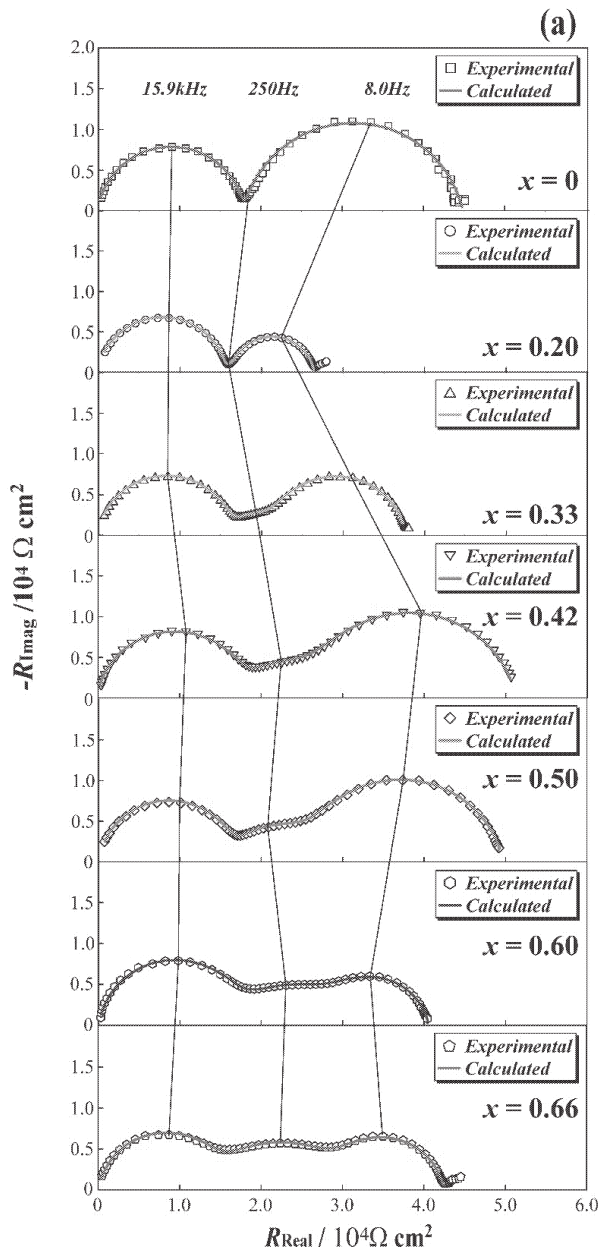


Fig. 11 Cole-Cole plots of [Li | P(EO/PO)/LiTfSA-LLZO | Li] symmetrical cells at 278.15 K (a), temperature dependence of grain boundary resistances (b) and electrolyte / Li metal interfacial resistances (c) and dependence of the appearance activation energies of grain boundaries and electrolyte / Li metal interfacial resistance on x (d).

が増大することを明確に示している。このスペクトルを、前述した等価回路に LLZO のパーコレーションに伴う粒界抵抗とその容量成分 R_{gb}, Q_{gb} を加えた、図 13 に示す等価回路を用いることによりフィッティングを行った。

図 11(b), (c) にフィッティングにより算出された R_{GB}, R_{Li} の温度依存性を示す。横軸は温度の逆数、縦軸は R_{GB} 及び Li 金属の表面積で規格化した R_{Li} の対数を表す。(1-x)P(EO/PO)/LiTfSA-xLLZO の R_{GB} 及び R_{Li} の絶対値は、温度の低下に伴い直線的に増加する傾向を示した。また、x の値が大きいほど、各温度の R_{GB} は増大する傾向がみられた。

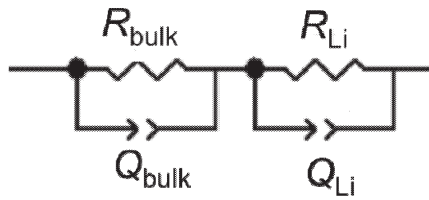


Fig. 12 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 11(a) ($x=0$).

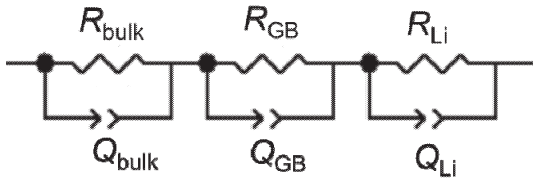


Fig. 13 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 11(a) (except $x=0$).

一方で、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の各温度における R_{Li} は $\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}$ と比べて低く、図 8 で示した結果とも相関した。これらの結果にアレニウスの式を適用することで、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ の各組成における R_{GB} 及び R_{Li} の活性化エネルギーを算出した。一般的に、反応速度と活性化エネルギーとの間には、以下に示すアレニウスの式が経験則として成立するとされる。

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1)$$

k, A, R, E_a は、それぞれ反応における反応速度定数、反応の頻度因子、気体定数、活性化エネルギーを示す。粒界抵抗 R_{GB} 、電解質/Li 界面抵抗 R_{Li} は反応速度定数 k の逆数に比例すると仮定すると、 R_{GB} 及び R_{Li} と温度と間にはそれぞれ以下の式が成立する。

$$R_{\text{Li}} = \frac{1}{k} \quad , \quad R_{\text{Li}} = A' \exp\left(\frac{E_{a,\text{Li}}}{RT}\right) \quad (2)$$

$$R_{\text{GB}} = \frac{1}{k} \quad , \quad R_{\text{GB}} = A' \exp\left(\frac{E_{a,\text{GB}}}{RT}\right) \quad (3)$$

ここで、 A' は反応の頻度因子 A の逆数である。この式を図 11(b),(c)に適用し、直線の傾きから、 $R_{\text{GB}}, R_{\text{Li}}$ ぞれの見かけの活性化エネルギー $E_{a,\text{GB}}, E_{a,\text{Li}}$ を算出した。図 11(d)に各 LLZO 濃度における $E_{a,\text{GB}}, E_{a,\text{Li}}$ と LLZO 濃度との関係を示す。すべての濃度において、 $E_{a,\text{GB}}$ は $E_{a,\text{Li}}$ よりも高い傾向を示した。 $E_{a,\text{Li}}$ の LLZO 濃度への依存性は低く、 $80\sim 90\text{kJ/mol}$ でほぼ一定の値を示した。したがって、 R_{Li} の減少は、電解質中の LLZO 濃度の増大により、Li キャリア数が増加し、Li 金属界面での Li 移動頻度が促進され引き起こされたということが示唆された。一方、 $E_{a,\text{GB}}$ は LLZO 濃度の上昇に伴い増大する傾向がみられた。Murgan らの研究から、LLZO (ペレット) の粒界の E_a は約 $0.36\text{eV}(35.1\text{kJ/mol}, 50\sim 18^\circ\text{C})$ と報告されており[2]、これは本研究において得られた E_a よりも極めて低く、ポ

リエーテル/LLZO 複相電解質の粒界抵抗が LLZO の粒界間の抵抗のみに起因するものではないことを明確に示唆する。

$60^\circ\text{C}\sim 30^\circ\text{C}$ における LLZO/PEO 界面の移動抵抗は、Kunらの論文で 96.5kJ の活性化エネルギーをもつことが報告されている[3]。この値は、本研究における低 LLZO 濃度のサンプルの活性化エネルギーと類似した値であることから、電解質内部において、ポリマー相と LLZO 粒子間の Li^+ 移動が存在することが示され、これが電解質全体の Li イオン伝導の律速過程と考えられる。ポリエーテル/LLZO 複相電解質ではこれまでに、EIS や NMR を用いて PEO/ceramic 界面抵抗や E_a の算出や、 Li イオン伝導機構を解明する試みがなされている。しかし、ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質と Li 金属を用いた対称のノンブロッキングセルを構築し、電解質のバルク抵抗、粒界抵抗、界面抵抗を明確に分離する試みは、既往の研究において、著者らの知りうる限りはじめての知見である。この成果は今後、有機固体電解質と無機固体電解質の双方を用いた新しい固体電解質の開発のための極めて有効なツールの一つになり得ると考えられる。

3. 7 Li イオン輸率の測定

図 14(a),(b)に $\text{Li}|(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}|\text{Li}$ 対称セルの 333K におけるナイキストプロットを示す。 1.59kHz 及び $159\mu\text{Hz}$ に頂点周波数を持つ 2 つの半円弧が得られた。高周波領域の円弧は、時定数の周波数が図 8 で示した電解質/Li 界面抵抗の時定数の周波数と同程度の周波数帯に位置することから、電解質/Li 間の Li 移動反応に起因する抵抗成分に帰属できると考えられる。低周波領域の半円は、 $(1-x)\text{P}(\text{EO}/\text{PO})/\text{LiTFSA}-x\text{LLZO}$ 内部の Li イオン拡散に起因する拡散抵抗であると考えられる。 $x=0$ の電解質では、高周波数領域の半円が左右対称のスペクトルであるが、LLZO 組成の増大とともに高周波数領域の円弧の形状が、伸長し左右非対称な半円へと変化した。これは Fig.7(a)~(c)で得られた結果と一致する。図 14(b)の高周波領域のスペクトルは図 15 及び 16 に示す等価回路を用いてフィッティングを行った。

低周波領域の半円は、 R_b 及び電解質/Li 界面抵抗を一つの抵抗成分 $R_{b+\text{Li}}$ とみなし、図 17 に示す等価回路を用いてフィッティングを行った。

ここで、 $R_{b+\text{Li}}$ は電解質の bulk 抵抗及び電解質/Li 界面抵抗の合計値、 $Q_{\text{diff}}, Z_{\text{diff}}$ はそれぞれ電解質内部の Li イオンの拡散に起因する容量成分及び拡散抵抗である。 Li イオン輸率 $t_+[-]$ は $R_b[\Omega], Z_{\text{diff}}[\Omega]$ を用いて、式 4 で算出した。

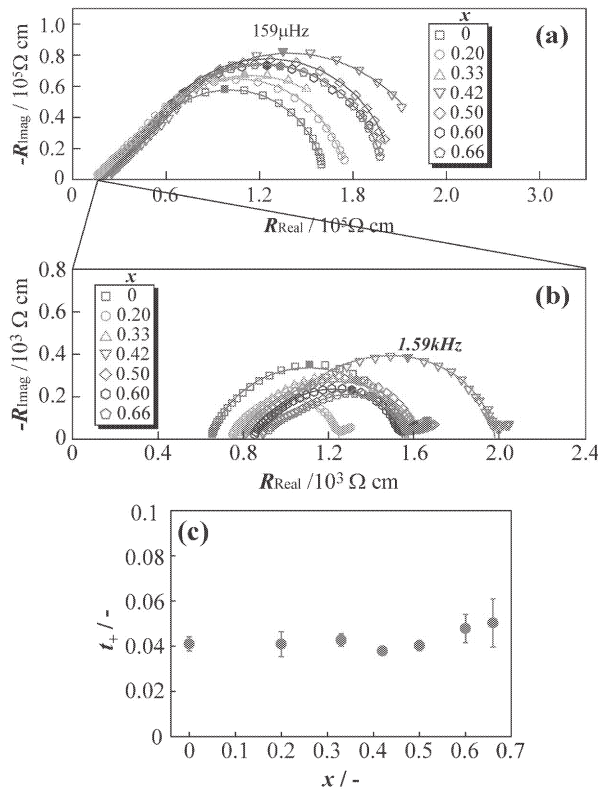


Fig. 14 Cole-Cole plots of [Li | P(EO/PO)/LiTFSA-LLZO | Li] symmetrical cells at 333.15 K (a), (b), and dependences of the Li⁺ transport number of P(EO/PO)/LiTFSA-LLZO composite electrolytes on *x* (c).

$$t_+ = \frac{R_+}{R_+ + R_-} = t_+ = \frac{1}{1 + \frac{R_-}{R_+}} = \frac{1}{1 + \frac{Z_d(0)}{R_b}} = \frac{R_b}{R_b + Z_d(0)} \quad (4)$$

イオン輸率と LLZO 濃度の関係を図 14(c)に示す。P(EO/PO)/LiTFSA の Li イオン輸率は 0.04 と非常に低い値を示した。(1-*x*)P(EO/PO)/LiTFSA-*x*LLZO の Li イオン輸率は LLZO 濃度の増大によらず、P(EO/PO)/LiTFSA と同程度の値を示した。この結果は、LLZO 濃度の高い組成であっても系の Li イオン輸率は変化しないことを示しており、(1-*x*)P(EO/PO)/LiTFSA-*x*LLZO の Li イオン伝導が、ポリマー相で律速していることを示唆している。この結果は、(1-*x*)P(EO/PO)/LiTFSA-*x*LLZO のイオン伝導度が LLZO 濃度に依存せず、P(EO/PO)/LiTFSA (*x*=0) と極めて近いイオン伝導度を示すことと一致する。

4. まとめ

ポリマー系高分子固体電解質と酸化物系無機固体電解質の立方晶 Li₇La₃Zr₂O₁₂を複合し、ポリマー系 LLZO 複相固体電解質をソリューションキャスト法により作製し、500μm 以下の薄膜状態において、室温で高い自立成形性を有する固体電解質の作製に成功した。

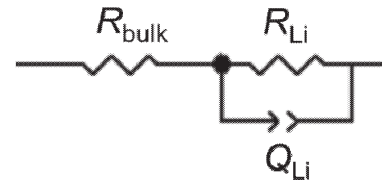


Fig. 15 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 14(a) and (b) (*x*=0-0.66).

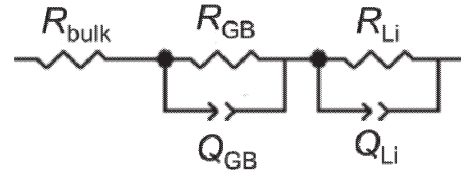


Fig. 16 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 14(a) and (b) (*x*=0.66).

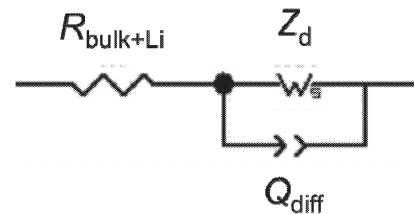


Fig. 17 Equivalent circuit of fitting process for Fig. 14(a) and (b) (*x*=0-0.66) at low-frequency region.

EIS 測定により推定されたポリマー/LLZO 複相固体電解質の Li イオン伝導機構モデルを図 18 に示す。SEM 測定の結果から、LLZO の複相化によって、ポリマー内で局所的な LLZO のパーコレーション相が示唆された。Li/Li 対極セルを用いた電気化学的インピーダンス分光測定より、ポリマー/LLZO 複相固体電解質において、LLZO の粒界抵抗に起因する円弧が電解質のバルク抵抗と Li/電解質界面の電荷移動抵抗の中間の周波数帯に明確に確認されたため、Li イオンは LLZO 相とポリマー相の両相を伝導していると考えられる。また、LLZO の σ 及び Li イオン輸率 (t_+) はポリマー系高分子固体電解質に比べ極めて高いことから (σ_{LLZO} , 25°C = 10⁻³~10⁻⁴S/cm, σ_{PEO} , 25°C = 10⁻⁶S/cm, t_{+LLZO} = 1, t_{+PEO} = 0.1~0.3)、Li カチオンは、ポリマー相よりも LLZO 相を

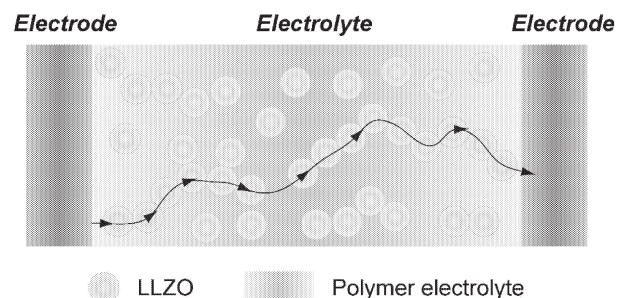


Fig. 18 Schematic of the Li⁺ conduction mechanism of P(EO/PO)/LiTFSA-LLZO composite electrolytes.

優先的に伝導すると考えられる。両者の活性化エネルギーの比較により、低温ほどこの傾向は顕著であると考えられる。イオン伝導度が P(EO/PO)/LiTFSA と極めて近い値を示したことからリチウムイオン輸率が LLZO 濃度の依らずほぼ一定の値であることから、系の Li イオン伝導がポリマー相で律速していることが示唆された。高 Li イオン伝導を有するポリエーテル / LLZO 複相固体電解質実現のためには、LLZO の組成をより高濃度化する必要があると考えられる。また、ポリエーテル/LLZO 複相固体電解質の Li/電解質界面抵抗が複相前と比べ低下したことが確認され、複相前と比べ、より安定な界面の形成が示唆された。なお、本報告書では粒界を有する Li 伝導性電解質を用いた複相電解質の結果[4]、[5]を詳細に述べたが、2019 年度の予想以上の進捗により Na 伝導性電解質を用いた複相電解質の基礎物性及び Na-S 電池など多様な電池系の動作実証[6]、非晶性電解質を用いた複相電解質の粒界影響の消失効果[7]なども重要な知見として得られた。2020 年度で終了する本プロジェクト課題の最終報告時には、これらの結果を総合的に取りまとめる予定である。

謝辞

本研究の実験および考察を担当した大学院修士課程修了生の加藤 優輝君 (2019 年度修了)、平岡 鉦次君 (2019 年度修了)、大学院修士課程の鈴木 七彩萌さん、高分子材料のご提供をいただいた第一工業製薬 (株)、無機電解質材料をご提供いただいた (株) 豊島製作所にそれぞれ謝意を表します。

参考文献

- (1) S. Seki, *Chem. Select*, 2017, **2**, 3848–3853.
- (2) R. Murugan, V. Thangadurai, W. Weppner, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2007, **46**, 7778–7781.
- (3) F. Langer, M. S. Palagonia, I. Bardenhagen, J. Glenneberg, F. L. Mantia, R. Kun, *J. Electrochem. Soc.*, 2017, **164**, A2298–2303.
- (4) M. Kato, K. Hiraoka, S. Seki, *J. Electrochem. Soc.*, 2020, **167**, 070559.
- (5) 平岡 鉦次, 加藤 優輝, 関 志朗, 全固体電池の界面抵抗低減と作製プロセス、評価技術 (技術情報協会), 2020, 70–74.
- (6) K. Hiraoka, M. Kato, T. Kobayashi, S. Seki, *submitted*, 2020.
- (7) N. Suzuki, K. Takahashi, M. Kato, K. Ohara, K. Fujii, S. Seki, *in preparation*, 2020.

キチン・キトサン・哺乳類キチナーゼの医薬工領域への新展開

工学院大学 先進工学部 生命化学科 小山文隆

東京薬科大学 薬学部 免疫学教室 大野 尚仁, 山中 大輔

東京薬科大学 薬学部 病原微生物学教室 野口 雅久, 輪島 文明

New development of research discipline on chitin, chitosan and mammalian chitinases in medicine, pharmacy and engineering

Fumitaka Oyama: Department of Chemistry and Life Science, School of Advanced Engineering, Kogakuin University

Naohito Ohno and Daisuke Yamanaka: Laboratory for Immunopharmacology of Microbial Products, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

Norihisa Noguchi and Takeaki Wajima: Department of Microbiology, School of Pharmacy, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences,

ABSTRACT : Commercially available porcine pepsin preparations have been used for production of chitoooligosaccharides with various biomedical activities. However, the reason for this activity is not well understood. Here we show that the chitosanolytic activity originates from residues of truncated forms of acidic chitinase (Chia) persisting in the pepsin preparation. Chia is an acid-stable and pepsin-resistant enzyme degrades chitosan to produce chitoooligosaccharides. We found that Chia can be truncated by pepsin under stomach-like condition. Similarly to the full-length protein, truncated Chia as well as the pepsin preparations degraded chitosan with degree of deacetylation (DD: 69-84%) and produced similar products. The efficiency was DD-dependent with a marked decrease in higher DD. We suggest that natural or recombinant porcine Chia are suitable for producing chitoooligosaccharides for biomedical purposes.

1. はじめに

キチンは、*N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) が β -1,4 結合した重合体で、甲殻類や昆虫の外骨格、寄生虫のマイクロフィラリア鞘、真菌の細胞壁の主要構成成分である¹⁻³。

キトサンは、キチンの部分的な脱アセチル化体で、D-glucosamine (GlcN) と GlcNAc のヘテロポリマーである。自然界では、この重合体は部分的に脱アセチル化している。「キトサン」は、GlcN/GlcNAc の様々な割合からなるポリマーを意味する。

酸性キチナーゼ（以後「Chia」と表記する；また酸性

ほ乳類キチナーゼ「AMCase」としても報告されている）は、50 kDa の酵素であり、主に胃で発現し、キチンの β -1,4 結合を切断する⁴⁻⁸。最近、我々は、Chia が、マウス、ニワトリ、ブタ、コモンマーモセットの消化器系条件下で、プロテアーゼ耐性の糖質分解酵素として機能することを報告した⁹⁻¹²。我々は Chia をキチンクロマトグラフィーから尿素または酢酸で溶出することで精製する方法も確立した^{11,13}。精製 Chia は、ブタの消化器系条件下において、(GlcNAc)₂ を生成した¹³。

キトオリゴ糖は、GlcN と GlcNAc を含むホモまたはヘテロオリゴマーである。それらは、抗菌¹⁴、コレステ

ロール低下¹⁵、抗炎症¹⁶、抗腫瘍効果¹⁷、ドラッグデリバリー¹⁸、カルシウムと鉄の吸収の加速¹⁹などの生物医学的な幅広い効果を持つことから注目されている。

キトオリゴ糖は、酸加水分解や酵素分解などで調製されてきた^{20,21}。酵素的調製法は、安全性とプロセスコントロールが容易であることから、産物の価値を高める²²。キトサナーゼに加えて、非特異的酵素であるセルラーゼやリパーゼ、プロテアーゼ、がキトオリゴ糖の調製に用いられてきた²²⁻²⁴。これまで、市販のブタペプシン標品はキトサナーゼ活性を持つことが報告されてきた^{22,25-27}が、この活性の理由はよく分かっていない。

我々は、この理由が、ブタの短縮型 Chia の活性によることを見出した。また、Chia は胃の条件下でペプシンによって切断されることを示した。さらに、完全長および短縮型 Chia とペプシン標品が、同等のキトオリゴ糖を生成することを明らかにした。

2. 実験材料と方法

研究で用いたペプシン標品. 本研究では、Sigma-Aldrich (P7012 および P7125), Tokyo Kasei Kogyo (9001-75-6), Promega (V1959), FUJIFILM-Wako Pure Chemical Co. (165-18711) のペプシン標品を使用した。精製ペプシン A (Pep A, 2 回結晶化, LS003319) は、Worthington Biochemical Co. から購入した。

キトサンおよび α - あるいは β - 結晶性キチン基質のペプシン標品による分解. キトサン [脱アセチル化度 (degree of deacetylation, DD) 80%, キトサン 100, FUJIFILM-Wako Pure Chem. Co.] およびエビ殻キチン由来の α -キチン (Sigma-Aldrich) を用いた。イカ由来の β -キチンは Katakura & Co-op Agri Corporation から提供された。前述のように、元素分析で DD を決定した²⁰。

キトサン、 α - または β - 結晶性キチン (1 mg/mL) は、ペプシン標品 (P7012, Sigma-Aldrich) (0.5 mg/mL) または Pep A (0.5 mg/mL), McIlvaine buffer (pH 4.0) を含む 50 μ L 溶液中で、37°C で 16 時間インキュベートした。生成したキチン断片は、FACE 法^{28,29}で分析した。

キチナーゼ活性測定. キチナーゼ活性は人工基質 4-NP-(GlcNAc)₂ を用いて前述の方法に従い測定した³²。1 酵素ユニット (U) は、Gly-HCl buffer (pH 2.0) 中、1 時間に 1 μ mol の 4-nitrophenol が 4-NP-(GlcNAc)₂ から遊離する量と定義した。至適 pH および温度の決定のための酵素反応は前述³⁰のように、50 μ L 溶液で行った。

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) およびウエスタンブロット (WB). 得られたタンパク質画分は、SDS-PAGE に続いて、CBB 染色または一次抗体にブタ N-末 Chia (rabbit)¹²、マウス C-末 Chia (rabbit) またはブタペプシン抗体 (donkey) 、さらに、二次抗体に

ペルオキシダーゼ複合型ウサギ IgG (H+L) またはヤギ IgG (H+L) 抗体を用いた WB によって解析した。抗体反応したプロットは、Luminescent Image Analyzer で、製作者の操作法に従い解析した。

ペプシン活性. ペプシンの活性は、以前報告された手法で、ウシ血清アルブミンを基質に用いて測定した⁹。

ペプシン標品または Pep A によるキトサンの分解. キトサン基質 (1 mg/mL) は全量 50 μ L 中、ペプシン標品または Pep A (0.5 mg/mL) とともに McIlvaine's buffer (pH 4.0), 37°C, 16 時間反応させた。生成したキチン断片は上述のように解析した。

ブタの胃組織. 6 か月齢の雄ブタの胃組織はフナコシ社から購入した。この組織は、屠殺後解剖され、速やかにドライアイスで凍結後、-80°C で保存した。

ブタ Chia の精製. 天然 Chia は、ブタの胃組織から、キチンビーズカラムを用い、0.1 M 酢酸によって溶出することで精製した¹³。溶出した酵素は TS buffer で平衡化した PD10 によって中和および脱塩処理した。

タンパク質濃度は、ブラッドフォード法によって決定した。ウシ血清アルブミンをスタンダードに用いた。

ペプシン標品中の短縮型 Chia の検出. ペプシン標品中でのブタ Chia の存在を検討するため、標品または Pep A (0.5 μ g) をトリプシン・キモトリプシン (0.5 μ g) と共に pH 7.6, 10 分間インキュベートした。インキュベート後、プロテアーゼ阻害剤を加え、WB によって解析した。

ブタ Chia および短縮型ブタ Chia 組換えタンパク質の調製. ブタ Chia の完全長、触媒ドメイン (CatD) または短縮型 CatD を Protein A (PA) および V5-His の融合タンパク質として発現させた。pEZZ18/PA-ブタ Chia-V5-His はすでに報告したように調製した³²。

Chia のコード領域は、完全長ブタ Chia の発現プラスミド DNA (pEZZ18/pre-PA-ブタ Chia-V5-His) から、前述³⁰のようにオリゴヌクレオチドプライマーを用いて増幅した。各増幅 DNA は EcoRI および XhoI で切断後、pEZZ18 発現ベクターにサブクローニングした。目的のプラスミド DNA (pEZZ18/ PA-CatD, pEZZ18/ PA-CatD Δ 21 あるいは PA-CatD Δ 46) の配列は、シーケンスによって決定した。PA-Chia, PA-CatD, PA-CatD Δ 21 および PA-CatD Δ 46 組換えタンパク質の調製は、すでに報告された手法で行った³⁰。

異なる DD キトサンの Chia と短縮型およびペプシン標品による分解. 不均一に脱アセチル化された DD 69%, 73%, 84%, 95% のキトサン (ブロック型キトサン) はフナコシ社から提供された。キトサン基質 (1 mg/mL) は完

全長または短縮型 Chia, PA-Chia, PA-CatD あるいはペプシン標品 (50 μU) を含む 50 μL 中でインキュベートした¹¹。

統計解析. 生化学データはスチューデント t 検定で比較した。統計分析のために実験を 3 回繰り返した。

3. 結果

ペプシン標品によるキトサンの分解. 市販ブタペプシン標品はキトサンをキトオリゴ糖へと分解する^{22,25-27}。このことは、ペプシンがキトサナーゼ (キトサン分解) 活性を持っていることを示唆している。しかし、これは理解しがたい仮説でもあった。したがって、我々は、最初にこの活性の本体を検討した。

我々は、ペプシン標品中のキトサン分解活性を評価するため、キトサン (脱アセチル化度, DD 80%) や、 α - または β -キチン (それぞれ, DD 2% または 10%) をペプシン標品 (Sigma-Aldrich, P7012) または精製ペプシン A (Pep A, Worthington) を pH 2.0 または pH 4.0 で作用させた。

ペプシン標品はキトサンを分解し、(GlcNAc)₃ と同等の移動度の主要産物に加えて、(GlcNAc)₆ よりも長鎖のキトオリゴ糖を生成した (図 1a)。予想外にも、ペプシン標品は、 α -キチンを分解し、(GlcNAc)₂ を生成した (図 1a)。ペプシン標品は、 β -キチンから、(GlcNAc)₂ および (GlcNAc)₃₋₆ を生成した (図 1a)。

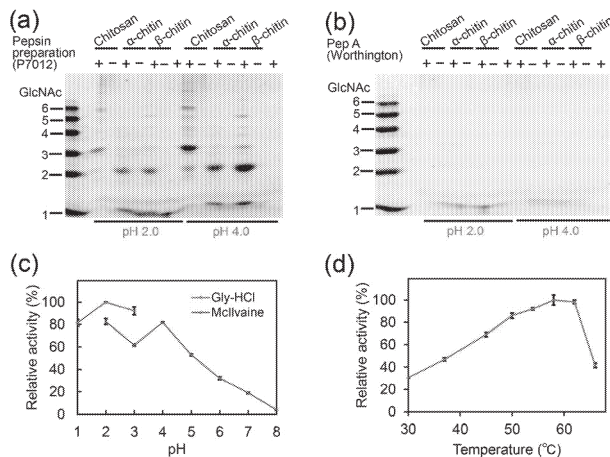


図 1. ペプシン標品はキトサン分解活性と同様にキチン分解活性を持つ。80% DD キトサン、 α - または β -キチンを (a) ペプシン標品 (P7012) または (b) Pep A と共に pH 2.0 または pH 4.0 下で反応後、分解産物を FACE によって解析した。ペプシン標品中のキチナーゼ活性の (c) 至適 pH または (d) 至適温度は 4-NP-(GlcNAc)₂ を用いて測定した。

他方、精製された Pep A は全ての基質に対して作用しなかった (図 1b)。これらの結果は、ペプシン標品がキトサン分解活性およびキチン分解活性を有する可能性があることを示しており、ペプシン以外の分子がこれらの活性に関与していることを確認した。

我々は、キチン分解活性の測定に広く用いられてい

る合成基質 4-NP-(GlcNAc)₂ を用いて、ペプシン標品中のキチナーゼ活性のさらなる解明を行った。標品中のキチン分解活性は、0.1 M Gly-HCl (pH 1.0-3.0) または McIlvaine 緩衝液 (pH 2.0-8.0) の異なる pH で測定した。最も高い活性は、0.1 M Gly-HCl buffer の pH 2.0 で検出された。McIlvaine buffer では、pH 2.0-5.0 で高い酵素活性が観察され、pH 2.0 と pH 4.0 でピークになり、酸性度の低い環境 (pH 6.0-8.0) では徐々に減少した (図 1c)。以前にブタ Chia の最適 pH は 2.0-4.0 と報告されている¹¹。

酵素活性に対する温度の影響は、pH 2.0 の 0.1 M Gly-HCl buffer を用い、30-64°C の範囲で、30 分間で測定した。ペプシン標品の反応速度は、温度の上昇とともに徐々に増加し、58°C で最大に達した後、急激に減少し (図 1d)、ブタ Chia¹¹ に見られるパターンと一致した。

ペプシン標品におけるプロテアーゼ耐性をもつ短縮型ブタ Chia の検出. 我々はブタ Chia が胃で高く発現し、プロテアーゼ耐性を持ち、pH 2.0-4.0 および 58°C に最大活性をもつことを示した¹¹。

我々は、ペプシン標品中のキトサン分解活性が、残存していた Chia に起因する可能性を考えた。この可能性を検証するため、P7012 ペプシン標品を pH 7.6 でトリプシンおよびキモトリプシンとともに 10 分間インキュベートし、SDS PAGE で解析した。予想通り、ペプシンはこの処理後に分解された (図 2a と b)。しかし、Chia は処理後も存在していた (図 2c)。

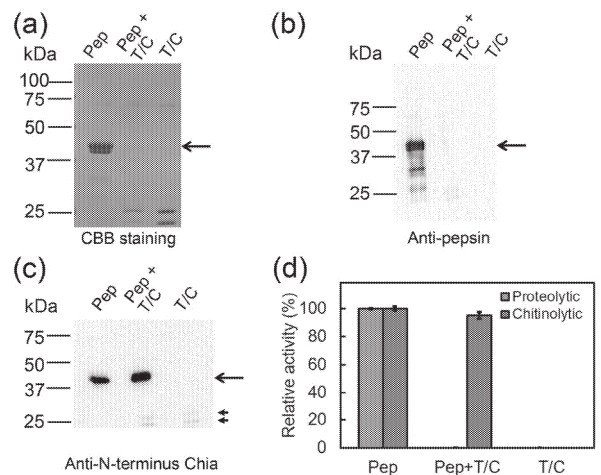


図 2. 切断されたブタ Chia の検出とそのキチン分解活性。ブタペプシン標品 [P7012 (Pep)] はトリプシン/キモトリプシン (T/C) と共に、pH 7.6, 37°C で 10 分間反応した。(a) CBB 染色による全タンパク質の解析、(b) ブタペプシン抗体または (c) ブタ N 末 Chia 抗体を用いた WB。特定のバンド (矢印で表示) は、トリプシン/キモトリプシンと抗体の交差反応である可能性を示す。(d) ペプシン標品中にお WB けるトリプシン・キモトリプシン処理の有無におけるキチナーゼ活性は pH 2.0 で測定した。

ペプシン標品中の活性をさらに評価するために、Chia の N 末端に対する抗体を使用して WB に供し、Chia の存在を確認した (図 2c, 最初のレーン)。

トリプシン/キモトリプシン処理の機能的効果を分析するため、pH 2.0 でのペプシン標品のタンパク質分解活性およびキチン分解活性を測定した。両方の活性は未処理のペプシン標品で検出されたが、キチン分解活性のみが処理後も残っていた (図 2d)。これらの結果は、ペプシン標品中のキトサン分解活性が、切断されたブタ Chia のキチン分解活性によることを示唆している。

キトサンの分解効率は、ブタのペプシン標品によって異なる。ペプシン標品中の短縮型ブタ Chia のキチン分解活性をより詳細に評価するため、基質として 4-NP-(GlcNAc)₂ を用いて、さまざまな会社の 5 つのブタペプシン標品 [Sigma-Aldrich P7012 (S1) および P7125 (S2)], Tokyo Kasei Kogyo (T), Promega (P), FUJIFILM-Wako Pure Chem (F), Pep A を解析した (図 3a)。

S1, S2, および T の調製物で高いキチン分解活性が観察された (図 3a)。一方、他の 2 つの製剤 (P および F, これらの活性は S1 の 200 倍) からわずかな活性が検出され、Pep A からは S1 の 900 倍弱い活性が観察された (図 3a)。

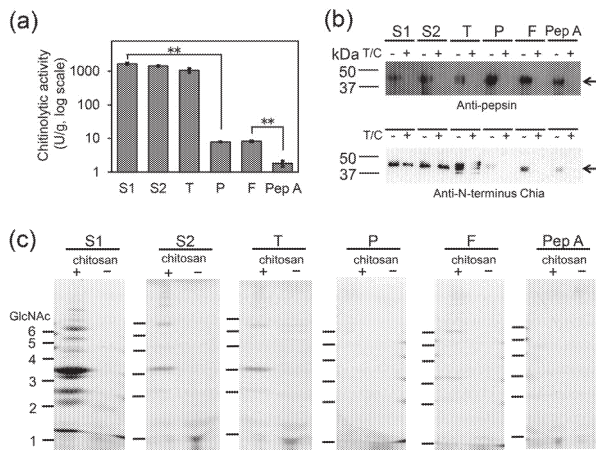


図 3. 6 種類のブタペプシン標品におけるキチン分解活性およびキトサン分解活性。(a) 5 つのブタペプシン標品: P7012 (S1), P7125 (S2), T, P, F あるいは Pep A におけるキチナーゼ活性。(b) ブタペプシン抗体 (上) およびブタ N 末 Chia 抗体 (下) を用いた WB。(c) 80% DD キトサンを 5 つのペプシン標品と pH 4.0 下で反応後に生成した産物を FACE で解析した。

次に、ペプシン標品と Pep A をトリプシンとキモトリプシンで処理し、SDS-PAGE で分析し、続いてブタペプシンまたはブタ Chia 抗体を用いた WB で分析した (図 3b)。ペプシンの抗体反応性は、トリプシンおよびキモトリプシン処理後に失われた (図 3b)。これに対し、プロテアーゼ処理後も、S1, S2, および T のペプシン標品で 45 および 40 kDa の Chia が検出された (図 3b)。

試験したペプシン標品または Pep A を、pH 4.0 で終濃度 0.5 mg/mL のキトサン (DD 80%) とインキュベートした。分解産物は、非常に低レベル (pmol 量) のキトオリゴ糖を分離および検出する FACE 法によって分析した^{28,29}。FACE 陽性のオリゴ糖が S2 および T の標品で検出されたので、これらのペプシン標品は前処理を

行った。標品 S1, S2, T および F はキトサンを分解し、(GlcNAc)₆ および (GlcNAc)₂₋₆ より長鎖のキトオリゴ糖を生成した (図 3c)。一方、P および Pep A は分解しなかった (図 3c)。したがって、各ペプシン標品のキチン/キトサン分解活性は、切断型ブタ Chia の有無に応じて変化した。

ブタ Chia はペプシンによって生理的に切断される。

Chia は、触媒ドメイン (CatD) とキチン結合ドメイン (CBD) で構成されている。マウスとニワトリの CatD は、キチン分解活性とキチン結合活性を示す^{13,30}。CatD がブタの胃環境下で生成し得るかどうかを調べるため、精製ブタ Chia^{11,13} を Pep A とともに、胃における Chia とペプシンの mRNA レベルの発現比に相当する 1:20 の比率でインキュベートした。6 時間のインキュベーションは、pH 2.0 および 37°C で行った。

抗ブタ N 末端 Chia 抗体を使用した WB 分析により、1 時間のインキュベーション後すぐに、完全長 Chia (52 kDa) に加え、40 および 45 kDa のバンドが認められた。6 時間インキュベーションすると、完全長のタンパク質はほとんど認められなかった (図 4b)。

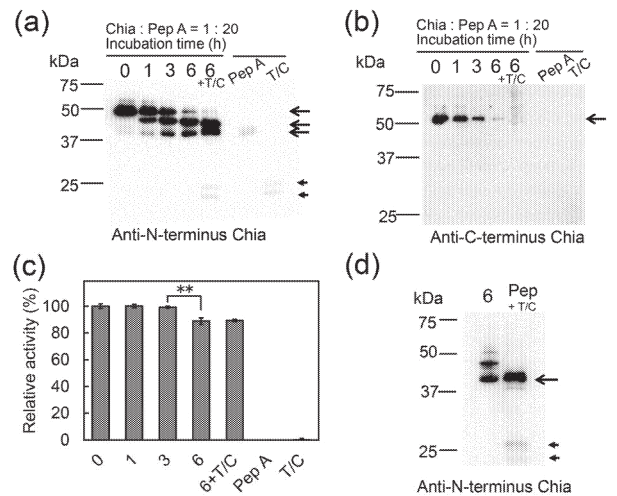


図 4. ブタ Chia はペプシンによって生理的に切断される。ブタの胃組織から精製した Chia タンパク質は、Pep A とともに、pH 2.0, 37°C で 0, 1, 3, 6 時間反応させた。6 時間の反応後、サンプルはトリプシン・キモトリプシン(T/C) と共にさらに pH 7.6 で 10 分間処理した。(a) ブタ N 末抗体または (b) マウス C 末 Chia 抗体を用いた WB。(c) トリプシン・キモトリプシン処理の有無における Chia のキチナーゼ活性は pH 2.0 で測定した。

抗マウス C 末端 Chia 抗体は、完全長タンパク質のみを検出し、インキュベーション時間が長くなるにつれ、シグナルが減少した。これらの結果は、ペプシン耐性の 40 および 45 kDa バンドが完全長または短縮型の CatD であるのに対し、CBD は Pep A によって分解されたことを示した。

Chia の安定性をさらに評価するため、pH 2.0 でタンパク質を Pep A とともに 6 時間インキュベートし、その後、トリプシンおよびキモトリプシンと共に、pH 7.6, 10 分間インキュベートした。切断された Chia タンパク

質は、抗 N 末端 Chia 抗体によって検出され (図 4a, レーンの 6+T/C), 完全長 Chia に匹敵するキチン分解活性を有していた (図 4c)。

Fu らは、ブタペプシン標品から分子量 40-47 kDa の 3 つのキトサナーゼバリエントを精製した²⁵。今回我々は、ペプシン標品中の Chia 免疫反応性は、ブタ Chia の C 末端切断型のものと同サイズが類似していることを示した (図 4d)。

これらの結果は、ブタ Chia がペプシンによって C 末端側で切断されたことを示している。CatD タンパク質は、依然として優れたプロテアーゼ耐性を持ち、ペプシン標品でもキチン分解活性を有していた (図 4c)。我々の結果に基づき、報告されたキトサナーゼバリエントは、ペプシン標品中の短縮型 Chia である可能性を強く示唆した。

短縮型 Chia の特徴付け。次に、切断されたブタ Chia のサイズとキチンおよびキトサンに対する分解活性との関係を調べた。ExPASy PeptideCutter によるブタ Chia の予測ペプシン切断部位に従って、短縮型 Chia 組換えタンパク質を作製した。

CatD (pEZZ18 / PA-CatD) または CatD の短縮型 (pEZZ18 / PA-CatDΔ21) を構築した。これらはそれぞれ、図 4a および 図 4d で検出された 40 および 45 kDa のバンドに対応する。CatD の C 末端をさらに切断した分子 (pEZZ18 / PA-CatDΔ46) も構築した。

完全長 Chia, CatD, CatDΔ21 および CatDΔ46 は、プロテイン A (PA) および V5-His との組換え融合タンパク質 (図 5a) として大腸菌で発現し、精製した。最初に組換えタンパク質を α-キチンとインキュベートし、分解産物を FACE で分析した。

完全長 Chia, CatD および CatDΔ21 は、α-キチンを分解して (GlcNAc)₂ を生成した (図 5b)。結晶性 β-キチンに関しては、完全長 Chia, CatD および CatDΔ21 は (GlcNAc)₂ および (GlcNAc)₃₋₆ を生成したが、CatDΔ46 は分解しなかった (図 5c)。

完全長 Chia, CatD および CatDΔ21 はキトサンを分解し、短いキトオリゴ糖に加えて (GlcNAc)₆ も生成した (図 5d)。CatDΔ46 はどの基質にも作用しなかった。これらの結果は、CatD の C 末端から 46 アミノ酸のさらなる欠失がキチン分解活性の損失を引き起こしたのに対し、Chia における CBD の欠如はキチンおよびキトサン分解活性に影響を与えなかったことを示す。

これらの結果は、触媒ドメインに保存されている 6 つのシステイン³¹のうち少なくとも 5 つが、キチン分解活性またはキチン/キトサン基質認識に必要な三次構造を維持するのに必須であることを示唆した。

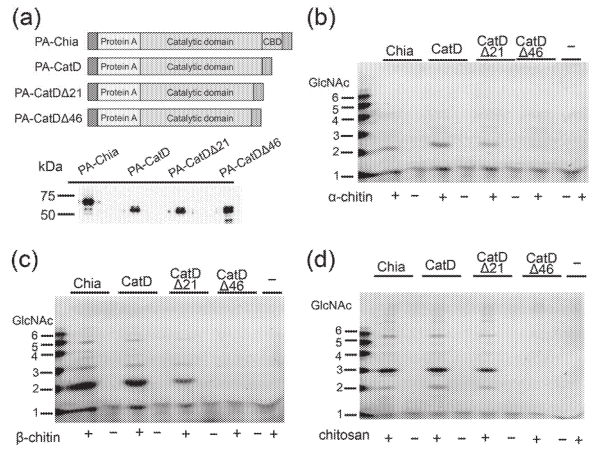


図 5. Chia の完全長とその短縮型は、同等のキチンおよびキトサン分解能力を持つ。(a) Protein A-full-length Chia またはその短縮型と V5-His との融合タンパク質の模式図。(上) および V5 抗体を用いた組換えタンパク質の WB 解析 (下)。

ブタ Chia およびその短縮型ならびにペプシン標品は、同等のキトオリゴ糖を産生した。キトオリゴ糖は、さまざまな生理活性のために注目を集めている。ブタペプシン標品により調製された低分子量キトサンも抗菌活性を示したことが報告されている²⁶。化学的調製法と比較して、キトオリゴ糖の酵素的調製には、特異性、温和性、制御のしやすさ、廃水が少ないこと、反応物の分離が容易である、などのいくつかの利点がある。

最後に、天然または組換え Chia タンパク質と最も活性の高いペプシン標品 (S1, P7012) によるキトサンからの分解生成物を比較した。

DD が異なるいくつかのキトサン基質 (DD 69%, 73%, 84% および 95%) をブタ Chia, その短縮型, PA-Chia, PA-CatD または方法に記載されているペプシン標品とインキュベートし、FACE によって生成物を分析した。

DD が 69%, 73%, 84% のキトサン基質は、(GlcNAc)₂₋₂₀ まで分解された。分解パターンはすべての酵素で類似していた (図 6a-d)。

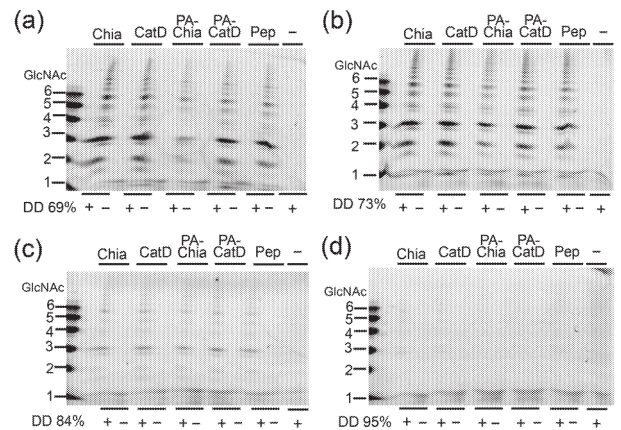


図 6. Chia の完全長およびその短縮型およびペプシン標品は、同等のキトオリゴ糖を生成する。幅広い DD のキトサン [(a) 69%, (b) 73%, (c) 84% および (d) 95%] は、完全長 Chia (Chia), 短縮型 Chia (CatD), PA-Chia, PA-CatD またはペプシン標品 (Pep) と共に、pH 4.0 で反応させ、分解産物は FACE によって解析した。

キトサンの DD が増加すると切断効率は低下し、DD 95% では分解が確認できなかった (図 6a-d)。これらの結果は、ペプシン標品中のキトサン分解活性は、キトサンを分解する可能性のある短縮型 Chia のキチン分解活性によるものであることを示している。

4. 考察

ペプシン標品のキトサン分解特性は、ブタ Chia およびその C 末領域切断型の特性とよく一致した。したがって、ペプシン標品で観察されるキトサン分解活性は、ブタ Chia の活性断片 (CatD) に由来する。

大腸菌組換えブタ Chia CatD の機能特性は、完全長 Chia と一致していた。精製ペプシンとのインキュベーションによって得られた天然型ブタ CatD は、キチンとキトサンに対する分解活性が完全長 Chia と同等であった。

この活性は、CatD からさらに 24 アミノ酸を削った短縮型でも保持していたが、46 アミノ酸を欠損した CatD では不活性化した。これらの結果は、触媒ドメインに保存されている 6つのシステイン³¹のうち少なくとも 5つが、キチナーゼ活性また/あるいはキチン/キトサン基質認識に必要な正しい立体構造を維持するのに必須であることを示している。

DD 69-84% のキトサン基質は、ブタ Chia およびペプシン標品によって分解された。この場合、キトサンの DD が増加すると分解効率は低下し、DD 95% キトサンは、ほとんど分解されなかった。これらの結果は、Chia がいわゆる「キトサナーゼ」活性を保持していなかったことを示唆する。ブタ Chia がキトサンをどのように分解するかをさらに検討するため、酵素を (GlcNAc)₅ ならびに (GlcN)₅ および (GlcN)₆ と反応させた。これらの酵素によって、(GlcNAc)₅ は (GlcNAc)₂ と GlcNAc モノマーに完全に分解されたが、両方の GlcN 基質は分解されなかった。これらの結果は、ブタ Chia が GlcN-GlcN 結合を加水分解できず、キトサナーゼとは正反対に作用することを示している³³。したがって、ペプシン標品中のキトサン分解活性は、キチン分解活性によるものである。

キトサン分解活性は、植物由来のパパイン⁴² および細菌由来のプロナーゼ²³ にも見られ、これらのプロテアーゼがタンパク質分解活性とキトサン分解活性の両方を有している可能性があることを示唆していた。しかし、ブタペプシン標品を使用した我々の現在の研究は、プロテアーゼ耐性のキトサン分解酵素が標品中に存在するという別の可能性を強く示唆した。

植物や細菌は、さまざまなタイプのキチナーゼを合成することが知られている。特に、植物はキチン含有病原体からの保護のためにキチナーゼを恒常的に合成する。パパインおよびプロナーゼ標品中のキトサン分解活性の生化学的特性評価を通じて、新しいキチナーゼを見つけることが可能かもしれない。

精製キトサナーゼは高価であるため、本来の特異性とは異なる多くの酵素について、キトサンの加水分解性が検討され、報告されている³⁴⁻³⁶。私たちが知る限り、キトサンを分解できるほ乳類酵素はほとんどない。したがって、天然のブタ Chia またはペプシン標品に存在するキトサン分解活性の使用は、生物医学および食品産業分野での応用が期待されるキトオリゴ糖生産に貢献できる。

5. 結論

市販のペプシン標品は、キトサンをキトオリゴ糖に分解し得る。我々は、ペプシン標品中のキチン分解活性の原因となるプロテアーゼ抵抗性の短縮型 Chia を検出した。Chia およびそのペプシンによる短縮型ならびにペプシン標品は、DD 95%キトサン基質に対する分解活性を有さなかったが、DD 69-84%キトサン基質を同等の効率で分解した。したがって、ブタペプシン標品におけるキトサン分解活性は、短縮型 Chia のキチン分解活性である。ペプシン標品に存在するブタ Chia は、キトサン基質からのキトオリゴ糖の生産に使用できる³⁷。

参考文献

1. Khoushab, F. & Yamabhai, M. Chitin research revisited. *Mar Drugs* **8**, 1988-2012, doi:10.3390/md8071988 (2010).
2. Bueter, C. L., Specht, C. A. & Levitz, S. M. Innate sensing of chitin and chitosan. *PLoS pathogens* **9**, e1003080, doi:10.1371/journal.ppat.1003080 (2013).
3. Van Dyken, S. J. & Locksley, R. M. Chitins and chitinase activity in airway diseases. *J Allergy Clin Immunol* **142**, 364-369, doi:10.1016/j.jaci.2018.06.017 (2018).
4. Boot, R. G. *et al.* Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase. *J Biol Chem* **276**, 6770-6778, doi:10.1074/jbc.M009886200 (2001).
5. Boot, R. G. *et al.* Marked differences in tissue-specific expression of chitinases in mouse and man. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society* **53**, 1283-1292, doi:10.1369/jhc.4A6547.2005 (2005).
6. Ohno, M., Tsuda, K., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. & Oyama, F. Chitinase mRNA levels by quantitative PCR using the single standard DNA: acidic mammalian chitinase is a major transcript in the mouse stomach. *PLoS one* **7**, e50381, doi:10.1371/journal.pone.0050381 (2012).
7. Lee, C. G. *et al.* Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue

- remodeling, and injury. *Annu Rev Physiol* **73**, 479-501, doi:10.1146/annurev-physiol-012110-142250 (2011).
8. Koch, B. E., Stougaard, J. & Spaink, H. P. Keeping track of the growing number of biological functions of chitin and its interaction partners in biomedical research. *Glycobiology* **25**, 469-482, doi:10.1093/glycob/cwv005 (2015).
 9. Ohno, M. *et al.* Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system. *Sci Rep* **6**, 37756, doi:10.1038/srep37756 (2016).
 10. Tabata, E. *et al.* Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry. *Sci Rep* **7**, 6662, doi:10.1038/s41598-017-07146-3 (2017).
 11. Tabata, E. *et al.* Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources. *Sci Rep* **7**, 12963, doi:10.1038/s41598-017-13526-6 (2017).
 12. Tabata, E. *et al.* High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (*Callithrix jacchus*), an insectivorous nonhuman primate. *Sci Rep* **9**, 159, doi:10.1038/s41598-018-36477-y (2019).
 13. Tabata, E. *et al.* Acidic chitinase-chitin complex is dissociated in a competitive manner by acetic acid: purification of natural enzyme for supplementation purposes. *International journal of molecular sciences* **19**, 362, doi:10.3390/ijms19020362 (2018).
 14. Chien, R. C., Yen, M. T. & Mau, J. L. Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells. *Carbohydr Polym* **138**, 259-264, doi:10.1016/j.carbpol.2015.11.061 (2016).
 15. Chiu, C. Y., Feng, S. A., Liu, S. H. & Chiang, M. T. Functional comparison for lipid metabolism and intestinal and fecal microflora enzyme activities between low molecular weight chitosan and chitosan oligosaccharide in high-fat-diet-fed rats. *Mar Drugs* **15**, doi:10.3390/md15070234 (2017).
 16. Qiao, Y., Bai, X. F. & Du, Y. G. Chitosan oligosaccharides protect mice from LPS challenge by attenuation of inflammation and oxidative stress. *Int Immunopharmacol* **11**, 121-127, doi:10.1016/j.intimp.2010.10.016 (2011).
 17. Shen, K. T., Chen, M. H., Chan, H. Y., Jeng, J. H. & Wang, Y. J. Inhibitory effects of chitooligosaccharides on tumor growth and metastasis. *Food Chem Toxicol* **47**, 1864-1871, doi:10.1016/j.fct.2009.04.044 (2009).
 18. Park, J. H., Saravanakumar, G., Kim, K. & Kwon, I. C. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. *Adv Drug Deliv Rev* **62**, 28-41, doi:10.1016/j.addr.2009.10.003 (2010).
 19. Bravo-Osuna, I., Millotti, G., Vauthier, C. & Ponchel, G. In vitro evaluation of calcium binding capacity of chitosan and thiolated chitosan poly(isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Int J Pharm* **338**, 284-290, doi:10.1016/j.ijpharm.2007.01.039 (2007).
 20. Kazami, N. *et al.* A simple procedure for preparing chitin oligomers through acetone precipitation after hydrolysis in concentrated hydrochloric acid. *Carbohydr Polym* **132**, 304-310, doi:10.1016/j.carbpol.2015.05.082 (2015).
 21. Cabrera, J. C. & Cutsem, P. V. Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. *Biochemical Engineering Journal* **25**, 165-172, doi:10.1016/j.bej.2005.04.025 (2005).
 22. Roncal, T., Oviedo, A., Lopez de Armentia, I., Fernandez, L. & Villaran, M. C. High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. *Carbohydr Res* **342**, 2750-2756, doi:10.1016/j.carres.2007.08.023 (2007).
 23. Vishu Kumar, A. B., Varadaraj, M. C., Gowda, L. R. & Tharanathan, R. N. Low molecular weight chitosans--preparation with the aid of pronase, characterization and their bactericidal activity towards *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochim Biophys Acta* **1770**, 495-505, doi:10.1016/j.bbagen.2006.12.003 (2007).
 24. Kumar, B. A. & Tharanathan, R. N. A comparative study on depolymerization of chitosan by proteolytic enzymes. *Carbohydr Polym* **58**, 275-283., doi:10.1016/j.carbpol.2004.07.001 (2004).
 25. Fu, J. Y., Wu, S. M., Chang, C. T. & Sung, H. Y. Characterization of three chitosanase isozymes isolated from a commercial crude porcine pepsin preparation. *Journal of agricultural and food chemistry* **51**, 1042-1048, doi:10.1021/jf020675g (2003).
 26. Kumar, B. A., Varadaraj, M. C. & Tharanathan, R. N. Low molecular weight chitosan--preparation with the aid of pepsin, characterization, and its bactericidal activity. *Biomacromolecules* **8**, 566-572, doi:10.1021/bm060753z (2007).
 27. Gohi, B., Zeng, H. Y. & Pan, A. D. Optimization and characterization of chitosan enzymolysis by pepsin. *Bioengineering (Basel)* **3**, doi:10.3390/bioengineering3030017 (2016).

28. Jackson, P. The use of polyacrylamide-gel electrophoresis for the high-resolution separation of reducing saccharides labelled with the fluorophore 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulphonic acid. Detection of picomolar quantities by an imaging system based on a cooled charge-coupled device. *The Biochemical journal* **270**, 705-713 (1990).
29. Wakita, S. *et al.* Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions. *Carbohydr Polym* **164**, 145-153, doi:10.1016/j.carbpol.2017.01.095 (2017).
30. Kashimura, A. *et al.* Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in *Escherichia coli*. *International journal of molecular sciences* **16**, 4028-4042, doi:10.3390/ijms16024028 (2015).
31. Tjoelker, L. W. *et al.* Structural and functional definition of the human chitinase chitin-binding domain. *J Biol Chem* **275**, 514-520, doi:10.1074/jbc.275.1.514 (2000).
32. Kashimura, A. *et al.* Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein. *PLoS one* **8**, e78669, doi:10.1371/journal.pone.0078669 (2013).
33. Fukamizo, T., Ohkawa, T., Ikeda, Y. & Goto, S. Specificity of chitosanase from *Bacillus pumilus*. *Biochim Biophys Acta* **1205**, 183-188, doi:10.1016/0167-4838(94)90232-1 (1994).
34. Terbojevich, M., Cosani, A. & Muzzarelli, R. A. A. Molecular parameters of chitosans depolymerized with the aid of papain. *Carbohydr Polym* **29**, 63-68, doi:10.1016/0144-8617(95)00147-6 (1996).
35. Sashiwa, H. *et al.* Enzymatic production of N-acetyl-d-glucosamine from chitin. Degradation study of N-acetylchitoooligosaccharide and the effect of mixing of crude enzymes. *Carbohydr Polym* **51**, 391-395, doi:10.1016/S0144-8617(02)00192-3 (2003).
36. Xie, Y., Wei, Y. & Hu, J. Depolymerization of chitosan with a crude cellulase preparation from *Aspergillus niger*. *Appl Biochem Biotechnol* **160**, 1074-1083, doi:10.1007/s12010-009-8559-2 (2010).
37. Tabata *et al.* Residues of acidic chitinase cause chitinolytic activity degrading chitosan in porcine pepsin preparations, *Sci Rep.* **9**. 15609, doi:10.1038/s41598-019-52136-2 (2019).

OPEN

Residues of acidic chitinase cause chitinolytic activity degrading chitosan in porcine pepsin preparations

Eri Tabata^{1,2}, Satoshi Wakita¹, Akinori Kashimura¹, Yasusato Sugahara¹, Vaclav Matoska³, Peter O. Bauer^{3,4} & Fumitaka Oyama^{1*}

Commercially available porcine pepsin preparations have been used for the production of chitoooligosaccharides with various biomedical activities. However, the origin of this activity is not well understood. Here we show that the chitosan-degrading activity is conferred by residues with chitinolytic activity of truncated forms of acidic chitinase (Chia) persisting in the pepsin preparation. Chia is an acid-stable and pepsin-resistant enzyme that degrades chitin to produce *N*-acetyl-D-glucosamine dimer. We found that Chia can be truncated by pepsin under stomach-like conditions while maintaining its enzymatic activity. Similarly to the full-length protein, truncated Chia as well as the pepsin preparations digested chitosan with different degrees of deacetylation (DD: 69–84%) with comparable degradation products. The efficiency was DD-dependent with a marked decrease with higher DD, indicating that the chitosan-degrading activity in the pepsin preparation is due to the chitinolytic activity rather than chitosanolytic activity. We suggest that natural or recombinant porcine Chia are suitable for producing chitoooligosaccharides for biomedical purposes.

Chitin is a polymer of β -1, 4-linked *N*-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc), which is an integral component of the exoskeleton of crustaceans and insects, the microfilarial sheaths of parasites and the cell walls in fungi^{1–3}. Chitosan, a partially deacetylated derivative of chitin, is a heteropolymer of D-glucosamine (GlcN) and GlcNAc residues. In nature, this polymer is partially acetylated, and the term “chitosan” describes a large family of polymers with various GlcN/GlcNAc ratios.

Acidic chitinase (hereafter referred to as “Chia”; also reported as acidic mammalian chitinase, “AMCase”) is a 50 kDa enzyme that is expressed primarily in the stomach tissues and degrades β -1, 4 bonds of chitin^{4–8}. Recently, we showed that Chia functions as a protease-resistant glycosidase under gastrointestinal conditions in mouse, chicken, porcine and common marmoset^{9–12}. Chia can be purified by chitin chromatography by elution with urea or acetic acid^{11,13} and the isolated enzyme produces (GlcNAc)₂ fragments in the porcine gastrointestinal environment¹³.

Chitoooligosaccharides are homo- or heterooligomers containing GlcN and GlcNAc residues. They attracted substantial interest due to their diverse biomedical activities such as anti-microbial¹⁴, hypocholesterolemic¹⁵, anti-inflammatory¹⁶, anti-tumor effects¹⁷, drug delivery¹⁸ and accelerating calcium and iron absorption¹⁹.

Chitoooligosaccharides have been produced by several methods such as acid hydrolysis and enzymatic degradation^{20,21}. Enzymatic preparation methods using mammalian sources have a high potential of enhancing the value of the products due to their safety and simplicity of the process control²². Many nonspecific enzymes, such as cellulases, lipases and proteases as well as chitosanases, have been used to prepare chitoooligosaccharides^{22–24}. Although commercially available porcine pepsin preparations have been shown to possess chitosanolytic activity^{22,25–27}, the origin of such activity has not been well understood.

¹Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University, Hachioji, Tokyo, 192-0015, Japan. ²Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science (DC1), Koujimachi, Chiyoda-ku, Tokyo, 102-0083, Japan. ³Laboratory of Molecular Diagnostics, Department of Clinical Biochemistry, Hematology and Immunology, Homolka Hospital, Roentgenova 37/2, Prague, 150 00, Czech Republic. ⁴Bioinova Ltd., Videnska 1083, Prague, 142 20, Czech Republic. *email: f-oyama@cc.kogakuin.ac.jp

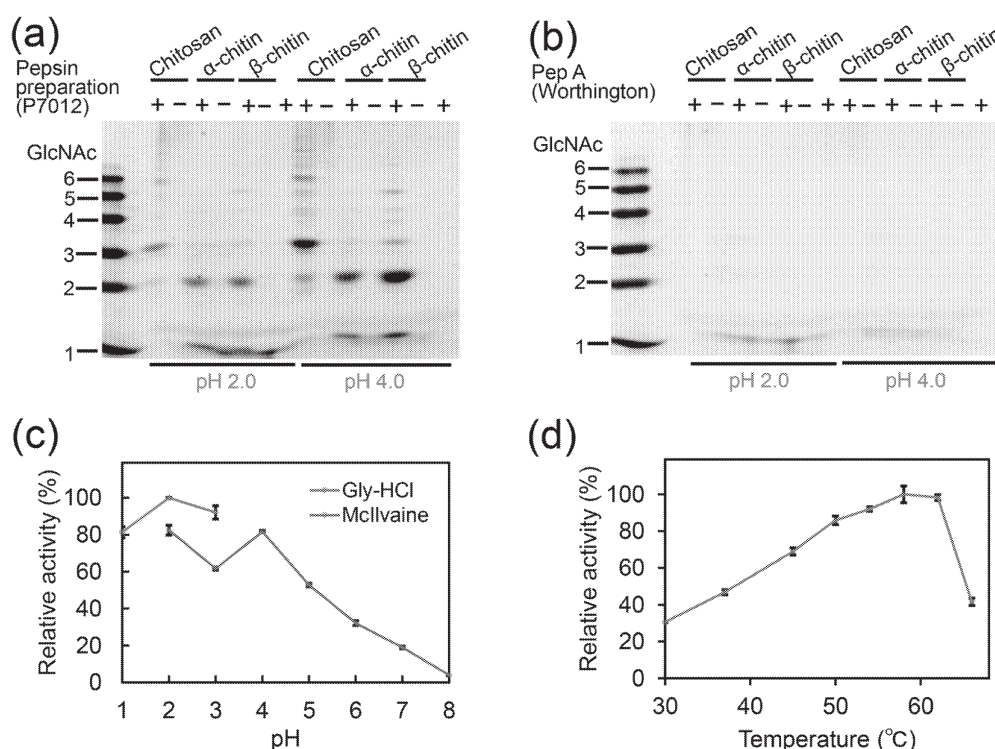


Figure 1. Pepsin preparation P7012 possesses chitinolytic activity as well as chitosan-degrading activity. Degradation products generated by incubation of 80% DD chitosan, α - or β -chitin with (a) pepsin preparation (P7012) or (b) Pep A at pH 2.0 or pH 4.0 were analyzed by FACE. The images of (a,b) were cropped from dotted lines on original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S1. (c) Optimal pH or (d) optimal temperature of the chitinolytic activity in the pepsin preparation was measured with 4-NP-(GlcNAc)₂. Values in (c,d) represent mean \pm SD conducted in triplicate.

We found that this activity results from the presence of fragments of Chia truncated by pepsin under stomach conditions and retaining the chitin/chitosan-degrading activity. Furthermore, full-length and truncated Chia, as well as pepsin preparations, have similar efficacy in terms of the composition of the resulting chitooligosaccharides.

Results

Degradation of chitosan by pepsin preparations. Commercially available porcine pepsin preparations have been shown to degrade chitosan into chitooligosaccharides^{22,25–27}, suggesting that pepsin may have chitinolytic (chitosan-degrading) activity. This being a contra-intuitive hypothesis, we first explored the entity of this activity by exposing chitosan (degree of deacetylation, DD 80%) as well as α - or β -crystalline chitin (DD 2% or 10%, respectively) to a pepsin preparation (Sigma-Aldrich, P7012) or purified pepsin A (Pep A, Worthington) at pH 2.0 or pH 4.0.

The resulting oligosaccharides were analyzed by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) as described in Methods. The pepsin preparation degraded chitosan producing oligomers with mobility similar to (GlcNAc)₃ as well as species longer than (GlcNAc)₆ (Fig. 1a and Supplementary Fig. S1). Unexpectedly, it also degraded α -chitin to produce (GlcNAc)₂ (Fig. 1a). As for β -chitin, the pepsin preparation produced (GlcNAc)₂ and (GlcNAc)_{3–6} (Fig. 1a). These substrates were more efficiently degraded by the preparation at pH 4.0 as compared to pH 2.0 (Fig. 1a).

On the other hand, Pep A did not affect any of the substrates (Fig. 1b and Supplementary Fig. S1). These results indicate that the pepsin preparations may possess chitosan-degrading as well as chitinolytic activity originating from molecules other than pepsin.

We further characterized the observed chitinolytic activity in the pepsin preparation using 4-nitrophenyl *N,N'*-diacetyl- β -D-chitobioside [4-NP-(GlcNAc)₂], a synthetic substrate widely used for measuring such activity. The reactions were performed at different pH in 0.1 M Gly-HCl (pH 1.0–3.0) or McIlvaine's (pH 2.0–8.0) buffers. The highest activity was detected at pH 2.0 in 0.1 M Gly-HCl buffer. In McIlvaine's buffer, high enzymatic activity was observed at pH 2.0–5.0 with peaks at pH 2.0 and pH 4.0 with a gradual decrease in less acidic environments (pH 6.0–8.0) (Fig. 1c). The optimal pH at 2.0–4.0 has previously been described as a characteristic feature of the chitinolytic activity of the porcine Chia¹¹.

The effect of temperature on the enzymatic activity was determined in 0.1 M Gly-HCl buffer at pH 2.0 and temperatures ranging from 30–64 °C using the same substrate for 30 min. The rate of the pepsin preparation-catalyzed

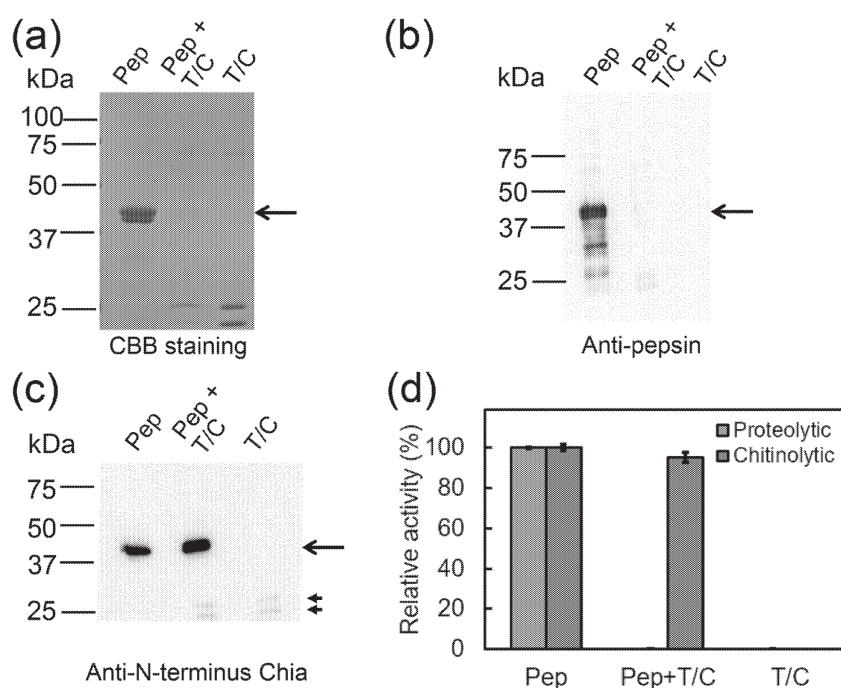


Figure 2. Detection of the truncated porcine Chia and its chitinolytic activity. Porcine pepsin preparation [P7012 (Pep)] was incubated with trypsin and chymotrypsin (T/C) at 37 °C for 10 min at pH 7.6. **(a)** Total protein analysis by CBB staining, WB using **(b)** anti-porcine pepsin antibody or **(c)** anti-porcine N-terminus Chia antibody. The specific bands (shown by arrowheads) may result from cross-reaction of trypsin/chymotrypsin with the antibody. The images of **(a–c)** were cropped from original full-length gel images shown in dotted lines in Supplementary Fig. S2. **(d)** Chitinolytic activities in the pepsin preparation without or with trypsin and chymotrypsin treatment were measured at pH 2.0 as described in Methods. Values in **(d)** represent mean \pm SD from a single experiment conducted in triplicate.

reaction was gradually enhanced with increasing temperature and reached the maximum level at 58 °C, then abruptly decreased (Fig. 1d), copying the pattern seen in porcine Chia¹¹.

Detection of protease-resistant truncated porcine Chia in the pepsin preparation. Previously, high expression of Chia mRNA in the porcine stomach, the enzyme's resistance to proteases and the highest activity at pH 2.0–4.0 and 58 °C have been reported¹¹. We hypothesized that the chitosan-degrading activity in the pepsin preparations can be attributed to residual Chia. To verify this assumption, the P7012 pepsin preparation was incubated with trypsin and chymotrypsin at pH 7.6 for 10 min and analyzed by SDS-PAGE, followed by CBB staining or Western blot (WB). As expected, pepsin was degraded after this treatment (Fig. 2a and b; Supplementary Fig. S2). The Chia, however, remained present after the treatment (Fig. 2c and Supplementary Fig. S2). The pepsin preparation was subjected to WB using antibody against the N-terminus of Chia and the presence of the enzyme was confirmed (Fig. 2c, first lane; Supplementary Fig. S2).

To analyze the functional effect of trypsin/chymotrypsin treatment, we measured proteolytic and chitinolytic activities in the pepsin preparation at pH 2.0. Both activities were detected in the intact pepsin preparation, but only chitinolytic activity remained present after the treatment (Fig. 2d). These results suggest that chitosan-degrading activity in the pepsin preparation is due to the chitinolytic activity of the truncated porcine Chia.

The degradation efficiency of chitosan varies depending on the porcine pepsin preparations.

To evaluate the chitinolytic activity of truncated porcine Chia in the pepsin preparations in more detail, five porcine preparations from various manufacturers [Sigma-Aldrich P7012 (S1) and P7125 (S2)], Tokyo Chemical Industry (T), Promega (P), FUJIFILM-Wako Pure Chem (F) and Pep A were analyzed using 4-NP-(GlcNAc)₂ as the substrate (Fig. 3a). The high chitinolytic activities were observed in the preparations of S1, S2 and T (Fig. 3a). Meanwhile, slight activity was detected from the other two preparations (P and F; activities 200 times lower than that of S1) and a minor activity was observed from Pep A, which was 900 times lower than that of S1 (Fig. 3a).

Then, the preparations and Pep A were treated by trypsin and chymotrypsin and analyzed by SDS-PAGE, followed by WB using porcine pepsin or porcine Chia antibody (Fig. 3b and Supplementary Fig. S3). The pepsin immunoreactivities were lost, however, Chia immunoreactivities were detected in the pepsin preparations of S1, S2 and T even after proteases treatment (Fig. 3b).

The tested pepsin preparations or Pep A were incubated with chitosan (DD 80%) at a final concentration of 0.5 mg/mL at pH 4.0. The degradation products were analyzed by the FACE procedure that separates and detects

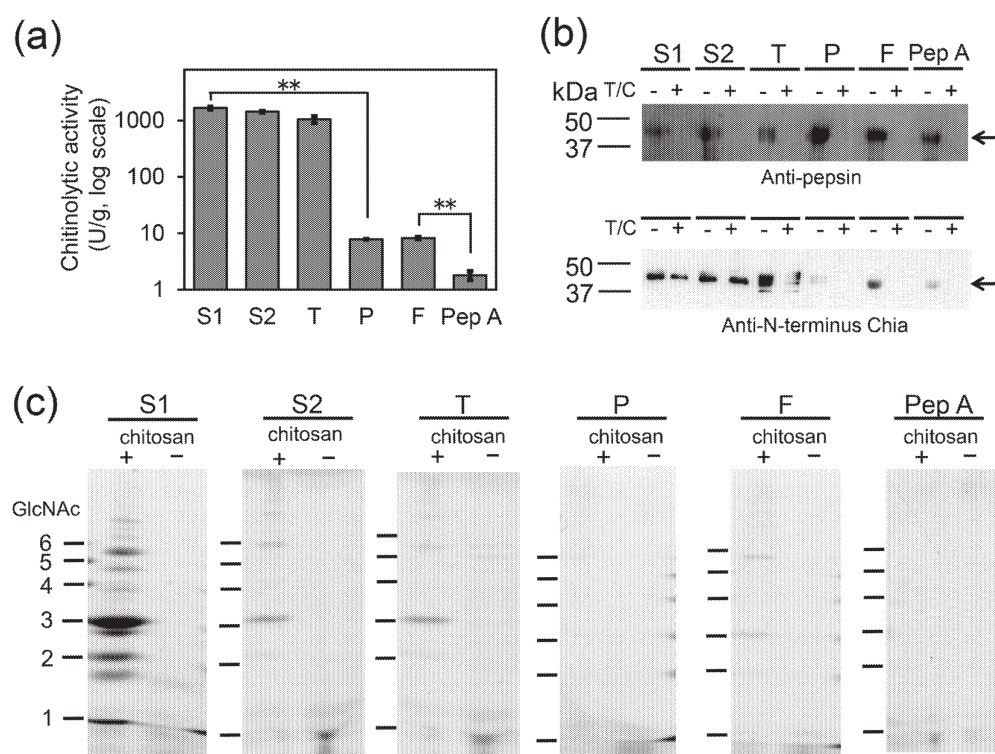


Figure 3. Chitinolytic and chitosan-degrading activities in six porcine pepsin preparations. **(a)** Chitinolytic activities in the five porcine pepsin preparations: P7012 (S1), P7125 (S2), T, P, F or Pep A. The panels show the logarithm of the values. Each experiment was performed in triplicate. ****** $p < 0.01$. P-values were determined using Student's t-test. **(b)** WB using anti-porcine pepsin (upper) and anti-porcine N-terminus Chia (lower) antibodies. The images of **(b)** were cropped from dotted lines on original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S3. **(c)** Degradation products generated by incubation of 80% DD chitosan with five pepsin preparation or purified pepsin at pH 4.0 were analyzed by FACE. The images of **(c)** were cropped from dotted lines on original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S4a–f.

a very low level (pmol amount) of chitooligosaccharides^{28,29}. Since FACE positive oligosaccharides were detected in the preparations of S2 and T, we removed the oligosaccharides by passing the samples through a Sephadex G-25 resin (see Supplementary Fig. S4). Preparations S1, S2, T and F degraded chitosan and produced chitooligosaccharides longer than $(\text{GlcNAc})_6$, as well as $(\text{GlcNAc})_{2-6}$ (Fig. 3c and Supplementary Fig. S5). On the other hand, P and Pep A did not degrade the tested substrate (Fig. 3c and Supplementary Fig. S5). Thus, chitin/chitosan-degrading activity of each pepsin preparations varied depending on the source of the truncated porcine Chia.

Porcine Chia is physiologically processed into truncated forms by pepsin. Chia consists of the catalytic domain (CatD) and chitin-binding domain (CBD) (Supplementary Fig. S6). Mouse and chicken CatD show chitinolytic and chitin-binding activities^{13,30}. To examine whether CatD can be produced under porcine stomach environment, purified porcine Chia^{11,13} was incubated with Pep A at a 1:20 ratio, which corresponds to the expression ratio of Chia and pepsin mRNA in the stomach¹¹. The up-to-6 hours incubation was performed at pH 2.0 and 37 °C.

As soon as after 1 hour-incubation, the full-length Chia (52 kDa) was accompanied by 40 and 45 kDa bands in WB analysis using anti-N-terminus porcine Chia antibody (Supplementary Fig. S6). After 6 hours-incubation, the full-length protein was almost not visible (Fig. 4a, lanes 0, 1, 3 and 6; Supplementary Fig. S7). Anti-C-terminus mouse Chia antibody detected only the full-length protein whose signal decreased with increasing incubation time (Fig. 4b, lanes 0, 1, 3 and 6; Supplementary Fig. S7). These results indicate that the pepsin-resistant 40 and 45 kDa band represent whole or truncated CatD, whereas CBD was degraded by Pep A.

To further evaluate the Chia stability, the protein was incubated with Pep A for 6 hours at pH 2.0, followed by incubation with trypsin and chymotrypsin at pH 7.6 for 10 min. Truncated Chia proteins were detected by anti-N-terminal Chia antibody (Fig. 4a, lane 6 + T/C) and possessed chitinolytic activity comparable to the full-length Chia (Fig. 4c and Supplementary Fig. S7).

Fu *et al.* purified three variants of chitosanases with molecular weights of 40–47 kDa from a porcine pepsin preparation²³. Here, we show that Chia immunoreactivity in the pepsin preparation was similar in size to those of the C-terminally truncated forms of porcine Chia (Fig. 4d and Supplementary Fig. S7). These results indicate that porcine Chia was cleaved at the C-terminal end by pepsin. The CatD proteins still have excellent protease

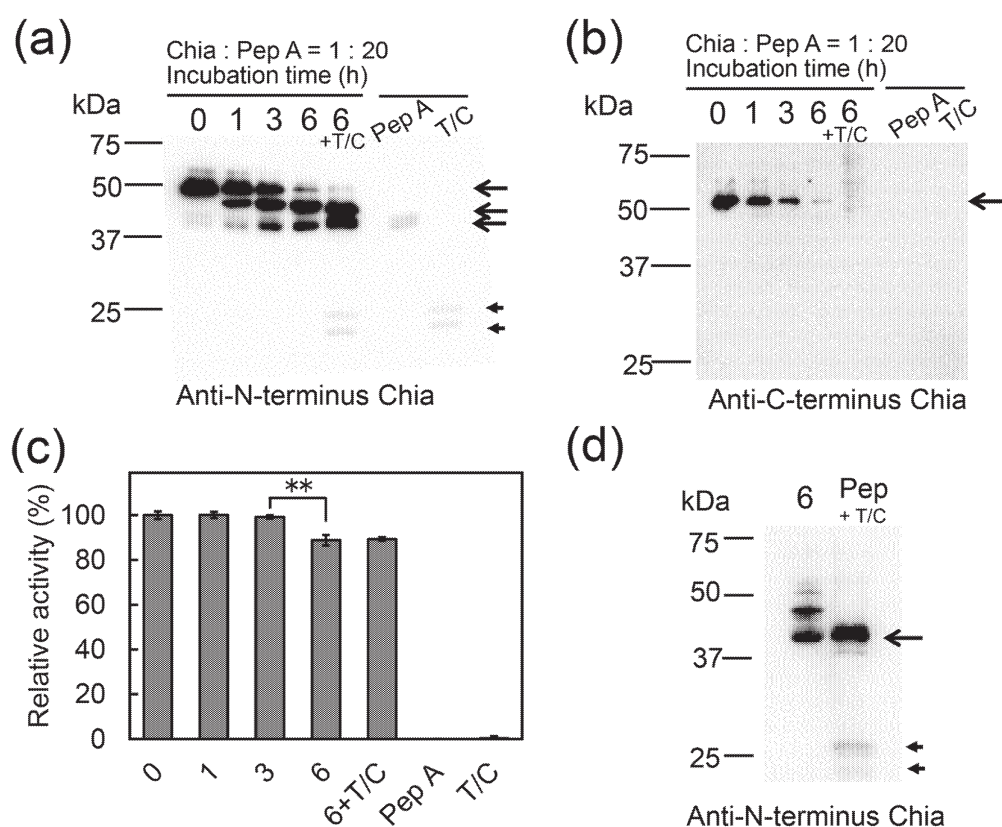


Figure 4. Porcine Chia is physiologically processed by pepsin. Chia protein purified from the porcine stomach was incubated with Pep A at 37°C for 0, 1, 3, 6 hours at pH 2.0. After 6 hours-incubation, the sample was further incubated with trypsin and chymotrypsin (T/C) at pH 7.6 for 10 min. WB using (a) anti-pig N-terminal Chia antibody or (b) anti-mouse C-terminal Chia antibody. (c) Chitinolytic activities in the Chia without or with trypsin and chymotrypsin treatment were measured at pH 2.0 as described in Methods. Values in (c) represent mean \pm SD from a single experiment conducted in triplicate. ** $p < 0.01$. P-values were determined using Student's t-test. (d) Comparison of the mobility of bands detecting by WB using anti-porcine N-terminal Chia antibody in 6-hours treated Chia by Pep A (6 + T/C) or the pepsin preparation (Pep + T/C) after trypsin/chymotrypsin treatment. The specific bands derived from trypsin/chymotrypsin were shown by arrowheads. The images of (a–c) were cropped from dotted lines on original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S7.

resistance and possess chitinolytic activity in the pepsin preparation (Fig. 4c). Based on our results, we suggest that the reported chitinase variants may be due to the truncated form of Chia in the pepsin preparations.

Characteristics of truncated forms of Chia. To examine the relationship between the size of the truncated porcine Chia and the degradation activities against chitin and chitosan, the following recombinant forms of Chia proteins were constructed: CatD (pEZZ18/PA-CatD) or truncated form of CatD (pEZZ18/PA-CatD Δ 21) that correspond to the 40 and 45 kDa bands in the pepsin preparation (Fig. 4a,d), and C-terminally further truncated form of CatD (pEZZ18/PA-CatD Δ 46). These constructs were created according to the prediction of pepsin cleavage sites of porcine Chia using ExPASy PeptideCutter (Fig. 5a and Supplementary Figs S8 and S9).

Full-length Chia, CatD, CatD Δ 21 and CatD Δ 46 were expressed as recombinant fusion proteins with Protein A (PA) and V5-His (Fig. 5a) in *E. coli* and purified as described in Methods. The recombinant proteins were incubated first with α -chitin and degradation products were analyzed by FACE. Full-length Chia, CatD and CatD Δ 21 degraded α -chitin to produce (GlcNAc)₂ (Fig. 5b and Supplementary Fig. S10). As for β -crystalline chitin, full-length Chia, CatD and CatD Δ 21 produced (GlcNAc)₂ and (GlcNAc)_{3–6}, while CatD Δ 46 did not degrade the substrate (Fig. 5c and Supplementary Fig. S10). Full-length Chia, CatD and CatD Δ 21 degraded chitosan and, besides short chitooligosaccharides, also produced (GlcNAc)_{>6} (Fig. 5d and Supplementary Fig. S10). CatD Δ 46 did not affect any of the substrates. These results indicate that lack of CBD in the Chia does not inhibit its chitin- and chitosan-degrading activities, whereas further deletion of 46 amino acids from the C-terminus of the CatD caused loss of chitinolytic activity.

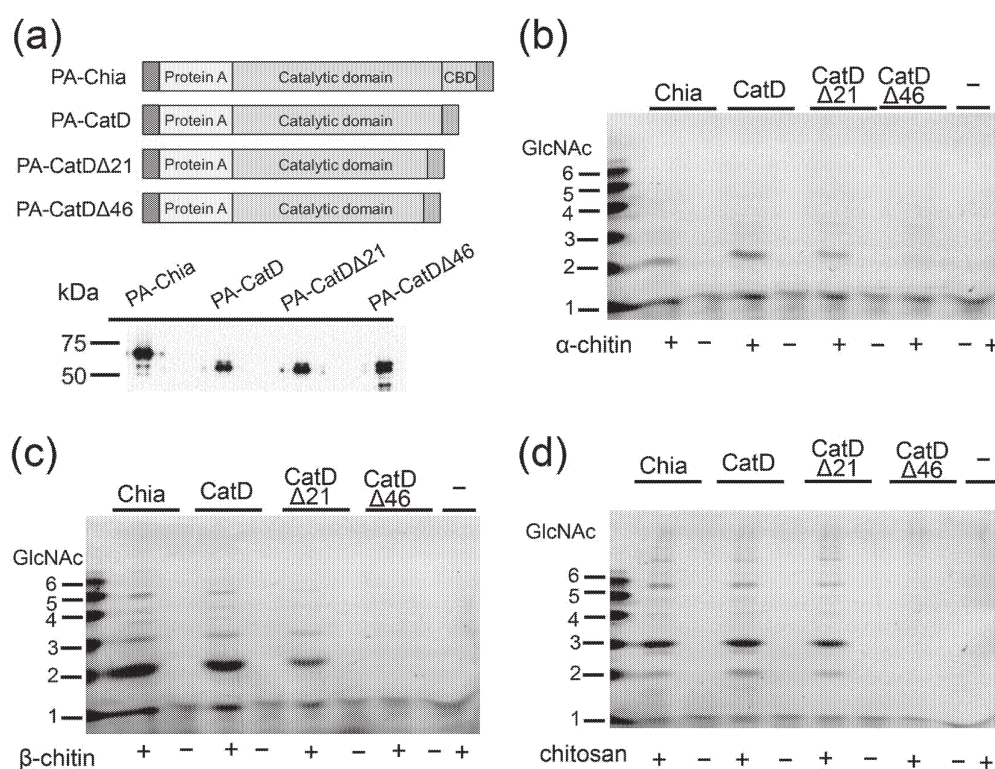


Figure 5. Full-length and its truncated forms of Chia possess the same chitin and chitosan degradation abilities. (a) The schematic representations of the recombinant fusion proteins of Protein A-full-length Chia or its truncated forms-V5-His (upper) and WB analysis of the recombinant proteins using anti-V5 antibody (lower). Degradation products generated by incubation of (b) α - or (c) β -chitin and (d) 80% DD chitosan with PA-Chia, PA-CatD, PA-CatD Δ 24 or PA-CatD Δ 46 at pH 2.0 were analyzed by FACE. The images of (b–d) were cropped dotted lines on from original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S10.

Porcine Chia and its truncated forms as well as a pepsin preparation produced comparable chitooligosaccharides. Finally, the degradation products from chitosan by natural Chia or recombinant proteins and the most active pepsin preparation (S1, P7012) were compared. Several chitosan substrates differing in DD (DD 69%, 73%, 84% and 95%) were incubated with porcine Chia, its truncated forms, PA-Chia, PA-CatD or pepsin preparation as described in Methods and the products were analyzed by the FACE.

Chitosan substrates with DD of 69%, 73% and 84% were degraded to up to (GlcNAc)₂₀. The degradation pattern was similar for all enzymes (Fig. 6a–d and Supplementary Fig. S11). The digestion efficiency decreased with increasing DD of chitosan and only a very limited degradation was observed in DD 95% (Fig. 6a–d). These results indicate that chitosan-degrading activity in the pepsin preparations is due to the chitinolytic activity of truncated Chia which can digest chitosan.

Furthermore, the ability of porcine Chia and the pepsin preparation to degrade (GlcNAc)₅ as well as (GlcN)₅ and (GlcN)₆ was investigated. None of the GlcN substrates was digested, while (GlcNAc)₅ was completely degraded into (GlcNAc)₂ and GlcNAc monomer (Fig. S12). These results indicate that the chitosan-degrading activity of porcine Chia and the pepsin preparation appears to be mediated by chitinolytic rather than by *per se* chitosanolytic activity with no effect on GlcN–GlcN bonds.

Discussion

In this study, we investigated the chitosan-degrading (chitosanase) activity in the commercially available porcine pepsin preparations, which have been used for enzymatic production of chitooligosaccharides. We detected residual active fragments (CatD) derived from Chia displaying chitosan-degrading activity similar to those of the full-length and C-terminally truncated porcine Chia.

Functional properties of recombinant mouse CatD are comparable with those of full-length Chia³⁰. Natural porcine CatD, obtained by incubation of Chia with purified pepsin, showed a comparable degradation activity against chitin and chitosan by the full-length enzyme. This activity is present even in a further truncated form of CatD by up to 24 amino acids, while the deletion of 46 amino acids leads to activity loss. These results suggested that at least five of the six cysteines conserved in the catalytic domain³¹ are sufficient to keep the proper tertiary structure required for chitinolytic activity and/or chitin/chitosan substrates recognition.

Porcine Chia and pepsin preparation degraded chitosan substrates with DD of 69–84%. However, the digestion efficiency decreased with increasing DD and only a very limited degradation was observed in DD of 95%

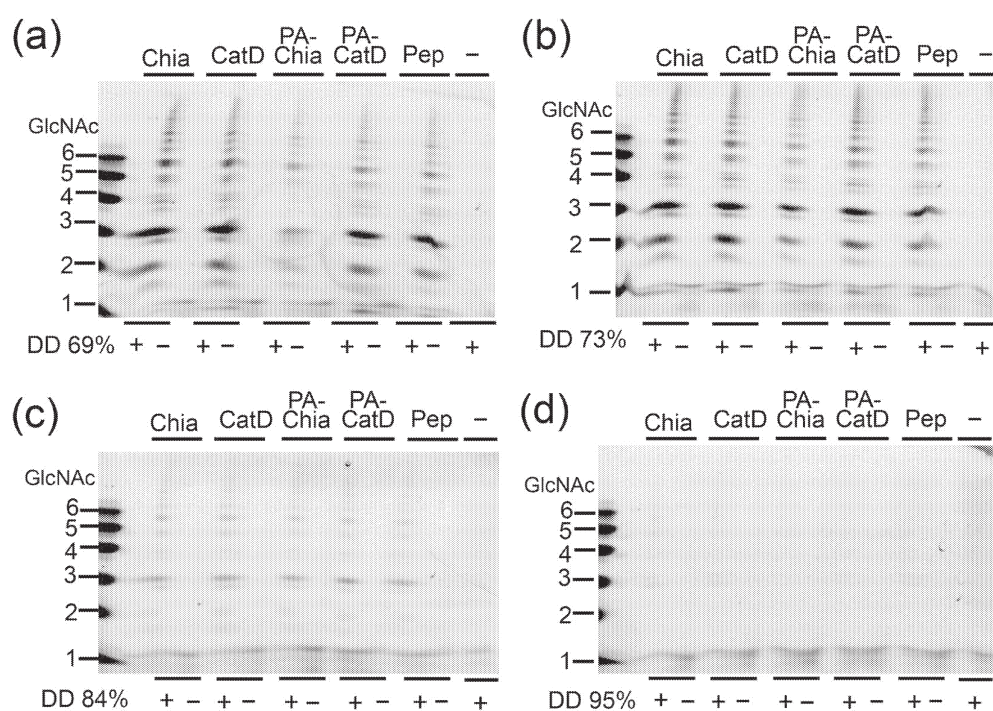


Figure 6. Full-length and its truncated forms of Chia as well as pepsin preparation produced comparable chitoooligosaccharides. Degradation products generated by incubation of wide range of DD chitosan; (a) 69%, (b) 73%, (c) 84% and (d) 95% of DD with full-length Chia (Chia), truncated Chia (CatD), PA-Chia, PA-CatD or the pepsin preparation (Pep) at pH 4.0 were analyzed by FACE. The images of (a–d) were cropped from dotted lines on original full-length gel images shown in Supplementary Fig. S11.

chitosan suggesting the absence of a *per se* “chitosanase” activity of Chia. To investigate the mechanism of chitosan degradation by porcine Chia, (GlcNAc)₅ as well as (GlcN)₅ and (GlcN)₆ were exposed to the enzyme (Fig. S12). While (GlcNAc)₅ was completely digested into (GlcNAc)₂ and GlcNAc monomer, the GlcN substrates remained stable (Fig. S12). These results indicate that porcine Chia is not able to hydrolyze GlcN-GlcN bonds, unlike chitosanases³² and that the chitosan-degrading activity in the pepsin preparations is due to its chitinolytic activity.

Porcine Chia degraded chitin and (GlcNAc)₅ producing mainly (GlcNAc)₂ (Fig. 1a) and (GlcNAc)₂ and GlcNAc monomer (Fig. S12), respectively. When chitosan was treated with porcine Chia or pepsin preparations, the main products with mobility similar to (GlcNAc)₃ were observed (Figs 1a, 3c, 5d, 6a–c and Fig. S13). Intuitively, hydrolysis of (GlcNAc)₃ into (GlcNAc)₂ and GlcNAc monomer was expected. While it is difficult to explain the stability of the major product, the following can be considered: *Serratia marcescens* and *Streptomyces coelicolor* chitinases can degrade chitosan and sequentially produce hetero-chitotrimers, such as GlcN-GlcNAc-GlcNAc and GlcNAc-GlcN-GlcNAc, as revealed by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy^{33–37}. Similar results were also obtained with the chitosan degradation by human chitotriosidase (Chit1)³⁸. Thus, the main degradation products of chitosan treated by porcine Chia or the pepsin preparations may possibly be hetero-chitotrimers. Moreover, a minor band below the main product was observed (Figs 1a, 3c, 5d and 6a–c), suggesting the presence of at least one hetero-chitotrimer within the trimer products. Importantly, two bands were also detected at each size of the (GlcN)_{1–6} standard labeled by our improved FACE method²⁹ (right margin in Fig. S13a,b). The presence of multiple bands in the chitosan and GlcN oligomer size markers has been shown previously¹⁰. This event warrants further investigation pursued by our group.

The presence of heterogenic products might be delineated by the utilized chitosan structure. The fact that we used heterogeneously deacetylated substrates with highly deacetylated areas in the amorphous region as compared to the crystalline section³⁹ suggests that (GlcNAc)₂ or (GlcNAc/GlcN)₃ is generated from the crystalline region while the longer fragments such as (GlcNAc/GlcN)_{>6} result from the non-crystalline part of the substrate. The hypothesis of the major band only consisting of hetero-chitotrimers will have to be confirmed once the hetero-chitotrimer standards are available. Further studies on the specificity of the oligomers produced from chitosan by porcine Chia as well as on the digestion mechanism and site-binding preferences of the enzyme will be needed for enhancing its application for the production of well-defined chitoooligosaccharides.

Interestingly, chitosan-degrading activities have also been found in plant-derived papain⁴⁰ and bacteria-derived pronase²³. The data presented here suggest that such chitosan-degrading activities may result from “contamination” of the respective preparations by protease-resistant chitosan-degrading enzymes rather than from the intrinsic properties of these proteases. Plants have been known to synthesize various types of chitinases for protection from chitin-containing pathogens. A thorough evaluation of papain and pronase

preparations including a detailed biochemical characterization of chitosan-degrading activity may even lead to the discovery of novel forms of chitinases or other enzymes with such activity.

Since purified chitosanase is an expensive material, many enzymes with different original specificities have been evaluated for their ability to hydrolyze chitosan^{40–42}. According to our knowledge, only few mammalian enzymes can degrade chitosan. Thus, the use of natural porcine Chia or chitosan-degrading activity present in pepsin preparations may facilitate the production of chitoooligosaccharides that are useful in the biochemical and food industry.

Conclusion

The commercially available pepsin preparations can degrade chitosan into chitoooligosaccharides. We detected protease-resistant truncated Chia responsible for the chitinolytic activity in the pepsin preparations. Chia and its pepsin-truncated forms as well as the pepsin preparations did not have chitosanolytic activity but degraded DD 69–84% chitosan substrates with comparable efficiency. Thus, the chitosan degrading activity in the porcine pepsin preparations is due to chitinolytic activity of truncated forms of Chia. Porcine Chia present in the pepsin preparations can be used for the production of chitoooligosaccharides from chitosan substrates.

Methods

Pepsin preparations used in this study. Pepsin preparations were obtained from Sigma-Aldrich (P7012 and P7125) (St. Louis, MO, USA), Tokyo Chemical Industry Co. (9001–75–6) (Tokyo, Japan), Promega (V1959) (Madison, WI, USA) and FUJIFILM-Wako Pure Chemical Co. (165–18711) (Osaka, Japan). Purified pepsin A (Pep A, two times crystallized. LS003319) was purchased from Worthington Biochemical Co. (Lakewood, NJ, USA).

Degradation of chitosan and α - or β -crystalline chitin substrates by pepsin preparations.

Chitosan [degree of deacetylation (DD) 80%, Chitosan 100] and α -chitin from shrimp shell chitin were purchased from FUJIFILM-Wako Pure Chem. Co. and Sigma-Aldrich, respectively. β -chitin from squid pens was a generous gift from Katakura & Co-op Agri Corporation (Tokyo, Japan). DD was determined by elemental analysis as described previously²⁰. Chitosan, α - or β -crystalline chitin substrate (1 mg/mL) was incubated in a volume of 50 μ L containing pepsin preparation (P7012, Sigma-Aldrich) (0.5 mg/mL) or Pep A (0.5 mg/mL) in McIlvaine's buffer (pH 4.0) at 37 °C for 16 hours. Generated chitin fragments were analyzed by FACE^{28,29}.

Chitinase enzymatic assays. The chitinolytic activity was determined using a synthetic substrate, 4-nitrophenyl *N,N'*-diacetyl- β -D-chitobioside [4-NP-(GlcNAc)₂, Sigma-Aldrich] essentially as described previously⁴³. One enzyme unit (U) was defined as 1 μ mol of 4-nitrophenol released from 4-NP-(GlcNAc)₂ per min at 37 °C in Gly-HCl buffer (pH 2.0). All enzymatic reactions for optimum pH and temperature determination were conducted in a volume of 50 μ L as described previously^{30,43}.

For determination of the optimal pH, the chitinase activity was evaluated by incubating the enzyme with the 4-NP-(GlcNAc)₂ substrate in 0.1 M Gly-HCl buffer (pH 1.0–3.0) or McIlvaine's buffer (0.1 M citric acid and 0.2 M Na₂HPO₄; pH 2.0–8.0) at 37 °C for 30 min. To determine the optimal temperature, chitinase activity was assayed between 30 °C and 64 °C in 0.1 M Gly-HCl buffer (pH 2.0).

SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and WB. The obtained protein fractions were analyzed using standard SDS-PAGE, followed by Coomassie Brilliant Blue R-250 (CBB, Sigma-Aldrich) or WB using anti-porcine N-terminal Chia (rabbit)¹² anti-mouse C-terminal Chia (rabbit)⁴⁴ or anti-porcine pepsin antibody (donkey) (GeneTex, Irvine, CA, USA), followed by peroxidase-conjugated AffiniPure F(ab')₂ Fragment Donkey Anti-Rabbit IgG (H + L) (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc., West Grove, PA, USA) or AffiniPure Donkey Anti-Goat IgG-HRP (Jackson ImmunoResearch laboratories). The immunoblots were analyzed by Luminescent Image Analyzer (ImageQuant LAS 4000, GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) according to the manufacturer's instructions.

Pepsin enzymatic assays. Proteolytic activity of the pepsin preparation was measured using hemoglobin from bovine blood (Sigma-Aldrich) as the substrate as described previously⁹.

Degradation of chitosan by pepsin preparations or Pep A. Chitosan substrate (1 mg/mL) was incubated in a volume of 50 μ L containing pepsin preparations or Pep A (0.5 mg/mL) in McIlvaine's buffer (pH 4.0) at 37 °C for 16 hours. Generated chitin fragments were analyzed as described above.

Porcine stomach tissues. Six months-old male porcine stomach tissues (Landrace F1) were purchased from Funakoshi Co., Ltd (Tokyo, Japan), which were dissected from the animals, quickly frozen on dry ice and kept at –80 °C.

Purification of porcine Chia. The natural Chia enzyme was purified from porcine stomach tissue using chitin beads column and eluted with 0.1 M acetic acid as described previously¹³. The eluted enzymes were neutralized and desalted with PD10 (GE Healthcare) equilibrated by TS buffer.

Protein concentrations were determined by the Bradford Protein Assay (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) using BioPhotometer Plus UV/Vis equipment (Eppendorf, Hamburg, Germany). Bovine serum albumin was used as the standard.

Detection of truncated Chia in pepsin preparations. To investigate the presence of porcine Chia in the tested pepsin preparations, the preparations or Pep A (0.5 μ g) were incubated with trypsin and chymotrypsin

(0.5 µg) (Sigma-Aldrich) at pH 7.6 for 10 min. After the incubation, a protease inhibitor (Complete Mini, Roche, Basel, Switzerland) was added and analyzed by WB as described above.

Preparation of recombinant porcine Chia and truncated porcine Chia proteins. The full-length, catalytic domain (CatD) or truncated CatD of porcine Chia were expressed as recombinant fusion proteins with Protein A (PA) and V5-His. The pEZZ18/PA-porcine Chia-V5-His was prepared as described previously⁴⁵. The regions of interest were amplified from the porcine full-length Chia-expressing plasmid DNA (pEZZ18/pre-PA-porcine Chia-V5-His) using oligonucleotide primers (Supplementary Table S1) as described previously³⁰. Each amplified DNA was then digested with EcoRI and XhoI and subcloned into the pEZZ18 expression vector. The entire nucleotide sequence of the resulting plasmid DNAs (pEZZ18/PA-CatD, pEZZ18/PA-CatDΔ21 or PA-CatDΔ46) was confirmed by sequencing (Eurofins Genomics, Tokyo, Japan). The recombinant PA-Chia, PA-CatD, PA-CatDΔ21 and PA-CatDΔ46 (Supplementary Fig. S9) were prepared as described previously^{30,45}.

Degradation of chitosan with different DD by Chia and its truncated forms as well as pepsin preparation. Heterogeneously deacetylated chitosan (block-type chitosan)³⁹ with DD 69%, 73%, 84% and 95% were generous gifts from Funakoshi Co., Ltd. The chitosan substrates (1 mg/mL) were incubated in a volume of 50 µL containing full-length or truncated Chia, PA-Chia, PA-CatD or pepsin preparation (50 µU) as described previously¹¹. Generated chitin fragments were analyzed by FACE^{28,29}. *N*-acetyl chitooligosaccharides (Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan) were used as a standard.

Statistical analysis. Biochemical data were compared by Student's t-test. We carried out experiments in triplicate for the statistical analysis.

Data availability

The datasets generated and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Received: 23 April 2019; Accepted: 14 October 2019;

Published online: 30 October 2019

References

1. Khoushab, F. & Yamabhai, M. Chitin research revisited. *Mar. Drugs* **8**, 1988–2012, <https://doi.org/10.3390/md8071988> (2010).
2. Bueter, C. L., Specht, C. A. & Levitz, S. M. Innate sensing of chitin and chitosan. *PLoS Pathog.* **9**, e1003080, <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003080> (2013).
3. Van Dyken, S. J. & Locksley, R. M. Chitins and chitinase activity in airway diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* **142**, 364–369, <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.06.017> (2018).
4. Boot, R. G. *et al.* Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase. *J. Biol. Chem.* **276**, 6770–6778, <https://doi.org/10.1074/jbc.M009886200> (2001).
5. Boot, R. G. *et al.* Marked differences in tissue-specific expression of chitinases in mouse and man. *J. Histochem. Cytochem.* **53**, 1283–1292, <https://doi.org/10.1369/jhc.4A6547.2005> (2005).
6. Ohno, M., Tsuda, K., Sakaguchi, M., Sugahara, Y. & Oyama, F. Chitinase mRNA levels by quantitative PCR using the single standard DNA: acidic mammalian chitinase is a major transcript in the mouse stomach. *PLoS One* **7**, e50381, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050381> (2012).
7. Lee, C. G. *et al.* Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury. *Annu. Rev. Physiol.* **73**, 479–501, <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142250> (2011).
8. Koch, B. E., Stougaard, J. & Spink, H. P. Keeping track of the growing number of biological functions of chitin and its interaction partners in biomedical research. *Glycobiology* **25**, 469–482, <https://doi.org/10.1093/glycob/cwv005> (2015).
9. Ohno, M. *et al.* Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system. *Sci. Rep.* **6**, 37756, <https://doi.org/10.1038/srep37756> (2016).
10. Tabata, E. *et al.* Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry. *Sci. Rep.* **7**, 6662, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07146-3> (2017).
11. Tabata, E. *et al.* Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources. *Sci. Rep.* **7**, 12963, <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13526-6> (2017).
12. Tabata, E. *et al.* High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (*Callithrix jacchus*), an insectivorous nonhuman primate. *Sci Rep* **9**, 159, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36477-y> (2019).
13. Tabata, E. *et al.* Acidic chitinase–chitin complex is dissociated in a competitive manner by acetic acid: purification of natural enzyme for supplementation purposes. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 362, <https://doi.org/10.3390/ijms19020362> (2018).
14. Chien, R. C., Yen, M. T. & Mau, J. L. Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells. *Carbohydr Polym* **138**, 259–264, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.061> (2016).
15. Chiu, C. Y., Feng, S. A., Liu, S. H. & Chiang, M. T. Functional comparison for lipid metabolism and intestinal and fecal microflora enzyme activities between low molecular weight chitosan and chitosan oligosaccharide in high-fat-diet-fed rats. *Mar. Drugs* **15**, <https://doi.org/10.3390/md15070234> (2017).
16. Qiao, Y., Bai, X. F. & Du, Y. G. Chitosan oligosaccharides protect mice from LPS challenge by attenuation of inflammation and oxidative stress. *Int. Immunopharmacol.* **11**, 121–127, <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2010.10.016> (2011).
17. Shen, K. T., Chen, M. H., Chan, H. Y., Jeng, J. H. & Wang, Y. J. Inhibitory effects of chitooligosaccharides on tumor growth and metastasis. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 1864–1871, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.04.044> (2009).
18. Park, J. H., Saravanakumar, G., Kim, K. & Kwon, I. C. Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives. *Adv Drug Deliv Rev* **62**, 28–41, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.10.003> (2010).
19. Bravo-Osuna, I., Millotti, G., Vauthier, C. & Ponchel, G. *In vitro* evaluation of calcium binding capacity of chitosan and thiolated chitosan poly(isobutyl cyanoacrylate) core-shell nanoparticles. *Int. J. Pharm.* **338**, 284–290, <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.01.039> (2007).
20. Kazami, N. *et al.* A simple procedure for preparing chitin oligomers through acetone precipitation after hydrolysis in concentrated hydrochloric acid. *Carbohydr Polym* **132**, 304–310, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.082> (2015).

21. Cabrera, J. C. & Cutsem, P. V. Preparation of chitoooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of chitosan. *Biochemical Engineering Journal* **25**, 165–172, <https://doi.org/10.1016/j.bej.2005.04.025> (2005).
22. Roncal, T., Oviedo, A., Lopez de Armentia, I., Fernandez, L. & Villaran, M. C. High yield production of monomer-free chitosan oligosaccharides by pepsin catalyzed hydrolysis of a high deacetylation degree chitosan. *Carbohydr. Res.* **342**, 2750–2756, <https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.08.023> (2007).
23. Vishu Kumar, A. B., Varadaraj, M. C., Gowda, L. R. & Tharanathan, R. N. Low molecular weight chitosans—preparation with the aid of pronase, characterization and their bactericidal activity towards *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochim. Biophys. Acta* **1770**, 495–505, <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2006.12.003> (2007).
24. Kumar, B. A. & Tharanathan, R. N. A comparative study on depolymerization of chitosan by proteolytic enzymes. *Carbohydr Polym* **58**, 275–283, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.07.001> (2004).
25. Fu, J. Y., Wu, S. M., Chang, C. T. & Sung, H. Y. Characterization of three chitosanase isozymes isolated from a commercial crude porcine pepsin preparation. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1042–1048, <https://doi.org/10.1021/jf020675g> (2003).
26. Kumar, B. A., Varadaraj, M. C. & Tharanathan, R. N. Low molecular weight chitosan—preparation with the aid of pepsin, characterization, and its bactericidal activity. *Biomacromolecules* **8**, 566–572, <https://doi.org/10.1021/bm060753z> (2007).
27. Gohi, B., Zeng, H. Y. & Pan, A. D. Optimization and characterization of chitosan enzymolysis by pepsin. *Bioengineering (Basel)* **3**, 10.3390/bioengineering3030017 (2016).
28. Jackson, P. The use of polyacrylamide-gel electrophoresis for the high-resolution separation of reducing saccharides labeled with the fluorophore 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulphonic acid. Detection of picomolar quantities by an imaging system based on a cooled charge-coupled device. *Biochem. J.* **270**, 705–713 (1990).
29. Wakita, S. *et al.* Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions. *Carbohydr Polym* **164**, 145–153, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.095> (2017).
30. Kashimura, A. *et al.* Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in *Escherichia coli*. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 4028–4042, <https://doi.org/10.3390/ijms16024028> (2015).
31. Tjoelker, L. W. *et al.* Structural and functional definition of the human chitinase chitin-binding domain. *J. Biol. Chem.* **275**, 514–520, <https://doi.org/10.1074/jbc.275.1.514> (2000).
32. Fukamizo, T., Ohkawa, T., Ikeda, Y. & Goto, S. Specificity of chitosanase from *Bacillus pumilus*. *Biochim Biophys Acta* **1205**, 183–188, [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(94\)90232-1](https://doi.org/10.1016/0167-4838(94)90232-1) (1994).
33. Sorbotten, A., Horn, S. J., Eijsink, V. G. & Varum, K. M. Degradation of chitosans with chitinase B from *Serratia marcescens*. Production of chito-oligosaccharides and insight into enzyme processivity. *FEBS J* **272**, 538–549, <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2004.04495.x> (2005).
34. Horn, S. J. *et al.* Endo/exo mechanism and processivity of family 18 chitinases produced by *Serratia marcescens*. *FEBS J* **273**, 491–503, <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.05079.x> (2006).
35. Heggset, E. B., Hoell, I. A., Kristoffersen, M., Eijsink, V. G. & Varum, K. M. Degradation of chitosans with chitinase G from *Streptomyces coelicolor* A3(2): production of chito-oligosaccharides and insight into subsite specificities. *Biomacromolecules* **10**, 892–899, <https://doi.org/10.1021/bm801418p> (2009).
36. Aam, B. B. *et al.* Production of chitoooligosaccharides and their potential applications in medicine. *Mar. Drugs* **8**, 1482–1517, <https://doi.org/10.3390/md8051482> (2010).
37. Heggset, E. B. *et al.* Degradation of chitosans with a family 46 chitosanase from *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Biomacromolecules* **11**, 2487–2497, <https://doi.org/10.1021/bm1006745> (2010).
38. Eide, K. B. *et al.* Human chitotriosidase-catalyzed hydrolysis of chitosan. *Biochemistry* **51**, 487–495, <https://doi.org/10.1021/bi2015585> (2012).
39. Kurita, K., Sannan, T. & Iwakura, Y. Studies on chitin, 4. Evidence for formation of block and random copolymers of *N*-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine by hetero- and homogeneous hydrolyses. *Macromol Chem Phys.* **178**, 3197–3202, <https://doi.org/10.1002/macp.1977.021781203> (1977).
40. Terbojevich, M., Cosani, A. & Muzzarellib, R. A. A. Molecular parameters of chitosans depolymerized with the aid of papain. *Carbohydr Polym* **29**, 63–68, [https://doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00147-6](https://doi.org/10.1016/0144-8617(95)00147-6) (1996).
41. Sashiwa, H. *et al.* Enzymatic production of *N*-acetyl-d-glucosamine from chitin. Degradation study of *N*-acetylchitoooligosaccharide and the effect of mixing of crude enzymes. *Carbohydr Polym* **51**, 391–395, [https://doi.org/10.1016/S0144-8617\(02\)00192-3](https://doi.org/10.1016/S0144-8617(02)00192-3) (2003).
42. Xie, Y., Wei, Y. & Hu, J. Depolymerization of chitosan with a crude cellulase preparation from *Aspergillus niger*. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **160**, 1074–1083, <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8559-2> (2010).
43. Kashimura, A. *et al.* Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein. *PLoS One* **8**, e78669, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0078669> (2013).
44. Ohno, M. *et al.* Quantification of chitinase mRNA levels in human and mouse tissues by real-time PCR: species-specific expression of acidic mammalian chitinase in stomach tissues. *PLoS One* **8**, e67399, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067399> (2013).
45. Tabata, E. *et al.* Chitin digestibility is dependent on feeding behaviors, which determine acidic chitinase mRNA levels in mammalian and poultry stomachs. *Sci. Rep.* **8**, 1461, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19940-8> (2018).

Acknowledgements

We are grateful to Masayoshi Sakaguchi, Misa Ohno, Kazuaki Okawa, Masahiro Kimura, Riho Onuki, Maiko Uehara and Yasutada Imamura for valuable suggestions. This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) (grant numbers 18J23382 and 16K07699 to E.T. and F.O., respectively); Grant from the Science Research Promotion Fund of the Promotion and Mutual Aid Corporation for Private Schools of Japan (to F.O.); by the Project Research Grant from the Research Institute of Science and Technology, Kogakuin University (to F.O.); by a grant of the Strategic Research Foundation Grant-aided Project for Private Universities (S1411005 to F.O.) from the Ministry of Education, Culture, Sport, Science and Technology, Japan.

Author contributions

Conceived and designed the experiments: E.T., P.O.B. and F.O. Performed research: E.T., S.W., A.K., Y.S. and F.O. Analyzed data: E.T., S.W., A.K., Y.S. Wrote the paper: E.T., V.M., P.O.B. and F.O. Contributed to the critical appraisal of the paper and approved the final version: E.T., S.W., A.K., Y.S., V.M., P.O.B. and F.O.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary information is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52136-2>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to F.O.

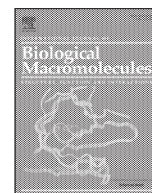
Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2019



Direct comparison of chitinolytic properties and determination of combinatory effects of mouse chitotriosidase and acidic mammalian chitinase

Masahiro Kimura ^{a,b}, Takatoshi Umeyama ^a, Satoshi Wakita ^a, Kazuaki Okawa ^a, Masayoshi Sakaguchi ^a, Vaclav Matoska ^c, Peter O. Bauer ^{c,d}, Fumitaka Oyama ^{a,*}

^a Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University, Hachioji, Tokyo, Japan

^b Research Fellow of Japan Society for the Promotion of Science (DC2), Koujimachi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0083, Japan

^c Laboratory of Molecular Diagnostics, Department of Clinical Biochemistry, Hematology and Immunology, Homolka Hospital, Roentgenova 37/2, Prague 150 00, Czech Republic

^d Bioinova Ltd., Videnska 1083, Prague 142 20, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 March 2019

Received in revised form 6 May 2019

Accepted 16 May 2019

Available online 17 May 2019

Keywords:

Acidic mammalian chitinase

Chitin substrates

Chitotriosidase

Direct comparison

Mutual effects

Serratia marcescens chitinase B

ABSTRACT

Chitotriosidase (Chit1) and acidic mammalian chitinase (AMCase) have been implicated in food processing and various pathophysiological conditions such as chronic inflammatory diseases. By combination of the colorimetric analysis and fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) method, we directly compared the chitinolytic properties of mouse Chit1 and AMCase and determined their combinatory effects in artificial and natural chitin substrates processing. Chit1 and AMCase display different dynamics of chitinolytic properties through acidic to neutral conditions. At pH 2.0, the activity of AMCase was higher than that of Chit1 and stronger or comparable with that of *Serratia marcescens* chitinase B, a well-characterized bacterium chitinase. Changes of degradation products using different substrates indicate that AMCase and Chit1 have diverse properties under various pH conditions. Exposure of the chitin substrates to both Chit1 and AMCase did not indicate any mutual interference of these enzymes and showed no synergistic effect, in contrast to observations regarding some bacterial chitinases. Our results suggest that Chit1 and AMCase have no synergistic effect under physiological conditions. © 2019 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Chitinases (EC 3.2.1.14) hydrolyze chitin, a polymer of β -1, 4-linked N-acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) [1,2]. Two active chitinases, chitotriosidase (Chit1) and acidic mammalian chitinase (AMCase), have been identified in mouse and human [3–5]. Chit1 was the first mammalian chitinase to be purified and cloned and synthesized by activated macrophages and neutrophils in human [6–8]. AMCase was discovered during exploration of compensatory mechanisms in Chit1 deficiencies and named for its acidic isoelectric point [9].

Chit1 and AMCase are secretory proteins with molecular weight (MW) of approximately 50 kDa [8,9]. They consist of an N-terminal catalytic domain (CatD) and a C-terminal chitin-binding domain (CBD). Chit1 and AMCase can be expressed in same tissues and cells. Chit1 is highly expressed in mouse stomach, eyes and lung, whereas AMCase in stomach, submandibular gland and lung [10]. In addition, both enzymes are expressed in monocytes and macrophages and are either

present in lysosomes or secreted extracellularly [11]. The respective mRNA levels in these cells are responding to cytokines [12]. The expression level of Chit1 in activated macrophages is higher than that of AMCase while lower in lipopolysaccharide (LPS)-treated monocytes [12].

Chit1 and AMCase have attracted considerable attention due to their increased expression associated with different pathological conditions [5]. Chit1 levels are elevated 1000-fold in plasma of patients with Gaucher disease, an autosomal recessive lysosomal storage disorder [6]. In addition, Chit1 levels are altered in chronic inflammatory diseases such as atherosclerosis [13], diabetes mellitus [14], cystic fibrosis [15], chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [16] as well as Alzheimer's disease [17] and smokers [18]. Significant increase in AMCase mRNA and protein levels were detected in an induced asthma mouse model as well as in antigen-induced mouse models of allergic lung inflammation [19,20]. Recently, we have shown that AMCase can function as a major protease-resistant glycosidase under gastrointestinal conditions in mouse [21]. Although the expression levels of both enzymes have been investigated, their functions at conditions suitable for both enzymes remain elusive. In addition, the contribution of mammalian chitinases to the pathogenesis of the related diseases and the physiological condition remains to be determined.

* Corresponding author at: Department of Chemistry and Life Science, Kogakuin University, Hachioji, Tokyo 192-0015, Japan.

E-mail address: f-oyama@cc.kogakuin.ac.jp (F. Oyama).

Serratia marcescens is a gram-negative bacterium producing high levels of chitinases [22]. It is recognized as a bacterial model for chitin degradation and expresses three chitinases, Chitinase A (*Serratia* ChiA), Chitinase B (*Serratia* ChiB) and Chitinase C (*Serratia* ChiC) [23–25]. These chitinases have been used in elucidating molecular mechanisms of chitin degradation and chitinolytic enzyme systems [26–31]. *Serratia* ChiA and ChiB have been shown to have a synergistic effect when incubated together with high MW chitin substrates [23,24].

In this study, we directly compared the chitinolytic properties of Chit1 and AMCase with *Serratia* ChiB using artificial and natural chitin substrates by combination of the colorimetric analysis and fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis (FACE) method [32,33]. In addition, we attempted to determine potential synergistic effects of the mammalian chitinases. Our results suggest that Chit1 and AMCase possess different properties and have no synergistic effect under physiological conditions.

2. Materials and methods

2.1. Construction of *Serratia* ChiB vector for *E. coli*-expression

To express ChiB-V5-His fusion protein (Fig. 1A), *Serratia* ChiB DNA was amplified from *Serratia marcescens* Bizio (Genomic DNA from *Serratia marcescens* strain CDC 3100–71 [ATCC 27137, American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, USA]) by PCR using KOD Plus DNA polymerase (Toyobo, Kyoto, Japan) and primers (Eurofins genomics, Tokyo, Japan) anchored with the restriction sites for *Eco*RI and *Xho*I. In order to add V5-His sequence, the PCR product was digested with *Eco*RI and *Xho*I and subcloned into the same sites of pEZZ18/Chit1-V5-His vector [34]. Next, we anchored pEZZ18/pre-Protein A-ChiB-V5-His with the restriction sites for *Eco*RI and *Not*I by PCR. We designed the reverse primer in frame with the N-terminal region of V5-His of pET-21d vector (Merck Millipore, Tokyo, Japan) [34]. PCR was carried out using the following primers: forward primer (5'-**CGCGGATGAATTCGATCCA** CACGCAAAGCCGTTATTGGGT-3'), contains 6 bases long *Eco*RI recognition sequence (underlined) and 25 bases long *Serratia* ChiB sequence corresponded to the ChiB DNA (Gene ID: 23389259); reverse primer (5'-**GAGTGC**GGCCGCTAGACAGTCGAGGCTGAT-3'), contains the *Not*I recognition sequence (underlined) and V5-His recognition sequence. Both primers contain the 4–7 bases long extra nucleotides (**boldfaced**) for efficient cleavage of the restriction enzyme sites. The PCR products were digested with *Eco*RI and *Not*I and subcloned into the same sites of pET-21d vector. The entire nucleotide sequence of the resulting plasmid DNA (the pET-21d/ChiB-V5-His) was confirmed by sequencing (Eurofins Genomics). pEZZ18/pre-Protein A-AMCase-V5-His and pEZZ18/pre-Protein A-Chit1-V5-His were used as previously reported [34–36].

2.2. Preparation of *Serratia* ChiB-V5-His, protein A-Chit1-V5-His and protein A-AMCase-V5-His

Preparation of *Serratia* ChiB-V5-His from the *E. coli* was performed and purified by Ni Sepharose as described previously [34]. Eluted protein was dialyzed against 20 mM Tris-HCl (pH 8.6) and applied on the HiTrap Q HP column (GE Healthcare) equilibrated with same buffer. The column was washed with 10 volumes of 20 mM Tris-HCl (pH 8.6) and eluted with linear gradient of 0 to 1.0 M NaCl.

Preparation of Protein A-AMCase-V5-His and Protein A-Chit1-V5-His from the *E. coli* was performed and purified by Ni Sepharose and HiTrap Q HP column as described previously [34–36].

2.3. Protein concentration, SDS-PAGE, Western blot and chitinolytic activity

Protein concentrations, SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) and Western blotting were carried out as described previously [34].

Chitinolytic activity was determined using the synthetic chromogenic substrate, 4-nitrophenyl *N,N'*-diacetyl- β -D-chitobioside [4-NP-(GlcNAc)₂, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA] at a concentration of 200 μ M as described previously [34–36]. The reaction was terminated by 20 μ L of 1 M sodium carbonate. Released 4-NP was detected spectrophotometrically at 405 nm. A molar extinction coefficient for 4-NP of 17,700 M⁻¹ cm⁻¹ was used in the calculations. One enzyme unit (U) was defined as 1 μ mol of 4-NP released from 4-NP-(GlcNAc)₂ per min at 37 °C at each pH.

The initial rate of 4-NP-(GlcNAc)₂ hydrolysis was measured in triplicate at 37 °C. Kinetic parameters, *K*_M and *V*_{max} for 4-NP-(GlcNAc)₂, were calculated over a range of 0.05 to 1.6 mM assuming a Michaelis-Menten kinetic model as described previously [37].

2.4. Degradation of chitin substrates by chitinases

We used 4-NP-(GlcNAc)₂ as well as (GlcNAc)₄ and colloidal chitin substrates as described previously [34]. The chitinase activity was measured by incubating 4-NP-(GlcNAc)₂ or (GlcNAc)₄ (both at the final concentration of 200 μ M) with enzymes (each 2.1 pmol; final concentration 42 nM) in McIlvaine's buffer at 37 °C for 30 min or 1 min, respectively. To detect degradation products from the polymeric substrate, colloidal chitin (final concentration 2 mg/mL), the reaction was initiated by enzyme addition (each 10 pmol; final concentration 200 nM) to the mixture containing the substrate followed by incubation at 37 °C for 30 min. The reaction mixture was immediately freeze-dried under vacuum using Centrifugal Concentrator CC-105 (TOMY, Tokyo, Japan). The chitin fragments generated from these reactions were labeled covalently at their reducing end groups with the fluorophore 8-aminonaphthalene-

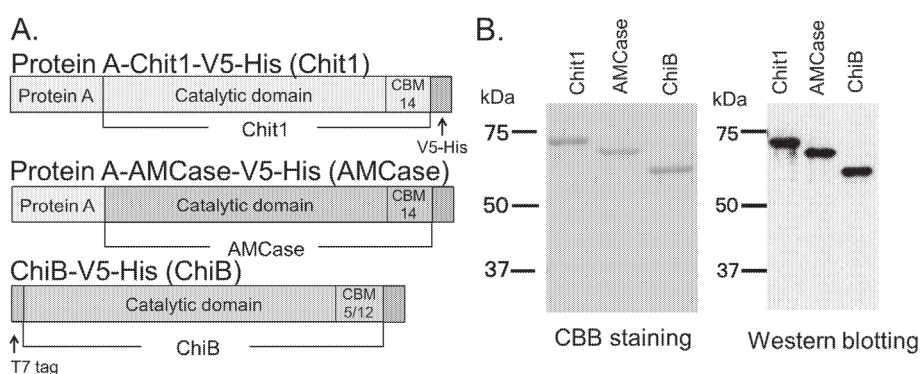


Fig. 1. Production of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB in *E. coli* as fusions proteins of Protein A and V5-His. (A) Schematic representations of the *E. coli*-expressed mouse mature Protein A-Chit1-V5-His, Protein A-AMCase-V5-His and ChiB-V5-His. Mouse Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB contain an N-terminal catalytic domain (CatD) and a C-terminal chitin-binding domain (CBD). (B) SDS-PAGE analysis of the fusion proteins purified using the Ni Sepharose column, followed by HiTrap Q HP column. Same amount of purified proteins was electrophoresed and visualized by CBB staining. Protein samples were further analyzed by Western blot using anti-V5 antibody.

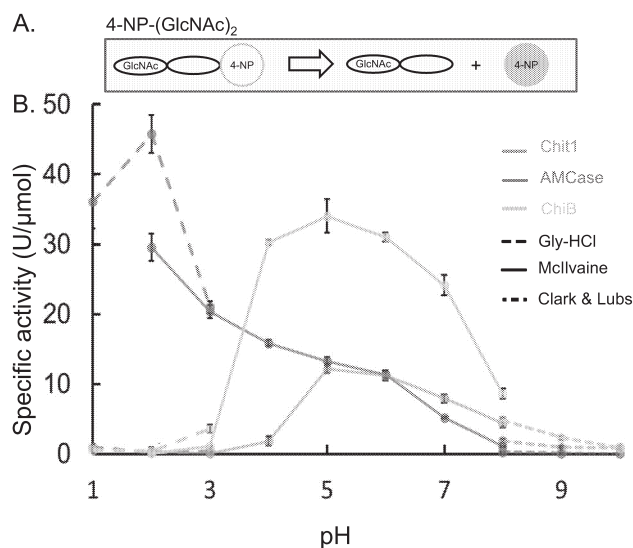


Fig. 2. Characterization of chitinolytic activity of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB using colorimetric method. (A) The absorbance of 4-NP ions released from 4-NP-(GlcNAc)₂ was measured at 405 nm. (B) The chitinolytic activities of Chit1 (blue), AMCase (red) and *Serratia* ChiB (green) were measured in a volume of 50 μ L in Gly-HCl buffer (pH 1.0 to 3.0), Mcllvaine's buffer (pH 2.0 to 8.0) and Clark and Lubs buffer (pH 8.0 to 10.0) at 37 °C for 30 min. Error bars represent mean \pm standard deviation from a single experiment conducted in triplicate.

1,3,6-trisulphonic acid (ANTS, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA), and the resulting fluorescent derivatives were separated by PAGE, as described by Jackson [38] and recently improved by our group [32]. GlcNAc oligomers (Seikagaku Corporation, Tokyo, Japan) were used as a standard.

2.5. Degradation of (GlcNAc)₄ and colloidal chitin by Chit1 and AMCase mixture

We degraded (GlcNAc)₄ or colloidal chitin by combining Chit1 and AMCase. Chit1 and AMCase were mixed at molar ratios of 1:1, 1:2 or 2:1. The reaction mixtures were incubated at pH 5.0 or 7.0 and 37 °C for 30 min. The degradation products were analyzed by FACE method.

2.6. Statistical analysis

Chitinolytic activities were compared using Student's *t*-test. We considered the differences to be significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Purification of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB expressed in *E. coli*

We have previously reported that mouse AMCase and Chit1 expressed as fusion proteins (Protein A-Chit1-V5-His and Protein A-AMCase-V5-His) using the pEZZ18 system in *E. coli* (Fig. 1A) functioned with comparable efficacies with recombinant enzymes expressed in

CHO cells [34–36]. *Serratia* ChiB has been expressed in *E. coli* in many studies. We expressed a fusion protein (T7 tag-ChiB-V5-His) using pET system (Fig. 1A).

We have also recently shown that Protein A-Chit1-V5-His can be separated using Ni Sepharose column and further purified by the HiTrap Q HP column [34]. We used the same protocol for Protein A-AMCase-V5-His and ChiB-V5-His isolation. Purified enzymes (2.1 pmol) were analyzed by SDS-PAGE followed by Coomassie Brilliant Blue (CBB) staining or by Western blotting using anti-V5 antibody (Fig. 1B).

3.2. Comparison of chitinolytic activities of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB using 4-NP-(GlcNAc)₂ and colorimetric analysis

Mouse chitinases are expressed in stomach (pH 2.0), in lysosomes of immune cells (pH 5.0) as well as in eyes, lung and other tissues (pH 7.0) [10].

We measured the chitinolytic activity of the fusion proteins at pH ranging from 1.0 to 10.0 using the 4-NP-(GlcNAc)₂ substrate. The absorbance of the released 4-NP ion was measured at 405 nm (Fig. 2A). Chit1 had highest activity at pH 5.0 and 6.0 with a drop at neutral (pH 7.0–8.0) or more acidic (pH 4.0) conditions with no activity at pH 2.0 and 3.0 (Fig. 2B, blue). AMCase showed peak activity at pH 2.0 (in Gly-HCl buffer) and lower activities at pH 3.0–8.0 (Fig. 2B, red) while the activity of *Serratia* ChiB was highest at pH 4.0–6.0 with a drop at more acidic (pH 3.0) or neutral conditions (pH 7.0–8.0) and the activity disappeared at pH 2.0 (Fig. 2B, green). These results (summarized in Table 1) are in accordance with previously reported data [23,24,34,35] with highest activities being as follows: AMCase (pH 2.0) > *Serratia* ChiB (pH 5.0) > Chit1 (pH 5.0).

In addition, we determined the steady-state kinetic parameters of the fusion proteins with 4-NP-(GlcNAc)₂ (Table 2). The hydrolysis reactions obeyed the Michaelis-Menten kinetic model. At 37 °C, the k_{cat} values of Chit1 (Mcllvaine's buffer at pH 5.0), AMCase (Gly-HCl at pH 2.0 and Mcllvaine's buffer at pH 5.0) and *Serratia* ChiB (Mcllvaine's buffer at pH 5.0) were 0.2 s⁻¹, 1.0 s⁻¹, 0.3 s⁻¹ and 0.6 s⁻¹, respectively, and the K_M values were 82.2 μ M, 117.5 μ M, 146.2 μ M and 89.9 μ M, respectively (Table 2).

3.3. Evaluation of chitinolytic activities using 4-NP-(GlcNAc)₂ and FACE method

FACE is a simple, quantitative and very sensitive method detecting degradation products from artificial and natural chitin substrates on polyacrylamide gels [32,38]. Fig. 3A shows the schematic representation of the degradation products, that are released from 4-NP-(GlcNAc)₂, followed by labeling with ANTS [32–34].

Chit1 and *Serratia* ChiB were able to degrade the substrate to (GlcNAc)₂ at pH 5.0 and 7.0 (Fig. 3B and D) while AMCase produced (GlcNAc)₂ at pH 2.0, 5.0 or 7.0 and (GlcNAc)₃ at pH 5.0 and 7.0 (Fig. 3C). Fig. 3E shows the quantification of this experiment. Chit1 and *Serratia* ChiB had highest activity at pH 5.0 followed by pH 7.0 and no activity at pH 2.0. As expected, the highest chitinase activity was observed in AMCase (pH 2.0) followed by *Serratia* ChiB (pH 5.0) and Chit1 (pH 5.0) (Fig. 3E and Table 1). The activities of Chit1 at pH 5.0 and 7.0, respectively, were comparable to those of AMCase

Table 1
Comparison of specific activity of colorimetric and FACE method.

Enzymes	pH	2.0 (Gly-HCl)	2.0 (Mcllvaine)	5.0	7.0
Chit1	Colorimetric	0.00	0.00	12.20 \pm 0.70	7.91 \pm 0.60
	FACE	0.00	0.00	11.20 \pm 0.05	5.62 \pm 0.05
AMCase	Colorimetric	45.80 \pm 2.68	29.57 \pm 2.01	13.22 \pm 0.59	5.14 \pm 0.12
	FACE	38.47 \pm 0.08	20.33 \pm 0.10	9.63 \pm 0.16	4.48 \pm 0.04
ChiB	Colorimetric	0.00	0.00	34.02 \pm 2.37	24.11 \pm 1.44
	FACE	0.00	0.00	28.37 \pm 0.34	21.15 \pm 0.11

Comparison of specific activity of colorimetric and FACE method using 4-NP-(GlcNAc)₂.

Table 2Comparison of kinetic parameters of chitinases for 4NP-(GlcNAc)₂.

Enzymes	k_{cat} (s ⁻¹)	K_M (μ M)	k_{cat}/K_M (s ⁻¹ μ M ⁻¹)	pH	Temp (°C)
AMCase	1.0 ± 0.012	117.5 ± 6.8	0.008	2.0	37
AMCase	0.3 ± 0.001	146.2 ± 1.9	0.002	5.0	37
Chit1	0.2 ± 0.001	82.2 ± 0.3	0.002	5.0	37
<i>Serratia</i> ChiB	0.6 ± 0.008	89.9 ± 3.7	0.007	5.0	37

The kinetic parameters of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB at 37 °C, optimal pH.

under these pH conditions. The pH preference of Chit1 was similar to *Serratia* ChiB. Thus, the results obtained by FACE method were comparable to those of colorimetric analysis (Table 1).

In addition, trimer of GlcNAc was produced from 4-NP-(GlcNAc)₂ by AMCase (Fig. 3B), which is consistent with our recent report [33], a phenomenon not observed in the presence of Chit1 and *Serratia* ChiB. Thus, transglycosylation activity is conferred only by AMCase under this condition.

3.4. Comparison of chitinolytic activities at various pH using (GlcNAc)₄ and FACE method

Next, we used (GlcNAc)₄ as the substrate (Fig. 4A). The band patterns of FACE analysis for each enzyme (Fig. 4B–D) were similar to those in Fig. 3.

Levels of chitinase activity at particular optimum conditions ranked as follows: AMCase (pH 2.0) ≈ *Serratia* ChiB (pH 5.0) > Chit1 (pH 5.0) (Fig. 4E). The activity of Chit1 at pH 5.0 and 7.0 was lower than those of AMCase.

In accordance with the experiment using 4-NP-(GlcNAc)₂, the pH preference of Chit1 was similar to that of *Serratia* ChiB. The maximum activity of AMCase at pH 2.0 was higher than that of *Serratia* ChiB at pH 5.0 (Figs. 2 and 3). The activity of Chit1 at pH 5.0 and 7.0 was

comparable to those of AMCase (Figs. 2 and 3). Thus, the specific activities of Chit1 and AMCase at pH 5.0 and 7.0 were different between 4-NP-(GlcNAc)₂ (Figs. 2 and 3) and (GlcNAc)₄ (Fig. 4). These differences suggest the dissimilar reactivities of Chit1 and AMCase toward synthetic and natural low MW substrates.

3.5. Comparison of activities at various pH using high MW chitin substrate

The degradation patterns of high MW colloidal chitin (Fig. 5A) obtained by FACE method for Chit1 and *Serratia* ChiB (Fig. 5B and D) were similar to both previous experiments (Figs. 3 and 4). AMCase produced (GlcNAc)₂ at pH 2.0, 5.0 and 7.0 (Fig. 5C). The amount of (GlcNAc)₂ obtained by AMCase at pH 5.0 was higher than that at pH 2.0 (McIlvaine's buffer) (Fig. 5E).

Chitinase activities of each optimum conditions were in the following order: AMCase (pH 2.0) > *Serratia* ChiB (pH 5.0) > Chit1 (pH 5.0) (Fig. 5E). Similarly to the experiments described above, the activities of Chit1 at pH 5.0 and 7.0 were lower than those of AMCase. The pH preference of Chit1 was similar to that of *Serratia* ChiB. The activity of AMCase at pH 5.0 was comparable to that of *Serratia* ChiB at the same pH.

The activity of AMCase showed different pattern toward low and high MW substrates (compare Figs. 4 and 5) with higher efficiency of (GlcNAc)₂ production from colloidal chitin at pH 5.0 rather than at pH 2.0. In contrast, the activity of Chit1 between high MW and low MW substrates was not altered at any pH. Thus, changes of degradation products using different substrates indicate that AMCase and Chit1 have different properties under various pH conditions.

3.6. Combinatory effects of Chit1 and AMCase on degradation of chitin substrates at pH 5.0 and 7.0

It has been reported that *Serratia* ChiA and ChiB have synergistic effect on the chitin degradation rate [23,24]. Mouse Chit1 and AMCase

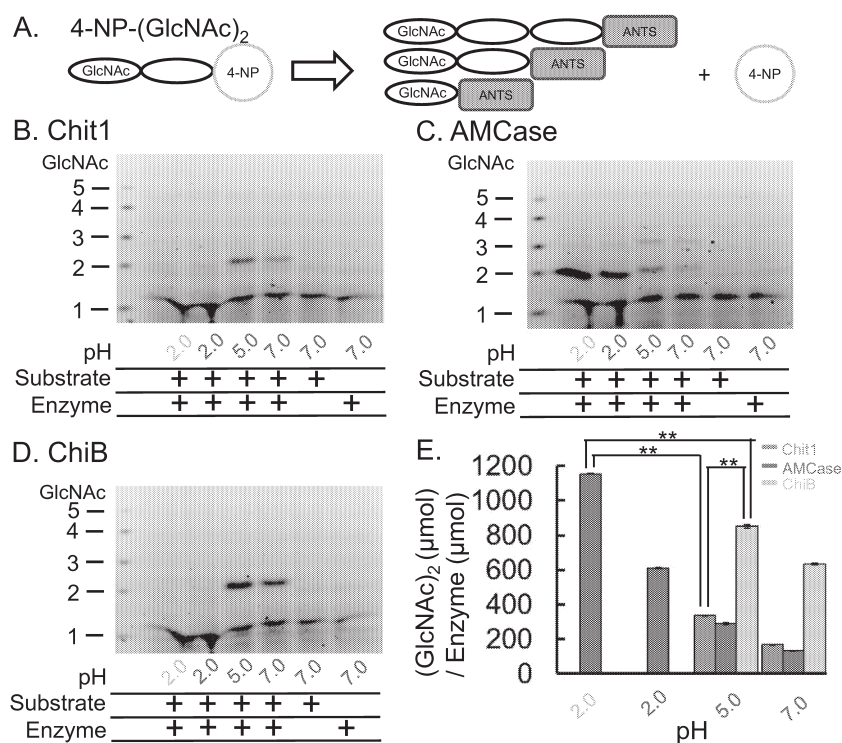


Fig. 3. Characterization of chitinolytic activity of Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB using FACE method. (A) Schematic representation of the degradation products that are released from 4-NP-(GlcNAc)₂ and labeled with ANTS. Chitinase activities of Chit1 (B), AMCase (C) and *Serratia* ChiB (D) were investigated by incubating the enzyme with 4NP-(GlcNAc)₂ as a substrate using Gly-HCl buffer (pH 2.0) (orange), McIlvaine's buffer (pH 2.0, 5.0 and 7.0) (dark blue). Reactions were performed for 30 min at 37 °C, followed by labeling with a fluorophore and separated by PAGE as described in Materials and methods. Chitin oligomers are shown in the left margin as standards. (E) Quantitative data of generated (GlcNAc)₂ at each pH. Fluorescence intensity estimated from the results in (B)–(D). Chit1, blue; AMCase, red; *Serratia* ChiB, green. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

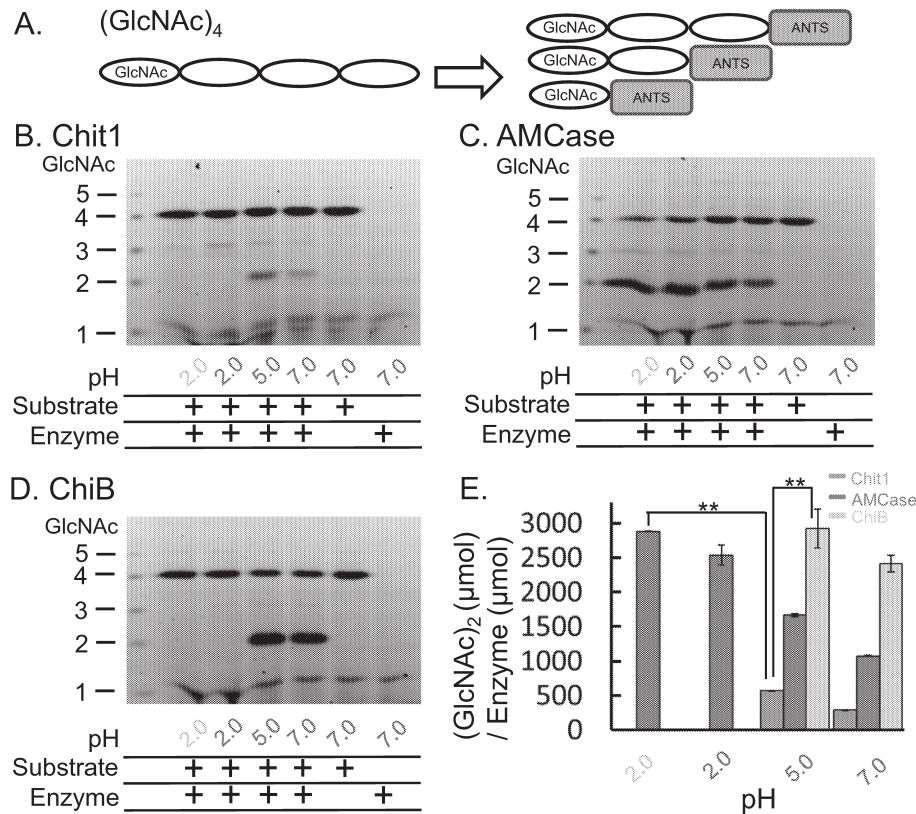


Fig. 4. Degradation of (GlcNAc)₄ at pH 2.0, 5.0 and 7.0 by Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB. (A) Schematic representation of the degradation products from (GlcNAc)₄, followed by labeling by ANTS. Chitinase activities of Chit1 (B), AMCase (C) and *Serratia* ChiB (D) were investigated by incubating the enzyme with (GlcNAc)₄ as substrates in Gly-HCl buffer (pH 2.0), McIlvaine's buffer (pH 2.0, 5.0 and 7.0). Reactions were conducted for 1 min at 37 °C, followed by labeling with a fluorophore and separated by PAGE as described in Materials and methods. Chitin oligomers are shown in the left margin as standards. (E) Quantitative data of generated (GlcNAc)₂ at each pH. Fluorescence intensity estimated from the results in (B)–(D). Chit1, blue; AMCase, red; *Serratia* ChiB, green. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

are expressed in monocytes and macrophages and are present in lysosomes (pH 5.0) or secreted into extracellular space (pH 7.0). Although Chit1 and AMCase coexist in various tissues and cells, the potential synergistic functioning of these enzymes has not been determined. According to the previously reported methods in *Serratia* [23,24] and *Alteromonas* sp. strain O-7 chitinases [39], we analyzed the degradation products from (GlcNAc)₄ and colloidal chitin by combining Chit1 and AMCase at pH 5.0 or 7.0 and 37 °C. At both pH values, the enzyme mixture degraded (GlcNAc)₄ but we observed no synergistic effect (Fig. 6). Similarly, no synergy of the enzymes was detected in digestion of colloidal chitin (Fig. 7). Our results indicate that, in contrast to the bacterial chitinases, Chit1 and AMCase have no synergistic effect and suggest that these enzymes may act independently under various pH conditions.

4. Discussion

The expression of Chit1 and AMCase is altered in individuals with specific pathological conditions. In addition, the chitinases often represent useful biomarkers for inflammatory diseases [5,40,41]. Chit1 and AMCase exist side-by-side in many tissues and cells. However, it still remains unknown whether Chit1 and AMCase interact with each other at physiological conditions. In addition, the chitinase activities can be modulated by several factors such as chitin substrates and pH. In order to clarify similarities and differences as well as the potential synergy between Chit1 and AMCase, we directly compared their chitinolytic properties and analyzed their combinatory effects in the pH conditions related to *in vivo* environments of both enzymes' expression and presence.

Chitinolytic activity at pH 2.0, 5.0 and 7.0 were essentially similar in both colorimetric (Fig. 2) and FACE analysis (Fig. 3 and Table 1). Thus, the combination of the colorimetric analysis and FACE method is effective and reliable for characterizing chitinolytic activity and transglycosylation activity as described previously [32–34].

Eide et al. reported that human Chit1 degraded (GlcNAc)₄ and mainly produced (GlcNAc)₂ detected by HPLC analysis [42]. In addition, a peak corresponding to (GlcNAc)₃ was observed. In our present study, FACE method revealed that mouse Chit1 degraded (GlcNAc)₄ primarily to (GlcNAc)₂ with moderate levels of (GlcNAc)₃ (Fig. 4B).

Bands corresponding to GlcNAc monomer present also in the absence of enzymes or substrates (Figs. 3–7) may be derived from buffers in the reaction solution as reported previously [32]. Since the enzymatic reactions contain buffers in this study, it is difficult to discriminate and detect the monomer by the FACE method.

Krokeide et al. reported that the k_{cat} and K_M values of *Serratia* ChiB are different when using artificial or natural substrates. Specifically, using 4-NP-(GlcNAc)₂, k_{cat} of 1.4 s⁻¹ and K_M of 181 μM differed markedly from the values obtained with the natural substrate (GlcNAc)₄ $k_{cat} = 28$ s⁻¹, $K_M = 4$ μM [43] suggesting that the kinetic parameters determined with artificial substrates may not mimic accurately the real parameters. Our data show that the activity of *Serratia* ChiB toward (GlcNAc)₄ is higher than toward 4-NP-(GlcNAc)₂. This is similar to the tendency of *Serratia* ChiB against artificial and natural substrates reported by Krokeide et al. [43].

Chit1 is a well-studied mammalian chitinase [40,42,44–48]. Replenishment of recombinant human Chit1 into neutropenic mouse models of candidiasis and aspergillosis increased the survival rate [49]. Thus, it has been suggested that the fundamental functions of human and mouse Chit1 are identical. In this study, the maximum activity of Chit1

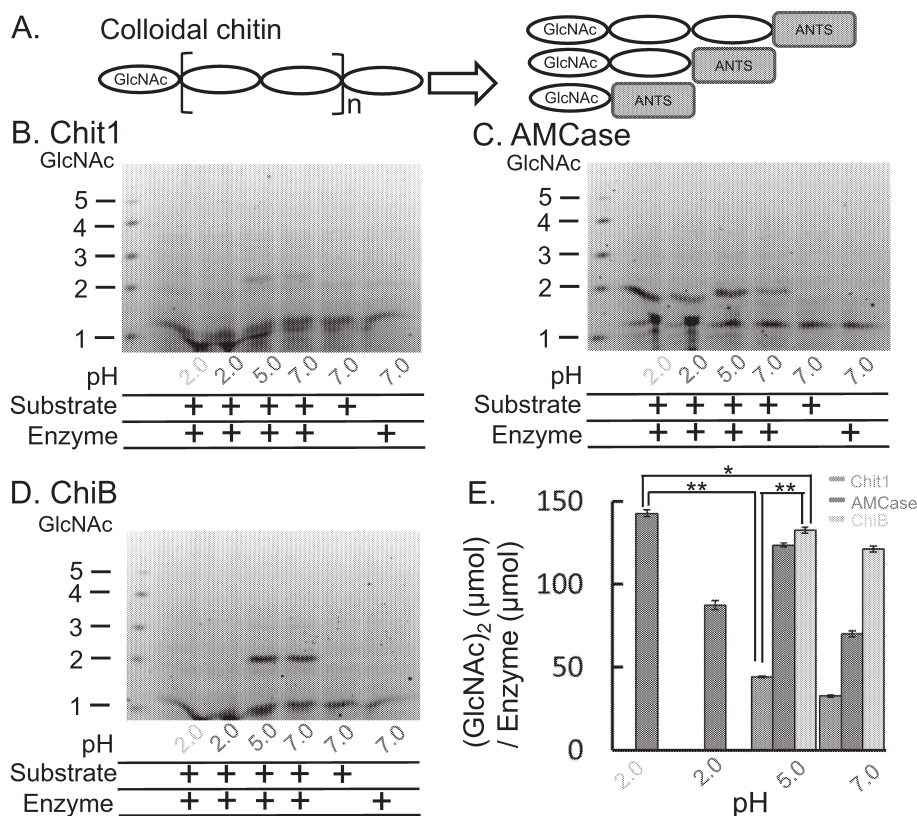


Fig. 5. Degradation of colloidal chitin at pH 2.0, 5.0 and 7.0 by Chit1, AMCase and *Serratia* ChiB. (A) Schematic drawing of the degradation products generated from colloidal chitin, followed by labeling with ANTS. Chitinase activities of Chit1 (B), AMCase (C) and *Serratia* ChiB (D) were investigated by incubating the enzyme with colloidal chitin as substrates in Gly-HCl buffer (pH 2.0), McIlvaine's buffer (pH 2.0, 5.0 and 7.0). Reactions were conducted for 30 min at 37 °C, followed by labeling with a fluorophore and separated by PAGE as described in Materials and methods. Chitin oligomers are shown in the left margin as standards. (E) Quantitative data of generated (GlcNAc)₂ at each pH. Fluorescence intensity estimated from the results in (B)–(D). Chit1, blue; AMCase, red; *Serratia* ChiB, green. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

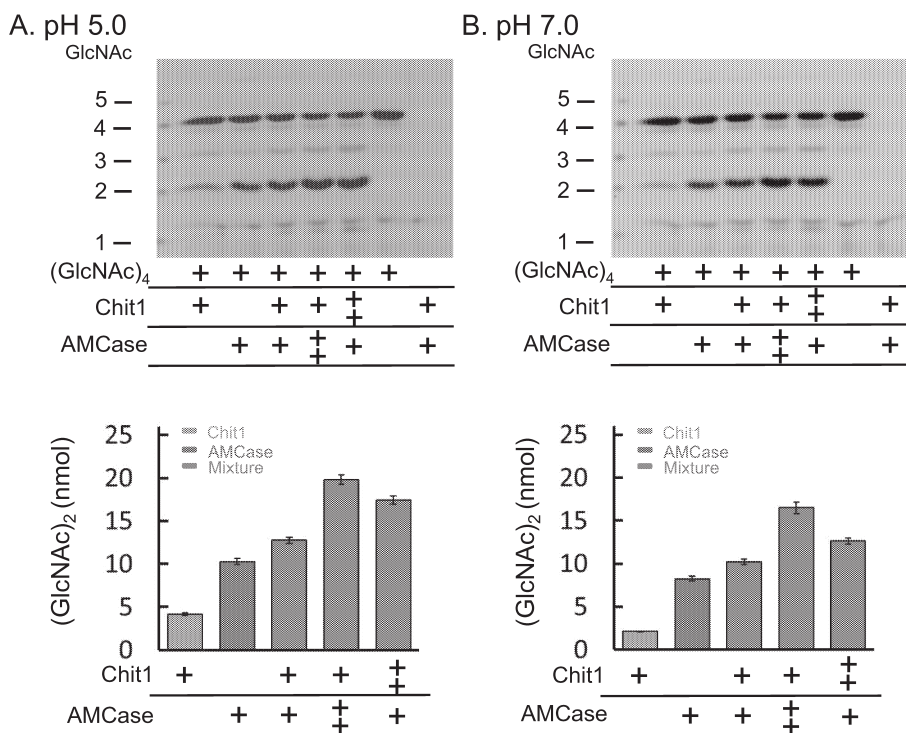


Fig. 6. Degradation of (GlcNAc)₄ by Chit1 and AMCase combination at pH 5.0 and 7.0. (GlcNAc)₄ was incubated with mixture of Chit1 and AMCase at different ratios at pH 5.0 (A) or pH 7.0 (B). The products were analyzed as described in Fig. 4.

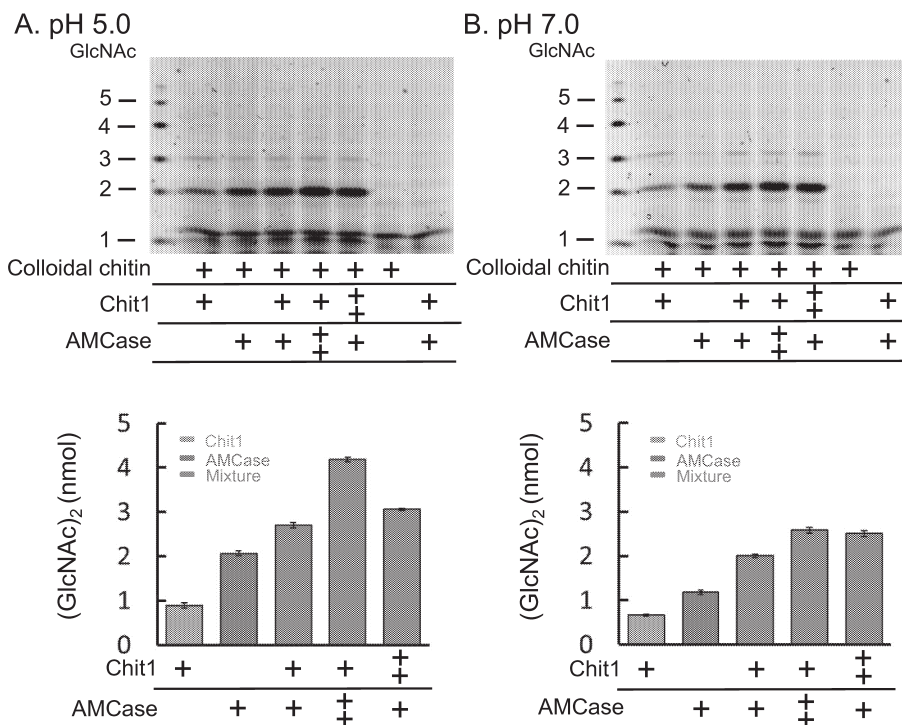


Fig. 7. Degradation of colloidal chitin by Chit1 and AMCase combination at 5.0 and 7.0. Colloidal chitin was incubated with mixture of Chit1 and AMCase at different ratios at pH 5.0 (A) or pH 7.0 (B). The products were analyzed as described in Fig. 5.

was lower than that of AMCase. Chit1 is thought to function sufficiently by increasing the expression level in pathological conditions and is secreted by lung macrophages and neutrophils.

AMCase is a digestive enzyme highly expressed in mouse stomach tissues and is most active at pH 2.0 [9,10,35,50–52]. Recently, we have shown that AMCase and its chicken homologue, Chia, function as major protease-resistant glycosidases under gastrointestinal tract conditions in mouse, chicken, pig and common marmoset [21,53–55].

In lung, Chit1 functions as a biological defense to infection. AMCase is secreted into lung epithelial cells in mice and has been reported to contribute to chitin degradation in the respiratory tract [3]. Expression levels of Chit1 and AMCase are changed in different chronic inflammatory diseases such as COPD and allergic asthma [16,56]. In this study, we confirmed that Chit1 and AMCase have different chitinolytic properties under acidic to neutral conditions. In addition, the activity of AMCase against high MW substrate at pH 7.0 was higher than that of Chit1. Thus, it has been suggested that the roles of Chit1 and AMCase are different in tissues with pH 7.0 that include lungs [12].

Serratia ChiB is a well-characterized chitinase and has been shown to have a synergistic effect with *Serratia* ChiA [23,24]. By comparing the enzymatic properties of mouse Chit1 and AMCase with *Serratia* ChiB, we can objectively highlight the chitinolytic properties and their combinatory effects. We first directly compared the chitinolytic properties of Chit1 and AMCase with *Serratia* ChiB using artificial and natural chitin substrates. The activity of AMCase against high MW and low MW substrates was different at each pH, whereas the activity of Chit1 was not altered (Figs. 2, 3, 4 and 5). In addition, transglycosylation activity was observed only in AMCase using 4-NP-(GlcNAc)₂ (Fig. 3). Thus, Chit1 and AMCase have different properties such as chitinolytic and transglycosylation activity under various pH conditions.

Serratia marcescens possesses a multiprotein chitinolytic system including ChiA, ChiB, ChiC, chitobiase and lytic polysaccharide monooxidase chitin-binding protein [25], degrading chitin into an energy source. *Serratia* ChiA and ChiB have synergistic effects to increase the

efficiency of chitin degradation [23,24]. Similar synergistic effect was also observed in *Alteromonas* sp. strain O-7 chitinases [39]. Mouse Chit1 and AMCase are expressed in monocyte and macrophage and present in lysosomes (pH 5.0) or secreted to extracellular space (pH 7.0) in peripheral tissues. In contrast to the bacterial chitinases, we observed no synergistic effect and interaction between Chit1 and AMCase regardless of MW of the substrates or the pH conditions.

5. Conclusions

The chitinolytic properties of mouse Chit1 and AMCase were directly compared using artificial and natural chitin substrates. AMCase showed stronger or comparable chitinolytic activity with *Serratia* ChiB. Chit1 and AMCase show different properties that are chitinolytic and transglycosylation activity through acidic to neutral conditions with no synergistic functioning and mutual interference.

Acknowledgements

We are grateful to Akinori Kashimura, Shotaro Honda, Eri Tabata, Maiko Uehara, Mitsuhiro Yuasa, Takashi Watanabe, Nao Kishigami and Yasutada Imamura for valuable suggestions.

Funding

This work was supported by the Project Research Grant from the Research Institute of Science and Technology, Kogakuin University (to F.O.); by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) (grant numbers 19J15483 to M.K. and 16K07699 to F.O., respectively); by a Grant from the Science Research Promotion Fund of the Promotion and Mutual Aid Corporation (PMAC) for Private Schools of Japan (to M.S. and F.O.); and a grant of the Strategic Research Foundation Grant-aided Project for Private Universities (S1411005 to M.S. and F.O.) from the Ministry of Education, Culture, Sport, Science and Technology, Japan.

Author contributions

M.K., M.S., P.O.B., F.O. conceived and designed the experiments; M.K., T.U., S.W., K.O., M.S., F.O. performed research; M.K., T.U., F.O. analyzed data; M.K., V.M., P.O.B., F.O. wrote the paper; M.K., T.U., S.W., K.O., M.S., V.M., P.O.B., F.O. contributed to the critical appraisal of the paper and approved the final version.

Competing interests

The authors declare no competing financial interests.

References

- B.E. Koch, J. Stougaard, H.P. Spaink, Keeping track of the growing number of biological functions of chitin and its interaction partners in biomedical research, *Glycobiology* 25 (5) (2015) 469–482.
- M. Wysokowski, I. Petrenko, A.L. Stelling, D. Stawski, T. Jesionowski, H. Ehrlich, Poriferan chitin as a versatile template for extreme biomimetics, *Polymers* 7 (2015) 235–265.
- C.G. Lee, C.A. Da Silva, C.S. Dela Cruz, F. Ahangari, B. Ma, M.J. Kang, C.H. He, S. Takyar, J.A. Elias, Role of chitin and chitinase/chitinase-like proteins in inflammation, tissue remodeling, and injury, *Annu. Rev. Physiol.* 73 (2011) 479–501.
- C.L. Bueter, C.A. Specht, S.M. Levitz, Innate sensing of chitin and chitosan, *PLoS Pathog.* 9 (1) (2013), e1003080.
- S.J. Van Dyken, R.M. Locksley, Chitins and chitinase activity in airway diseases, *J. Allergy Clin. Immunol.* 142 (2) (2018) 364–369.
- C.E. Hollak, S. van Weely, M.H. van Oers, J.M. Aerts, Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease, *J. Clin. Invest.* 93 (3) (1994) 1288–1292.
- G.H. Renkema, R.G. Boot, A.O. Muijsers, W.E. Donker-Koopman, J.M. Aerts, Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins, *J. Biol. Chem.* 270 (5) (1995) 2198–2202.
- R.G. Boot, G.H. Renkema, A. Strijland, A.J. van Zonneveld, J.M. Aerts, Cloning of a cDNA encoding chitotriosidase, a human chitinase produced by macrophages, *J. Biol. Chem.* 270 (44) (1995) 26252–26256.
- R.G. Boot, E.F. Blommaert, E. Swart, K. Ghauharali-van der Vlugt, N. Bijl, C. Moe, A. Place, J.M. Aerts, Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase, *J. Biol. Chem.* 276 (9) (2001) 6770–6778.
- M. Ohno, K. Tsuda, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, F. Oyama, Chitinase mRNA levels by quantitative PCR using the single standard DNA: acidic mammalian chitinase is a major transcript in the mouse stomach, *PLoS One* 7 (11) (2012), e50381.
- M. Kanneganti, A. Kamba, E. Mizoguchi, Role of chitotriosidase (chitinase 1) under normal and disease conditions, *J. Epithel. Biol. Pharmacol.* 5 (2012) 1–9.
- M. Di Rosa, C. De Gregorio, G. Malaguarnera, M. Tuttobene, F. Biazzo, L. Malaguarnera, Evaluation of AMCase and CHIT-1 expression in monocyte macrophages lineage, *Mol. Cell. Biochem.* 374 (1–2) (2013) 73–80.
- M. Artieda, A. Cenarro, A. Ganan, I. Jerico, C. Gonzalvo, J.M. Casado, I. Vitoria, J. Puzo, M. Poci, F. Civeira, Serum chitotriosidase activity is increased in subjects with atherosclerosis disease, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23 (9) (2003) 1645–1652.
- A. Sonmez, C. Haymana, S. Tapan, U. Safer, G. Celebi, O. Ozturk, H. Genc, T. Dogru, I. Tasci, G. Erdem, A. Taslipinar, A. Aydogdu, M.I. Yilmaz, I. Kurt, M. Kutlu, Chitotriosidase activity predicts endothelial dysfunction in type-2 diabetes mellitus, *Endocrine* 37 (3) (2010) 455–459.
- G. Livnat, R. Bar-Yoseph, A. Mory, E. Dagan, N. Elias, R. Gershoni, L. Bentur, Duplication in CHIT1 gene and the risk for Aspergillus lung disease in CF patients, *Pediatr. Pulmonol.* 49 (1) (2014) 21–27.
- S. Letuve, A. Kozhich, A. Humbles, Y. Brewah, M.C. Dombret, M. Grandsaigne, H. Adle, R. Kolbeck, M. Aubier, A.J. Coyle, M. Pretolani, Lung chitinolytic activity and chitotriosidase are elevated in chronic obstructive pulmonary disease and contribute to lung inflammation, *Am. J. Pathol.* 176 (2) (2010) 638–649.
- M. Watabe-Rudolph, Z. Song, L. Lausser, C. Schnack, Y. Begus-Nahrmann, M.O. Scheithauer, G. Rettinger, M. Otto, H. Tumani, D.R. Thal, J. Attems, K.A. Jellinger, H.A. Kestler, C.A. von Arnim, K.L. Rudolph, Chitinase enzyme activity in CSF is a powerful biomarker of Alzheimer disease, *Neurology* 78 (8) (2012) 569–577.
- M.A. Seibold, S. Donnelly, M. Solon, A. Innes, P.G. Woodruff, R.G. Boot, E.G. Burchard, J.V. Fahy, Chitotriosidase is the primary active chitinase in the human lung and is modulated by genotype and smoking habit, *J. Allergy Clin. Immunol.* 122 (5) (2008) 944–950 (e3).
- Z. Zhu, T. Zheng, R.J. Homer, Y.K. Kim, N.Y. Chen, L. Cohn, Q. Hamid, J.A. Elias, Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation, *Science* 304 (5677) (2004) 1678–1682.
- T.A. Reese, H.E. Liang, A.M. Tager, A.D. Luster, N. Van Rooijen, D. Voehringer, R.M. Locksley, Chitin induces accumulation in tissue of innate immune cells associated with allergy, *Nature* 447 (7140) (2007) 92–96.
- M. Ohno, M. Kimura, H. Miyazaki, K. Okawa, R. Onuki, C. Nemoto, E. Tabata, S. Wakita, A. Kashimura, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, N. Nukina, P.O. Bauer, F. Oyama, Acidic mammalian chitinase is a proteases-resistant glycosidase in mouse digestive system, *Sci. Rep.* 6 (2016), 37756.
- J. Monreal, E.T. Reese, The chitinase of *Serratia marcescens*, *Can. J. Microbiol.* 15 (7) (1969) 689–696.
- M.B. Brurberg, I.F. Nes, V.G. Eijsink, Comparative studies of chitinases A and B from *Serratia marcescens*, *Microbiology* 142 (Pt 7) (1996) 1581–1589.
- K. Suzuki, N. Sugawara, M. Suzuki, T. Uchiyama, F. Katouno, N. Nikaidou, T. Watanabe, Chitinases A, B, and C1 of *Serratia marcescens* 2170 produced by recombinant *Escherichia coli*: enzymatic properties and synergism on chitin degradation, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 (5) (2002) 1075–1083.
- G. Vaaje-Kolstad, S.J. Horn, M. Sorlie, V.G. Eijsink, The chitinolytic machinery of *Serratia marcescens*—a model system for enzymatic degradation of recalcitrant polysaccharides, *FEBS J.* 280 (13) (2013) 3028–3049.
- T.R. Tuveng, L.H. Hagen, S. Mekasha, J. Frank, M.O. Arntzen, G. Vaaje-Kolstad, V.G.H. Eijsink, Genomic, proteomic and biochemical analysis of the chitinolytic machinery of *Serratia marcescens* BJL200, *Biochim. Biophys. Acta* 1865 (4) (2017) 414–421.
- H. Sugimoto, K. Nakamura, Y. Nishino, Y. Idezawa, A. Fujinuma, K. Suzuki, T. Watanabe, Differences in the roles of the two surface-exposed tyrosine residues, Y240 and Y481, of *Serratia marcescens* chitinase B during processive degradation of crystalline chitin, *J. Gen. Appl. Microbiol.* 61 (6) (2015) 255–261.
- K. Igarashi, T. Uchihashi, T. Uchiyama, H. Sugimoto, M. Wada, K. Suzuki, S. Sakuda, T. Ando, T. Watanabe, M. Samejima, Two-way traffic of glycoside hydrolase family 18 processive chitinases on crystalline chitin, *Nat. Commun.* 5 (2014) 3975.
- Y.S. Nakagawa, V.G. Eijsink, K. Totani, G. Vaaje-Kolstad, Conversion of alpha-chitin substrates with varying particle size and crystallinity reveals substrate preferences of the chitinases and lytic polysaccharide monoxygenase of *Serratia marcescens*, *J. Agric. Food Chem.* 61 (46) (2013) 11061–11066.
- T. Toratani, T. Shoji, T. Ikehara, K. Suzuki, T. Watanabe, The importance of chitinase and N-acetylglucosamine (GlcNAc) uptake in N,N'-diacetylchitinose [(GlcNAc)₂] utilization by *Serratia marcescens* 2,170, *Microbiology* 154 (Pt 5) (2008) 1326–1332.
- G. Vaaje-Kolstad, B. Westereng, S.J. Horn, Z. Liu, H. Zhai, M. Sorlie, V.G. Eijsink, An oxidative enzyme boosting the enzymatic conversion of recalcitrant polysaccharides, *Science* 330 (6001) (2010) 219–222.
- S. Wakita, M. Kimura, N. Kato, A. Kashimura, S. Kobayashi, N. Kanayama, M. Ohno, S. Honda, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, P.O. Bauer, F. Oyama, Improved fluorescent labeling of chitin oligomers: Chitinolytic properties of acidic mammalian chitinase under somatic tissue pH conditions, *Carbohydr. Polym.* 164 (2017) 145–153.
- S. Wakita, S. Kobayashi, M. Kimura, A. Kashimura, S. Honda, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, M. Kamaya, V. Matoska, P.O. Bauer, F. Oyama, Mouse acidic mammalian chitinase exhibits transglycosylation activity at somatic tissue pH, *FEBS Lett.* 591 (20) (2017) 3310–3318.
- M. Kimura, S. Wakita, K. Ishikawa, K. Sekine, S. Yoshikawa, A. Sato, K. Okawa, A. Kashimura, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, D. Yamanaka, N. Ohno, P.O. Bauer, F. Oyama, Functional properties of mouse chitotriosidase expressed in the periplasmic space of *Escherichia coli*, *PLoS One* 11 (10) (2016), e0164367.
- A. Kashimura, K. Okawa, K. Ishikawa, Y. Kida, K. Iwabuchi, Y. Matsushima, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, F. Oyama, Protein A-mouse acidic mammalian chitinase-V5-His expressed in periplasmic space of *Escherichia coli* possesses chitinase functions comparable to CHO-expressed protein, *PLoS One* 8 (11) (2013), e78669.
- K. Okawa, M. Ohno, A. Kashimura, M. Kimura, Y. Kobayashi, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, M. Kamaya, Y. Kino, P.O. Bauer, F. Oyama, Loss and gain of human acidic mammalian chitinase activity by nonsynonymous SNPs, *Mol. Biol. Evol.* 33 (12) (2016) 3183–3193.
- M. Sakaguchi, S. Shimodaira, S.N. Ishida, M. Amemiya, S. Honda, Y. Sugahara, F. Oyama, M. Kawakita, Identification of GH15 family thermophilic archaeal trehalases that function within a narrow acidic-pH range, *Appl. Environ. Microbiol.* 81 (15) (2015) 4920–4931.
- P. Jackson, The use of polyacrylamide-gel electrophoresis for the high-resolution separation of reducing saccharides labelled with the fluorophore 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulphonic acid. Detection of picomolar quantities by an imaging system based on a cooled charge-coupled device, *Biochem. J.* 270 (3) (1990) 705–713.
- H. Orikoshi, S. Nakayama, K. Miyamoto, C. Hanato, M. Yasuda, Y. Inamori, H. Tsujibo, Roles of four chitinases (chia, chib, chic, and chid) in the chitin degradation system of marine bacterium *Alteromonas* sp. strain O-7, *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (4) (2005) 1811–1815.
- M. Di Rosa, L. Malaguarnera, Chitotriosidase: a new inflammatory marker in diabetic complications, *Pathobiology* 83 (4) (2016) 211–219.
- S.J. Cho, M.D. Weiden, C.G. Lee, Chitotriosidase in the pathogenesis of inflammation, interstitial lung diseases and COPD, *Allergy Asthma Immunol. Res.* 7 (1) (2015) 14–21.
- K.B. Eide, A.R. Lindbom, V.G. Eijsink, A.L. Norberg, M. Sorlie, Analysis of productive binding modes in the human chitotriosidase, *FEBS Lett.* 587 (21) (2013) 3508–3513.
- I.M. Krokeide, B. Synstad, S. Gaseidnes, S.J. Horn, V.G. Eijsink, M. Sorlie, Natural substrate assay for chitinases using high-performance liquid chromatography: a comparison with existing assays, *Anal. Biochem.* 363 (1) (2007) 128–134.
- F. Fusetti, H. von Moeller, D. Houston, H.J. Rozeboom, B.W. Dijkstra, R.G. Boot, J.M. Aerts, D.M. van Aalten, Structure of human chitotriosidase. Implications for specific inhibitor design and function of mammalian chitinase-like lectins, *J. Biol. Chem.* 277 (28) (2002) 25537–25544.
- K.B. Eide, A.L. Norberg, E.B. Heggset, A.R. Lindbom, K.M. Varum, V.G. Eijsink, M. Sorlie, Human chitotriosidase-catalyzed hydrolysis of chitosan, *Biochemistry* 51 (1) (2012) 487–495.
- F. Fadel, Y. Zhao, A. Cousido-Siah, F.X. Ruiz, A. Mitschler, A. Podjarny, X-ray crystal structure of the full length human chitotriosidase (CHIT1) reveals features of its chitin binding domain, *PLoS One* 11 (4) (2016), e0154190.
- P.E. Verwer, C.C. Notenboom, K. Eadie, A.H. Fahal, H.A. Verbrugh, W.W. van de Sande, A polymorphism in the chitotriosidase gene associated with risk of mycetoma due to *Madurella mycetomatis* mycetoma—a retrospective study, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9 (9) (2015), e004061.

- [48] L.W. Stockinger, K.B. Eide, A.I. Dybvik, H. Sletta, K.M. Varum, V.G. Eijsink, A. Tondervik, M. Sorlie, The effect of the carbohydrate binding module on substrate degradation by the human chitotriosidase, *Biochim. Biophys. Acta* 1854 (10 Pt A) (2015) 1494–1501.
- [49] M. van Eijk, C.P. van Roomen, G.H. Renkema, A.P. Bussink, L. Andrews, E.F. Blommaart, A. Sugar, A.J. Verhoeven, R.G. Boot, J.M. Aerts, Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity, *Int. Immunol.* 17 (11) (2005) 1505–1512.
- [50] R.G. Boot, A.P. Bussink, M. Verhoek, P.A. de Boer, A.F. Moorman, J.M. Aerts, Marked differences in tissue-specific expression of chitinases in mouse and man, *J. Histochem. Cytochem.* 53 (10) (2005) 1283–1292.
- [51] M. Ohno, Y. Togashi, K. Tsuda, K. Okawa, M. Kamaya, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, F. Oyama, Quantification of chitinase mRNA levels in human and mouse tissues by real-time PCR: species-specific expression of acidic mammalian chitinase in stomach tissues, *PLoS One* 8 (6) (2013), e67399.
- [52] A. Kashimura, M. Kimura, K. Okawa, H. Suzuki, A. Ukita, S. Wakita, K. Okazaki, M. Ohno, P.O. Bauer, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, F. Oyama, Functional properties of the catalytic domain of mouse acidic mammalian chitinase expressed in *Escherichia coli*, *Int. J. Mol. Sci.* 16 (2) (2015) 4028–4042.
- [53] E. Tabata, A. Kashimura, S. Wakita, M. Ohno, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, Y. Kino, V. Matoska, P.O. Bauer, F. Oyama, Gastric and intestinal proteases resistance of chicken acidic chitinase nominates chitin-containing organisms for alternative whole edible diets for poultry, *Sci. Rep.* 7 (1) (2017) 6662.
- [54] E. Tabata, A. Kashimura, S. Wakita, M. Ohno, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, Y. Imamura, S. Seki, H. Ueda, V. Matoska, P.O. Bauer, F. Oyama, Protease resistance of porcine acidic mammalian chitinase under gastrointestinal conditions implies that chitin-containing organisms can be sustainable dietary resources, *Sci. Rep.* 7 (1) (2017), 12963.
- [55] E. Tabata, A. Kashimura, M. Uehara, S. Wakita, M. Sakaguchi, Y. Sugahara, T. Yurimoto, E. Sasaki, V. Matoska, P.O. Bauer, F. Oyama, High expression of acidic chitinase and chitin digestibility in the stomach of common marmoset (*Callithrix jacchus*), an insectivorous nonhuman primate, *Sci. Rep.* 9 (2019) 159.
- [56] M.A. Seibold, T.A. Reese, S. Choudhry, M.T. Salam, K. Beckman, C. Eng, A. Atakilil, K. Meade, M. Lenoir, H.G. Watson, S. Thyne, R. Kumar, K.B. Weiss, L.C. Grammer, P. Avila, R.P. Schleimer, J.V. Fahy, J. Rodriguez-Santana, W. Rodriguez-Cintrón, R.G. Boot, D. Sheppard, F.D. Gilliland, R.M. Locksley, E.G. Burchard, Differential enzymatic activity of common haplotypic versions of the human acidic mammalian chitinase protein, *J. Biol. Chem.* 284 (29) (2009) 19650–19658.

Non-destructive estimation of three-dimensional residual stresses for FSW joints using the eigenstrain methodology and X-ray diffraction

工学院大学 機械システム工学科 小川 雅

オックスフォード大学 Department of Engineering Science Alexander M. Korsunsky

Non-destructive estimation of three-dimensional residual stresses for FSW joints using the eigenstrain methodology and X-ray diffraction

Masaru Ogawa, Department of Mechanical Systems Engineering, Korgakuin University
Alexander M. Korsunsky, Department of Engineering Science, University of Oxford

ABSTRACT : In recent years, friction stir welding (FSW) technique has attracted attention as a method to joint plates made of aluminum alloy A7075. However, FSW is not used in the airline industry, because the three-dimensional residual stresses after welding are unknown. In this study, the eigenstrain reconstruction method was used to evaluate the three-dimensional residual stress of a friction-stir-welded plate made of A7075. In this method, three-dimensional residual stress distributions are calculated from eigenstrains using an inverse analysis. The eigenstrains can be estimated from elastic strains measured by diffraction methods such as neutron diffraction and high-energy synchrotron X-ray diffraction. In this study, a portable X-ray diffractometer was used to measure surface elastic strains. Note that eigenstrains were approximated using the logistic functions to reduce unknown parameters. To evaluate the estimation accuracy of the proposed method, the estimated residual stresses on the back surface were compared with the residual stresses measured by X-ray diffraction. As a result, residual stresses were estimated with higher accuracy. The results of this study clarify that room exists for improving the functional approximation of the eigenstrains.

1. はじめに

摩擦攪拌接合(Friction Stir Welding, FSW)は、英国の TWI (The Welding Institute) によって開発された比較的新しい接合方法である⁽¹⁾。ショルダとプローブと呼ばれる部分からなる特有な形状のツールを高速回転させながら材料表面に接触するまで押し込み、そのときに発生する摩擦熱によって材料を軟化させ練り混ぜ接合をする接合技術である (Fig. 1 参照)。摩擦熱を利用するため部材の融解を伴わない為、接合部の熱影響を抑制できアーク溶接などの接合に比べ溶接後の変形が非常に少ないことが特徴で

ある。そのため、現在鉄道車両、土木建造物、自動車を中心に様々な産業分野で活用されている⁽²⁾。

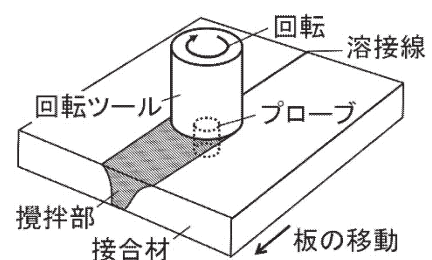


Fig. 1: Illustration of friction stir welding.

しかし、航空機のボディーの接合に FSW は積極的に利用されていない。その理由の 1 つとして、疲労き裂の進展速度の評価に必要な 3 次元の残留応力場が非破壊に定量評価できていないという問題がある。例えば、X 線回折法では部材表面の残留応力の値しか計測することができない。中性子回折法は 3 次元の残留応力分布を非破壊に評価することができるが⁽³⁾、専用施設が必要になるため、現場利用が不可能である。

そこで、非破壊、現場利用、3 次元の残留応力分布の測定この 3 つを可能とする X 線回折を用いた固有ひずみ X 理論に基づく 3 次元残留応力の定量評価法が提案されている (Table 1 参照)⁽⁴⁾。この方法は、部材表面の弾性ひずみから 3 次元の固有ひずみを⁽⁵⁾⁽⁷⁾推定し、それを FEM (有限要素法) モデルに初期ひずみとして加えることによって部材全域の残留応力を推定する方法である。ここで扱う固有ひずみ(Eigen-strain)とは、均一に生じた場合には内部に応力を生じさせない仮想の非弾性ひずみのことであり、熱ひずみや塑性ひずみといった物理的な非弾性ひずみ(Inherent strain)と必ずしも一致するとは限らない。推定に必要なパラメータは材料のヤング率とポアソン比のみであり、温度依存性のパラメータや複雑な構成方程式を要する熱弾塑性シミュレーションとは異なる。

Table 1: The advantages of the proposed method.

残留応力評価法	3次元	現場利用	非破壊
X 線回折	×	○	○
中性子回折	○	×	○
切断法	○	○	×
本手法	○	○	○

先行研究では、溶融溶接部材に対して本手法が適用され、残留応力の評価が行われたが十分な推定精度が得られなかった⁽⁸⁾。その原因として、溶接時の溶接揺動により固有ひずみ分布が比較的複雑になってしまったことが考えられた。それに対して、FSW 接合は自動接合であり、溶接揺動がなく、接合線方向に比較的均一な接合ができると考えられる。また、溶接余盛が発生せず、固有ひずみが発生する溶接線近傍においても、非破壊に X 線回折により計測することが可能である。

本研究では、航空機で利用されている A7075 の FSW 接合平板を対象に本手法を適用し、その推定精度を評価するとともに、その推定精度を向上させるための計測位置について検討を行う。

2. X 線回折を用いた 3 次元残留応力推定法

2.1 固有ひずみ理論

部材全域の弾性ひずみベクトル $\{\epsilon_{e_all}\}$ と部材全域の固有ひずみベクトル $\{\epsilon_e^*\}$ の間には、弾性応答行列 $[R_e]$ を介して(1)式のように表される。

$$\{\epsilon_{e_all}\} = [R_e]\{\epsilon_e^*\} \quad (1)$$

ここで、 $[R_e]$ の i 番目の列の成分は、 $\{\epsilon_e^*\}$ の i 番目の成分を 1、他をすべて 0 とした単位固有ひずみ

$$\text{unit}\{\epsilon_e^*\}_i = \{0, \dots, \epsilon_{ei}^* = 1, \dots, 0\}^T \quad (2)$$

を対象モデルに負荷した際の弾性ひずみとして決定することができる。すなわち、弾性応答行列は部材の材質(ヤング率とポアソン比)と形状がわかれば取得することができる。さらに、この関係から部材表面の一部の弾性ひずみ $\{\epsilon_e\}$ と部材全域の固有ひずみ $\{\epsilon^*\}$ とを関係づける弾性応答行列 $[R]$ を抽出することができる。つまり、次式を得る。

$$\{\epsilon_e\} = [R]\{\epsilon^*\} \quad (3)$$

従って、部材表面の弾性ひずみから部材全域の固有ひずみ分布を推定する逆問題⁽⁹⁾は、次式により表される⁽⁴⁾。

$$\{\epsilon^*\} = [R]^{-1}\{\epsilon_e\} \quad (4)$$

そして、部材全体の固有ひずみの推定値が求めれば、FEM モデルにそれを初期ひずみとして入力する弾性計算により、部材全域の残留応力分布を推定することができる。これまで、中性子回折法などの高エネルギーな回折手法により計測した内部の値から固有ひずみを推定する方法についても検証されている⁽¹⁰⁾⁻⁽¹⁴⁾が、本手法は部材表面の値のみから推定する方法である。

2.2 固有ひずみの関数近似⁽¹⁵⁾による未知数削減

本研究による逆問題は、部材表面の 2 次元情報から部材全域の 3 次元の固有ひずみ分布を推定するため、そのままでは比較的高い推定精度を得ることができない。そこで、溶接接合に伴う固有ひずみ分布は溶接線から遠ざかるにしたがって減少するという傾向を元に、固有ひずみを減衰関数により表現する。具体的には、以下に示すような 4 種類の Logistic 関数の線形結合により、各成分の固有ひずみの値を推定する。

$$\{\epsilon_s^*\}(y) = \sum_{i=1}^4 \frac{\{a_{si}\}}{1 + \exp(p + q_i y)} \quad (5)$$

$$p = -5.0, \quad q_1 = 0.60, \quad q_2 = 0.40, \quad q_3 = 0.30, \quad q_4 = 0.25$$

ただし、添え字の s は接合線方向(x)、接合線垂直方向

(y), 板厚方向(z)を示し. $\{a_{si}\}$ は未知係数ベクトルである. また, 定数の p と q_i は固有ひずみの存在領域が高々40 mm 程度であること⁽¹⁵⁾を考慮して, 4つの Logistic 関数が y 方向に 0~40 mm の範囲でほぼ等間隔に分布するように定めた定数である (Fig. 2 参照). さらに, 本研究では, 固有ひずみが板厚方向や溶接線方向に分布する場合も推定可能である⁽⁴⁾が, 簡単のため, 板厚方向に固有ひずみが一定であるとし, また溶接線方向においても, 後述の通り均一であるとして未知数を削減した. このように, x, y, z の3方向成分の固有ひずみをそれぞれ4つの Logistic 関数で近似することにより, 求めるべき未知数の合計を12とした. なお, 逆問題解析において, 一般的な安定化手法であるチホノフの適切化手法⁽⁹⁾を適用し, その適切化パラメータの値をLカーブ法⁽¹⁶⁾により決定した.

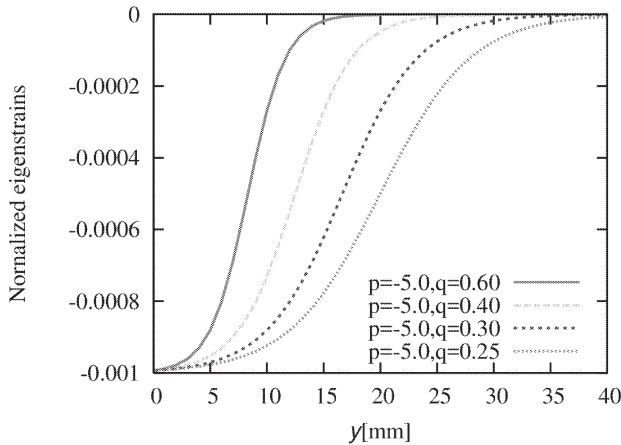


Fig. 2: Four kinds of normalized eigenstrains based on logistic function.

3. X線回折法による表面計測

3. 1 供試材

応力除去焼きなましを施した2枚のアルミニウム合金A7075-O材を Table 2 に示す摩擦攪拌接合条件により接合し, 溶接開始部と終端部を放電加工により切断することにより, 320×240×5 mm³の大きさのFSW接合平板とした (Fig. 3 参照).

3. 2 X線回折法による表面計測

本研究では, 摩擦攪拌接合時におけるツール挿入面 (上面, z=5mm) の弾性ひずみを X線回折装置により非破壊計測し, 本手法により部材全域の残留応力分布を推定するが, 本手法の推定精度を評価するために, その反対側の面 (下面, z=0mm) の残留応力の推定値と直接 X線回折装置により計測した実測値との比較を行う. 推定に用いる部

Table 2: Friction stir welding (FSW) conditions.

ツール回転速度	1000 rpm
溶接速度	200 mm/min
前傾角	3 deg
ツール挿入深さ	4.65 mm
ショルダ径	φ14 mm
プローブ寸法	4.5 mm (M5)

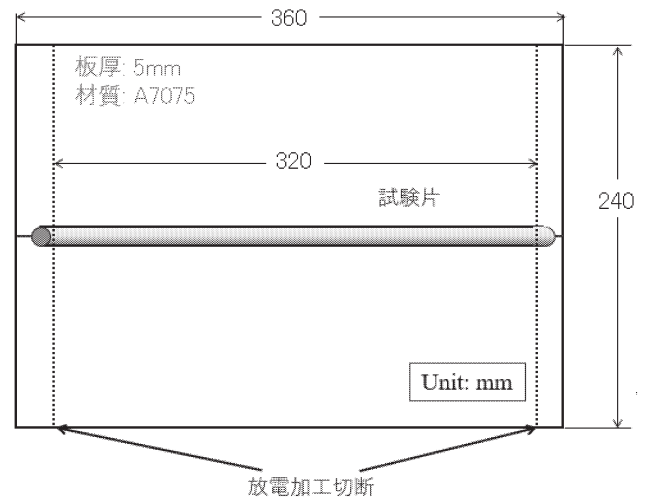


Fig. 3: The electro discharge machining (EDM) cutting of the test piece.

材上面の計測位置を Fig. 4 に示す. 各測定点において, x 方向 (溶接線方向) と y 方向 (溶接線に垂直方向) の2つの残留応力成分を $\cos \alpha$ 法に基づく計測法により, それぞれ測定を行った. 用いた可搬型 X線残留応力計測装置は, パルステック工業製の μ -X360n である. X線回折による残留応力計測条件は Table 3 に示す通り, 一般的なアルミニウム合金の計測条件である.

3. 3 X線回折法による計測結果

溶接線方向 (x 方向) 成分と溶接線垂直方向 (y 方向) 成分の残留応力の推定結果をそれぞれ Fig. 5 と Fig. 6 に示す. これらの計測結果から, 1σ の計測誤差の範囲を示す範囲が比較的小さく, 比較的信頼性の高い計測ができていくことがわかる. また, 溶接線の中央部 ($x=160\text{mm}$) に対して, x 方向にほぼ対称の分布となっていることがわかる. このため, 摩擦攪拌接合は自動溶接プロセスであることから, 残留応力の原因となる固有ひずみが溶接線方向にほぼ均一に生じている可能性が高いと考えられる. これに基づき, 本研究では固有ひずみを推定する際, 溶接線方向に固有ひずみが均一に生じたと考え, 固有ひずみが溶接線方向に均一として, 未知数の削減を行った.

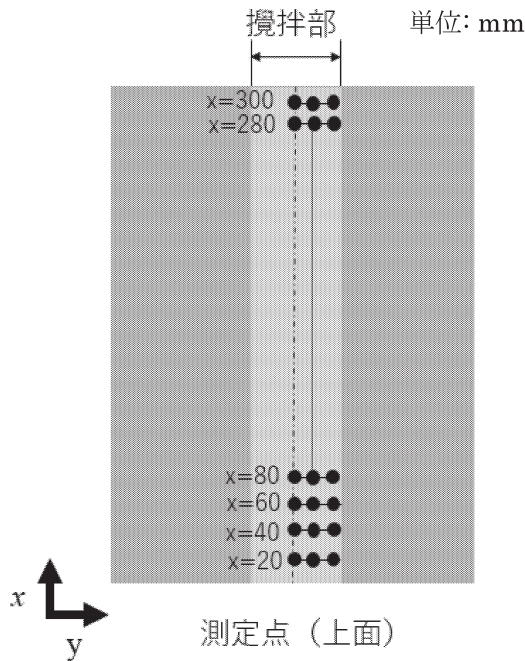


Fig. 4: Measurement points on the top surface ($z=5\text{mm}$) by X-ray diffraction (XRD).

Table 3: Measurement conditions by XRD.

手法	$\cos\alpha$
線源	Cr
電圧	30.00 [kV]
電流	1.20 [mA]
回折角 ($2\theta_0$)	139°
入射角 (α)	25°
照射面積	2φ [mm]

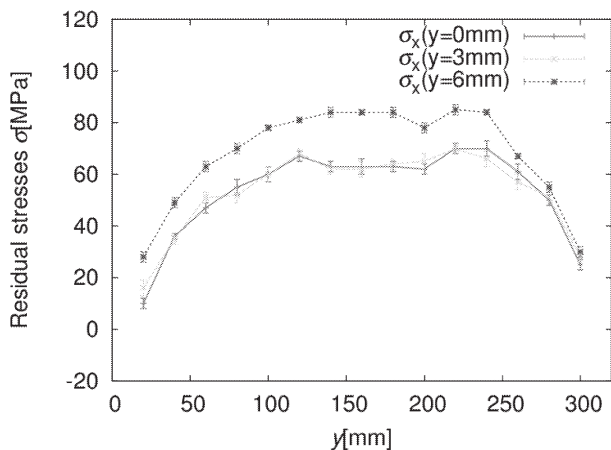


Fig. 5: Residual stress distributions in the welding direction on the top surface at $z=5\text{mm}$.

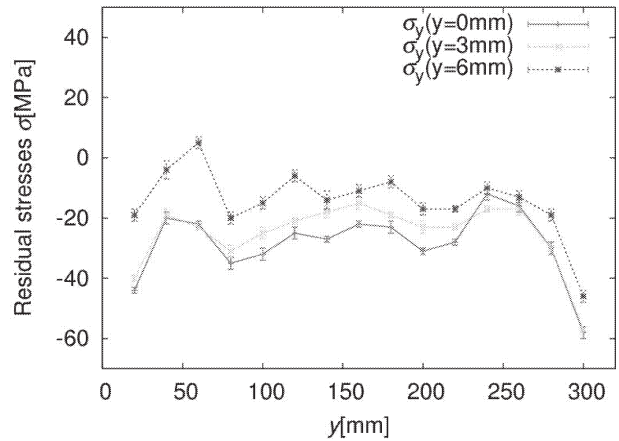


Fig. 6: Residual stress distributions in the perpendicular to the welding direction on the top surface at $z=5\text{mm}$.

4. 本手法の残留応力の推定精度の評価と考察

部材上面($z=5\text{mm}$)の測定結果より本手法を用いて求めた下面($z=0\text{mm}$)の残留応力の推定結果と、下面を直接X線回折法により実測した結果を比較したものを Figs. 7~10 に示す. Fig. 7 と Fig. 8 は、それぞれ部材下面の溶接線中央 ($x=160\text{mm}$) における σ_x , および σ_y である. また, Fig. 9 と Fig. 10 は、それぞれ溶接線 ($y=0\text{mm}$) における σ_x , および σ_y である. 全体的に母材部の実測値は計測誤差の範囲が広く、比較的信頼性の低い残留応力分布となっているため、推定精度の検証には不十分であると考えられる. そのため、重要となるのが溶接線付近の摩擦攪拌部の推定精度であると考えられる. Fig. 7 においては、 x 方向成分の残留応力である σ_x の推定値は実測値の傾向を概ね再現することができている. Fig. 8 より、 y 方向成分の残留応力においても、概ねの分布傾向を表現できていると考えられる.

一方、Fig. 9 においては、正しく計測値の傾向を再現できているとは言えない. この差異の原因として、固有ひずみの厚さ方向分布の考慮が考えられる. 本研究では、固有ひずみの未知数の数を削減するために、固有ひずみが厚さ方向に一定であるとした. 仮に、固有ひずみが厚さ方向にも一定に分布しているならば、Fig. 5 の $y=0\text{mm}$ の箇所での実測値と Fig. 9 の実測値とが同じ分布となるはずである. しかしながら、これらの分布に差が生じていることから、実際に固有ひずみ分布が厚さ方向に分布を持っていることがわかる. 今後は固有ひずみが厚さ方向にも分布を持つように未知数を設定し、問題を解く必要がある. なお、Fig. 6 の $y=0\text{mm}$ における実測値と Fig. 10 の実測値にも若干の差異が生じていることから、固有ひずみの厚さ方向分布を考慮する必要性が認められる. また、Fig. 10 の残留応力の推定値と実測値との比較から、 σ_y においては、概ねの傾向をとらえることができていることがわかる.

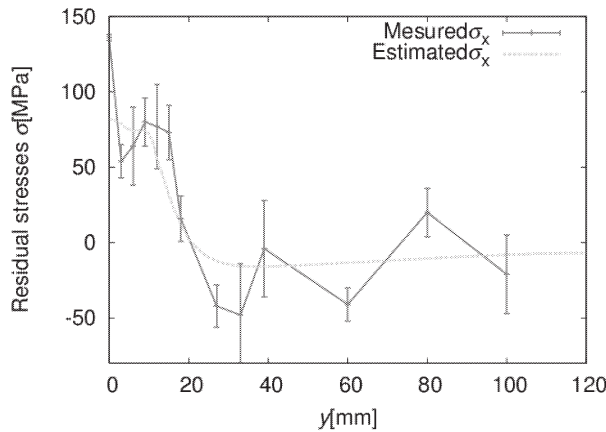


Fig. 7: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $x=160\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

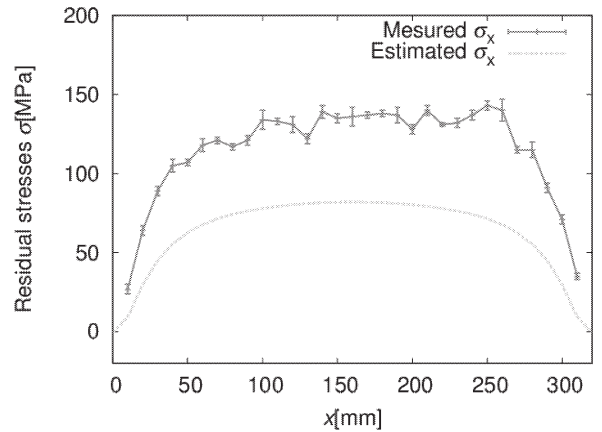


Fig. 9: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

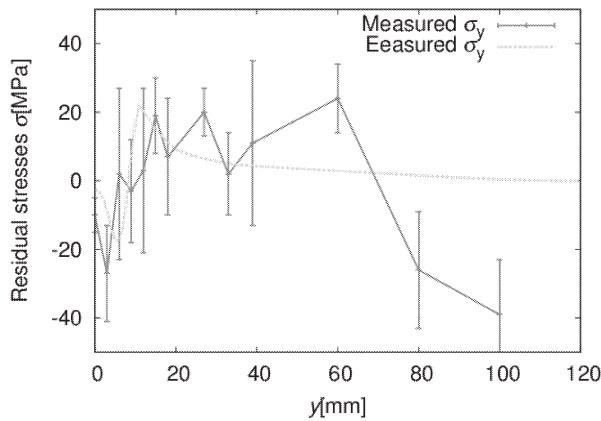


Fig. 8: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $x=160\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

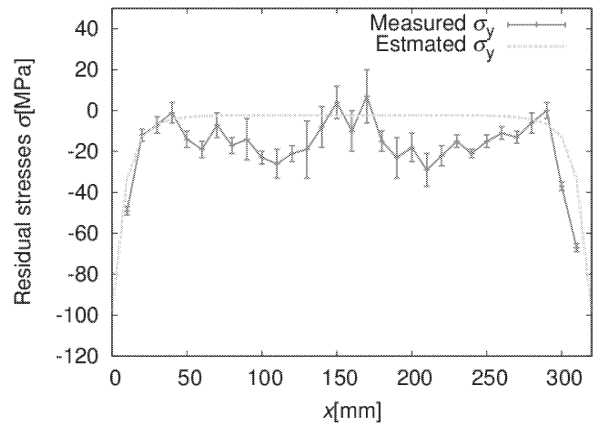


Fig. 10: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

5. 母材部の計測情報量の追加

前述の本手法の推定精度は、部材上面における $y=0, 3, 6\text{ mm}$ の摩擦攪拌部における3列計測値に基づいて本手法を適用した。その結果、概ねの残留応力の傾向をとらえることができたが、必ずしも十分な推定精度であるとは言えない。一般的に、未知推定量の数に対して有効な計測情報数が多ければ多いほど、推定精度を向上させることができることから、本章では、計測情報量を増やした際の残留応力の推定精度について考察する。

追加した計測点は Fig. 11 に示すように、上面 ($z=5\text{mm}$) の $y=9\text{mm}$ の列である。その際の計測した残留応力分布を Fig. 12 に示す。この図に示されるように、比較的計測誤差の範囲が広いことから、摩擦攪拌部に比べて計測精度が低いことがわかる。これは前述の通り、母材部の特徴である。X 線残留応力計測時に得られるデバイ環の傾向から、回折強度を十分に得られていないことから、母材部においては結晶粒が比較的粗大であることが予想される。

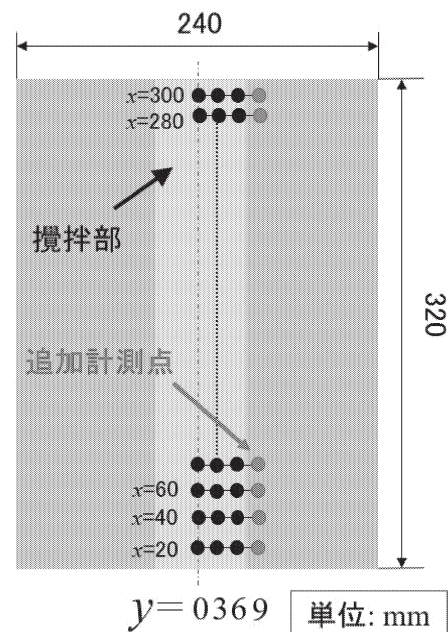


Fig. 11: Additional measurement points on the base metal.

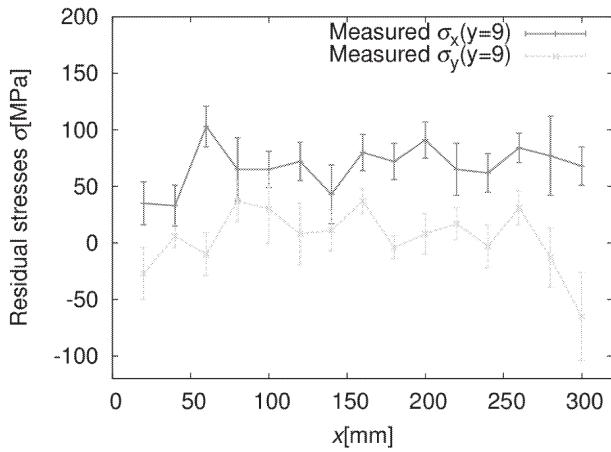


Fig. 12: Residual stresses measured at $y=9\text{mm}$ on the top surface ($z=5\text{mm}$).

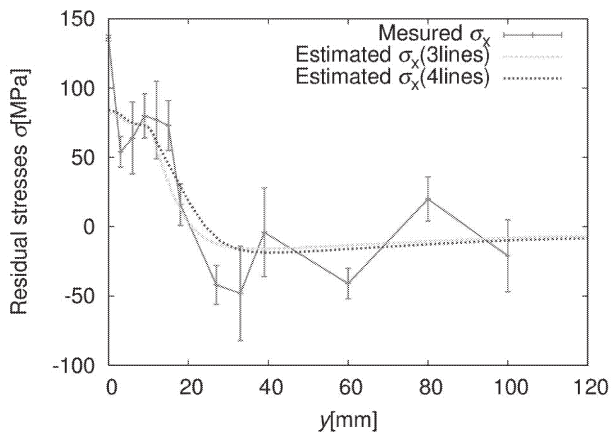


Fig. 13: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $x=160\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

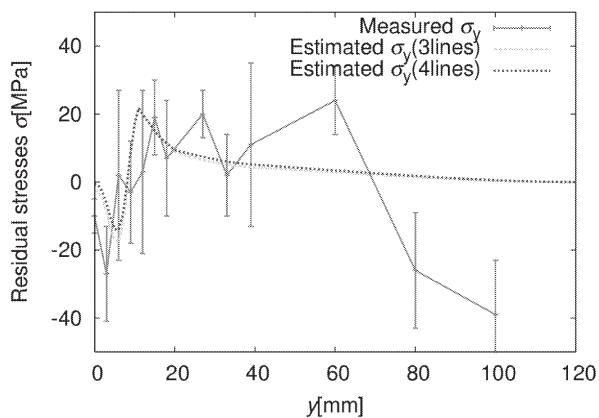


Fig. 14: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $x=160\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

部材上面($z=5\text{mm}$)の追加計測情報を含めた際の下面($z=0\text{mm}$)の残留応力の推定結果と、下面を直接 X 線回折法により実測した結果を比較したものを Figs. 13~16 に示す。Fig. 13 と Fig. 14 は、それぞれ部材下面の溶接線中央 ($x=160\text{mm}$) における σ_x 、および σ_y であり、青で示した推定値が追加計測情報を用いて算出した残留応力分布である。また、Fig. 15 と Fig. 16 は、それぞれ溶接線 ($y=0\text{mm}$) における σ_x 、および σ_y である。この結果から、母材部の計測情報を増やしたとしても、ほとんど残留応力の推定値は変化しなかった。推定精度を向上させるためには、なるべく固有ひずみの値の大きい箇所を計測することが重要であるが、比較的計測精度の低い母材部においては、固有ひずみの値の大きい溶接線に最も近い $y=9\text{mm}$ の列を計測しても、推定精度にほぼ影響しなかった。したがって、母材部の計測精度の低い部材の摩擦攪拌接合材に対して本手法を適用する際には、比較的精度よく計測できる摩擦攪拌部だけの計測値だけでよいと考えられる。

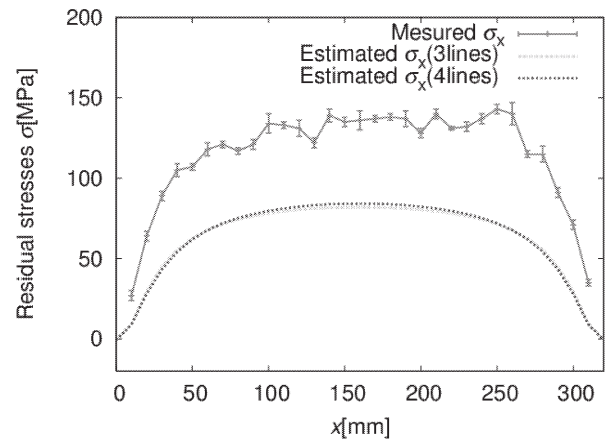


Fig. 15: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

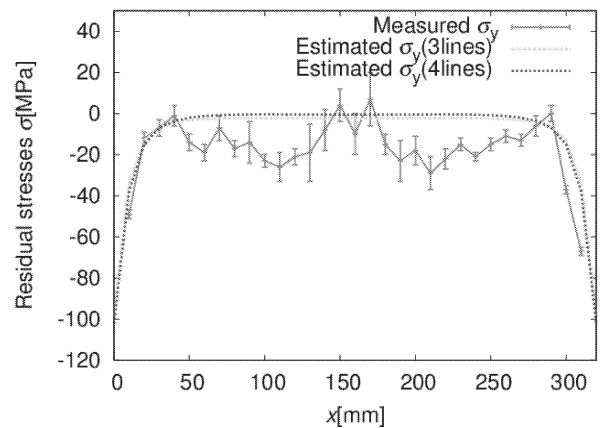


Fig. 16: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

6. 固有ひずみの厚さ方向分布の考慮

摩擦攪拌接合部の断面を観察してみると、ツール挿入側からその反対側の面にかけて、摩擦攪拌部の領域が狭まっていることがわかる。前章までの推定方法では、固有ひずみが厚さ方向に一定と考えて未知数を削減したが、より適切に固有ひずみの厚さ方向分布を表現することにより、推定精度を向上させることができると考えられる。

そこで、式(5)の代わりに、次式を用いることにより、固有ひずみを表現する。

$$\{\varepsilon_s^*\}(y) = \sum_{i=1}^4 \frac{\{a_{si}\}}{1 + \exp(p_i + q_i\sqrt{y^2 + (t-z)^2/\alpha})} \quad (6)$$

$$p = -5.0, \quad q_1 = 0.60, \quad q_2 = 0.40, \quad q_3 = 0.30, \quad q_4 = 0.25$$

ここで、 t は部材の板厚であり、また α は固有ひずみの厚さ方向の分布の仕方を決定するパラメータである。この α の値が無限大の場合には、式(6)は式(5)に一致し、固有ひずみが厚さ方向に均一として推定を行う。一方、この α の値が小さいほど攪拌ツール挿入側で固有ひずみが大きくなるように厚さ方向に分布する傾向となる。本研究では、この適切な α の値を応答局面法により決定した。すなわち、任意の α の値に対して推定した際の、計測値ベクトルと推定した固有ひずみから算出される計測位置の弾性ひずみベクトルとの差のノルムが最小となる α の値を適切な α の値として採用する。その応答曲面を Fig. 17 に示す。

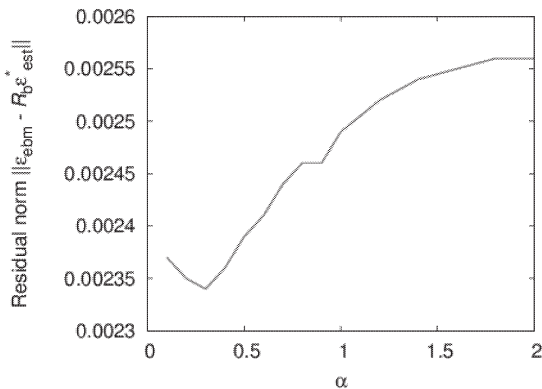


Fig. 17: The response surface to determine the most probable value of α .

この応答曲面から α の最確値を 0.3 と決定した。この α の値を用いて推定した際の残留応力分布を Fig.18~19 に示す。図のピンク色で示したものが固有ひずみの厚さ方向分布を考慮した際の残留応力分布である。この結果から、厚さ方向分布を考慮しても推定精度は向上しないことが分かった。

更なる推定精度の向上に向けて、より適切な固有ひずみ分布の近似が求められるが、計測した残留応力分布は溶接線中央部 ($x=160\text{mm}$) を中心に概ね対称であるため、固有ひずみはさほど溶接線方向 (x 方向) に分布してい

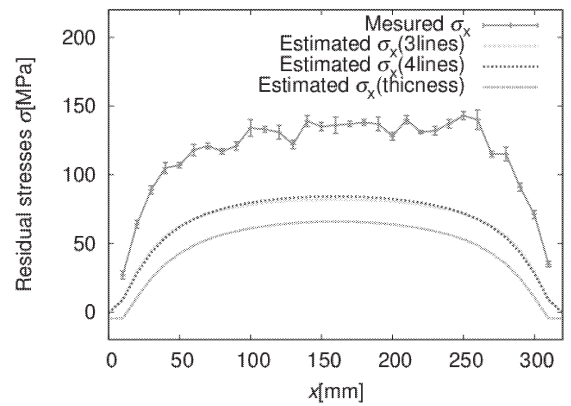


Fig. 18: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

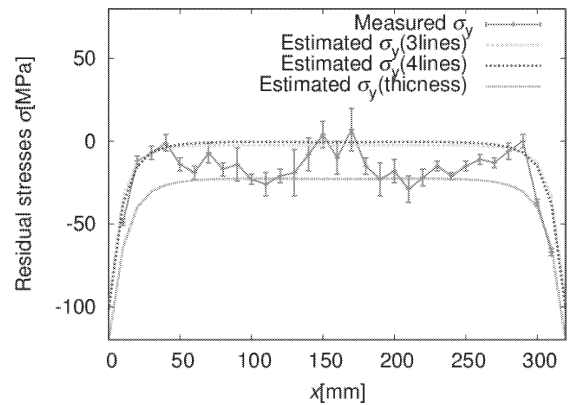


Fig. 19: Residual stress distributions in the welding direction on the bottom surface at $y=0\text{mm}$ and $z=0\text{mm}$.

ないと考えられる。そのため、さらに推定精度を向上させるためには、固有ひずみの溶接線垂直方向 (y 方向) の分布形状を最適化する必要があると考えられる。具体的には、式(5)や式(6)の p, q の値を変更し、最適なロジスティック関数形状にして推定することが考えられる。本研究で利用した p, q の値は、熔融溶接材料に対して経験的に用いられている形状パラメータをそのまま利用して推定を行っている。しかし、摩擦攪拌接合材は熔融溶接材よりも接合時に発生する熱量が比較的低いため、固有ひずみの分布範囲がそれほど広くないことが考えられる。

今後、ロジスティック関数形状の最適化が課題となるが、本研究で用いたアルミニウム合金の母材部の計測精度が比較的低いため、推定精度の検証を十分に行うことができない可能性がある。計測精度が低い理由は、摩擦攪拌接合前に行った応力除去のための焼きなまし処理による金属結晶粒の粗大化であると考えられる。X 線計測装置の原理上、粗大粒に対する評価は比較的难度いため、ロジスティック関数の最適化手法の検証については、比較的計測精度の高い部材を利用して行うことも考えられる。

7. まとめ

これまで、X線回折を用いた3次元残留応力推定法は、その理論が示され、数値解析により有効性が評価された。手法の実用化においては、その実証実験が求められている。本研究では、航空機分野において、リベットの代替技術として注目されている摩擦攪拌接合材に対して、本手法の有効性を示すために、航空機で用いられているA7075の溶接平板を対象としてX線回折法による表面計測を行い、内部の3次元残留応力分布を推定した。本手法の推定精度を評価するために、推定のために計測した面とは反対側の面の推定値と直接X線回折法により計測した実測値とを比較した。さらに、推定精度を向上させる方法についても検証を行った。本研究の成果を以下のようにまとめる。

- (1) 摩擦攪拌部において計測した残留応力の計測値に基づいて推定した残留応力分布は、比較の実測値の傾向を捉えることができた。ただし、母材部については、比較計測精度が低かったため、推定精度の評価において、有効な検証材料とすることができなかった。
- (2) 部材上面と下面の残留応力分布の傾向が異なっていたことから、固有ひずみ分布は厚さ方向に分布することが考えられる。
- (3) 溶接線の中央部を境に対称な残留応力分布が観測され、FSW接合プロセスが自動溶接であることから、固有ひずみは溶接線方向に均一であると考えられる。
- (4) 比較計測精度の低い母材部の情報を本手法の推定に用いたが、ほとんど推定精度が変わらなかった。
- (5) さらに推定精度を向上させるために、固有ひずみ分布の厚さ方向分布を考慮して推定したが、十分に推定精度を向上させることができなかった。

今後の課題として、固有ひずみの近似関数形状の最適化が考えられる。

謝辞

本研究の一部はJSPS科研費17K06044の助成を受けたものです。また、研究の遂行に際して、工学院大学教授の大石久己先生には、研究環境におけるご支援を賜りました。ここに感謝の意を表します。

参考文献

- (1) 溶接学会：摩擦攪拌接合-FSWのすべて、産報出版、pp.3-29 (2006)。
- (2) 大石郁、藤井英俊：FSW技術と自動車への適用例、まてりあ、Vol. 53, No. 12 (2014), pp. 603-607。
- (3) 鈴木環輝、杉山昌章、及川初彦、野瀬哲郎、今福宗行、友田陽、鈴木裕士、盛合敦：中性子回折法による

る鋼材溶接部の残留応力評価技術、新日鉄技法、Vol.390, (2010), pp.49-53。

- (4) 小川雅：X線回折を用いた深さ方向の溶接残留応力分布の非破評価、日本機械学会論文集、Vol.80, No.815 (2014)。
- (5) Mura, T.: Micromechanics of defects in solids, Martinus Nijhoff Publishers, (1987), pp. 1-15.
- (6) 上田幸雄、福田敬二、谷川雅之：固有ひずみ論に基づく3次元残留応力測定法、日本造船学会論文集、No. 145 (1979), pp. 203-211.
- (7) A.M. Korsunsky, A Teaching Essay on Residual Stresses and Eigenstrains, Butterworth-Heinemann (2017)。
- (8) 小川雅、石井文紘、古迫誠司：X線回折を用いた固有ひずみ理論に基づく3次元残留応力推定手法の有効性評価、材料、Vol. 64, No. 11 (2015), pp. 932-939.
- (9) 久保司郎：逆問題、培風館、(1992)。
- (10) Uzun, F. and Korsunsky, A. M.: On the identification of eigenstrain sources of welding residual stress in bead-on-plate inconel 740H specimens, International Journal of Mechanical Sciences, Vol. 145, (2018), pp. 231-245.
- (11) Jun, T.-S. and Korsunsky, A. M.: Evaluation of residual stresses in 12%-Cr steel friction stir welds by the eigenstrain reconstruction method, Journal of the Korean Society of Manufacturing Technology Engineers, Vol. 24, No. 1 (2015), pp. 15-22.
- (12) Jun, T.-S., Venter, A. M. and Korsunsky, A. M.: Inverse eigenstrain analysis of the effect of non-uniform sample shape on the residual stress due to shot peening, Experimental Mechanics, Vol. 51 (2011), pp. 165-174.
- (13) Jun, T.S., and Korsunsky, A. M.: Evaluation of residual stresses and strains using the Eigenstrain Reconstruction Method, International Journal of solids structures, Vol.47, (2010), pp. 1678-1686.
- (14) Korsunsky, A. M., Regino, G. M. and Nowell, D., Variational eigenstrain analysis of residual stresses in a welded plate, International Journal of Solids and Structures, Vol. 44 (2007), pp. 4574-4591.
- (15) 上田幸雄、麻寧緒：固有ひずみの関数表示法および推定法—固有ひずみ分布の関数表示による残留応力の推定法と測定法(第1報)—、溶接学会論文集、Vol. 11, No. 1 (1993), pp. 189-195.
- (16) Hansen, P. C.: Analysis of discrete ill-posed problems by means of the L-curve, SIAM Review, Vol. 34, No. 2 (1992), pp. 561-580.

2019年度研究成果

基調講演

- (1) 小川雅、渡辺大貴、X線回折を用いた溶接配管の3次元溶接残留応力評価、日本溶接協会「次世代研究者への奨学寄付金」成果報告会、2019年9月19日、東北大学。

- (2) 小川雅, 研究協力者: A.M. Korsunsky, 石井丈紘, 古迫誠司, 関根真吾, X 線回折法と固有ひずみ理論を用いた 3 次元溶接残留応力分布の非破壊評価, 日本鉄鋼協会 評価分析解析部会 「鉄鋼分析における誤差因子の検討: ブラックボックス化した分析装置の功罪」フォーラム研究会, 2019 年 7 月 30 日, 京都.
- (3) 小川雅, 研究協力者: A.M. Korsunsky, 石井丈紘, 古迫誠司, 関根真吾, X 線回折を用いた 3 次元溶接残留応力の非破壊評価, 第 42 回 (一社) 日本船舶海洋工学会 材料・溶接研究会, 2019 年 6 月 28 日, 東京大学.
- (4) 小川雅, 研究協力者: A.M. Korsunsky, 石井丈紘, 古迫誠司, 関根真吾, 固有ひずみ理論に基づく 3 次元残留応力推定法と今後の逆問題の展望, 日本材料学会塑性工学部門委員会, 2019 年 4 月 26 日. 京都.

国内発表

- (5) 小川雅, 研究協力者: A.M. Korsunsky, 山脇大輝, X 線回折を用いた 3 次元残留応力分布の非破壊評価, テクノトランスファー in かわさき, (2019), 2019 年 11 月 13 日~15 日 (川崎).
- (6) 小川雅, 研究協力者: A.M. Korsunsky, 山脇大輝, X 線回折を用いた 3 次元溶接残留応力推定法と未溶着部の検出, イノベーション・ジャパン 2019, JST, (2019), 2019 年 8 月 29 日, 30 日 (東京ビッグサイト).

拡張ヒッグスセクターを伴う新物理学模型とその現象論的性質の探求

工学院大学 教育推進機構 進藤哲央

工学院大学 教育推進機構 加藤潔

工学院大学 教育推進機構 渡部隆史

National Taiwan University Cheng-Wei Chiang

University of Southampton Stefano Moretti

Phenomenological study of new physics models with extended Higgs sector

Tetsuo Shindou, Kogakuin University
Kiyoshi Kato, Kogakuin University
Takashi Watanabe, Kogakuin University
Cheng-Wei Chiang, National Taiwan University
Stefano Moretti, University of Southampton

ABSTRACT : Higgs sector is a probe of new physics beyond the Standard Model of elementary particles. We investigate several new physics models with an extended Higgs sector, which are well motivated by unsolved problem in the Standard Model, such as a generation mechanism of neutrino masses, a candidate of the Dark Matter, a mechanism for the baryon asymmetry of the Universe, and so on. We explore the detail of such models theoretically and experimentally. For the theoretical studies, we have mainly studied the following topics: (1) Dark Matter candidates in the three Higgs doublet model with Z3 symmetry, and (2) Flavour phenomenology in the three Higgs doublet model without Z3 symmetry. We have also contributed to developments of the detector for the International Linear Collider (ILC). The ILC is expected as a very powerful tool to explore Higgs sector of both the Standard Model and new physics models.

1. はじめに

素粒子標準模型は、 $SU(3) \times SU(2) \times U(1)$ のゲージ理論に基づいた模型であり、非常に多くの素粒子現象を説明することができる。さらに、2012年7月のヒッグス粒子の発見によって、そこに含まれるべき基本粒子が全て発見されており、また、2020年5月段階では、素粒子標準模型に含まれないような新しい新粒子は未発見である。これらのことから、素粒子標準模型は、実験的に確立した模型となったと言える。

しかし、素粒子標準模型には未解決の重要な問題点がいくつかあり、それらをいかに解決していくかが世界中で活発に議論されている。例えば、ニュートリノ質量、宇宙の暗黒物質、宇宙のバリオン数などは、素粒子標準模型では説明できない現象であり、これらを説明できるように模型を拡張し、標準模型を超える新物理学模型を構築する必要がある。

標準模型の問題点を解決するような新物理学模型の多くは、ヒッグスセクターの拡張を伴う。このため、ヒッグスセクターの有様を理論的・実験的に詳細に調べることは、真の新物理学模型の姿を決定していくために非常に有効である。言い換えれば、ヒッグスセクターの物理は新物

理学探索のための窓である。

ヒッグスセクターの精密測定によって、標準模型の予言からのずれが見つければ、それは新物理学模型の詳細について大きなヒントとなる。現在、ヨーロッパで稼働中の LHC 実験は、標準模型に含まれないような未知の新粒子探索を行うと同時に、ヒッグスセクターの詳細についても非常に多くのデータを取り、その解析を行なっている。そこで得られた情報は、新物理学模型の構築や制限に大きく寄与している。未知の新粒子が LHC で発見されていないことから、素朴には、それらの質量は TeV スケール程度かそれより大きいと期待される。このような状況で、多くの模型においては、ヒッグス粒子の結合定数に現れる新物理学模型の影響は素朴には%レベルであることが予測されるため、0.1%レベルの精密測定を行うことができれば、大変有用な情報を得られると期待できる。しかし、LHC はハドロン衝突型加速器であるがために、ヒッグス粒子の結合定数について、0.1%レベルの精密測定を行うことは大変困難である。

現在、国際共同プロジェクトとして計画中の ILC 実験は、0.1%レベルでヒッグス粒子の結合定数測定ができる実験であり、その建設に向けて世界中で真剣な議論が展開されている。特に、日本は ILC 建設の唯一の候補地であるため、ILC を日本に誘致するか否かについての議論が国内で慎重かつ急ピッチに行われている。もし将来、ILC 実験が建設され稼働すれば、ヒッグスセクターを窓とした新物理学模型の探索に大きな弾みがつくであろう。

このような状況に鑑みて、本研究計画では標準模型で未解決の諸問題を解決するような新物理学模型の候補を考え、それらの現象論的性質を詳細に研究し、現在および将来の様々な実験によってそれらの新物理学模型を分類し、新物理学模型の真の姿を絞り込んでいくための研究を行う。また、同時に ILC 実験の検出器開発にも携わっていく。

2019 年度は、以下のテーマについて研究を行なった。

(1) 暗黒物質の性質を説明できるような拡張ヒッグス模型について調べる (2) 拡張ヒッグス模型におけるフレーバー物理の研究

2. 暗黒物質をとまなう Z_3 ヒッグス模型

標準模型にさらにヒッグス二重項を 2 つ追加し、3 つのヒッグス二重項が含まれるような模型を考える。これらの新たに追加されたヒッグス二重項に含まれる中性スカラーが暗黒物質となる可能性を考える。暗黒物質の安定性を保証するためには、模型に何らかの対称性を課し、暗黒物質の標準模型粒子への崩壊を禁止する必要があるが、この研究では Z_3 対称性を模型に課すことで、これを実現する枠組みを考えたい。

本研究で考えた模型の枠組みでは、多くの場合に観測されている暗黒物質の残存量を説明できないことが知られているが、ラグランジアンのパラメータ間にある関係が成り立つ場合には、観測される暗黒物質の残存量を再

現でき、なおかつ 2 つのスカラー粒子が暗黒物質としてふるまう大変興味深いシナリオが実現していることをつきとめた。図 1 (文献 (1) より) に、我々のシナリオにおける暗黒物質残存量の予言を示した。緑の帯が観測によって分かっている暗黒物質の残存量であるが、確かに我々の模型で予言される値が観測値と矛盾しない可能性があることがわかる。

なお、このシナリオにおける暗黒物質の候補である 2 つのスカラー粒子は CP 対称性に対して偶のものと同様のものがあり、一見ひとつの複素スカラー粒子と同一視できそうに見えるが、将来の加速器実験などで測定が期待されるような現象論的性質を精査すると、我々の 2 つの暗黒物質と複素スカラー粒子には顕著に異なる性質があり、将来実験でこの 2 つの可能性を判別できる可能性があることを示した。我々は、この新しいシナリオの暗黒物質にヘテロアフロダイシナリオという名前をつけた。

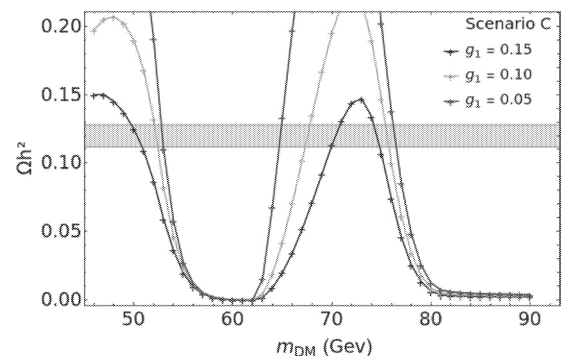


Fig.1 暗黒物質の残存量を説明できるような Z_3 ヒッグス模型における CP 位相の制限の図。文献 (1) より引用。

本研究の成果は文献 (1) に論文としてまとめ、現在学術雑誌に投稿中である。

3. 拡張ヒッグス模型におけるフレーバー物理

一般に、ヒッグスセクターの拡張は、物質のフレーバー構造に大きな影響をおよぼし、現在行われている各種のフレーバー実験にその痕跡を残す。このため、フレーバー物理の現象論を緻密に調べることは、新物理学模型の特徴を調べるために大いに役立つ。

本研究プロジェクトでは、ヒッグス二重項が 3 つ含まれるような模型について、B 中間子のフレーバーを変化させる希崩壊である $B \rightarrow X_s \gamma$ 過程に注目した研究を行った。

ここであつかう 3 ヒッグス模型は、 Z_3 ヒッグス模型と同じく、新たに 2 つのヒッグス二重項を標準模型に追加したものであるが、ここでは Z_3 対称性は課さない場合についての研究を行っている。 Z_3 ヒッグス模型の場合には、 Z_3 対称性の働きにより、ここで考えるようなフレーバー

物理への寄与は現れないことが知られている。

2つのヒッグス二重項が含まれるようなモデルにおけるフレーバー物理、特に $B \rightarrow X_s \gamma$ 過程については、過去に多くの研究者によって様々な角度から研究がされており、その性質が調べ尽くされているが、3ヒッグスモデルは2ヒッグスモデルの場合と異なる性質を持っている。2ヒッグスモデルではすでに死んでいるような軽い余剰ヒッグス粒子の存在が、3ヒッグスモデルではまだ制限されておらず、近い将来の実験でその痕跡が発見される可能性がある。このような比較的軽い新粒子が存在するような場合には、フレーバー物理への新粒子の寄与も大きくなる可能性がある。

本研究では、 $B \rightarrow X_s \gamma$ 過程に関する CP 対称性の破れに特に注目して研究を行い、成果を得た。図2(文献(2)より引用)にその一例を示す。近い将来、この CP 対称性の破れは実験で1-2%の精度で測定されると期待されており、将来のフレーバー実験におけるこのモデルの検証は十分可能である。

この研究の成果は、現在論文にまとめている最中である、まもなく公表できる見込みである。

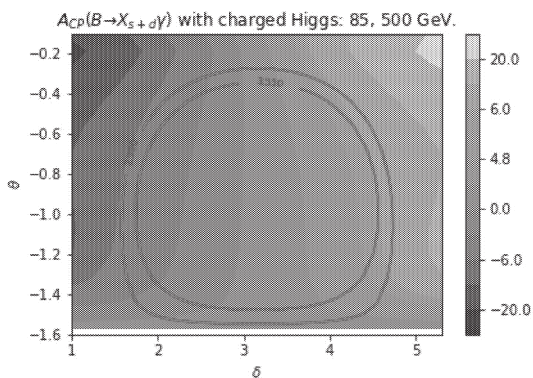


Fig.2 3ヒッグスモデルにおける CP 対称性の破れの一例 (文献(2)より引用)。

5. まとめ

2019年度は、標準モデルの拡張として、3ヒッグスモデルに注目した研究に特に注力した。暗黒物質の候補が含まれる場合である Z_3 対称性が含まれたシナリオと、フレーバー物理での検証が期待できるシナリオをそれぞれ独立に研究し、3ヒッグスモデルの枠組み全体にたいする知見を得た。

また、これら2つの研究プロジェクト以外にも、大統一理論の観点から比較的軽い新粒子の存在が预言され、それらが将来の各種実験で検証できる可能性があるモデルの構築(文献(3))や、ニュートリノ質量を輻射補正によって説明できるモデルにおいて、バリオジェネシスの可能性を追求する研究(文献(4))などが現在進行中である。これらの成果は2020年度の前半には論文にまとめ、発表される予定である。

参考文献

- (1) A. Aranda, D. Hernandez-Otero, J. Hernandez-Sanchez, V. Keus, S. Moretti, D. Rojas-Ciofalo, and T. Shindou, “The Z_3 symmetric I(2+1)HDM, arXiv:1907.12470 (現在学術雑誌に投稿中)
- (2) A. G. Akeroyd, S. Moretti, T. Shindou, and M. Song, 現在執筆中。
- (3) T. Goto, S. Mishima, and T. Shindou, 進行中。
- (4) Y. Irie and T. Shindou, 進行中。

血管新生時の細胞外微小環境形成機構の解明

工学院大学 先進工学部 生命化学科 辛 英哲

工学院大学 先進工学部 生命化学科 今村 保忠

酪農学園大学 獣医学群 渡邊 敬文

東京薬科大学 生命科学部 井上 弘樹

The formation of extracellular microenvironment during angiogenesis

Yongchol Shin and Yasutada Imamura: Department of Chemistry and Life Science, School of Advanced Engineering, Kogakuin University

Takafumi Watanabe: Department of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

Hiroki Inoue: School of Life Science, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

ABSTRACT : Angiogenesis is a process through which new blood vessels are formed by sprouting and elongating from existing blood vessels. Several methods have been used to replicate angiogenesis *in vitro*, including culturing vascular endothelial cells on Matrigel, and co-culturing with endothelial cells and fibroblasts. However, the angiogenesis elongation process has not been completely clarified in these models. We therefore propose a new *in vitro* model of angiogenesis, suitable for observing vascular elongation, by seeding a spheroid co-cultured from endothelial cells and fibroblasts into a culture dish. In this model, endothelial cells formed tubular networks elongated from the spheroid with a lumen structure and were connected with tight junctions. A basement membrane (BM)-like structure was observed around the tubular network, similarly to blood vessels *in vivo*. Laminin and type IV collagen, main BM components, were highly localized around the network. These results suggested that blood vessel-like structure could be reconstituted in our model.

1. 背景

血管新生は既存の血管から発芽、伸長して新たに血管ができる現象であり、血流を治癒する過程や悪性腫瘍が増殖や転移を行う過程でも見られる現象である(6)。この過程で血管内皮細胞は管状の構造を形成し、血液が循環する管腔を形成する(7, 13, 31, 39, 40)。基底膜は均一な薄いシート構造をしており、血管内皮細胞、筋肉細胞、脂肪

細胞、シュワン細胞などの上皮系細胞の基部に形成される(16, 22, 32, 33, 46)。基底膜は組織構造を支えるだけでなく、バリアーとしての役割や、細胞の極性、代謝、生存、分裂、分化誘導、遊走などに影響を与える。基底膜には主に細胞外マトリックス(ECM)成分であるラミニン、IV型コラーゲン、デコリン、パールカンで構成される。特にIV型コラーゲンは基底膜形成に重要である(16)。

これまでに動物個体を用いない血管新生モデルがいく

つか提唱されている。血管内皮細胞を、コラーゲングル(18)、ECM成分を混合したゲル(1)、あるいはガン組織由来のマトリゲル(11)上などで培養する方法や血管内皮細胞とECM成分を産生する細胞を共培養する(5, 9, 21)ことで血管様ネットワークを形成する。共培養法は単層の2次元培養だけでなく球状塊(スフェロイド)を形成させる3次元培養(19)がある。

我々は新たな血管新生モデル系として、2.5次元共培養系を確立した。3次元培養した共培養スフェロイドを平面状の基質に播種する方法である。この方法により、基質に結合したスフェロイドから血管様ネットワークが発芽し伸長する様子を簡便に観察することが可能となった。また、新規培養系を用いることで、血管様ネットワークを覆う基底膜形成について研究を行うことができた。特にIV型コラーゲンをはじめとするECMの局在に着目し研究を行なった。

2. 材料および方法

2.1 細胞培養

ヒト臍帯静脈血管内皮細胞(HUVEC)は牛胎児血清(FBS)含有EBM培地内、ヒト胎児肺由来線維芽細胞 TIG-1はFBS含有DMEM培地内にて、37°Cで培養した。

2.2 共培養スフェロイド

共培養スフェロイドはHUVECとTIG-1を混合し、1.5%アガロースゲル上あるいは低吸着培養皿内で牛胎児血清(FBS)含有EBM培地存在下にて培養することで得られた。共培養スフェロイドはプラスチック培養皿あるいはカバーガラスに播種した。カバーガラスはファイブロネクチンでコートすることで細胞の接着を促した。

2.3 免疫蛍光染色

細胞は4%パラホルムアルデヒドに10分間浸すことで固定し、その後、0.2%TritonX-100で細胞膜の透過処理を行う。細胞を各種1次抗体で処理したのち、蛍光ラベルした2次抗体で処理する。細胞は蛍光顕微鏡で観察した。1次抗体として、HUVECを標識するCD31抗体、あるいはVWF抗体、ECMタンパク質を検出するため、I型コラーゲン、IV型コラーゲン、VI型コラーゲン、ラミニン、ファイブロネクチン抗体を使用した。蛍光ラベルした2次抗体として、Alexa Fluor 594 goat anti-mouse IgGとAlexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgGを使用した。核はDAPIで染色した。位相差像と蛍光像は蛍光顕微鏡FSX100にて得た。Z-stack imageは蛍光顕微鏡BZ-X700と共焦点顕微鏡FV1200にて得た。蛍光強度の測定はImageJを用い、血管様ネットワークの血管新生パラメータ、例えば平均血管長などはAngioTool(48)を用いた。

2.3 電子顕微鏡

カバーガラス上の細胞はカルノフスキー固定液で1晩処理した。その後、四酸化オスミウムで後固定した。エタノールで脱水した後、QY-Iに移し、エポキシ樹脂に包埋した。血管様ネットワークの超薄切片をウルトラマイクロロムで切り出し、透過型電子顕微鏡用銅グリッドに乗

せた。超薄切片は透過型電子顕微鏡JEM1400で観察した。

4%パラホルムアルデヒドに10分間浸すことで固定し、その後、0.2%TritonX-100で細胞膜の透過処理を行う。細胞を各種1次抗体で処理したのち、蛍光ラベルした2次抗体で処理する。細胞は蛍光顕微鏡で観察しよりすることで、細胞膜を透過原稿にはTable 1に示す字体またはこれらに準ずる字体を用いるのが望ましい。

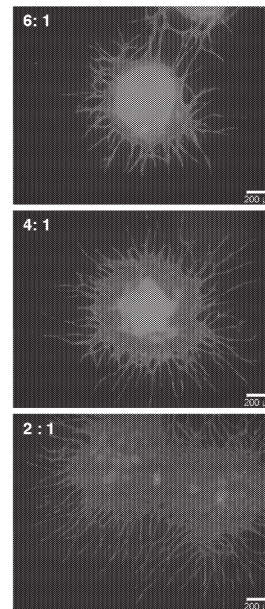
3. 結果

3.1 共培養スフェロイドの形成と血管様ネットワーク形成

TIG-1とHUVECを3つの異なる比率(2:1、4:1、6:1)で混合し7日間培養した。この時、HUVECは 4×10^3 HUVEC/wellとした。7日間培養した結果、アガロース上でも低吸着培養皿でも共培養スフェロイドが形成されていた(データは省略する)。低吸着培養皿上ではスフェロイドが一つだけであったが、アガロースゲル上では様々なサイズのスフェロイドが複数存在していた。TIG-1の数が増えるとスフェロイドのサイズも大きくなることがわかった。同じサイズのスフェロイドがコンスタントに得られることから、今後は低吸着培養皿上で共培養スフェロイドを作成することとした。

異なるTIG-1/HUVECで形成されたスフェロイドを培養皿に播種し、7日間培養した。血管様ネットワークがスフェロイドから伸長している様子が確認された(図1A)。

A



B

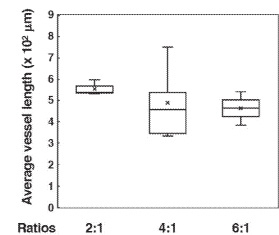


図1 HUVECとTIG-1の混合比を変えた共培養スフェロイドから伸長する血管様ネットワーク(A)とその平均血管長(B)
(A)グレイ：血管内皮細胞

さらに血管様ネットワークの平均血管長も調べた。TIG-1の比率によらず、血管様ネットワークの平均血管長に違いはなかった(図1B)。ただし、TIG-1とHUVECの比率が

10:1の時、スフェロイドは培養皿に付着しなかった。

TIG-1:HUVEC の比率が 4:1 のスフェロイドから血管様ネットワークが伸張する様子を培養日数ごとに観察した(図2A)。播種後3日目ではネットワークはスフェロイド周囲を取り巻いているが、7日目には放射状に拡散し、14日目にはより遠くまで伸長していた。平均血管長は3日目より7日目の方が大きい、14日目と7日目では変わらない(図2B)。一方、分岐点の数は14日目の方が7日目より多い(図2C)。これらの結果から、2.5次元共培養系では、HUVEC はその形態をネットワーク状構造に変化すること、ネットワーク中の管状構造の長さは500 μ m程度であり、それより長くなると分岐を形成することが示唆された。

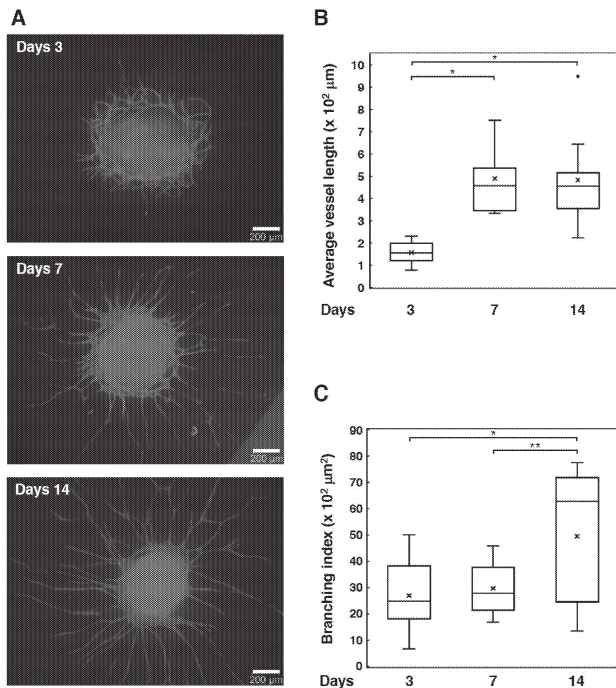


図2 HUVEC と TIG-1 の共培養スフェロイドから伸長する血管様ネットワークの経時変化(A)とその平均血管長(B)と分岐数(C)

(A)グレイ：血管内皮細胞

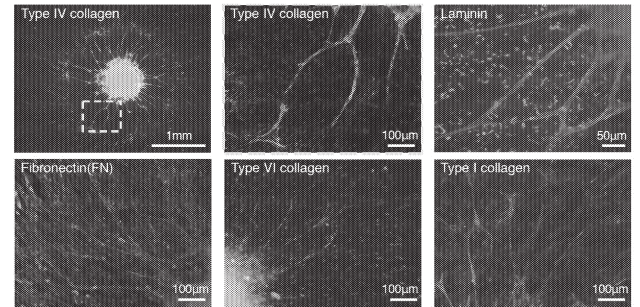
3. 2 血管様ネットワークへの ECM タンパク質の局在

微小血管の基底膜はラミニン、IV型コラーゲン、パールカンそしてデコリンなどから構成されていることが示されている。2.5次元培養法で7日間培養して得られた血管様ネットワークへの基底膜タンパク質の局在を免疫蛍光染色法にて調べた(図3A)。ラミニンとIV型コラーゲンは血管様ネットワークに沿って局在していた。ファイロネクチンも同様の傾向を示したが、I型コラーゲンやVI型コラーゲンのネットワークへの局在は見られなかった。TIG-1には、ラミニン、ファイロネクチン、I型やVI型コラーゲンが見られたが、IV型コラーゲンの沈着は多くなかった。

IV型コラーゲンとラミニンが血管様ネットワークを囲うように局在しているか確認するため、蛍光顕微鏡 BZ-

X700 と共焦点レーザー顕微鏡 FV1200 を用いた。その結果、IV型コラーゲンやラミニンが管状の血管様ネットワークを基底膜の様に取り囲んでいる様子が観察できた(図3B)。これらの結果から、血管用ネットワークはIV型コラーゲン、ラミニンやファイロネクチンなど基底膜成分に取り囲まれていることが示唆された。

A



B

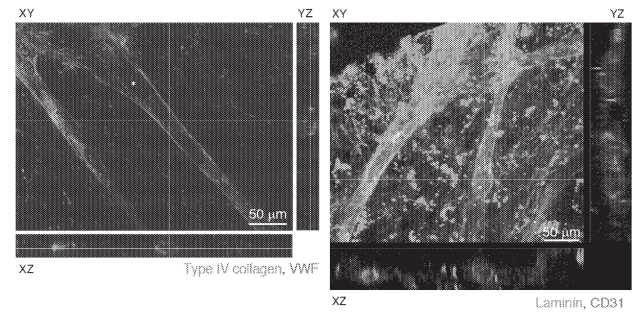
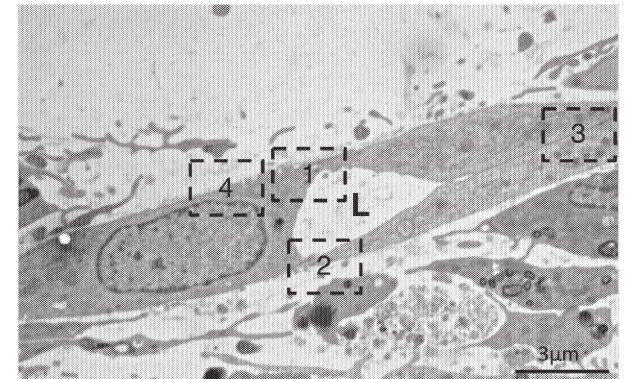


図3 血管様ネットワークへの ECM タンパク質の局在
赤：血管内皮細胞、緑：ECM タンパク質

A



B

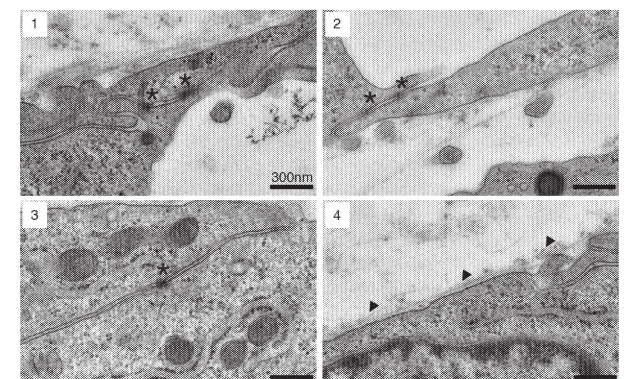


図4 血管様ネットワークの超薄切片のTEM像

(A)L: 管腔、(B)は(A)の点線で囲った部分1~4の拡大図、* : タイトジャンクション、▲ : 基底膜様構造

血管新生では、血管内皮細胞が管状構造となり管腔を形成する。免疫系高染色法では管腔を確認することができなかった。そこで、透過型電子顕微鏡を用いて、管腔の存在を確認した。ファイブロネクチンコートしたカバーガラスに共培養スフェロイドを播種し、6日間培養した。超薄切片を作成し、透過型電子顕微鏡で観察した(図4)。その結果、HUVECはタイトジャンクションでつながっており、管腔を形成していた。管腔を形成するHUVECに沿って基底膜様構造が存在するのが見られた。免疫蛍光染色の結果と合わせて考えると、我々は微小血管様構造を2.5次元共培養系で再現することができたと結論づけた。

4. 考察

本研究で、我々は新規血管新生モデル、2.5次元培養系を開発した。本システムではHUVECとTIG-1からなる3次元スフェロイドを培養皿やカバーガラスに播種することで、血管様ネットワークの出芽や伸長を観察することができる。また、本システムでは、異なる細胞間の相互作用がECMタンパク質の発現、分泌、沈着に影響を与えることを見出した。

動物個体を用いない血管新生モデルで最も多く用いられているのは、コラーゲングル(18)あるいはマウス腫瘍から得られた基底膜成分、マトリゲル(11)を上でのHUVECの培養法である。これら方法では、容易に血管様ネットワークを再現することができる。しかし、ECMタンパク質があらかじめ供給されているため、どのようにECM産生細胞から基底膜にECM成分が供給されているか不明である。細胞からのECM成分の供給、異種細胞の相互作用が基底膜の形成に与える影響を明らかにするため、様々なタイプの共培養系が開発されてきた。血管内皮細胞と線維芽細胞の共培養により血管様ネットワークが形成されることはよく知られていた(5)。また、I型コラーゲングル上で、血管内皮細胞とECM成分を供給する周皮細胞を共培養する系から、どちらの細胞もECM成分の供給と基底膜形成を含めた血管の成熟に関与していることが示唆された(38)。さらにHUVECと繊維が細胞からなるスフェロイドの内部に血管様ネットワークが形成されることも示されている(19)。しかし、これらのモデルは血管様ネットワークの発芽と伸長を調べるのは困難である。一方、HUVECのみからなるスフェロイドをMatrigel上で培養することで、血管様ネットワークの発芽、伸長を確認している(12)。しかしながら、このモデルでは、ECM産生細胞からのECMタンパク質の供給については調べられない。我々は2次元共培養を行なった際、一部細胞塊ができ、管状構造を形成したHUVECが細胞塊から伸長していることを見出した。そこで我々は、3次元共培養スフェロイドを培養皿に播種することで血管様ネットワークの伸長を観察できるか試した。細胞塊は培養皿に結合し、

線維芽細胞がまず遊走し、その後血管様ネットワークが伸長した。ネットワークには管腔構造が、HUVEC間にタイトジャンクションが見られた。これらの結果から、2.5次元共培養系は血管新生時の血管の伸長を再現していると考えられた。

微小血管はラミニン、IV型コラーゲン、パールカン、デコリンなどから形成された基底膜を有し、血管内皮西尾部の直下にある。2.5次元共培養系でもタイトジャンクションで結合し、管腔を形成した血管内皮細胞の直下に基底膜様構造を形成していた。血管内皮細胞はラミニン、IV型コラーゲン、ファイブロネクチンで囲われており、これらECMタンパク質は微小血管にて基底膜を形成している。周皮細胞と血管内皮細胞の共培養はラミニン、パールカンとファイブロネクチンの発現を誘導し、血管の成熟を行うことが知られており、周皮細胞がないと基底膜は形成されない(38)。我々の結果と合わせて考えると、ECM産生細胞が基底膜の形成と血管の安定性を制御していることを示唆された。共培養系でどのような因子が血管内皮細胞を管状構造に導くのかは明らかではないが、異種細胞の相互作用がこのプロセスに関与していると考えられた。

参考文献

1. Arnaoutova I, Kleinman HK. In vitro angiogenesis: Endothelial cell tube formation on gelled basement membrane extract. *Nat Protoc* 5: 628–635, 2010.
2. Aumailley M, Pesch M, Tunggal L, Gail F, Fässler R. Altered synthesis of laminin 1 and absence of basement membrane component deposition in (beta)1 integrin-deficient embryoid bodies. *J Cell Sci* 113 Pt 2: 259–268, 2000.
3. Aumailley M, Wiedemann H, Mann K, Timpl R. Binding of nidogen and the laminin nidogen complex to basement membrane collagen type IV. *Eur J Biochem* 184: 241–248, 1989.
4. Behrens DT, Villone D, Koch M, Brunner G, Sorokin L, Robenek H, Bruckner-Tuderman L, Bruckner P, Hansen U. The epidermal basement membrane is a composite of separate laminin- or collagen IV-containing networks connected by aggregated perlecan, but not by nidogens. *J Biol Chem* 287: 18700–18709, 2012.
5. Bishop ET, Bell GT, Bloor S, Broom IJ, Hendry NF, Wheatley DN. An in vitro model of angiogenesis: basic features. *Angiogenesis* 3: 335–344, 1999.
6. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 9: 653–660, 2003.
7. Charpentier MS, Conlon FL. Cellular and

- molecular mechanisms underlying blood vessel lumen formation. *BioEssays* 36: 251–259, 2014.
8. **Costell M, Gustafsson E, Aszodi A, Mörgelein M, Bloch W, Hunziker E, Addicks K, Timpl R, Fässler R.** Perlecan maintains the integrity of cartilage and some basement membranes. *J Cell Biol* 147: 1109–1122, 1999.
 9. **Donovan D, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE.** Comparison of three in vitro human “angiogenesis” assays with capillaries formed in vivo. *Angiogenesis* 4: 113–121, 2001.
 10. **Engvall E, Bell ML, Carlsson RNK, Miller EJ, Ruoslahti E.** Nonhelical, fibronectin-binding basement-membrane collagen from endodermal cell culture. *Cell* 29: 475–482, 1982.
 11. **Furuyama A, Mochitate K.** Assembly of the exogenous extracellular matrix during basement membrane formation by alveolar epithelial cells in vitro. *J Cell Sci* 113 (Pt 5): 859–868, 2000.
 12. **Heiss M, Hellstrom M, Kalen M, May T, Weber H, Hecker M, Augustin HG, and Korff T.** Endothelial cell spheroids as a versatile tool to study angiogenesis *in vitro*. *The FASEB J* 29: 3076-3084, 2015.
 13. **Herbert SP, Stainier DYR.** Molecular control of endothelial cell behaviour during blood vessel morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 12: 551–564, 2011.
 14. **Iwata M, Imamura Y, Sasaki T, Hayashi T.** Evidence for a short form of $\alpha 1(IV)$ as a major polypeptide in bovine lens capsule. *J Biochem* 117: 1298–1304, 1995.
 15. **Kajimura D, Takahashi S, Yoshikawa K, Hattori S, Sado Y, Imamura Y, Hayashi T.** Non-helical type IV collagen polypeptides in human placenta. *Biochem Biophys Res Commun* 314: 11–16, 2004.
 16. **Kalluri R.** Basement membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 3: 422–433, 2003.
 17. **Kino J, Adachi E, Yoshida T, Nakajima K.** Characterization of a Monoclonal Antibody against Human Placenta Type IV Collagen by Immunoelectroblotting, Antibody-Coupled Affinity Chromatography, and Immunohistochemical Localization. *J Biochem* 835: 829–835, 1988.
 18. **Koh W, Stratman AN, Sacharidou A, Davis GE.** Chapter 5 In Vitro Three Dimensional Collagen Matrix Models of Endothelial Lumen Formation During Vasculogenesis and Angiogenesis. *Methods Enzymol* 443: 83–101, 2008.
 19. **Kunz-Schughart LA, Schroeder JA, Wondrak M, van Rey F, Lehle K, Hofstaedter F, Wheatley DN.** Potential of fibroblasts to regulate the formation of three-dimensional vessel-like structures from endothelial cells in vitro. *Am J Physiol Cell Physiol* 290: C1385–C1398, 2006.
 20. **Lohikangas L, Gullberg D, Johansson S.** Assembly of laminin polymers is dependent on $\beta 1$ -integrins. *Exp Cell Res* 265: 135–144, 2001.
 21. **Martin T a, Harding KG, Jiang WG.** Regulation of angiogenesis and endothelial cell motility by matrix-bound fibroblasts. *Angiogenesis* 3: 69–76, 1999.
 22. **Miner JH, Yurchenco PD.** Laminin Functions in Tissue Morphogenesis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20: 255–284, 2004.
 23. **Molnar Elek.** Cell-based enzyme-linked immunosorbent assay (Cell-ELISA) analysis of native and recombinant glutamate receptors. *Methods Mol Biol* 1941: 47-54, 2019.
 24. **Mott JD, Werb Z.** Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 558–564, 2004.
 25. **Murshed M, Smyth N, Miosge N, Karolat J, Krieg T, Paulsson M, Nischt R.** The absence of nidogen 1 does not affect murine basement membrane formation. *Mol Cell Biol* 20: 7007–12, 2000.
 26. **Myllylä R, Kuutti-Savolainen ER, Kivirikko KI.** The role of ascorbate in the prolyl hydroxylase reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 83: 441–448, 1978.
 27. **Nicosia RF, Ottinetti A.** Growth of microvessels in serum-free matrix culture of rat aorta. A quantitative assay of angiogenesis in vitro. *Lab Invest* 63: 115–122, 1990.
 28. **Poschl E.** Collagen IV is essential for basement membrane stability but dispensable for initiation of its assembly during early development. *Development* 131: 1619–1628, 2004.
 29. **Priest RE.** Formation of epithelial basement membrane is restricted by scurvy in vitro and is stimulated by vitamin C. *Nature* 225: 744–745, 1970.
 30. **Prockop DJ, Kivirikko KI.** Collagens: Molecular Biology, Diseases, and Potentials for Therapy. *Annu Rev Biochem* 64: 403–434, 1995.
 31. **Robbins RM, Beitel GJ.** Vascular lumen

- formation: Negativity will tear us apart. *Curr Biol* 20: 973–975, 2010.
32. **Sanes JR.** The basement membrane/basal lamina of skeletal muscle. *J Biol Chem* 278: 12601–12604, 2003.
 33. **Sasaki T, Fässler R, Hohenester E.** Laminin: The crux of basement membrane assembly. *J Cell Biol* 164: 959–963, 2004.
 34. **Sasaki T, Forsberg E, Bloch W, Addicks K, Fässler R, Timpl R.** Deficiency of $\beta 1$ integrins in teratoma interferes with basement membrane assembly and laminin-1 expression. *Exp Cell Res* 238: 70–81, 1998.
 35. **Sasaki T, Majamaa K, Uitto J.** Reduction of collagen production in keloid fibroblast cultures by ethyl-3,4-dihydroxybenzoate. Inhibition of prolyl hydroxylase activity as a mechanism of action. *J Biol Chem* 262: 9397–9403, 1987.
 36. **Smyth N, Vatansever HS, Murray P, Meyer M, Frie C, Paulsson M, Edgar D.** Absence of Basement Membranes after Targeting the LAMC1 Gene Results in Embryonic Lethality Due to Failure of Endoderm Differentiation. *J cell biol* 144: 151–160, 1999.
 37. **Steinmann B, Rao VH, Gitzelmann R.** Intracellular degradation of newly synthesized collagen is conformation-dependent. Studies in human skin fibroblasts. *FEBS Lett* 133: 142–144, 1981.
 38. **Stratman AN, Malotte KM, Mahan RD, Davis MJ, Davis GE.** Pericyte recruitment during vasculogenic tube assembly stimulates endothelial basement membrane matrix formation. *Blood* 114: 5091–5101, 2009.
 39. **Strilić B, Eglinger J, Krieg M, Zeeb M, Axnick J, Babál P, Müller DJ, Lammert E.** Electrostatic cell-surface repulsion initiates lumen formation in developing blood vessels. *Curr Biol* 20: 2003–2009, 2010.
 40. **Strilic B, Kucera T, Eglinger J, Hughes MR, McNagny KM, Tsukita S, Dejana E, Ferrara N, Lammert E, Strilić B, Kučera T, Eglinger J, Hughes MR, McNagny KM, Tsukita S, Dejana E, Ferrara N, Lammert E.** The Molecular Basis of Vascular Lumen Formation in the Developing Mouse Aorta. *Dev Cell* 17: 505–515, 2009.
 41. **Sugiyama H, Tokunaka K, Hayashi T, Imamura Y, Morita M, Yamato M.** Non-Triple Helical Form of Type IV Collagen $\alpha 1$ Chain. *Heliyon* 1: e00051, 2015.
 42. **Takahashi S, Yoshikawa K, Sasaki T, Takeda Y, Imamura Y, Sado Y, Hayashi T.** Serum-dependent Secretion of Nondisulfide-bonded and Unfolded Type IV Collagen alpha Chains by Cultured Fetal Lung Fibroblasts. *Connect Tissue* 31: 161–168, 1999.
 43. **Uitto J, Dehm P, Prockop DJ.** Incorporation of cis-hydroxyproline into collagen by tendon cells. Failure of the intracellular collagen to assume a triple-helical conformation. *BBA - Protein Struct* 278: 601–605, 1972.
 44. **Wyatt H V.** James Lind and the prevention of scurvy. *Med Hist* 20: 433–438, 1976.
 45. **Yoshikawa K, Takahashi S, Imamura Y, Sado Y, Hayashi T.** Secretion of non-helical collagenous polypeptides of $\alpha 1(\text{IV})$ and $\alpha 2(\text{IV})$ chains upon depletion of ascorbate by cultured human cells. *J Biochem* 129: 929–936, 2001.
 46. **Yurchenco PD, Amenta PS, Patton BL.** Basement membrane assembly, stability and activities observed through a developmental lens. *Matrix Biol* 22: 521–538, 2004.
 47. **Yurchenco PD, Smirnov S, Mathus T.** Analysis of basement membrane self-assembly and cellular interactions with native and recombinant glycoproteins. *Methods Cell Biol* 69: 111–144, 2002.
 48. **Zudarie E, Gambardella L, Kurcz C, Vermeren S.** A computational tool for quantitative analysis of vascular networks. *Plos One* 6: e27385, 2011.

屋内 IoT ステーションを実現する可視光給電・可視光通信システムの構築

工学院大学 先進工学部 応用物理学科 山口智広

名古屋大学 未来材料・システム研究所 牛田泰久

工学院大学 工学部 電気電子工学科 前田幹夫

工学院大学 情報学部 情報通信工学科 高橋泰樹

工学院大学 情報学部 情報通信工学科 工藤幸寛

工学院大学 工学部 機械システム工学科 濱根洋人

Fabrication of visible light power supply and visible light communication systems
to realize indoor-type IoT station

Tomohiro Yamaguchi, Department of Applied Physics, Kogakuin University

Yasuhisa Ushida, IMass, Nagoya University

Mikio Maeda, Department of Electrical and Electronic Engineering, Kogakuin University

Taiju Takahashi, Department of Information and Communications Engineering, Kogakuin University

Yukihiro Kudoh, Department of Information and Communications Engineering, Kogakuin University

Hiroto Hamane, Department of Mechanical Systems Engineering, Kogakuin University

ABSTRACT : The purpose of this project is the construction of visible-light power supply and visible-light communication systems to realize the indoor-type IoT station, which includes the function of lighting, display, power supply, communication and monitoring. In this research report, the results of power conversion efficiency of power transmission systems using LEDs – solar cells as well as LD – LED (as light sources – light receivers), epitaxial growth of high-quality GaInN film forward the fabrication of light receiver, transient response characteristics of solar cells to LED light, information transmission using light-scattering-type liquid crystal element and fabrication of tracking system are described.

1. はじめに

三原色(R,G,B)の発光ダイオード(LED)やレーザ(LD)が実現された今、これら可視光光源を用いた照明、表示、給電、通信、計測が一体化した屋内IoTステーション(図1参照)に注目が集まっている。LEDを用いた照明はすでに我々の日常生活に入り込み、LDを用いた照明は車のヘッドランプとして市場投入が始まっている。また、LEDやLDを用いた表示装置としては、プロジェクトなどですでに実績がある。

今後数年で世界全人口の10倍以上の民生機器・家電製品がワイヤレス通信でつながるとも言われる中、最後の有線である給電の無線化を可能にする可視光給電は特に期待が持たれている。可視光給電は、現在利用している照明、テレビなどの発光光源インフラストラクチャーをそのまま使用することができる。可視光給電の受光素子には太陽電池を用いることができるが、照明で使用される可視光内の特定波長に高い受光感度を有する受光素子が既存の太陽電池も含め存在しないため、可視光給電を実現するためにはその素子製作がカギとなる。加えてLEDやLDを用いた可視光給電は未だ実現されていないため、システム全体のサイズ、空間距離、効率などの観点で、システムとしての問題を抽出するとともに実用可能性の検証も必要となる。

可視光通信は、電波干渉がなくまた人体に安全である。電波を利用したWi-Fiのスペクトル容量が枯渇しかけているが、次世代Wi-Fiとして期待される光を用いたLi-Fiは容量に制限がほとんどなく、また電波よりも周波数の高い光を使うことによりWi-Fiの100倍以上の高速通信が可能になると言われている。さらに、可視光給電同様、現在利用している照明、テレビなどの発光光源インフラストラクチャーをそのまま使用することができる。ただし、可視光自体は通信用光源以外にも存在するため、自然・人工環境光ノイズ源の影響を抑える必要がある。さらに、IoTステーションは複数の端末からの光が送られてくるので、外来ノイズ光源を含めた妨害をうけないような交通整理も必要であり、屋内IoTステーション内の可視光通信システムの実用可能性の検証が必要となる。

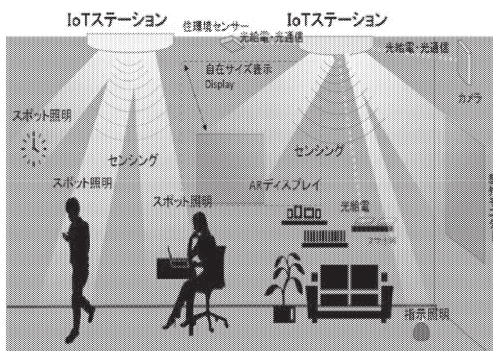


図1 屋内IoTステーションのイメージ図
(大阪大学 山本和久教授).

加えて、可視光給電、可視光通信を実現するためには、給電光としての効率を最大限に高めるセンシングとその制御、通信光としてのデータ源となる光を高速にとらえるセンシングとその制御が求められる。

本研究プロジェクトでは、屋内IoTステーションを実現する上で、照明・表示の他に基盤技術として必要になる①可視光給電システム、②可視光通信システム、および、これらのシステム構築に必要な③センシングと制御技術に関する研究を行っている。

2. LEDと太陽電池を用いた電力伝送システムの電力変換効率

本研究プロジェクトをスタートするにあたり、市販で容易に入手可能な光源と受光器を用いると、可視光給電の効率がどの程度であり、またシステムとしてどこに大きな課題があるかの把握を行った。

本研究項目では、LEDと太陽電池を用い、LEDの光を太陽電池で受けた場合の電力伝送効率について検討した。ここでは、可視光LEDとSi太陽電池を使用した電力伝送システムを製作し、入力・出力電力から求める電力変換効率を求めると共に、図2に示すシステム内の各所における変換効率(①光源による電気-光エネルギー変換効率 η_{LED} 、②光源-受光器間での光損失 η_{irrad} 、③受光器による光-電気エネルギー変換効率 η_{solar})を求めた。光源には可視光各色のLEDを用い、5直列5並列接続したLEDを支持基板に取り付け、LED1つあたり10mAの電流を流した。太陽電池には2直列のSi太陽電池を使用した。

全体の電力変換効率は表1に示すように青色LEDを光源として使用した際にもっとも高い2.6%の変換効率を得られた。また、システム内各所における効率とこれらの積は表2に示すとおりであり、電気-光エネルギー変換効率は同様に青色LEDを用いた場合が最も高く59%であった。一方、受光側での光-電気エネルギー変換効率は橙色LEDを光源とした際に最も高く、青色LEDを光源とした際は4.8%と最も低い結果となった。

システム全体の電力変換効率が η_{LED} 、 η_{irrad} 、 η_{solar} の積とほぼ一致していることから、システム全体の効率はこれら3つの効率により全体の効率が説明できるといえる。

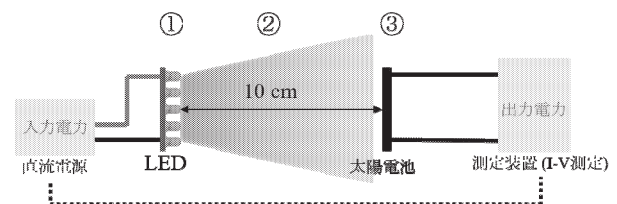


図2 LED-太陽電池電力伝送効率の測定.

照明機能を兼ね備えた光源にとって、青色 LED の電気-光エネルギー変換効率の高さは魅力的である。システム全体の効率を改善するには太陽電池の光-電気エネルギー変換効率が他の 2 つの効率と比較して 1 桁小さいため、太陽電池の光-電気エネルギー変換効率の改善が非常に重要であることをこれらの結果は示唆している。

表 1 システム全体の電力伝送効率.

	Electrical input			Electrical output power Pout [mW]	Total power supply efficiency [%]
	Current Iin [mA]	Voltage Vin [V]	power Pin [mW]		
Blue LED	50	13.4	670	17.3	2.6
Green LED		12.9	645	10.1	1.6
Orange LED		9.4	470	7.52	1.6
Red LED		9.4	470	8.56	1.8

表 2 システム内各所における効率とこれらの積.

	η_{LED} [%]	η_{irrad} [%]	η_{solar} [%]	$\eta_{LED} \times \eta_{irrad} \times \eta_{solar}$ [%]
Blue LED	59	90	4.8	2.6
Green LED	36	84	5.3	1.6
Orange LED	28	88	6.7	1.7
Red LED	43	88	5.0	1.9

3. LD と LED を用いた電力伝送システムの電力変換効率

可視光給電の 1 つのメリットは、他の磁界方式、電界方式等と比べ、長距離伝送が可能であるということである。一方で、LED を光源として用いた場合には LED から射出した光の広がりにより、伝送距離に対して電力伝送効率が落ちてしまう。これに対し、LD を光源に用いた場合には、伝送距離に対する電力伝送効率の大幅な低減を抑制できる。LD のビーム径は小さいため、市販で入手可能な太陽電池では対応できない。ここで受光器として市販で入手可能な LED の可能性に着目した。LED は高効率の発光特性を示す様に設計されているため、これを受光器として用いる場合には、吸収層の薄さが問題となる。一方で、可視光域に対して高い受光感度を持つことが期待できる。

本研究項目では、光源に青色 LD を用い、太陽電池の代わりに可視光 LED を受光器として用いた可視光電力伝送プロトタイプシステムとそれにより得られた結果について紹介する。

図 3 に、今回用いた市販の砲弾型の紫外、青色、緑色、黄色の各 LED の発光特性と受光感度特性を示す。パッケージ化された市販の砲弾型 LED であるため、その構造を踏まえた詳細な議論は行えない。しかし、LED の発光層は数 nm 程度と予想されるものの、どの LED においても発光波長領域から短波長域において明瞭な受光感度を確

認でき、LED の発光層により受光がなされて電子-正孔対が生成されていることが伺える。

これらの LED を受光器として用い、図 4 に示すような電力伝送システムのプロトタイプを製作した。青色 ($\lambda \sim 450$ nm) LD (OSRAM 社製 Type: PL TB450B)からの単色光を、10 cm 離れたところで、図 3 で示した各 LED で受光した。

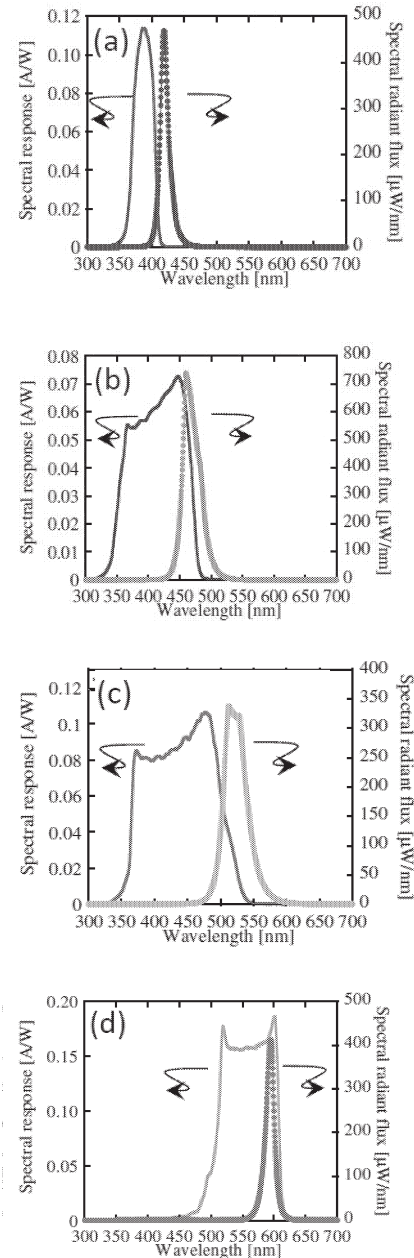


図 3 受光器に使用した LED の発光特性と受光感度特性。
 (a) 紫外 LED (Type: OSV6Y5111A)
 (b) 青色 LED (Type: OSB56P5111A)
 (c) 緑色 LED (Type: OSG5GP5111A)
 (d) 黄色 LED (Type: OS5YKA3131A)

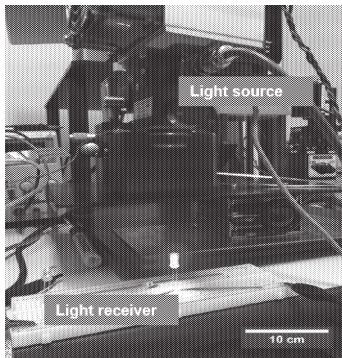


図4 LD-LED 電力伝送効率の測定.

表3 LD (光源) への注入電流 300 mA における各 LED (受光器) の開放電圧, 短絡電流, 最大出力電力および曲線因子.

	UV LED	Blue LED	Green LED	Yellow LED
Open circuit voltage V_{oc} [V]	2.51	2.49	2.29	1.50
Short-circuit current I_{sc} [mA]	0.00670	4.17	8.96	0.0171
Maximum output power P_{max} [mW]	0.0148	7.93	9.07	0.0179
Fill factor FF	0.88	0.76	0.44	0.70

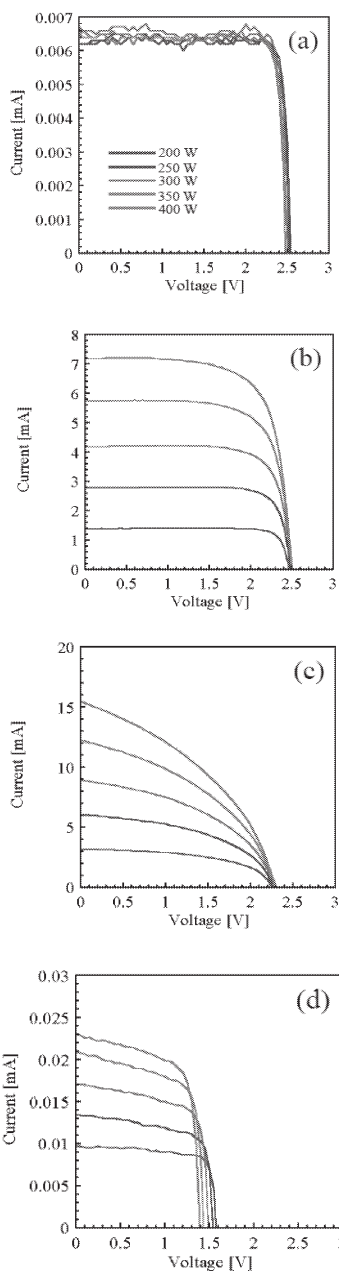


図5 LD (光源) への注入電流を 200 mA から 400 mA まで変化させたときの(a)紫外、(b)青色、(c)緑色、(d)黄色 LED (受光器) の電圧-電流特性.

図5に, LD(光源)への注入電流を 200 mA から 400 mA まで変化させたときの LED (受光器) の電圧-電流特性を示す. また, 表3に LD (光源) への注入電流 300 mA における各 LED (受光器) の開放電圧, 短絡電流, 最大出力電力および曲線因子を示す. 開放電圧は, 短波長発光の LED になるほど大きくなりバンドギャップとの相関性が確認できる. 短絡電流は, 青色 LED と緑色 LED で大きく, 図3で示した分光感度特性の結果に従う. 大きな短絡電流が得られた青色 LED と緑色 LED に着目する. 注入電流 200 mA から 400mA において, 注入電流と LD の光出力はほぼ比例関係にあることが LD のデータシートより確認できるため, LD からの光出力に対応するように短絡電流も増加していることが伺える. 曲線因子は青色 LED で 0.70~0.85, 緑 LED で 0.40~0.55 であった. また, 注入電流を大きくするにつれ曲線因子が小さくなっていった. 特に, 並列抵抗成分の減少が顕著に確認できる. これは, 結晶欠陥等のリークパスを通したリーク電流の増加と, 量子井戸層に閉じ込められた発光層内における電子-正孔対の再結合に伴う取り出し効率の減少が予想される. なお, 今回の実験条件の下での電力伝送効率は 1~3%程であった.

4. 可視光給電受光器用 GaInN 結晶の高品質化

光給電の現在の研究において, 受光素子は, 簡易に入手可能な Si 太陽電池が広く使用されているが, 青色光源を用いた場合, Si ($E_g=1.1$ eV)や GaAs ($E_g=1.4$ eV)太陽電池を用いると大きな量子損失 ($h\nu-E_g$) を生じてしまう. 現状では $E_g>2$ eV のワイドバンドギャップ材料を用いた良質な太陽電池の報告がほとんどないため, 受光素子の製作がカギとなる. 宮本先生(東京工業大学)の試算によると, 青色光源と GaN 系半導体太陽電池の組み合わせではバンドギャップ E_g の増大による太陽電池電圧効率増加のために 70 %以上の変換効率が期待できるとされる⁽¹⁾. 一方で, GaInN を用いた太陽電池のデバイス特性は期待値をはるかに下回り, 太陽光エネルギーに対する変換効率が数%程度しか実現されていない. これは電

圧効率の低下を引き起こす結晶中の転位やキャリアのトラップサイトとして働く欠陥準位の存在が主要因である。

本研究項目では、大型放射光施設 SPring-8 の放射光 X 線回折その場観察測定を用い、原子層レベルでの結晶成長の動的挙動を理解・制御することにより、青色領域(400 ~ 480 nm 帯)に受光感度を有する低転位で高品質な GaInN 結晶製作手法の開拓をめざしている。

本研究で使用した分子線エピタキシー(MBE)-X線回折(XRD)融合システムは、X線回折ステージ上に MBE を搭載したシステムである(図 6 参照)。高輝度放射光 X 線と 2 次元検出器の使用により、約 7 秒で 1 枚の逆格子マップ(RSM)を得ることができる。RSM には、結晶成長軸方向および結晶成長面内方向に対する結晶の周期性の情報が含まれている。7 秒間では 1 原子層以下の結晶が成長している。つまりこの測定を通して原子層レベルでの結晶の成長中に生じている、結晶の格子緩和とそれに伴う結晶欠陥の発生の様子をとらえることができる。

図 7 に、一例として GaN 上に成長した GaInN の成長開始後 98 秒、301 秒、602 秒で得られた RSM を示している。図内 R=0 (H=1.0)の縦のライン上に GaInN 回折ピークがある時、成長中の GaInN は下地の GaN に完全に歪んだ状態にあることを意味しており、R=1 の斜めのライン上に回折ピークがくると、GaInN は完全に緩和し本来の格子定数を持った状態にあることを意味している。

図 8 には、二次元ガウシアンフィッティングにより得られた各 RSM における GaInN ピーク位置の変遷を示している。成長開始後 140 秒ほどで GaInN の回折ピーク位置をはっきりととらえられるようになる。GaInN の回折ピーク位置は、H 方向(結晶成長の成長面内方向)と L 方向(結晶成長の成長軸方向)ともに、成長が進むにつれ、GaN から離れていく。300~500 秒で H 方向は引き続き GaN から離れていく方向にシフトするが、L 方向では逆に GaN に近づく方向に動くシフトを見せる。

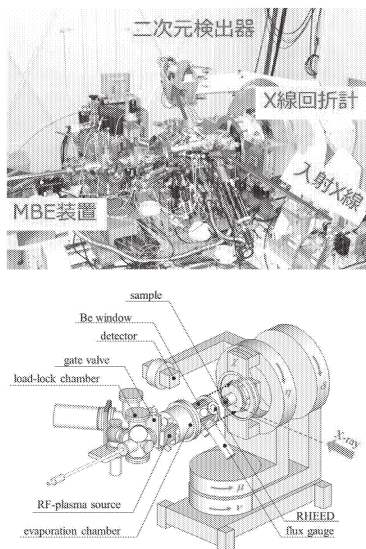


図 6 MBE-XRD の構成。(2)

二軸応力下での成長軸方向の格子長さと成長面内方向の格子長さの関係は、

$$\frac{c(\text{GaInN}) - c_0(\text{GaInN})}{c_0(\text{GaInN})} = -2 \frac{c_{13}}{c_{33}} \cdot \frac{a(\text{GaInN}) - a_0(\text{GaInN})}{a_0(\text{GaInN})} \quad (1)$$

のように表せる。ここで、 c, a は図 8 の RSM 測定結果から計算により求められる実空間での成長軸方向および成長面内方向の格子長さ、 c_0, a_0 は In 組成 x に対する格子長さの理論値、 c_{13}, c_{33} は弾性定数であり、この関係式を満たす $\text{Ga}_{1-x}\text{In}_x\text{N}$ の In 組成 x が定まる。また、 $\text{Ga}_{1-x}\text{In}_x\text{N}$ の GaN に対する緩和率は、

$$R_{\text{GaInN}/\text{GaN}} = \frac{a(\text{GaInN}) - a_{\text{GaN}}}{a_0(\text{GaInN}) - a_{\text{GaN}}} \quad (2)$$

とする。

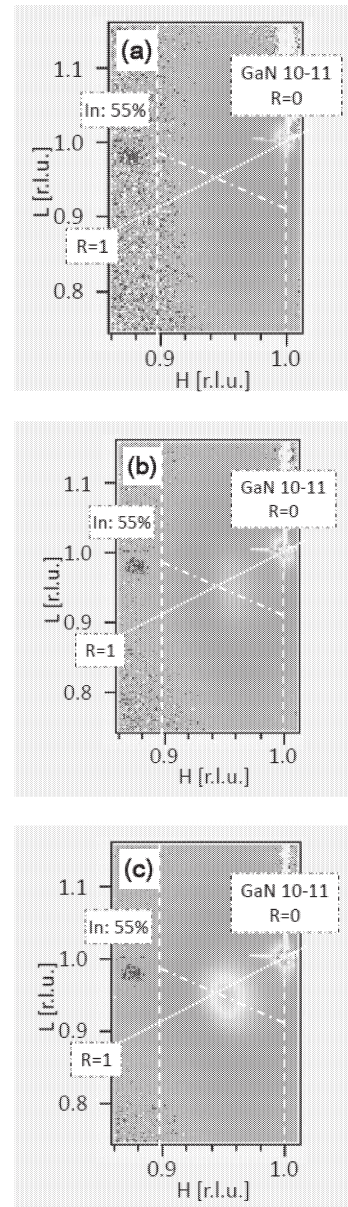


図 7 GaN 上への GaInN 成長開始後(a)98 秒、(b)301 秒、(c)602 秒後に得られた逆格子マップ。

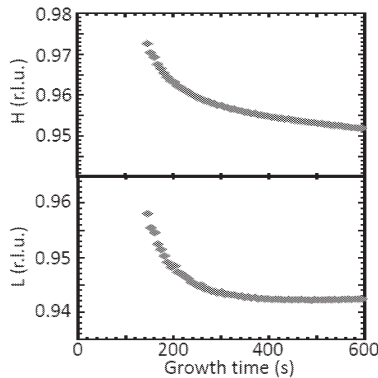


図8 GaN 上 GaInN 成長中の GaInN 10-11 回折ピーク位置の変遷.

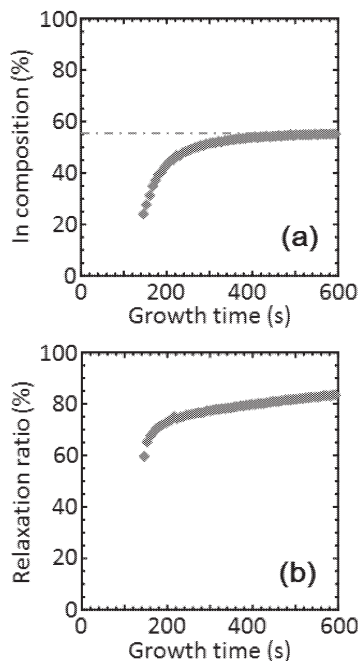


図9 GaInN 成長中の(a)In 組成および (b)緩和率の変遷.

図9に、(1)式、(2)式より求められた GaInN 成長中の In 組成および緩和率の変遷を示す。この結果より、GaInN は成長初期から徐々に緩和している様子が見て取れる。面白いことに、GaInN の In 組成は成長時に一定ではなく、成長が進むと共に In 組成が増加している様子が見て取れる。この結果は、歪み環境下で組成の引込み効果が働いている (GaN 上に GaInN を成長すると In が取り込まれにくい) と考えられ、歪み環境下では所望の In 組成を持つ GaInN を成長軸方向に対して一定になるように成長することが非常に難しいことを示している。

緩和が進むということは、結晶内に結晶欠陥が導入されていることを示している。今後、緩和状態とそれにより生じる結晶欠陥の相関性を明らかにしていくと共に、

この結晶成長その場観察測定を駆使することにより、可視光給電用受光器として利用可能な高品質 GaInN 結晶成長プロセスを構築していく。

5. LED 光に対する太陽電池の過度応答特性

可視光通信システムには送信側に LED、受信側にはフォトダイオードを用いることが一般に想定される。しかし、フォトダイオードは対応できる波長の幅が広く高い応答性を持つため、通信には向いているが、光給電には不向きと考えられる。

本研究項目では、光源に LED、受光素子に太陽電池または LED を用いることを検討した。無論、給電と通信用の素子を別々に実装することも考えられるが、本研究ではコストの削減と将来的にレーザー光などスポット径の小さな光源でも高効率に給電と通信が行えるように、給電・通信に同一の素子を利用することを想定している。

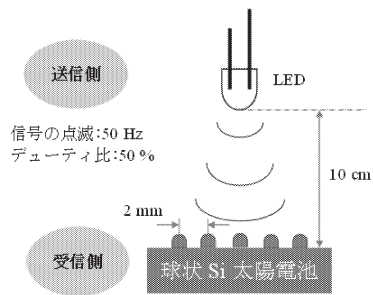
まず、太陽電池を受光素子として用いた場合について述べる。太陽電池を通信用受光素子として使用する場合は、その過度特性に未知の部分が多いため、矩形波 (50Hz デューティー50%) を LED に印加して 10cm 離れた太陽電池で受光した際の過度応答特性を太陽電池の出力電圧 (負荷抵抗 1k Ω) により評価した。太陽電池には球状シリコン太陽電池 (開放電圧 0.5 V, 短絡電流 500 mA, 受光部面積 5 \times 5 cm) を用いた (図 10(a) 参照)。

LED の消費電力を一定とした時、図 10(b)に示すように立ち上がりの応答速度は、青、赤、緑の LED の順で早い結果となり、波長ごとに違いが見られた。この順序は LED の外部量子効率の順序と一致しており光子数の違いによって応答速度の違いが生じていると考えられる。また、図 10(c)に示すように LED に注入する電流を大きくすると応答速度は早くなることから光強度に依存することは明らかである。太陽電圧の出力電圧 (High 時) が一定になるように各色の LED に注入する電流を調整した場合は、図 10(d)に示すように立ち上がりの波形が一致した。さらに、同様に太陽電池からの出力電圧が一定 (360 mV) になる条件下の外部量子効率の測定結果とそこから求めた光子数は表 4 に示すとおりであり、光子数が概ね一定となることが確認された。したがって、波長による応答の違いは光子数の違いによるものであり、光子数が一定の条件下では波長依存性はないと結論付けられるが、実際の利用にあたって同一電力でより高速な応答が得られる青色 LED を用いることが適当だろう。なお、この傾向は図 11 に示すように立ち下がり時でも同一であった。

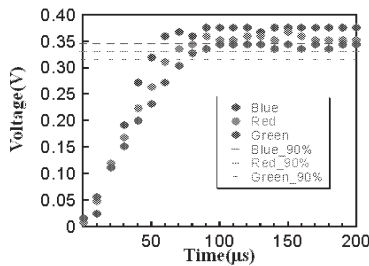
また、応答速度 (受光強度が 90% 変化するのに要する時間で定義) は、立ち上がり 49 μ s, 立ち下がり 910 μ s であり、立ち下がりが支配的である。この結果から 1kbps 程度でのオンオフ変調による情報伝送が可能なが示

唆される。この応答速度は負荷の抵抗と太陽電池 CR 時定数により定まる部分が多い。ここまでに述べた測定は全て暗室化で行われているが、照明下で同様の実験を実施すると応答速度が早くなることを確認している。これは、照明下では空乏層の厚さが小さくなり静電容量が小さくなるためである。

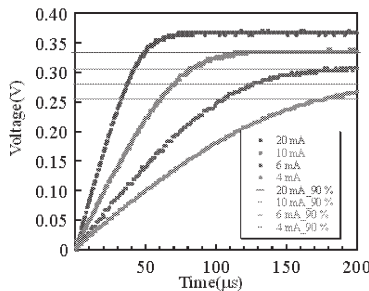
また、実際の情報伝送を、図 12 のように Arduino Uno を用いて簡易に実装した。マイコンの処理速度の関係から最高で 50Hz 程度の伝送周波数までの対応となったものの実際に情報を伝送し液晶モジュールに伝送した情報が表示され単純な動作を確認した。



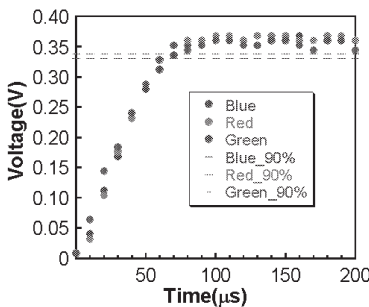
(a) 測定条件



(b) 送信側各色 LED の消費電力一定



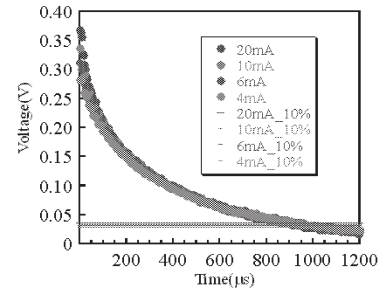
(c) 送信側 LED の電流変化



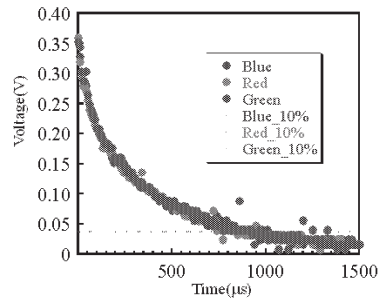
(d) 太陽電池の出力電圧 (High 時) 一定
図 10 太陽電池を受光素子としたときの過度応答特性 (立ち上がり時).

表 4 LED の外部量子効率の測定結果と光子数

LED	Current [mA]	External quantum efficiency [%]	Number of photons [個]
Blue LED	14.6	54.2	4.94×10^{16}
Green LED	28.1	23.5	4.12×10^{16}
Red LED	26.1	31.3	5.09×10^{16}



(a) 送信側 LED の電流変化



(b) 太陽電池の出力電圧 (High 時) 一定

図 11 太陽電池を受光素子としたときの過度応答特性 (立ち下がり時).

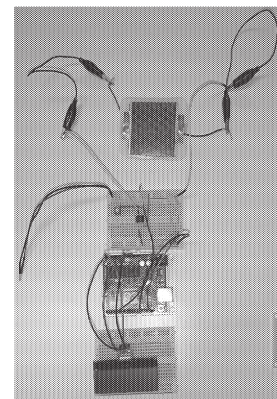


図 12 試作した受信機.

6. 光散乱型液晶素子を用いた情報伝送

光散乱型液晶素子は、ディスプレイに一般的に用いられる液晶素子とは異なり、透過と散乱を制御する素子である。特徴としては、偏光板が不要なため光の利用効率が高く、散乱光も無偏光である。また、電圧応答のため

消費電力が低い特性も有する。これまでの研究において、超高速応答で知られる強誘電性液晶を用いた光散乱型液晶素子を世界で初めて実現し、サブミリ秒の応答速度を実現している。

本研究項目では、熱可塑性のマイクロ～ナノ径の微細ファイバーを用いることで120℃程度の低温プロセスで微細ファイバーによる光散乱型液晶素子を作製することに成功した(図13参照)。これにより、より安価かつ生産性よくフレキシブルな光散乱型液晶素子が実現できる。

通信システムについては、図14に示すように再帰性反射材上に光散乱型液晶素子を配置し、室内照明からの光源を反射してIoT機器から情報伝送を行うことを想定した。データは反射率の変化による反射強度変化を用いることが考えられるがQRコードを表示しカメラで情報を読み取ることでより効率的な情報伝送が可能と考えられる。QRコードは通常平面上での利用が想定されているものの画像処理により歪を補正することで読み取り可能なことをこれまでに確認している。動作を確認するために液晶素子の代替としてマイクロQRコードを印刷したOHPシート配置し検討したところ、QRコードの位置が正対位置から30°の範囲で、かつ5~18mの距離であれば読み取ったQRコード像のピクセルベースの誤り率が7%以下であることを確認した。この誤り率はQRコードの誤り訂正機能でデータを復元可能な範囲であり復号において問題はないと考えられる。

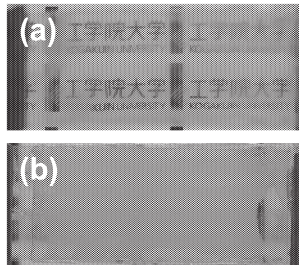


図13 試作したフィルム状の光散乱型液晶素子。

(a) 透過状態と(b)散乱状態。

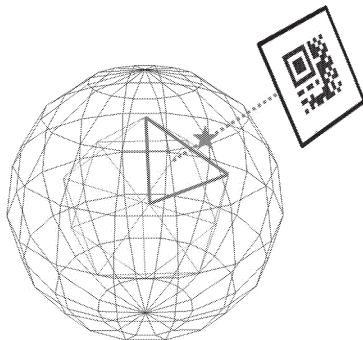


図14 QRコードの配置。

7. トラッキングシステムの構築

本研究項目では、ガルバノミラーと画像解析を組み合わせた追跡システムの製作を行っている。一般的な家庭のリビングを想定し5400mm×3600mmの12畳の部屋で、天井高さは一般家庭よりも少し高い2800mmとし、天井部に屋内IoTステーションの光源とミラーを配置し、光源から照射された光ビームの方向は、2組のガルバノミラーで変化させることにより、部屋全体に光を照射することができ、また、動く物体を追従し照射できるシステムを想定する(図15参照)。

今回製作したシステム構成を、図16,17に示す。今回製作したシステムでは、カメラで画像を取得し、Raspberry Pi4のOpenCVを用いて照射する物体を特定する。そして照射する物体の座標を計算し、GPIOのI2Cを経由して2台のモーターコントローラに指示を出す。モーターコントローラには電源装置から直流12Vが供給されており、ステッピングモータを駆動している。

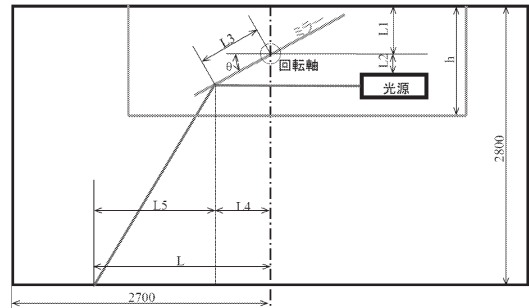


図15 照射イメージ。

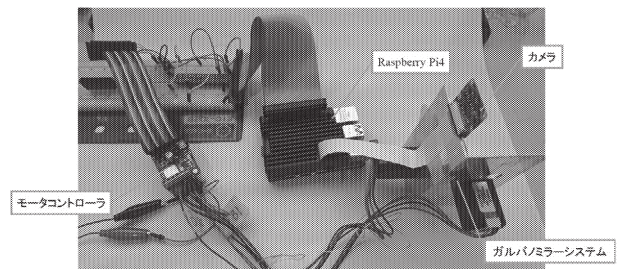


図16 製作したシステムの全体構成。

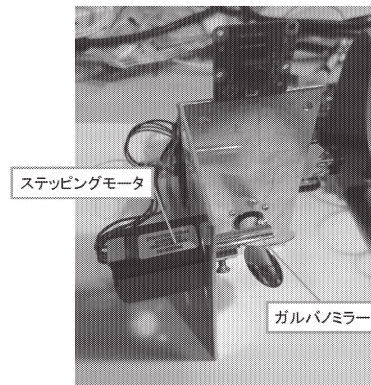


図17 ガルバノミラーシステム部。

実験より、ガルバノミラーシステムと画像解析によって可視光給電を行う物体に可視光を追跡、照射することは可能であることがわかった。ただ、カメラレンズによるゆがみ、画角不足等を確認した。今後、更なるプロトタイプの製作を検討している。

7. まとめ

本研究プロジェクトでは、屋内 IoT ステーションを実現する上で、照明・表示の他に基盤技術として必要になる可視光給電システム、可視光通信システム、および、これらのシステム構築に必要なセンシングと制御技術に関し、(1) LED と太陽電池を用いた電力伝送システムの電力変換効率、(2) LD と LED を用いた電力伝送システムの電力変換効率、(3) 可視光給電受光器用 GaInN 結晶の高品質化、(4) LED 光に対する太陽電池の過度応答特性、(5) 光散乱型液晶素子を用いた情報伝送、(6) トラッキングシステムの構築について基本検討を行った。

可視光給電では、受光器の効率向上が課題であることが確認され、可視光域に感度を有する Si や GaAs に変わる新材料の開拓が必要であることが分かった。その候補材料の一つである GaInN の結晶成長では、XRD を用いた成長中のその場観察が、結晶成長機構の解明、結晶成長技術の高度化を行うにあたり強力なツールとなることが確認された。

情報と電力を同時に伝送するシステムを念頭に、LED 光に対する太陽電池の過度応答特性を調べた。太陽電池の過度特性は太陽電池が持つ容量性の内部インピーダンスにより高速な応答速度を得ることが難しいものの、単純なオンオフ変調方式において 1 kbps 程度の通信が可能であり、単純なセンサーネットワークなどを考えた場合は十分機能すると考えられる。より高速な通信を実現するためには、変調方式を QAM や色を使った変調などを用いてシンボルあたりの情報量を増加させることによる情報伝送速度の改善が期待できる。また、波長依存性は厳密には存在しないものの、外部量子効率から青色の LED を使用することが効率的であることがわかった。

IoT 機器から室内機器への情報伝送については、再帰性反射材に光散乱型液晶素子を貼り付けるモデルを提案しその基礎検討を行い、QR コードベースの情報伝送の可能性を明らかにした。

トラッキングシステムの構築では、ガルバノミラーと画像解析を組み合わせた追跡システムのプロトタイプの製作を行い、この構成により、物体に可視光を追跡、照射することが可能であることを確認した。

謝辞

本研究プロジェクト研究遂行にあたり、本プロジェクトグループの研究室所属学生である比留川大輝氏、横山

晴香氏、大野颯一朗氏、清田百合恵氏、吉田幸氏、武田茂憲氏、兼平真央氏、前田尚輝氏、その他諸氏に感謝する。

参考文献

- (1) 宮本智之, 信学技報 LQE2017-156 (2018).
- (2) 佐々木拓生 “放射光を用いて半導体結晶が成長していく様子をライブ観察する” 新技術説明会 (2019).

今年度の研究業績

① 発表論文

- 1) T. Yamaguchi, T. Sasaki, S. Fujikawa, M. Takahashi, T. Araki, T. Onuma, T. Honda, and Y. Nanishi, “In situ synchrotron X-ray diffraction reciprocal space mapping measurements in the RF-MBE growth of GaInN on GaN and InN”, *Crystals* **9**, 631 (2019).
- 2) Y. Aoyagi, Y. Saito, Y. Kudoh, and T. Takahashi, “A novel orientation method for nematic LCs by using magnetic field lines with permanent magnets and electric field for assisting the reorientation”, *Proc. of the International Display Workshops* **26**, 226 (2019.09).
- 3) T. Takahashi, N. Shirai, and Y. Kudoh, “Novel measurement method for difference of Flexo-coefficients ($\epsilon_{11}-\epsilon_{33}$) by using disclination lines in HAN cells with concentric rubbing treatment”, *Proc. of the International Display Workshops* **26**, 303 (2019.09).

② 国際学会発表

- 1) H. Hirukawa, T. Yamaguchi, Y. Ushida, T. Onuma, and T. Honda, “Prototype optical wireless power transmission system using blue LD as light source and LED as photovoltaic receiver” OWPT2019, OWPT-P-12 (2019.04).
- 2) S. Ohno, T. Yamaguchi, H. Hirukawa, T. Araki, H. Hashimoto, T. Onuma, and T. Honda, “Structural analyses using TEM and XRD of GaInN films grown on GaN templates by RF-MBE”, LEDIA 2019, LEDIA-P-19 (2019.04).
- 3) T. Yamaguchi, T. Sasaki, M. Takahashi, S. Ohno, T. Araki, Y. Nanishi, T. Onuma, and T. Honda, “In situ XRD RSM measurements in MBE growth of GaInN at different temperatures” ICNS-13, G11.04 (2019.07)
- 4) S. Ohno, T. Yamaguchi, T. Araki, T. Honda, T. Onuma, H. Hashimoto, Y. Nakajima, H. Hirukawa, and R. Yoshida, “Structural analyses of GaInN films grown at different temperatures on (0001)GaN/ α -Al₂O₃ templates by RF-MBE”, ICNS-13, KP01.04 (2019.07).

- 5) T. Takahashi, R. Takahashi, and Y. Kudoh, "A novel bistable LCD with function of monostable operation", EuroDisplay 2019, O-17 (2019.09).
- 6) Y. Kudoh, H. Yoshioka, and T. Takahashi, "Controlling pre-tilt angles using rubbed PEDOT/PSS and DMOAP films for ITO-free LC devices", EuroDisplay 2019, O-21 (2019.09).
- 7) H. Hirukawa, R. Yoshida, T. Yamaguchi, T. Onuma, and T. Honda, "Structural characterization of epitaxial GaInN films by X-ray diffraction", ISAT-18, P-II-13 (2019.12).
- 8) S. Ohno, H. Hirukawa, R. Yoshida, T. Yamaguchi, T. Kiguchi, H. Hashimoto, T. Onuma, and T. Honda, "Microstructural analysis using TEM in GaInN film grown by RF-MBE", P-II-16 (2019.12).
- 9) T. Yamaguchi, H. Hirukawa, H. Yokoyama, S. Ohno, Y. Ushida, T. Onuma, and T. Honda, "Toward the realization of optical wireless power transmission system using visible light" ISNST2019, 3-1-014 (2019.12).

③ 国内学会発表

- 1) 青山、前田：“再帰性反射材とPNLCを用いた空間光変調器の応用に関する検討”、映像情報メディア学会放送技術研究会、vol.43, no.23, BCT2019-67 (2019.7).
- 2) 相良、根岸、前田：“複数ダイバー間の同時通信方式の検証 ～DDSとヘテロダイン技術を用いたFM受信機の試作”、2019映像情報メディア学会年次大会、13D-5 (2019.8).
- 3) 大野、尾沼、山口、本田：“RF-MBEによりGaInN/α-Al₂O₃上に異なる温度で成長させたGaInNの構造解析”、光通信研究会、P-2-14 (2019.08).
- 4) 比留川、尾沼、山口、本田：“可視光給電デバイスのためのMBEによるGaInN成長温度特性”、光通信研究会、P-1-15 (2019.08).
- 5) 高橋、青柳、工藤：“小型永久磁石の磁束分布と補助電界によるネマティック液晶の放射状配向”、日本液晶学会討論会、2C09 (2019.09).
- 6) 工藤、白井、高橋：“小型永久磁石の磁束分布と補助電界によるネマティック液晶の放射状配向”、日本液晶学会討論会、3C07 (2019.09).
- 7) N. H. Shafudah, H. Nagai, Y. Kudoh, T. Takahashi, and M. Sato, "Photo-induced Super-hydrophilic Anatase Thin Film Fabricated via Electrospray Deposition from Molecular Precursor Solution onto a Quartz Glass Substrate", 第80回応用物理学会秋季学術講演会、19p-E311-11 (2019.09).
- 8) 比留川、吉田、山口、尾沼、本田：“RF-MBEによるGaInN薄膜の成長温度特性”、日本表面真空学会2019年学術講演会、2P50 (2019.10).
- 9) 兼平、根岸、道家、中野、前田：“波長多重を用いたダイバー間水中伝送システムの検討”、映像情報メディア学会放送技術研究会、Vol.43, No.35, BCT2019-81 (2019.10).
- 10) 武田、道家、中野、前田：“反射型光変調器試作に向けたマイクロQRコードの読取実験”、映像情報メディア学会放送技術研究会、Vol.43, No.40, BCT2019-85 (2019.11).
- 11) 兼平、根岸、道家、中野、前田：“高輝度LEDを用いたダイバー間会話システム”、映像情報メディア学会放送技術研究会、Vo.43, No.40, BCT2019-86 (2019.11).
- 12) 横山、比留川、清田、山口：“可視光発光ダイオードおよびシリコン太陽電池を用いた光無線給電システムの効率検討”、第11回大学コンソーシアム八王子学生発表会、A124 (2019.12).
- 13) 清田、比留川、横山、山口、工藤、本田：“太陽電池を用いた可視光通信システムの確立に向けて”、第11回大学コンソーシアム八王子学生発表会、A126 (2019.12).
- 14) 相良、根岸、中野、前田：“ソフトウェア無線技術を駆使したFM適応変調システムの検討”、映像情報メディア学会放送技術研究会、Vol. 44, No.5, BCT2020-29(2020.2).
- 15) 兼平：“ダイバー間の水中会話伝送技術の研究”映像情報メディア学会放送技術研究会（招待講演）、Vol.44, No.5, BCT2020-30.(2020.2)
- 16) 菅原、工藤、高橋：“アルミ陽極酸化膜厚を連続変化させたエレクトロウェットティング光軸制御素子”、第67回応用物理学会春季学術講演会、12a-PB1-1 (2020.03).

④ 受賞

- 1) ISAT-18 Poster Award: S. Ohno, H. Hirukawa, R. Yoshida, T. Yamaguchi, T. Kiguchi, H. Hashimoto, T. Onuma, and T. Honda, "Microstructural analysis using TEM in GaInN film grown by RF-MBE", ISAT-18, P-II-16 (2019.12).
- 2) 映像情報メディア学会 優秀研究発表賞：兼平、根岸、前田 “ダイバー間のハンズフリーな会話を目指した可視光通信システムの検討”、映像情報メディア学会放送技術研究会 (2019.12).
- 3) 第11回大学コンソーシアム八王子学生発表会 優秀賞：清田、比留川、横山、山口、工藤、本田 “太陽電池を用いた可視光通信システムの確立に向けて”、第11回大学コンソーシアム八王子学生発表会、A126 (2019.12).

⑤ 助成金獲得

- 1) 山口、牛田、濱根、“可視光電力伝送の可能性探索”、JLEDS/LED推進協議会 (2018.08-2019.07).
- 2) 工藤、高橋、前田、山口、“LEDによる可視光を用いたIoT向け電力・情報伝送システムの検討”、JLEDS/LED推進協議会 (2019.08-2020.03).

光合成微生物によるバイオ燃料生産のための壁面培養法の開発研究

工学院大学 先進工学部 生命化学科 油井信弘

東京薬科大学 生命科学部 応用生命科学科 藤原祥子

Development of Wall Biotechnology for biofuel production by photosynthetic microorganisms

Nobuhiro Aburai, Department of Chemistry and Life Science,
School of Advanced Engineering, Kogakuin University

Shoko Fujiwara, Department of Applied Life Science, School of
Life Sciences, Tokyo University of Pharmacy and Life Science

ABSTRACT : Algal biofuels are a promising alternative to fossil fuels, but their widespread use is hindered by problems with mass production. Light-emitting diodes (LEDs) with specific light wavelengths could be used as an energy source for algal growth and lipid synthesis. In this study, the effects of light source on the biomass and lipid production of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 were evaluated using LEDs. The integration of two-phase cultures, including growth and lipid production under the stress of nitrate depletion, was assessed for efficient lipid production under liquid- or aerial-phase conditions. Different wavelengths of light (blue, green, and red) were tested under liquid- and aerial-phase conditions. Under aerial-phase culture, the fatty acid contents in biofilm reached 320 mg g DWC⁻¹ with the red LEDs. In view of these findings, we describe a one-step culture method for growth and biodiesel production in algal biofilm under aerial-phase culture with red LED irradiation. When *Coccomyxa* biofilm was cultured on wet cotton wool with BBM in a petri dish under the red LED, it was able to grow and accumulate lipids under the aerial-phase condition. Based on the results of this study, a potential method for a continuous biodiesel production system is proposed.

1. はじめに

地球温暖化をはじめとする大規模な気候変動が問題となるなかで、再生可能な燃料の需要は世界中で高まり、二酸化炭素を炭素源として使用する再生可能エネルギーが注目されている(1)。バイオマスのエネルギー利用には、バイオガス(バイオメタンやバイオ水素など)、バイオ燃料(バイオディーゼルやバイオエタノールなど)、電気や熱を生成する製品(木材チップやペレットなど)(2)などの例が挙げられる。2012年、再生可能エネルギーは全世界のエネルギー消費の13%を占め、そのうち10%

はバイオマスエネルギーによるものであり、再生可能エネルギーの利用はますます増加すると予想され(3)、持続可能な社会を実現するためには、再生可能エネルギー技術の開発も必要である(4)。現在、バイオエタノールの生産は、サトウキビやデンプンを含む穀物由来の砂糖を利用した発酵によるものである。すなわち、これらの基質の利用は、食品および飼料などと競合するために望ましくない。

光合成微生物に由来するバイオ燃料(バイオエタノールとバイオディーゼル)は、化石燃料の理想的な代替品として、研究開発が進められてきた。例えば、微細藻類のバイオ燃料の生産では、光エネルギー、二酸化炭素、水のみを使用し燃料油を生合成する藻類の能力を利用す

る。微細藻類の生体膜は、糖脂質、リン脂質、ステロールなどの極性脂質で構成されており、それ以外にもストレス条件下において、トリアシルグリセロール (TAG) などの非極性貯蔵化合物で構成される油滴が形成されることがある (5)。TAG などの中性脂質は、エステル交換によりバイオディーゼルを生成し、ガソリンやジェット燃料などに混合して利用できる。藻類バイオディーゼル生産に適した培養システムを確立するには、窒素欠乏、リン酸塩制限、光強度、鉄含有量、回収時間、塩分など、さまざまな培養条件と操作要因を検討する必要がある (6)。栄養欠乏状態で、微細藻類はデンプンや脂質などのエネルギーに富む化合物を蓄積し、細胞乾燥重量で約 20% 以上の脂質を蓄積する場合がある (7)。このような微細藻類は、バイオ燃料の生産性が陸生植物のものよりもはるかに高く、有望なバイオ燃料生産株として、期待されている。

光エネルギーは、多くの植物や微細藻類の生育と代謝に影響を与える。発光ダイオード (LED) は、一般的な蛍光灯よりも熱の放出が少なく、寿命が長く、光合成活性放射効率が低いとされ、異なる波長・エネルギー分布を利用できるメリットがあり (8)、有用物質の生合成を促進するための代謝工学の有望なツールである (9)。微細藻類による脂質生産において、LED は生物種独特な影響を与え、たとえば、*Tetraselmis* の藻株では、青色 LED 条件下で増殖率が促進され (10, 11)、赤色 LED によって *Tetraselmis suecica* は高脂質含有量が誘導された (12)。遺伝子発現による調節機構の解明は研究中であり、LED 調節による種依存効果における代謝機構はいまだ不明である。

大規模な藻類由来バイオディーゼル生産の実現と経済的持続可能性はまだ限定的であり、バッチ操作に基づくほとんどの培養では時間がかかり、生産量が十分ではない。実験室レベル、パイロットスケール、および工場生産、どの規模においても、培養系のシステム管理だけでなく、培養方法の選択も効率的なバイオディーゼル生産にとって重要である。また、微細藻類の回収プロセスもバイオディーゼル生産のボトルネックとなっており、生産コスト全体の 20~30% を占めるといわれる (13)。したがって、実用的なバイオディーゼル製造には、効率的な収穫プロセスと運用コストの削減が不可欠である。固相表面での藻類培養システム (バイオフィームベースの培養方法) は、藻細胞と液体培地がもともと分離できているため、必要な液体の量を大幅に削減でき、収穫と脱水のプロセスがより効率的になり、垂直方向に培養システムを拡大できるため、設置面積あたりの生産性を向上できる。様々な研究が進められており、バイオフィームでの生産でも、液体培養システムとほぼ同等のバイオマス量が得られることがわかってきた (14)。

微細藻類のなかで、トレボクシア藻綱 *Coccomyxa* sp. は、細長い非運動性の単細胞緑藻である。この藻株は、その早い生育速度と高品質の脂質を蓄積できるため、バ

イオ燃料生産におけるバイオテクノロジーのモデル生物として使用されている。さらに、この微細藻類の細胞壁はあまり堅くなく、脂質の抽出が比較的容易にできる。この藻株は、さまざまな自然環境から分離されており、低 pH、高金属濃度、高線量の電離放射線、低温適応、および重金属イオンに対する耐性を示すものが見つかった (15-19)。

一般的に、微細藻類は水圏で生活し、気相条件におかれ乾燥すると死滅する。一方、気生微細藻類は陸上で微生物マットを形成しつつ、例えば、樹皮、岩、コンクリートなどの天然および人工的な基質の表面上で生活しており、通常の微細藻類にはない独特な性質があると思われる。これまでに、東京都と山梨県の県境にある山沿いの擁壁から *Coccomyxa* sp. KGU-D001 を単離同定した (20)。窒素源の欠乏によるストレスを与えた液体培養によって油滴を形成し、それが比較的長期間にわたり蓄積することがわかった。さらに市販のメンブレンフィルター上に固定して *Coccomyxa* のバイオフィームを作成し、静置したところ、脂肪酸生合成が誘導されることもわかった (21)。すなわち、もともと陸上で生活する気生微細藻類のバイオフィームを利用することで、簡単にオイル生産が可能なが示された。

これまでの研究において、気相条件下でのバイオフィームの培養では、主にバイオマスと脂質生産に焦点が当てられてきたが (20-22)、光と CO₂ は光合成の主要なファクターではあるが、バイオフィームのバイオディーゼル生産性に及ぼす LED 光の影響はまだ十分に研究されていない。そこで本研究では、気生微細藻類のバイオフィームの培養において、異なる波長の LED を適用し、気相条件下での、バイオマスと脂質生産に対する光の影響を検討した。続いて、気相条件下における生育と脂質蓄積を同時に行い、効率的なバイオディーゼル生産を目指すために、ワンステップ培養を検討した。

2. 実験

2.1 微細藻類とバイオフィーム

気生微細藻類 *Coccomyxa* sp. KGU-D001 は、東京都と山梨県の県境山岳地帯のコンクリート表面から単離され、18S rDNA 分析によって同定された (20)。この藻体を白色蛍光灯 (40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の連続照射、室温下、Bold's Basal 液体培地 (BBM) 中で 28 日間前培養した後、藻体 1 mg を PTFE 膜 (直径: 25 mm、孔径: 0.45 μm) の上に積層し、藻類バイオフィーム (厚さ 17 μm) を作成した。続いて、12.5 ml 純水を含む脱脂綿を入れたシャーレを用意し、その脱脂綿上に 9 枚のバイオフィームを設置した (Fig. 1)。白色蛍光灯または LED (40 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) の連続照射下、25°C でバイオフィームを静置培養した。その後、シャーレ内から 9 枚のバイオフィームを取り出し、藻体を混合して各種評価を行った。

この実験操作を3回繰り返し、データの平均値と標準偏差を求めた。

今回の実験では、白色蛍光灯と赤、緑、青のLEDを光源とし連続して照明した。また、赤色LEDについては、予備試験により、脂肪酸生成をより促進させることがわかったため、波長の異なる3種類の赤色LEDを用いた。照度計によって照度を測定した後、光量子束密度(変換係数0.7)を求めた(23)。LEDデバイスは、80個のLEDをブレッドボードに設置し、DC電源を接続して作製した。LEDの光スペクトル(300~800 nm)を光ファイバー分光計と量子センサーで分析し、白色蛍光灯は幅広いピーク(400~700 nm)の中に、約405、430、560、および590 nmに輝線を含んでいた。青色LEDの主な波長は450 nm~500 nmで、ピーク値は467 nmであった。緑色LEDの波長範囲は500 nm~580 nmで、ピーク値は525 nmであった。赤色LEDの波長範囲は600 nm~650 nmで、ピーク値は625 nmであった。

2.2 高効率オイル生産システムに向けたワンステップ培養

効率的なオイル生産システムの構築を目指し、気相条件下での赤色LEDを備えたワンステップの培養システムを検討した。2.1と同様にしてバイオフィームを作製し、シャーレ内に12.5 mLのBBM(125 mg L⁻¹ NaNO₃を含む)を含む脱脂綿を入れ、その上に9枚のバイオフィームを設置した。赤色LED(40 μmol photons m⁻² s⁻¹)の連続照射下、25°Cでバイオフィームを静置培養した。その後、シャーレ内から9枚のバイオフィームを取り出し、藻体を混合して各種評価を行った。3回実験を繰り返し、そのデータの平均値と標準偏差を求めた。

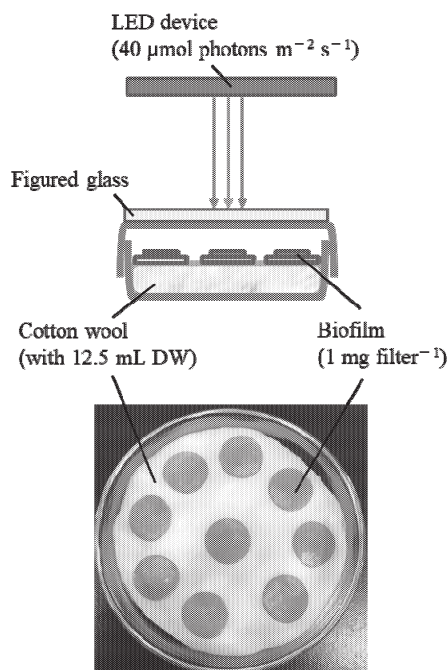


Fig. 1 Culture diagram of the algal biofilm and the photograph.

2.3 微細藻類の生育評価

気生微細藻類 *Coccomyxa* バイオフィームのバイオマス生産能を評価するため、フィルム1枚あたりの乾燥細胞重量(DWC)を測定した。培養後のバイオフィームから総細胞を回収した後、一度細胞懸濁液にし、続いてメンブレンフィルターでろ過した。その後、純水で3回洗浄し、凍結乾燥することで培養細胞を得た。培養時の対数増殖期における最大比増殖速度(μ_{max})を求めた。式： $\mu_{max} = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1)$ 。ここで、 x_2 と x_1 は、それぞれ培養時間 t_2 と t_1 におけるDWC(g L⁻¹)を用いた。培地中の硝酸塩濃度は、ブルシン-スルファニル酸法により分析し、吸収波長410 nmを測定した(24)。

2.4 オイル分析

以下の手順に従い、総脂肪酸含有量をガスクロマトグラフィー法により分析した(20)。10 mgの凍結乾燥した藻体を1 mLの5% (v/v) HCl /メタノールと混合した。内部標準試薬として0.1 mgヘプタデカン酸(C17:0)を加えた後、容器を密閉し、100°Cで3時間還流した。冷却後、ヘキサン1 mLを加え十分に混合し、1,000 rpmで5分間遠心した。脂肪酸メチルエステル(FAME)を含むヘキサン層を回収し、試料とした。スプリット注入ポート、炎イオン化検出、およびキャピラリーカラム(30 m × 0.25 mm, GL Science 製)を備えたガスクロマトグラフィー(GC-2014)に供した。市販の試薬によりFAMEのピークの保持時間をあらかじめ測定しておき、試料に含まれる脂肪酸を推定し、濃度を測定した。

2.5 統計処理

各実験区において平均値と標準偏差を求め、分散分析(ANOVA)の統計分析を行い、有意差検定を処理した($P < 0.05$)。

3. 結果と考察

3.1 バイオフィームにおけるバイオマスおよび脂質蓄積に及ぼす光波長の影響

気生微細藻類 *Coccomyxa* KGU-D001のバイオフィームを作製し、気相条件下で少量の純水を与え、すなわち、栄養源を与えないストレス培養を試みた。また、光源に白色蛍光灯、青、緑、赤色のLEDを使用し、気相条件下で7日間培養したところ、藻細胞内に油滴の形成が観察された(Fig. 2)。これまでの研究により、*Coccomyxa* sp.は、窒素源枯渇下での液体培養によって油滴を形成することがわかっていたが、気相条件下においても脂質を蓄積することができた(20, 21)。Fig. 3は、バイオマス(バイオフィームあたりのDWC)の経時変化をまとめたグラフである。白色蛍光灯や各種LEDを用いた培養で比較すると、いずれもバイオマスは約2.5 mg filter⁻¹と同程度であった。暗条件では、培養初期と同程度のレ

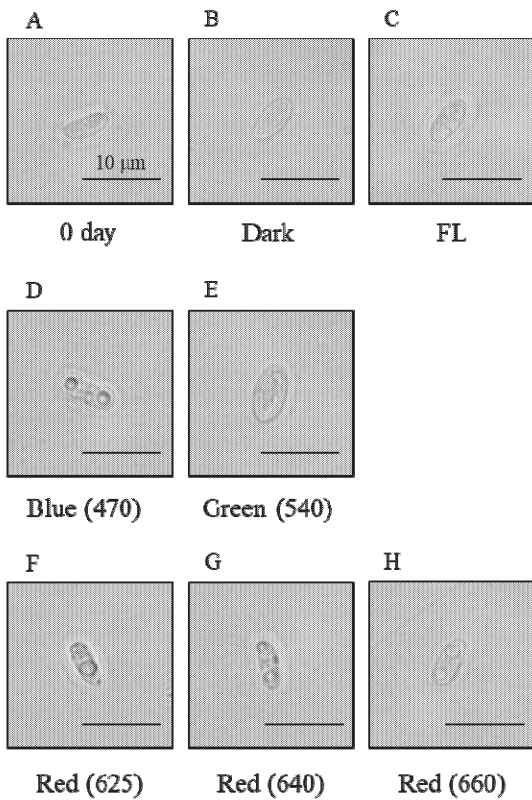


Fig. 2 Light microscopy images of the *Coccomyxa* sp. biofilm with different light sources.

ベルであった。これらの結果により、気相条件でも光合成を行うことができ、バイオマス生産に対する光源の影響は以前に検討した液相条件の結果 (data not shown) と同様であることが示された。光合成色素のクロロフィルの吸収波長と一致するため、青色や赤色光により光合成を行うことができたことについては予想できたが、ほとんど吸収されない、すなわち光合成を行うことができない緑色光によってもバイオマスが増加した。これについては「グリーンギャップ」とよばれる現象として説明できる。

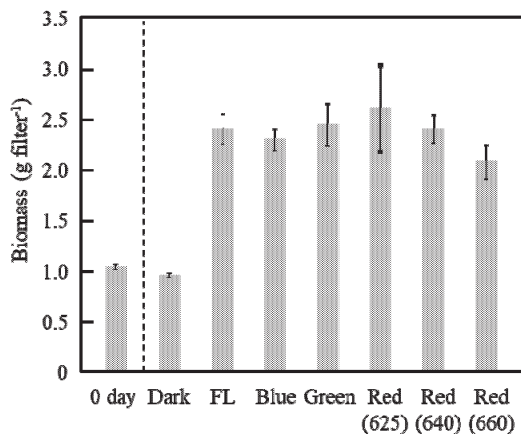


Fig. 3 Effect of light wavelength on biomass in *Coccomyxa* biofilm.

この現象については、微細藻類 *Chlorella vulgaris* を用いて検証されている。一般に、光合成活性に関わる吸収スペクトルは、光合成色素(クロロフィルやカロテノイド)の吸収スペクトルによって決まり、光合成色素において緑色光の吸収は特に弱く、光合成速度または量子効率が非常に低い。しかし、バイオマスが多い場合、すなわち高密度細胞の状態では、層が形成されることにより、入射光がより吸収されやすくなる。ある種の微細藻類では、緑色光で培養してもバイオマスが微増である場合もあり(25)、どの光波長が優れた増殖速度をもたらすかについては、微細藻類共通の知見は得られていない。本研究では、気生微細藻類 *Coccomyxa* のバイオフィーム化によって緑色光を吸収できる層が形成されたために、青色や赤色光と同程度に緑色光もバイオマス生産に利用可能であることが示された。

続いて同条件での脂肪酸含有量を分析した (Fig. 4) 脂肪酸含有量は赤色 LED (625 nm) によって増加し、本実験の中では最大の $320 \text{ mg g dwc}^{-1}$ に達した。また青色の LED でも、赤色 LED と同程度の効果が示された。緑色光の効果は白色蛍光灯の効果と同等であった。液体培養の結果 (data not shown) と比較し、藻体の脂肪酸含有量は最大 2 倍まで増加したことから、気相条件と特定の光波長の組み合わせによって、脂肪酸生成はさらに相乗的に活性化できる可能性が示された。それぞれ脂肪酸の組成をさらに詳細に分析すると、青色光下では、オレイン酸 (C18:1) よりもリノレン酸 (C18:3) の方が、増加し、脂肪酸の不飽和化が促進された。*Coccomyxa* バイオフィームは、チラコイド膜の維持と油滴の形成を同時に進めているものと考えられた。また、興味深いことに、赤色光について、より長い波長 (640, 660 nm) の光源を用いるとバイオマスが減少する傾向にあり、脂肪酸含有量の増加量が鈍化した。赤色光の 3 つの LED について、これらの脂肪酸組成の比率は同じ (オレイン酸含有量: 50%) であった。これらの結果は、赤色光は微細藻類の光合成および脂肪酸生成に対し、別々に影響を与えたことを示唆している。

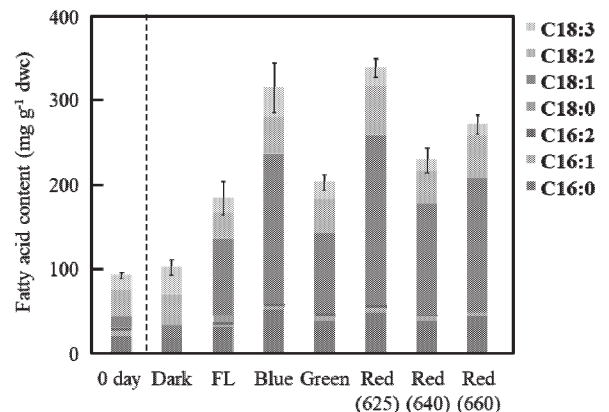


Fig. 4 Effect of light wavelength on Fatty acid contents in *Coccomyxa* biofilm.

3.2 生育と脂質合成を同時に行うワンステップ培養

気生微細藻類 *Coccomyxa* sp. KGU-D001 は、あらかじめ前培養により生育させ、十分なバイオマスを得た後に(第一段階)、バイオフィーム化と気相条件での培養(第二段階)を行うことで脂質蓄積を増加できた。さらにバイオフィームは比較的堅い基物(メンブレンフィルター)上に形成しているため、容易に回収し、脱水することもでき、これら一連のプロセスはバイオディーゼル生産のための効率的かつ低コストな方法となりうる。そこで、このツーステップの培養をワンステップで行い、さらなる効率的なバイオディーゼル生産系への検討を試みた。

気相条件、赤色 LED(625 nm)による連続照明下において、窒素源を含む BBM を添加した脱脂綿を用意し、その上に *Coccomyxa* バイオフィームを静置培養した。生育と脂肪酸合成を連続して行うため、培養期間は最長で 14 日間に設定した。Fig. 5 に示されるように、バイオフィームにおける細胞数は時間の経過とともに増加し、細胞分裂は気相中でも起こることがわかった。この時の倍加時間は 2.09 であった。また *Coccomyxa* バイオフィームのバイオマスは、培養 14 日後には培養開始時と比べ 4 倍に増加していた。気相条件下での *Coccomyxa* バイオフィームの比増殖速度(0.26 d^{-1})は、液体培養時と比べても同程度であった。培養 3 日以内に、BBM 中の窒素源の 90% が細胞に取り込まれ、硝酸態窒素の除去率は最大で $29.8 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ に達し、液体培養よりもわずかに早い結果であった。すなわち、気相条件下においても、*Coccomyxa* バイオフィームは培養培地の急激な硝酸塩吸収をともなっており、細胞分裂を行うことができることが示された。液相条件下では、 CO_2 ガスの溶解量が限られ、拡散速度が低いいため、藻体への CO_2 供給が不十分になる可能性がある(26)。一方で、気相条件では、藻体の CO_2 ガス取り込みにおいてより有利であると考えられた。さらに、無機窒素源の取り込みや炭素固定量の増加を通じて細胞分裂を効率的に進めることができたと考えられた(22)。

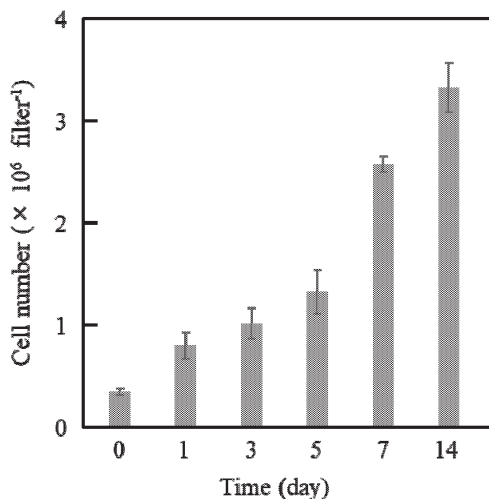


Fig. 5 Time courses of cell number in a *Coccomyxa* biofilm culture.

培養 7 日目の時の *Coccomyxa* バイオフィームの総脂肪酸含有量は 250 mg g^{-1} であった (Fig. 6)。その量は、Fig. 4 に示される赤色 LED(625 nm)、気相条件(窒素欠乏)下のストレス培養時と比べ、80%程度であった。7 日以上培養することで、次に使用する藻類バイオマスの量を確保できるだけでなく、残りをバイオディーゼルに使用できることがわかった。培養 3、5、7、14 日間でのバイオフィームの面積あたりの脂質生産性は、80、110、130、160、 $150 \text{ mg m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ であった。したがって、この培養系においては 7 日間の培養により、脂質生産性が最も高く、比較的短期間で簡便に連続的なシステムとして運用できることが示された。バイオフィーム化により、フィルム上層(気相側)において脂肪酸合成(油滴形成)が著しく行われたと予想され、これは水分を含む脱脂綿と接触する下細胞層よりも大気に直接接触し、強い光照射を受けたためと考えられる。したがって、フィルム上層の藻体は、 CO_2 の直接供給および赤色光の直接照射を介して FA 合成が増強され、フィルム下層の藻体は、直接培地が供給され、細胞分裂しやすい環境であったと考えられる。今後は、より簡易なバイオフィームの作製を検討すること、バイオフィームの厚さと脂質生産性との関係を明らかにすることなどから、バイオマスの生産性を最適化することで、さらなる低エネルギーで持続可能なバイオディーゼルの生産方法の開発を目指していく。

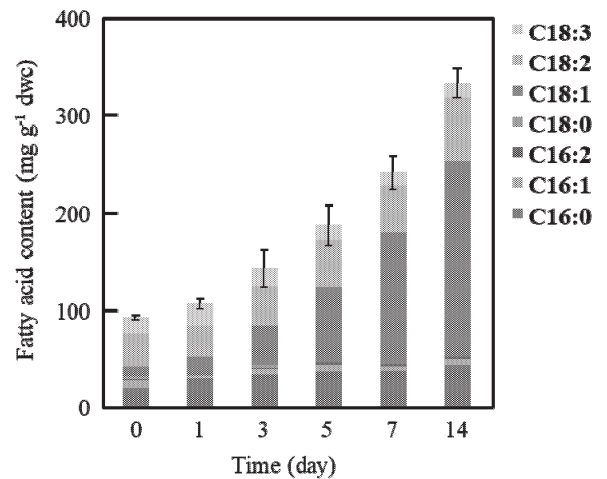


Fig. 6 Time courses of fatty acid content in a *Coccomyxa* biofilm culture.

4. まとめ

本研究では、気生微細藻類 *Coccomyxa* sp. KGU-D001 による持続可能なバイオディーゼル生産を目指し、気相条件下における各種発光ダイオードの効果の研究するため、生育および脂肪酸蓄積を評価した。ここで得られた知見を基に、より効率的なバイオディーゼル生産方法を開発するため、*Coccomyxa* バイオフィームにおける生育と脂質ワンステップ培養法を検討し、赤色 LED を用いた気相条

件下で栄養源を供給して培養した。*Coccomyxa* sp. は、培養 7 日間程度の比較的短期間で細胞増殖と同時にバイオディーゼルを生産できることがわかった。これらの結果は、持続的なバイオディーゼル生産のシステムが開発可能であることを示唆している。

参考文献

- (1) Hepburn, C. Adlen, E. Beddington, J. Carter, E.A. Fuss, Dowell, S.N. Minx, J.C. Smith, P. Williams, C.K.: The technological and economic prospects for CO₂ utilization and removal, *Nature*, 575 (2019) 87-97.
- (2) Hallenbeck, P.C. Grogger, M. Mraz, M. Veverka, D.: Solar biofuels production with microalgae, *Appl. Energy*, 179 (2016) 136-145.
- (3) Adeniyi, O.M. Azimov, U. Burluka, A.: Algae biofuel: Current status and future applications, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 90 (2018) 316-335.
- (4) Beacham, T.A. Sweet, J.B. Allen, M.J.: Large scale cultivation of genetically modified microalgae: A new era for environmental risk assessment, *Algal Res.*, 25 (2017) 90-100.
- (5) Peccia, J. Haznedaroglu, B. Gutierrez, J. Zimmerman, J.B.: Nitrogen supply is an important driver of sustainable microalgae biofuel production, *Trend. Biotechnol.*, 31(2013) 134-138.
- (6) Juneja, A. Ceballos, R.M. Murthy, G.S. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production, *Energies*, 6 (2013) 4607-4638.
- (7) Yin, Z. Zhu, Li, L. Hu, S.T. Chu, R. Mo, F. Hu, D. Liu, C. Li, B.: A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: Environmental pollution control and future directions, *Bioresour. Technol.*, 301 (2020) 122804.
- (8) Nwoba, E.G. Parlevliet, D.A. Laird, D.W. Alameh, K. Moheimani, N.R.: Light management technologies for increasing algal photobioreactor efficiency, *Algal Res.*, 39 (2019) 101433.
- (9) Schulze, P.S.C. Barreira, L.A. Pereira, H.G.C. Perales, J.A. Varela, J.C.S. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production, *Trend. Biotechnol.*, 32 (2014) 422-430.
- (10) Teo, C.L. Atta, M. Bukhari, Taisir, A.M. Yusuf, A.M. Idris, A.: Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths, *Bioresour. Technol.*, 162 (2014) 38-44.
- (11) Schulze, P.S.C. Pereira, H.G.C. Santos, T.F.C. Schueler, Guerra, L.R. Barreira, L.A. Perales, J.A. Varela, J.C.S.: Effect of light quality supplied by light emitting diodes (LEDs) on growth and biochemical profiles of *Nannochloropsis oculata* and *Tetraselmis chuii*, *Algal Res.*, 16 (2016) 387-398.
- (12) Abiusi, F. Sampietro, G. Marturano, G. Biondi, N. Rodolfi, L. D'Ottavio, M. Tredici, M.R.: Growth, photosynthetic efficiency, and biochemical composition of *Tetraselmis suecica* F&M-M33 grown with LEDs of different colors, *Biotechnol. Bioengineer.*, 111 (2014) 956-964.
- (13) Gifuni, I. Pollio, A. Safi, C. Marzocchella, A. Olivieri, G.: Current bottlenecks and challenges of the microalgal biorefinery, *Trend. Biotechnol.*, 37 (2019) 242-252.
- (14) Shiratake, T. Sato, A. Minoda, A. Tsuzuki, M. Sato, N.: Air-drying of cells, the novel conditions for stimulated synthesis of triacylglycerol in a green alga, *Chlorella kessleri*, *PLoS ONE*, 8 (2013) e79630
- (15) Casal, C. Cuaresma, M. Vega, J.M. Vilchez, C.: Enhanced productivity of a lutein-enriched novel acidophile microalga grown on urea, *Mar. Drugs*, 9 (2011) 29-42.
- (16) Vaquero, I. Ruiz-Dominguez, M.C. Márquez, M. Vilchez, C.: Cu-mediated biomass productivity enhancement and lutein enrichment of the novel microalga *Coccomyxa onubensis*, *Proc. Biochem.*, 47 (2012) 694-700.
- (17) Rivasseau, C. Farhi, E. Atteia, A. Couté, A. Gromova, M. Cyr, D.G.S. Boisson, A.M. Féret, A.S. Compagnon, Bligny, E.R.: An extremely radioresistant green eukaryote for radionuclide bio-decontamination in the nuclear industry, *Energy Environ. Sci.*, 6 (2013) 1230.
- (18) Blanc, G. Agarkova, I. Grimwood, J. Kuo, A. Brueggeman, A. Dunigan, D.D. Gurnon, J. Ladunga, I. Lindquist, E. Lucas, S. Pangilinan, J. Pröschold, Salamov, T.A. Schmutz, J. Weeks, D. Yamada, T. Lomsadze, A. Borodovsky, M. Claverie, J.M. Grigoriev, I.V. Etten, J.L.V.: The genome of the polar eukaryotic microalga *Coccomyxa subellipsoidea* reveals traits of cold adaptation, *Gen. Biol.*, 13 (2012) R39.
- (19) Kováčik, J. Klejdus, B. Babula, P. Hedbavny, J.: Nitric oxide donor modulates cadmium-induced physiological and metabolic changes in the green alga *Coccomyxa subellipsoidea*, *Algal Res.*, 8 (2015) 45-52.
- (20) Abe, K. Ishiwatari, T. Wakamatsu, M. Aburai, N. Fatty acid content and profile of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. isolated from dry environments, *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 174 (2014) 1724-1735.
- (21) Ohkubo, K. Aburai, N. Miyauchi, H. Tsuzuki, M. Abe, K.: CO₂ fixation and lipid accumulation in biofilms of the aerial microalga *Coccomyxa* sp. KGU-D001 (Trebouxiophyceae), *J. Appl. Phycol.*, 174 (2017) 1724-1735.
- (22) Miyauchi, H. Okada, K. Fujiwara, S. Tsuzuki, M.: Characterization of CO₂ fixation on algal biofilms with an infrared gas analyzer and importance of a space-rich structure on the surface, *Algal Res.*, 46 (2020) 101814.
- (23) Thimijan, R.W. Heins, R.D.: Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: A review of procedures for interconversion, *Hortsci.*, 18 (1983) 818-820.
- (24) Abe, K. Hattori, H. Hirano, M.: Accumulation and antioxidant activity of secondary carotenoids in the

- aerial microalga *Coelastrella striolata* var. *multistriata*,
Food Chem., 100 (2007) 656–661.
- (2 5) Hultberg, M. Jönsson, H.L. Bergstrand, K. Carlsson,
A.S. Impact of light quality on biomass production
and fatty acid content in the microalga *Chlorella*
vulgaris, Bioresour. Technol., 159 (2014) 465-467.
- (2 6) Tang, D. Han, W. Li, P. Miao, X. Zhong, J.: CO₂
biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus*
obliquus and *Chlorella pyrenoidosa* in response to
different CO₂ levels, Bioresour. Technol., 102 (2011)
3071-3076.

非常時における拠点連携を考慮した音声通信トラフィック制御手法

工学院大学 情報学部 情報通信工学科 馬場 健一

芝浦工業大学 工学部 情報通信工学科 宮田 純子

東京工業大学 工学院 情報通信系 山岡 克式

A Call Traffic Control Method considering Control Area Cooperation in Emergency Situation

Ken-ichi Baba, Department of Information and Communications Engineering, Kogakuin University

Sumiko Miyata, Dept. of Information and Communications Engineering, Shibaura Institute of Technology

Katsunori Yamaoka, Communications and Computer Engineering, Tokyo Institute of Technology

ABSTRACT : In emergency situations, telecommunication networks become congested due to large numbers of call requests. In previous work, we proposed a novel call admission control method which can accept both required emergency calls and more general calls by utilizing trunk reservation control and holding time limitation control. In this paper, we propose a trunk reservation control method with allowing call waiting to reduce the call blocking probability. We also propose a call traffic control method considering control area cooperation. We utilize a mathematical analysis to evaluate our model. In comparison with the conventional method, our proposed method with waiting queue decreased the call loss probability for general calls while keeping the call loss probability for emergency calls low and worked well against external traffic from neighbor area.

1. はじめに

近年、地震や台風などの自然災害や事件などの非常時における、音声通話を取り扱う電話網のあり方に注目が集まっている。一般に、非常時における固定通信網（以下、網）では、警察や救急車、消防車などへの通報に使用される非常に緊急性を要する通話（以下、緊急通話）と、一般のユーザが現地の安否確認などのために行う通話（以下、一般通話）の、両通話（以下、呼）が多数混在する環境となる。このように、非常時に有限資源である網に多数の呼が到着する状況下では、緊急通話を優先的に接続させるため、一般通話を固定通信網に接続しない発信規制を行うことで通話の要求数（発呼数）を少なくする手法や、緊

急通話のために帯域を優先的に空けておくことで緊急通話の通話数を確保する方法が使われている。

しかし、前者の方法では、一般のユーザも現地の安否確認を行うなど通常より多くの重要な通話を行う可能性が高いため、緊急通話は必要数収容したうえで、可能な限り多くの一般通話も収容すべきであるが、電話がつながりにくい状況が多く発生する。また、後者の方法では、緊急通話のために優先的に空けておく帯域を経験的に決定しており、トラヒック状況に応じて空けておくべき適切な帯域は不明である。この場合、仮に空けておくべき帯域が不足している場合には、緊急通話を必要数収容できない。また逆に、緊急通話のために空けておいた帯域が十分に利用されていない場合には、この帯域を利用してより多

くの一般通話を網内に収容できるはずである。従って、トラフィック状況に応じた適切な帯域の緊急通話への割り当てが重要となる。

先行研究において、非常時における緊急通話と一般通話両者の確保を実現する新しい受付制御方式を実現するために、緊急通話と通話時間に制限のある一般通話の2種類の呼が到着する状況において、一般通話到着時の収容済トラフィック状況及び制御パラメータ(閾値)に基づいて一般通話を適切に呼損とする場合(以下、即時モデル)、さらに一般通話到着時の収容済トラフィック状況及び閾値に基づいて一般通話に多少の待機を許容する場合(以下、待時モデル)に関して、呼レベルの回線交換としてモデル化を行い、待ち行列理論を用いた解析により、緊急通話を必要数確保しつつ一般通話の網内収容数最大化を実現する閾値、すなわち、緊急通話の呼損率を要求値以下にしつつ、一般通話の呼損率を最小にする閾値を理論的に導出した。またIP網においても同様の効果があることを実機を用いて実装し、その効果を確認した。

先行研究では、災害などの発生地域に通話が集中するとして、非常事態が発生した地域(以下、非常時地域)の網入口の交換機で緊急通話と一般通話の2種類に分類し、呼の受付制御を行うことを想定していた。しかしながら、実際の通話を想定すると、緊急通話は、非常時地域内に留まる通信や国家関係の非常時地域外部からの通信が混在する。一方、安否確認などの一般通話は、非常時地域以外からの通信が非常時地域内の通信に比べて圧倒的に多いと考えられる。そこで、本研究では、先行研究の成果をさらに発展させ、通話のより細かな分類と優先制御、ならびに非常時地域内外を考慮した拠点連携による制御を行うことにより、非常時においてより現実的で有効な音声通信のトラフィック制御手法を確立する。

2019年度では、文献(5)では、回線留保制御に待時を考慮した待時キューを導入することにより、一般通話の呼損率を低減効果を明らかにしたが、一般通話の待時を考慮した場合、待時を考慮しない場合とは待ち行列システムが異なり、閾値の設定方法も異なることが考えられ、適切な閾値設定が必要となる。すなわち、文献(5)では、到着する優先通話、一般通話の呼量を予測し、閾値の設定に用いて、待時キューを有し、呼量が大きい場合、一般通話は直ちに待時キューから回線に割り当てられるため文献(5)の閾値設定法とは異なると考えられる。そこで、一般通話の待時を考慮した回線留保制御に対し、待ち行列システムのモデル化を再検討し、待ち行列理論を用いた数値解析により、適切な閾値を求める。導出された閾値を待ち行列理論に基づくシミュレーションにより評価し、優先通話における呼損率を要求値以下に保ちつつ、一般通話における呼損率減少効果、数値解析により設定された閾値の有効性を明らかにする。

さらに、通話の種類を優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の3種類に区別し、被災地周辺の拠点連携で被災地外一般通話の待時を考慮した回線留保制御に

おける待ち行列システムとしてモデル化する。提案手法をシミュレーションにより評価し、優先通話における呼損率を要求値以下に保ちつつ、拠点連携における被災地外一般通話の待時を考慮することによる呼損率低減効果を明らかにする。

2. 先行研究における制御技術

2.1. 回線留保技術

非常時の輻輳対策の一つに回線留保制御がある(1)~(3)。Fig. 1に回線留保制御の概念図を示す。回線留保制御とは、優先通話、一般通話からの発呼を区別し、Fig. 1(a)のように、回線交換網の最大収容数から優先通話専用として回線を留保する制御である。このような制御を行うことによって優先通話を優先的に収容することができる。このとき、留保した回線は留保回線、留保していない回線を非留保回線とする。回線留保制御は、新規の呼が到着したときに、使用中の回線数があらかじめ設定していた閾値以下の場合、つまり非留保回線に空きがある場合は、優先通話、一般通話のどちらも通話要求も収容する。しかし、使用中の回線数があらかじめ設定していた閾値以上の場合、つまり非留保回線に空きがなく、留保回線に空きがある場合は、優先通話からの通話要求のみ収容し、一般通話からの通話要求は呼損とする。この制御の問題点として、留保回線数が適切でない場合、優先通話、一般通話のどちらも大きな呼損につながる。

Fig. 1(b)に回線留保数を多く設定した場合の例を示す。閾値を一般通話に対して厳しく設定し、優先通話専用の回線数を過剰に留保すると、優先通話は確実に収容されるが、優先通話に比べ一般通話の通話要求が大量に到着した場合には、優先通話専用の回線に空きがある場合でも、留保回線には一般通話を収容することができないため、多くの一般通話が収容されず呼損となる。Fig. 1(c)では逆に、優先通話専用の留保回線数が少ない場合、優先通話、一般通話ともに通話要求が多ければ、回線に空きが無くなり優先通話が収容できず呼損する。このような問題を回避するためには、優先通話の呼量を予測して、留保する回線数を決める閾値は適切に設定しなければならない。

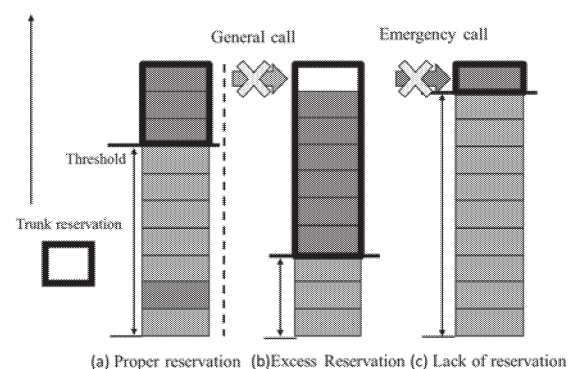


Fig. 1 Trunk reservation control.

2.2. 先行研究における閾値の導出

前節で用いられている閾値における導出方法を説明する。文献(5)では通話の即時モデルにおける閾値の設定方法が研究されている。その閾値設定方法としては、到着する優先通話、一般通話の呼量を予測し、閾値の設定に用いている。まず、到着が予想される

優先通話呼量を a_e を、優先通話の到着率 λ_e と平均通話時間 $1/\mu_e$ から、一般通話呼量 a_g は、一般通話の到着率 λ_g と通話制限時間 h_g から求める。使用中の回線数が閾値 th 以上である間、新規に收容されるのは優先通話のみとし、使用中の回線数が再び閾値未満となるまで一般通話は新規に收容されない。一方、使用中の回線数が閾値未満である場合、新規に收容される優先通話と一般通話の呼数の比は、それぞれの到着率比 $\lambda_e:\lambda_g$ に等しい。さらに、一般通話の通話時間は制限されているため、一般通話は優先通話と比較して短時間に退去する。これらの点を考慮し、文献(5)では、輻輳発生から長時間経過後における非留保回線を占める優先通話および一般通話の比率は、それぞれの呼量の比 $a_e:a_g$ に従うと仮定し、閾値 th を導出する。

$$th = \begin{cases} 0 & \text{when } S < a_e \\ [(S - a_e)(a_e + a_g)/a_g] & \text{when } a_e < S < a_e + a_g \\ S & \text{when } S > a_e + a_g \end{cases}$$

2.3. 通話時間制御

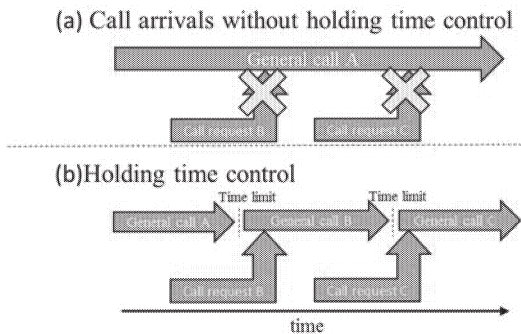


Fig. 2 Holding time control.

非常時における輻輳対策の一つとして通話時間制御がある(4)。Fig.2に通話時間制御を示す。通話時間制御とは、一般通話ユーザの通話に時間制限を設ける制御である。非常時において、多くのユーザから通話要求が発生し、その中で一部の一般通話ユーザが長時間通話をして回線を占有した場合、一般通話の收容数が減少する問題がある。一般通話ユーザの通話時間を、安否確認などに必要な最低限の時間に留めるように通話時間制限を設定することで、さらなる一般通話の收容数増大につながる。

Fig.2(a)では、通話時間制御を設けない場合、一般通話ユーザAが長時間通話することにより、ユーザAが回線を占有し、新たな一般通話ユーザB、Cの通話は收容されずに呼損となる。しかしFig.2(b)に示すように、通話時間制限を設ける場合、一般通話ユーザAが長時間回線を占有することもなく、時間制限により切断され、一般通話

ユーザBの通話要求が收容される。同様にユーザBも時間制限により切断され、一般通話ユーザCの通話が收容可能となる。

2.4. 待時を考慮した回線留保制御の導入

本稿で想定する非常時の一般通話は、被災地や、事件現場にいるユーザから、もしくはユーザへの安否確認など、通常よりも強い通話要求があると考えられ、通話開始までに若干の待ち時間をユーザが許容する可能性が高い、そこで本章では、非常時の優先通話、一般通話の両通話が混在する環境における回線交換網を想定し、一般通話の待時を許容する回線留保制御および一般通話時間制御を行う回線交換機を待ち行列理論によってモデル化する。Fig.3に回線留保制御と待時キューを設定した回線留保制御の概念図を示す。

一般通話の通話時間が比較的短時間に制限されている場合、多くの一般通話ユーザが制限時間いっぱいまで通話を行うことが予想される。そこで本稿では、全一般ユーザの通話時間が一定値をとると仮定し、以下のようにM1M2/M1D2/S/S, $th+m$ 待ち行列システムとしてモデル化を行う。以下にモデル設定における条件を示す。

1. 回線交換機における最大收容呼数を S とする。
2. 待時キューの最大收容呼数は m とする。
3. 優先通話、一般通話の到着は、それぞれ平均 λ_e, λ_g のポアソン分布に従う。
4. 優先通話の通話時間は、平均値が $1/\mu_e$ の指数分布に、一般通話の通話時間は一定値 h_g の一定分布に従う。
5. 新たな呼が到着した時に、使用中の回線数が th 未満であれば優先通話、一般通話いずれの通話要求も收容し、使用中の回線数が閾値 th 以上の場合には、優先通話のみ收容して一般通話は待時キューに收容する。
6. 待時キューに空きが無い場合、一般通話は呼損となる。
7. 待時キューに收容された一般通話は、キューの先頭まで待機することにより、必ず收容されるものとする。

結果として、網内に收容不可の場合にすぐに呼損とせずに一時的に待時キューに收容することで、一般通話の待時を行わない場合の従来研究(5)と比較し、 h_g の値に関わらず、優先通話の呼損率はほぼ0に抑えられていることがわかった。そして、一般通話時間 $h_g=30[\text{sec}]$ の時、一般通話の呼損率が既存手法では90.7%、待時キュー長 $m=1000$ の提案手法では81.5%と一般通話呼損率を9.2ポイント低減可能であることを明らかにした。さらに、 $m=100$ と $m=1000$ を比較した場合、待時キュー長 m の大きさには100から1000と10倍の差があるのに対し、呼損率に対する大きな変化は得られなかった。しかし、一般通話時間 $h_g=30[\text{sec}]$ の時、一般通話の呼損率が既存手法では90.7%、待時キュー長 $m=10$ の提案手法では83.6%と一

般通話の呼損率を 7.1 ポイント低減した。このように、わずかな待時キューを設けることにより、一般通話の呼損率を大きく低減できることがわかった。しかし、未だ呼損率は高くさらなる改善方法を検討することが必要であることが分かった。

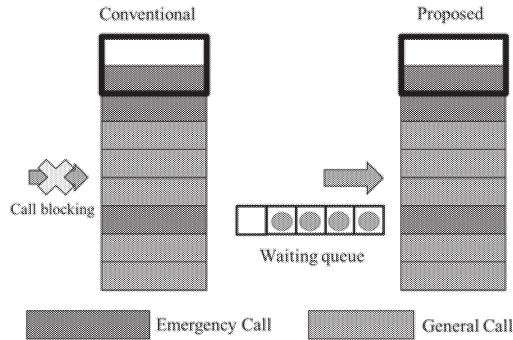


Fig. 3 Trunk reservation control with waiting queue.

3. 数値解析による待時を考慮した閾値設定法

3.1. 待時を考慮したモデル化

本章では、非常時の優先通話、一般通話の両通話が混在する環境における回線交換網を想定し、一般通話の待時を考慮する回線制御および一般通話時間制御を行う回線交換網を待ち行列理論によってモデル化する。一般通話の通話時間が比較的短時間に制限されている場合、多くの一般通話ユーザが制限時間いっぱいまで通話を行うことが予想される。そこで本稿では、全一般ユーザの通話時間が一定値をとると仮定し、以下のように M1M2/M1D2/S/S, $th+m$ 待ち行列システムとしてモデル化を行う。

Fig. 4 に待時を考慮した状態遷移図を示す。ここでは、一般通話の呼量が閾値に対して十分大きく、待時キューに常に呼が存在し、待時キューが空にならないことを前提としている。また、非常時の情報伝達に十分となる、一般通話制御時間 h_g の値は、事前に与えられているものとする。本モデルの通話時間分布である、指数分布(M)と一定分布(D)が混在する分布においてはマルコフ性が成立せず、定常状態確率の理論的における厳密解を求めるのは困難である。そこで本研究では、ある閾値を設定した場合の状態遷移図および状態方程式を導出し、それらを Mathematica を利用して状態確率を求め、併せて状態確率から優先通話の呼損率を求める。これを繰り返し、優先通話の許容呼損率 P_e 以下になる閾値を求める。求めた閾値をもとに、計算機シミュレーションにより、優先通話の呼損率および一般通話の呼損率を、それぞれ導出する。

3.2. 待時を考慮した状態遷移図

前節に述べたように待時キューが空にならないことを前提としていることから、呼数が閾値を下回ったときには直ちに待時キューから一般通話が接続される。したがって、呼数が閾値以下となる状態は考えなくてよい。ま

た、呼数が閾値を超えている場合は、一般通話は退去のみ考えればよい。

Fig. 4 に示した状態遷移図を 8 領域に分けて考える。Fig. 5 に 8 領域、State A~H の状態遷移を示す。閾値が呼数と同じ状態 State E, F では、一般通話が退去したときに待時キューから直ちに一般通話が接続されるため、同じ状態に戻る。また、同様に State C, E, F では、優先通話が退去したときに待時キューから直ちに一般通話が接続されるため、状態 (i, j) から状態 $(i-1, j)$ に遷移する。

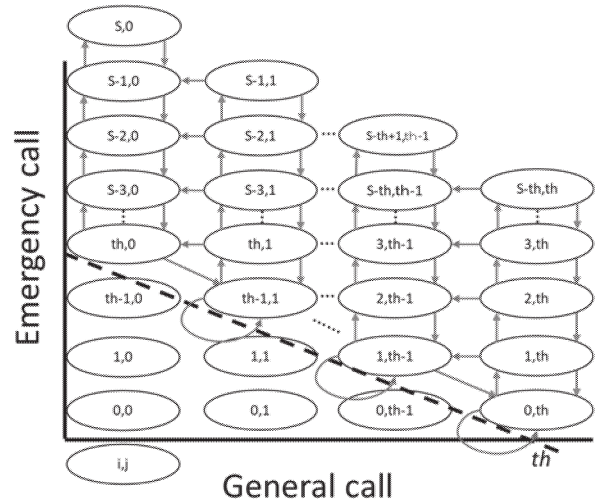


Fig. 4 State transition diagram with waiting queue.

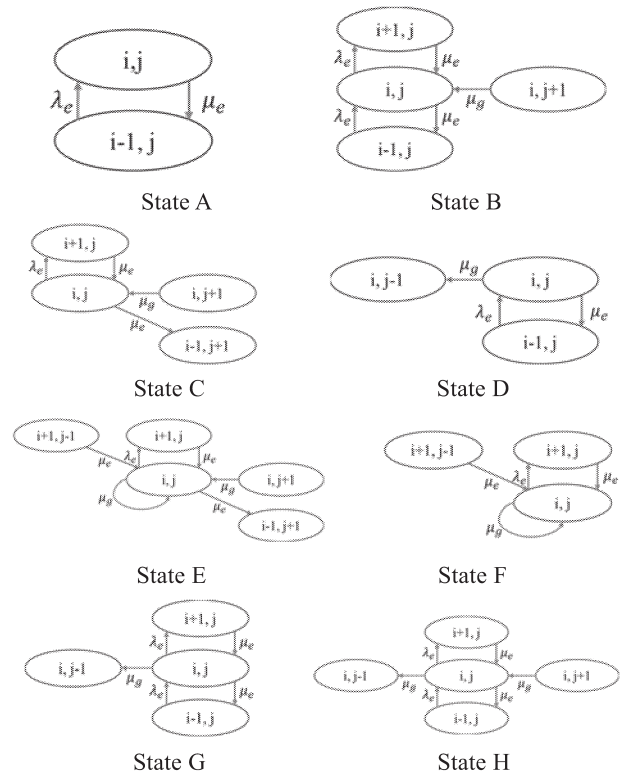


Fig. 5 8 state transition diagrams

3.3. 状態方程式の導出

前節に述べた 8 領域の状態遷移から次のように状態方程式を導出する。

1. When $i=S, j=0$ (State A)
 $\lambda_e P[i, j] = \lambda_e P[i-1, j]$
2. When $th < i < S, j=0$ (State B)
 $(\lambda_e + \mu_e)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j] + \lambda_e P[i-1, j] + \mu_e P[i, j+1]$
3. When $i=th, j=0$ (State C)
 $(\lambda_e + \mu_e)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j] + \mu_g P[i, j+1]$
4. When $S-th \leq i < S, j=S-i$ (State D)
 $(\mu_e + \mu_g)P[i, j] = \lambda_e P[i-1, j]$
5. When $0 < i < th, j=th-i$ (State E)
 $(\lambda_e + \mu_e + \mu_g)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j-1] + \mu_e P[i+1, j] + \mu_g P[i, j+1] + \mu_g P[i, j]$
6. When $i=0, j=th$ (State F)
 $(\lambda_e + \mu_g)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j-1] + \mu_e P[i+1, j] + \mu_g P[i, j]$
7. When $0 < i < S-th, j=th$ (State G)
 $(\lambda_e + \mu_e + \mu_g)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j] + \lambda_e P[i-1, j] + \mu_g P[i, j]$
8. When $(th-j) < i < (S-j), 0 < j < th$ (State H)
 $(\lambda_e + \mu_e + \mu_g)P[i, j] = \mu_e P[i+1, j] + \lambda_e P[i-1, j] + \mu_g P[i, j+1]$

ここで、留保回線内の状態確率に対して正規化を行うため、次の式を与える。

$$\sum_{(i,j) \in (State A, B, C, D, E, F, G, H)} P[i, j] = 1$$

数値解析上の優先通話の呼損率 Bre は次式で求められる。

$$Bre = \sum_{(i,j)} P[i, j]$$

4. 被災地外一般通話の待時を考慮した拠点連携回線留保制御

4.1. 拠点連携による回線留保制御のモデル化

本章では、通話を優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の3種類の通話が混在する環境における回線交換網を想定し、拠点連携における被災地外一般通話の待時を考慮する回線留保制御および一般通話時間制御を行う回線交換機を待ち行列理論によってモデル化する。

一般通話の通話時間が比較的短時間に制限されている場合、多くの一般通話ユーザが制限時間いっぱいまで通話を行うことが予想される。そこで本稿では、全一般ユーザの通話時間が一定値をとると仮定し、以下のようにM1M2M3/M1D2D3/S/S, thin, thout+m 待ち行列システムとしてモデル化を行う。Fig. 6にM1M2M3/M1D2D3/S/S, thin, thout+m 待ち行列システムのモデル図を示す。そして、以

下にモデル設定における条件を示す。

1. 回線交換機の最大収容呼数（回線数）は S 本とする。
2. 待時キューの最大収容呼数は m 本とする。
3. 優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の到着率はそれぞれ平均 $\lambda_e, \lambda_{gin}, \lambda_{gout}$ のポアソン分布に従う。
4. 優先通話の通話時間は平均値が $1/\mu_e$ の指数分布に、被災地内、被災地外一般通話の通話時間は一定値 h_g の一定分布に従う。
5. 回線留保のための2つの閾値をそれぞれ $thin, thout$ ($thin \geq thout$) とし、新規呼到着時に、使用中の回線数が $thin$ 以上の時、優先通話のみ、 $thout$ 以上 $thin$ 未満時、優先通話、被災地内一般通話、 $thout$ 未満の時すべての通話を収容する。
6. 被災地外一般通話が収容できない場合は待時キューに収容するが、待時キューに空きが無い場合は呼損となる。

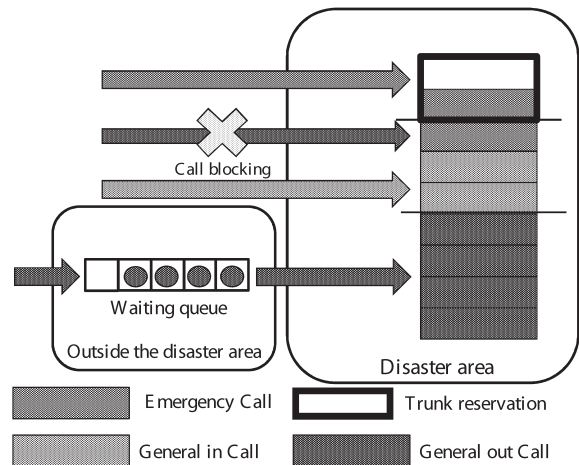


Fig. 6 Queuing system with waiting queue.

4.2. 閾値の設定方法

本章で提案する回線留保制御において優先通話、被災地内一般通話は待時キューに収容されずに即座に収容されることから、文献(5)の閾値設定手法をもとに被災地内閾値、被災地外閾値の設定を行う。その閾値設定方法としては、到着する優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の呼量を予測し、閾値の設定に用いる。被災地内閾値 $thin$ を設定する際まず、到着が予想される優先通話呼量を a_e 、優先通話の到着率 λ_e と平均通話時間 $1/\mu_e$ から式(1)とし、一般通話呼量 a_g は、被災地内一般通話 λ_{gin} と被災地外一般通話 λ_{gout} の到着率を足した値と通話時間制限 h_g から式(2)とする。使用中の回線数が閾値 $thin$ 以上である間、新規に収容されるのは優先通話のみとし、使用中の回線数が再び閾値 $thin$ 未満となるまで、被災地内一般通話と被災地外一般通話は新規に収容されない。一方、使用中の回線数が閾値 $thin$ 未満である場合、新規に収容される優先通話と一般通話の比は、それぞれの到着率比 $\lambda_e : \lambda_g (\lambda_{gin} + \lambda_{gout})$ に等しい。さらに、一般通話の通話時間

は制限されているため、一般通話は優先通話と比較して短時間に退去する。これらの点を考慮し、文献(5)では、輻輳発生から長時間経過後における非留保回線を占める優先通話および一般通話の比率は、それぞれの呼量の比 $a_e:a_g$ に従うと仮定し、閾値 $thin$ を式(5)より導出する。

次に被災地外閾値 th_{gout} は、到着が予想される被災地内一般通話呼量 a_{gin} 、被災地内一般通話の到着率 λ_{gin} と通話時間制限 h_g から式(3)とし、被災地外一般通話呼量 a_{gout} は、被災地外一般通話 λ_{gout} と通話時間制限 h_g から式(4)とする。使用中の回線数が $thout$ 以上である間、新規に收容されるのは優先通話と被災地内一般通話とし、使用中の回線数が再び閾値 $thout$ 未満になるまで、被災地外一般通話は收容されない。一方、使用中の回線数が閾値 $thout$ 未満である場合、新規に收容される被災地内一般通話と被災地外一般通話の比は、それぞれの到着率比 $\lambda_{gin}:\lambda_{gout}$ に等しい。そして、輻輳発生から長時間経過後における非留保回線を占める被災地内一般通話および被災地外一般通話の比率は、それぞれの呼量の比 $a_{gin}:a_{gout}$ に従うと仮定し、閾値 $thout$ を式(6)より導出する。

$$a_e = \lambda_e \times 1/\mu_e = \lambda_e/\mu_e \quad (1)$$

$$a_e = (\lambda_{gin} + \lambda_{gout}) \times h_g \quad (2)$$

$$a_{gin} = \lambda_{gin} \times h_g \quad (3)$$

$$a_{gout} = \lambda_{gout} \times h_g \quad (4)$$

$$thin = S - (a_e - th \times a_e/(a_e + a_g)) \quad (5)$$

$$thout = thin - (a_{gin} - thout \times a_{gin}/(a_{gin} + a_{gout})) \quad (6)$$

閾値 $thin$ を式(7)、閾値 $thout$ を式(8)により設定する。 $S < a_e$ は予測優先呼量のみで回線数を上回った場合、全回線を留保($thin=0$)とする。そして、予測優先呼量と予測一般呼量を足してもなお、回線数未満の場合、閾値 $thin=S$ となる。 $thin < a_{gin}$ は予測被災地内一般呼量のみで被災地内閾値を上回った場合、被災地内閾値以下を全て被災地内一般通話専用($thout=0$)とする。そして、予測被災地内一般呼量と予測被災地外一般呼量を足してもなお、被災地内閾値未満の場合、閾値 $thout=thin$ となる。

$$thin = \begin{cases} 0 \\ [(s - a_e)(a_e + a_g)/a_g] \\ S \end{cases} \quad (7)$$

$$thout = \begin{cases} 0 \\ [(thin - a_{gin})(a_{gin} + a_{gout})/a_{gout}] \\ S \end{cases} \quad (8)$$

閾値緩和を考慮するには次の手法を用いる。

1. 到着が予想される優先通話呼量 a_e を、式(1)より設定する。
2. 閾値緩和率 r ($0 < r \leq 1$) を設定する。
3. 閾値 $thin$ を設定する際、優先通話の呼量が $[r \times a_e]$ となるように設定する。

$$thin = [(s - r \times a_e)(r \times a_e + a_g)/a_g]$$

5. 計算機シミュレーションによる評価

5.1. 数値解析による待時を考慮した閾値設定手法に関する評価

5.1.1. シミュレーション条件

提案方式を用いた場合の M1M2/M1D2/S/S, th+m モデルにおける優先通話、一般通話の呼損率を示す。また様々なトラヒック条件に関して計算機シミュレーションにより導出する。各条件における総発呼数は 100 万呼とする。Table 1 に用いるパラメータ設定を示す(5)。優先通話、一般通話の到着率 λ_e, λ_g は、両通話の到着率の和を 3 通りに設定した上で、到着率の比率をそれぞれ異なる 3 通りに配分して、シミュレーションを行っている。例えば、 $\lambda_e + \lambda_g = 1000[\text{calls/min}]$, $\lambda_e:\lambda_g = 3:97$ の場合、 $\lambda_g = 30[\text{calls/min}]$, $\lambda_e = 970[\text{calls/min}]$ である。

Table 1 Simulation parameter

S	100, 200
$\lambda_e + \lambda_g$	1000[calls/min]
$\lambda_e:\lambda_g$	1:99, 3:97, 5:95
$1/\mu_e$	60[sec]
h_g	10-180[sec]
m	10
Pe	0.01, 0.05, 0.1

5.1.2. 数値解析による閾値設定手法の効果

本節では、非常時における一般通話の待時を考慮した回線留保制御による閾値設定手法の呼損率低減効果を確認する。大規模回線では数値解析が困難なことから、Table 1 に示すシミュレーションパラメータを用いる。2.4 節に示した従来の閾値設定手法を用いた場合と比較する。Fig. 7 に $\lambda_e = 30$, $\lambda_g = 970[\text{calls/min}]$, $1/\mu_e = 60[\text{sec}]$, $m=10$, $S=100[\text{lines}]$, $Pe=0.01$ での従来手法と数値解析による閾値設定手法における閾値を示す。Fig. 7 より、数値計算より求めた閾値は従来手法により求めた閾値よりもかなり大きいことがわかる。すなわち、数値解析による閾値は留保回線が少なくても済み、一般通話を收容できる余地が大きくなることを示している。この閾値を用いて優先通話の呼損率、一般通話の呼損率を求める。

Fig. 8、Fig. 9 に同様のトラヒック条件において、一般通話制御時間 h_g における一般通話、優先通話の呼損率を示す。Fig. 8 より一般通話制御時間 $h_g=30[\text{sec}]$ の時、一般通話の呼損率が既存手法では、80.8%、許容呼損率 $Pe=0.01$ の提案手法では 74.7% であり、呼損率を 6.1 ポイント低減でき、有効であることがわかる。Fig. 9 より従来手法は、 h_g の値に関わらず、優先通話の呼損率をほぼ 0 に抑えられていることが分かる。また、数値解析による閾値設定手法は許容呼損率 $Pe=0.01$ を満たしており、モデル化による数値計算結果とシミュレーションによる結果が一致することから数値計算が妥当であることが確認できる。ただし、一般通話の継続時間 h_g の値が小さいときは待時キューが空にならない前提が満たせないため、 Pe とやや差が生じる。

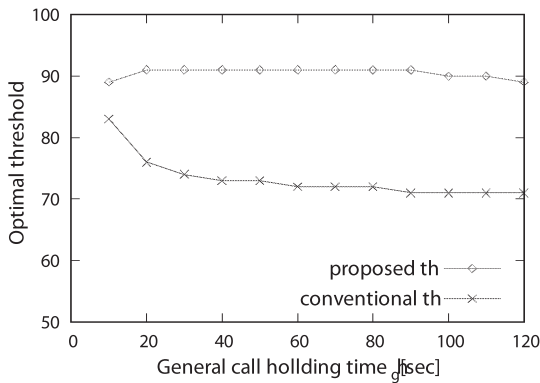


Fig. 7 Optimal threshold ($S=100, m=10$).

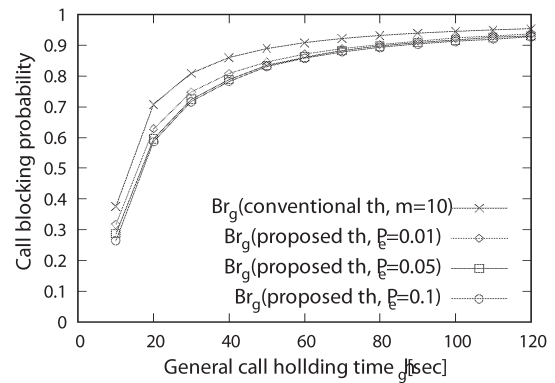


Fig. 10 General call blocking probability (P_e).

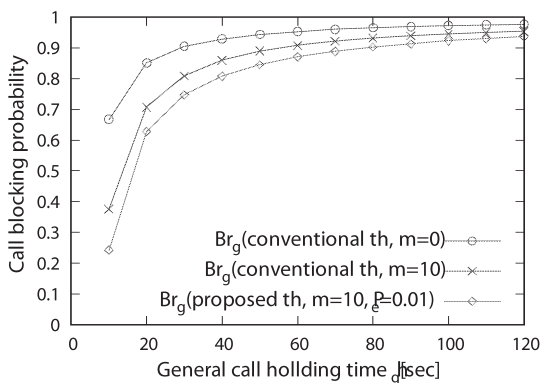


Fig. 8 General call blocking probability ($S=100, m=10$)

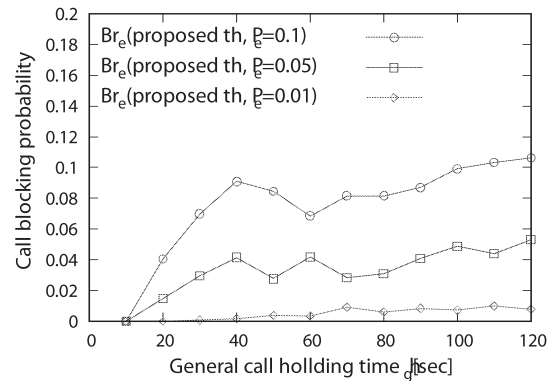


Fig. 11 Emergency call blocking probability (P_e).

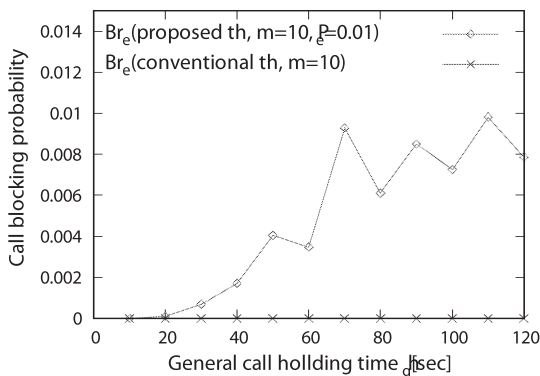


Fig. 9 Emergency call blocking probability ($S=100, m=10$).

5.1.3. 許容呼損率の影響評価

Fig. 10、Fig. 11 に、 $\lambda_e=30, \lambda_g=970$ [calls/min], $1/\mu_e=60$ [sec], $m=10$ とした場合の、 h_g と一般通話、優先通話の呼損率の関係を異なる 3 通りの許容呼損率 P_e ごとに示している。Fig. 10 において、許容呼損率 $P_e=0.01$ では一般通話時間 $h_g=30$ [sec] の時 74.7%、 $P_e=0.1, h_g=30$ [sec] において、71.5% と多少の呼損率の低減効果が得られた。Fig. 11 より既存手法は、 h_g の値に関わらず、優先通話の呼損率をほぼ 0 に抑えられていることが分かる。また、提案手法は許容呼損率をほぼ満たしていることがわかる。したがって、優先通話の許容呼損率を適切に設定することにより、一般通話の呼損率も適切に制御することが可能である。

5.1.4. 到着比率による評価

優先通話、一般通話の到着率の比の変化における既存手法と比較した提案手法の効果について評価を行う。Fig. 12 は $S=100$ [lines], $\lambda_e+\lambda_g=1000$ [calls/min], $1/\mu_e=60$ [sec], $m=10, P_e=0.01$ とした場合の h_g と一般通話の呼損率の関係を、到着率の比 $\lambda_e:\lambda_g$ の 3 通りの値に関して示している。

図には示していないが、到着率の比 $\lambda_e:\lambda_g$ に関わらず、優先通話呼損率は許容呼損率以下に抑えられている。Fig. 12 より、優先通話の割合が少ないと留保回線が少なく設定されるため、一般通話の呼損率低減効果は大きい。到着率の比 $\lambda_e:\lambda_g=5:95$ の場合の一般通話呼損率は $h_g=30$ [sec] で 81.5%、 $\lambda_e:\lambda_g=1:99, h_g=30$ [sec] の場合の呼損率は 66.7% と 14.8 ポイントの呼損率の差を確認した。

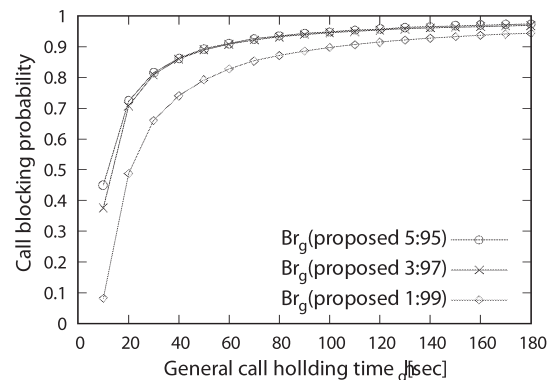


Fig. 12 General call blocking probability (arrival ratio).

5.2. 被災地外一般通話の待時による呼損率低減効果に関する評価

5.2.1. シミュレーション条件

提案方式を用いた場合の M1M2M3/M1D2D3/S/S, thin, thout+m モデルにおける優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の呼損率を示す。また様々なトラヒック条件に関して計算機シミュレーションにより導出する。各条件における総発呼数は 100 万呼とする。Table 2 に用いているパラメータ設定を示す。優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の到着率 $\lambda_e, \lambda_{gin}, \lambda_{gout}$ は、各通話の到着率の和を 3 通りに設定した上で、到着率の比率をそれぞれ異なる 3 通りに配分して、シミュレーションを行っている。例えば、 $\lambda_e + \lambda_{gin} + \lambda_{gout} = 10000[\text{calls/min}]$, $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout} = 3:3:94$ の場合、 $\lambda_g = 300[\text{calls/min}]$, $\lambda_{gin} = 300[\text{calls/min}]$, $\lambda_{gout} = 9400[\text{calls/min}]$ である。

Table 2 Simulation parameter with outside traffic.

S	1000, 2000, 3000
$\lambda_e + \lambda_{gin} + \lambda_{gout}$	10000[calls/min]
$\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}$	1:3:96, 3:3:94, 5:3:92
$1/\mu_e$	60[sec]
hg	10-180[sec]
m	10, 1000
r	1.0, 0.8, 0.5

5.2.2. 被災地外一般通話の待時による呼損率低減効果

本節では、非常時における被災地外一般通話の待時を考慮した拠点連携回線留保制御による呼損率低減効果を明らかにするために、被災地外一般通話の待時を行わない場合 (待時キュー $m=0$) の優先、被災地内、被災地外一般通話の呼損率を計算機シミュレーションにより導出し、提案手法である被災地外一般通話の待時をする場合との比較を行った。Fig. 13 に $\lambda_e = 300, \lambda_{gin} = 300, \lambda_{gout} = 9400[\text{calls/min}]$, $1/\mu_e = 60[\text{sec}]$, $m = 1000, S = 1000[\text{lines}]$ での一般通話制御時間 h_g と優先通話の呼損率を示す。Fig. 14 に、同様のトラヒック条件において、一般通話制御時間 h_g と一般通話の呼損率の関係を示す。Fig. 15 に同様のトラヒック条件において、一般通話制御時間 h_g と閾値の関係を示す。

Fig. 13 より、被災地外一般通話の待時の有無、 h_g の値にかかわらず、優先通話の呼損率をほぼ 0 に抑えられていることが分かる。さらに、Fig. 14 より被災地内一般通話は待時キューの有無にかかわらず $h_g = 70[\text{sec}]$ まではほぼ 0 に近い値になった。被災地外一般通話の呼損率は、 $h_g = 30[\text{sec}]$ の時、待時させない手法では 96.4%、待時キュー長 $m = 1000$ の提案手法では 92.7%であり、呼損率を 3.7 ポイント低減できることが分かった。しかしながら、待時キューを導入しても一般通話時間が 40[sec]以上では呼損率低減効果が小さくなる。本提案手法における閾値設定は既存研究(5)で用いられる手法を用いている。しかし、本稿では優先通話、被災地内一般通話を即時呼、被災地外一般通話を待時呼として取り扱い、回線数に対する総呼

量が下回っている範囲においては、被災地外一般通話は網内に収容可能となる。しかし、回線数に対する総呼量が上回った場合は網内に収容されずに、用意した待時キューに収容される。さらなる呼損率低減には、2種の即時呼と待時呼を考慮した閾値設定が必要となる。

Fig. 15 より、閾値 thin は導出式の分子に優先通話があり、一般通話制御時間に対して呼量は増加しないので、閾値は大きく変化しないことがわかる。閾値 thout は導出式の分子に被災地内一般通話があり、一般通話制御時間に対して呼量が増加するので、閾値が大きく変化することがわかる。

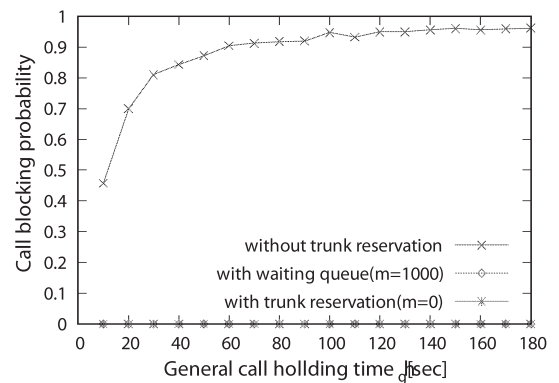


Fig. 13 Emergency call blocking probability with outside call waiting.

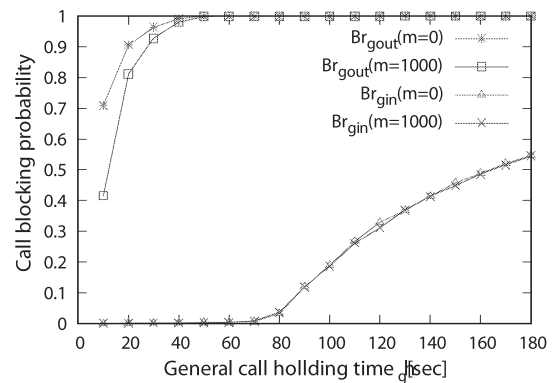


Fig. 14 General call blocking probability with outside call waiting.

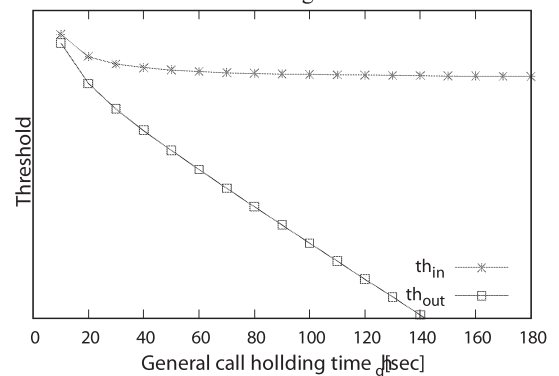


Fig. 15 Threshold with outside call waiting.

5.2.3. 待時キュー長による評価

本節では、待時キュー長の変化における呼損率に関し

て評価を行う。Fig. 16、Fig. 17 に、 $\lambda_e=300$, $\lambda_{gin}=300$, $\lambda_{gout}=9400$ [calls/min], $1/\mu_e=60$ [sec], $S=1000$ [lines]での一般通話時間 h_g と被災地外一般通話、被災地内一般通話の呼損率の関係を異なる2通りの待時キュー長 m ごとに示している。

図には示していないが、待時キュー長の大きさにかかわらず優先通話の呼損率はほぼ0に抑えられており、回線留保制御により必要数の優先通話を十分収容できている。Fig. 16より、待時キューを増大させることにより、被災地外一般通話の呼損率を低減可能であることがわかる。しかし、Fig. 16における $m=1000$ と $m=10$ を比較した場合、待時キュー長の大きさには10から1000と100倍の差があるのに対し、呼損率に対する大きな効果は得られていない。一般通話制御時間 $h_g=30$ [sec]の時、被災地外一般通話の呼損率が待時キュー長 $m=0$ の場合では96.4%、待時キュー長 $m=10$ の提案手法では93.2%であり、呼損率を3.2ポイント低減した。このようにわずかな待時キューを設けることにより、被災地外一般通話の呼損率を低減することができている。Fig. 17より、被災地内一般通話は待時キュー長の大きさにかかわらず $h_g=70$ [sec]まではほぼ0に近い値になった。これは、被災地外一般通話は待時を考慮しているが、被災地内一般通話は待時を考慮せず即時に収容可否が判断されるため、被災地外一般通話のための待時キューの効果は直接得られないためであると考えられる。

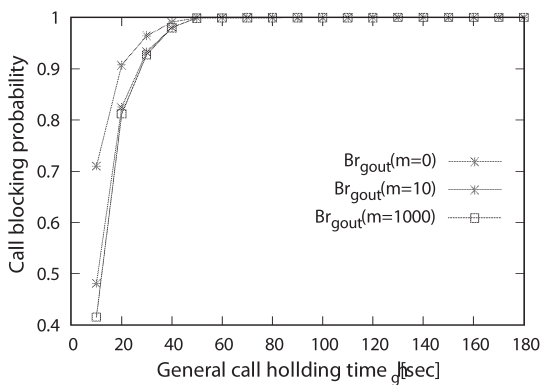


Fig. 16 Blocking probability of general call from outside.

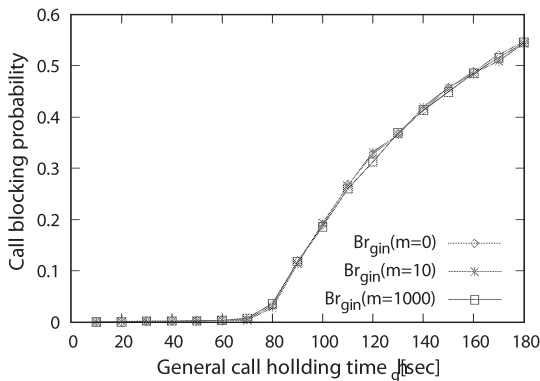


Fig. 17 Blocking probability of general call from inside.

5.2.4. 到着比率による評価

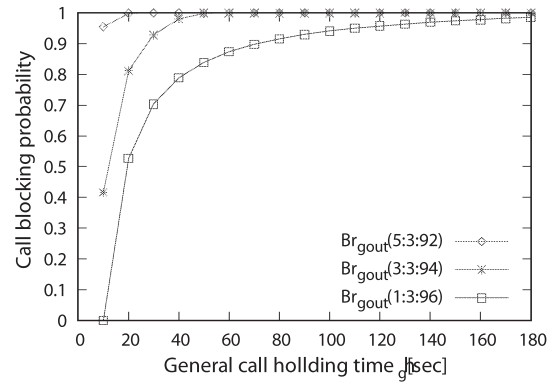


Fig. 18 Blocking probability of general call from outside (arrival ratio).

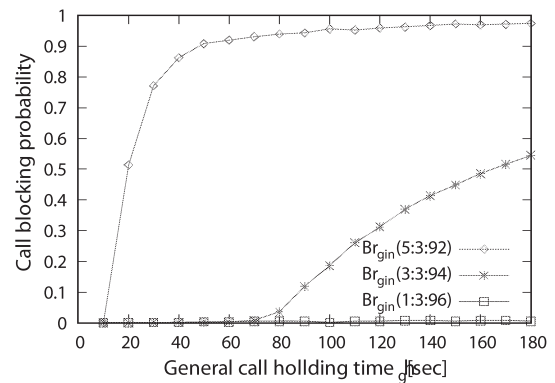


Fig. 19 Blocking probability of general call from inside (arrival ratio).

本節では、優先通話、被災地外一般通話、被災地内一般通話の到着比率の変化における呼損率に関して評価を行う。Fig. 18 は、 $S=1000$ [lines], $\lambda_e + \lambda_{gin} + \lambda_{gout} = 10000$ [calls/min], $1/\mu_e=60$ [sec], $m=1000$ とした場合の h_g と被災地外一般通話、被災地内一般通話の呼損率の関係を到着率の比 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}$ の3通りの値に関して示している。

図には示していないが、到着率の比 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}$ にかかわらず、優先通話の呼損率はほぼ0に抑えられている。また Fig. 18、Fig. 19より、当然ながら優先通話の割合が多いと留保回線数が多く設定されるため、被災地外一般通話、被災地内一般通話の呼損率は大きい。さらに、Fig. 18より $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=3:3:94$ の場合の被災地外一般通話の呼損率は $h_g=30$ [sec]で、92.7%、 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=1:3:96$ における呼損率は、70.3%と22.4ポイントの呼損率の差を確認した。このように優先通話の到着比率が3と1の違いでこれだけ呼損率の差を確認することができた。 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=5:3:92$ の場合の呼損率は $h_g=10$ [sec]以外はほぼ1に近い値になることが確認できた。それは、 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=5:3:92$ において回線数に対し優先通話の割合が半分を占めており、そのうえ残りの限られた回線の中で被災地内一般通話と被災地外一般通話の収容を行い、かつ被災地内一般通話より優先通話の割合が多いため閾値設定より被災地外一般通話の収容可能回線が大幅に

少なくなっていると考えられる。

Fig. 19 より、 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=1:3:96$ の場合 $h_g=10-180$ までほぼ 0 に近い値に抑えられていることがわかる。よって回線数に対し優先通話の割合が小さい場合は、閾値 th_{out} により被災地内一般通話も要求値以下に抑えることができたと考えられる。 $\lambda_e:\lambda_{gin}:\lambda_{gout}=5:3:92$ の場合、回線数に対し優先通話の呼量が大きいため、閾値設定より被災地内一般通話の収容可能回線が少なくなっていると考えられる。

5.2.5. 閾値緩和による影響評価

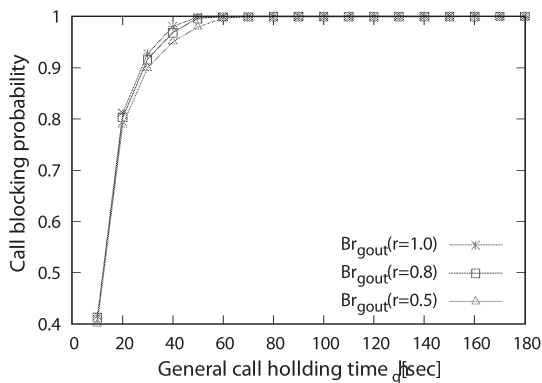


Fig. 20 Blocking probability of general call from outside (threshold relaxation).

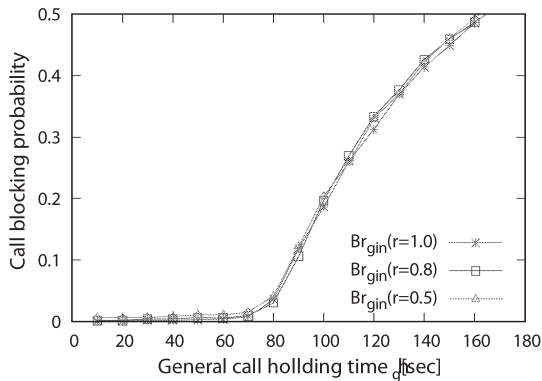


Fig. 21 Blocking probability of general call from inside (threshold relaxation).

Fig. 20、Fig. 21 に、 $\lambda_e=300$, $\lambda_{gin}=300$, $\lambda_{gout}=400$ [calls/min], $1/\mu_e=60$ [sec], $S=1000$, $m=1000$ での、一般通話時間 h_g と被災地外一般通話、被災地内一般通話との関係を異なる 3 通りの閾値緩和率 r ごとに示している。図には示していないが閾値緩和率の値にかかわらず優先通話の呼損率はほぼ 0 に抑えられている。Fig. 20 より、閾値緩和をしない場合 $r=1.0$, $h_g=40$ [sec]における被災地外一般通話の呼損率は、98.0%、閾値緩和率 $r=0.5$, $h_g=40$ [sec]における呼損率は、95.0%と最大 3 ポイントの呼損率低減が確認できた。しかし、閾値緩和により優先通話の呼量を 0.5 倍してもなお呼損率の低減効果は最大 3 ポイントと大きな効果は得られなかった。Fig. 21 より、被災地内一般通話の呼損率は、 $h_g=70$ [sec]まで各閾値緩和率ともほぼ

0 に抑えられていることがわかる。しかし、被災地内一般通話の呼損率に関しては、閾値緩和による効果があまりないことが確認できた。

6. おわりに

地震などの非常時には、被災地への安否確認の通話、被災地からの安否報告や緊急通報等により、大量の呼が発生する。これにより現地の回線交換網において輻輳が発生し、接続が困難になる問題がある。そこで輻輳対策として、回線の一部を優先通話専用として留保する回線留保制御と一般通話の通話時間制御が存在する。しかし、これらの制御を用いても一般通話の呼損率は高く、さらなる呼損率低減を図る必要がある。そして、非常時における一般通話は被災地内と被災地外で安否確認や被災状況の確認、支援物資の要請など情報の重要性が異なる場合がある。

そこで、本稿では、一般通話の待時における特性を考慮して待ち行列理論を用いた数値解析により、留保回線の適切な閾値を求めた。さらに、通話の種類を優先通話、被災地内一般通話、被災地外一般通話の 3 種類に区別し、被災地周辺の拠点間で被災地外一般通話の待時を考慮した回線留保制御を提案した。

結果として、シミュレーションによる評価より、優先通話における呼損率を許容値以下に保ちつつ数値解析により求めた閾値の有効性を明らかにした。さらに、待時をキューを設定しない場合の呼損率と比較し、優先通話における呼損率を要求値以下に保ちつつ、拠点連携における被災地外一般通話の待時を考慮することによる呼損率低減効果を明らかにした。そして、回線交換網をモデル化することにより、優先通話、一般通話の呼損率を計算機シミュレーションにより導出し評価を行った。そして、一般通話の待時における特性を考慮して待ち行列理論を用いた数値解析により求めた閾値と数値解析を行わない既存研究 (6) と比較し、一般通話の呼損率が既存手法では、80.8%、許容呼損率 $Pe=0.01$ の提案手法では 74.7%であり、呼損率を 6.1 ポイント低減でき有効であるとわかった。また数値解析による閾値設定手法は許容呼損率 $Pe=0.01$ を満たしており、モデル化による数値計算結果とシミュレーション結果が一致することから数値計算が妥当であることが確認できた。

さらに、被災地外一般通話の待時における呼損率低減効果を明らかにするため、被災地外一般通話の待時を行わない場合 (待時キュー長 $m=0$) と提案手法である被災地外一般通話の待時をする場合 (待時キュー長 $m=1000$) との比較を行った。優先通話の呼損率は h_g の値にかかわらずほぼ 0 に近い値に抑えられている。被災地外一般通話の呼損率は $h_g=30$ [sec]の時、待時させない手法では、96.4%、提案手法では 92.7%と 3.7 ポイントの呼損率低減効果を確認できた。

今後の課題としては、待ち行列理論を用いた優先通話、

被災地内一般通話、被災地外一般通話の 3 種類の通話が混在する環境における最適な閾値設定が必要だと考える。そして、今後の IP 電話に対応すべく回線交換網から IP 網への実装も考慮する必要がある。

参考文献

- (1) J. Ni, Danny H.K. Tsang, S. Tatikonda and B. Bensaou, “Threshold and reservation based call admission control policies for multiservice resource-sharing systems”, in *Proceedings of IEEE 24th Annual Joint Conference of the IEEE Computer and Communications Societies. (IFOCOM2005)*, pp. 773–783, March 2005.
- (2) P.V. McGregor, J. Szeto and F. Suraci, “Performance modeling of high probability call completion features”, in *Proceedings of 7th International Conference on Computer Communications and Networks (ICCCN1998)*, pp. 81–90, August 1998.
- (3) ITU-T Rec. E. 107, “Emergency Telecommunications Service(ETS) and interconnection framework for national implementations of ETS”, February 2007.
- (4) K. Okada, “Limiting the holding time considering emergency calls in mobile cellular phone systems during disasters”, *IEICE transactions on communications*, vol. E89-B, no. 1, pp. 57–65, January 2006.
- (5) K. Tanabe and S. Miyata and K. Baba and K. Yamaoka, “Threshold relaxation and holding time limitation method for accepting more general calls under emergency trunk reservation”, *IEICE Transaction on Fundamentals of Electronics, Communications and Computer Sciences*, pp. 1518–1528, August 2016.
- (6) 川合健太, 田辺和輝, 山岡克式, 馬場健一, “一般通話の待時を許容する非常時回線留保制御”, 電子情報通信学会技術研究報告(IN2017-116), vol.117, no.460, pp. 159-164, March 2018.
- 制御の検討”, 電子情報通信学会 総合大会 講演論文集, B-7-46, March 2020.
4. 川瀬達也, 宮田純子, 馬場健一, 山岡克式, “緊急時三元トラヒックにおける上限呼損率の特性解析”, 電子情報通信学会 技術研究報告(IN2019-49), vol. 119, no. 342, pp. 25-30, December 2019.
5. 馬場健一, 川合健太, 山岡克式, “一般通話の待時を考慮した非常時回線留保制御の効果と適切な閾値設定手法”, 第4回先端ネットワーク技術に関するワークショップ, October 2019.
6. 川合健太, 山岡克式, 馬場健一, “一般通話の待時を考慮した非常時回線留保制御による閾値設定手法”, 電子情報通信学会 技術研究報告(IN2019-26), vol. 119, no. 195, pp. 17-22, September 2019.
7. 川合健太, 山岡克式, 馬場健一, “一般通話の待時を考慮した非常時回線留保制御のための閾値設定法の評価”, 電子情報通信学会 通信ソサイエティ大会 通信講演論文集, B-7-29, September 2019.

2019 年度研究成果

国際会議

1. Kenta Kawai, Katsunori Yamaoka, and Ken-ichi Baba, “Threshold Setting Method considering General calls with Waiting Queue under Emergency Trunk Reservation Control”, in *Proceedings of 18th International Symposium on Advanced Technology (ISAT-18)*, December 2019.
2. Tatsuya Kawase, Sumiko Miyata, Ken-ichi Baba, and Katsunori Yamaoka, “A call admission control maximizing the number of general calls from non-disaster area considering the priority calls”, in *Proceedings of 2019 IEEE Pacific Rim Conference on Communications, Computers and Signal Processing (PACRIM2019)*, August 2019.

研究会等

3. 川合健太, 山岡克式, 馬場健一, “非常時における被災地外一般通話の待時を考慮した拠点連携回線留保

光駆動電荷輸送による全固体リチウムイオン電池の創製と水の光分解

工学院大学 応用物理学科 佐藤 光史*

工学院大学 応用物理学科 永井 裕己

工学院大学 応用物理学科 本田 徹

工学院大学 応用物理学科 尾沼 猛儀

シンガポール国立大学 機械工学科 Lu Li

Photovoltaic Lithium-ion Battery with Layer-structured $\text{Li}_2\text{Mn}^{\text{III}}_{0.2}\text{Mn}^{\text{IV}}_{0.8}\text{O}_{2.9}$ Thin Film Chemically Fabricated for Cathodic Active Material

Mitsunobu Sato*, Hiroki Nagai, Tohru Honda, Takeyoshi Onuma, Department of Applied Physics
Li Lu, Department of Mechanical Engineering, National University of Singapore

ABSTRACT : Dilithium manganese oxide (LMO) thin film was newly fabricated as an active material on a fluorinated-tin-oxide pre-coated glass electrode by a wet process. A stable LMO precursor solution was developed through the reaction of lithium and manganese acetates with butylamine in ethanol. A spin-coated precursor film was heat-treated at 500°C in air for 0.5 h. The X-ray diffraction pattern indicates that the resultant film consists of layer-structured LMO crystals. The X-ray photoelectron spectra of LMO thin film suggests that the ratio of $\text{Mn}^{3+}/\text{Mn}^{4+}$ is 1/4, and the chemical formula can be expressed as $\text{Li}_2\text{MnO}_{2.9}$. A device was assembled with O-deficient LMO and TiO_2 thin films as each active material, along with an electrolytic solution involving LiPF_6 . The charging voltages (2.67 and 1.45 V) of this device were recorded by applying a constant current of 0.2 mA and using 1-sun irradiation with no external power supply, respectively. The voltages delivered by this cobalt-free device were 0.63 and 0.13 V higher, respectively, than the corresponding device assembled with lithium cobalt oxide as a cathodic active material.

1. はじめに

2019年のノーベル化学賞は、リチウムイオン電池 (LIB) 開発の功績により、Stanley Whittingham, John Goodenough, 吉野彰の三氏に授与され、LIBの社会・産業に対する多大な貢献は、誰もが認めることとなった。Goodenoughらは、1980年にリチウムイオンを含有しつつ空気中で安定な化合物として知られていた層状岩塩型構造の LiCoO_2 (LCO) が、LIBの正極活物質として機能することを報告した⁽¹⁾。LCOを用いたLIBは、それまでに広く普及していた Ni-Cd 二次電池に代わる

高い動作電圧をもつデバイスとして、ソニーエナジーテックにより1990年に実用化され、携帯電話、ノートパソコン、電気自動車にまで幅広く使われている。

このようにLCOは、LIBに高い価値を与えた化合物である一方、骨格を作る稀少元素のコバルトは高価であり、安価なMnを用いた化合物による代替が検討されている。特に日本では、豊富なマンガング塊を有することが分かっており、元素戦略の観点からもMnの利用は重要である。LIBの観点から、LCOと同一の層状岩塩型構造をとり、かつ高い電位をもつ Li_2MnO_3 (LMO) が注目されている。図1にLMOの結晶構造を示した。格子

定数はそれぞれ $a = 4.94 \text{ \AA}$, $b = 8.53 \text{ \AA}$, $c = 5.03 \text{ \AA}$, $\beta = 109.5^\circ$ である (ICDD card No. 01-084-1634)。

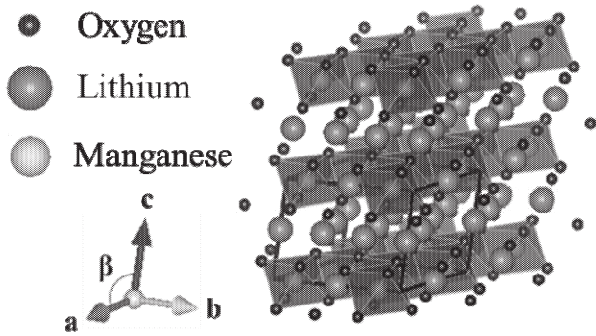


図1 層状岩塩型構造のLMO

一方で、このようなLMOを用いた研究は、その粉末原料を用いた数例に限られているのが現状である⁽²⁾⁻⁽⁵⁾。

これまでに我々は、化学的湿式法の分子プレカーサー法(MPM)で、フッ素ドープ酸化スズ(FTO)プレコートガラス基板上に形成したアナターゼとLCOの各薄膜を負極と正極の活物質とし、炭酸エチレン(EC)、炭酸ジメチル(DMC)、ヘキサフルオロリン酸リチウム(LiPF₆)からなる有機電解液を組み合わせ、世界初の光充電可能なLIB(PV-LIB)を報告した⁽⁶⁾。

LMO薄膜は、高周波スパッタと850°Cのポストアニリング⁽²²⁾、基板温度650°C以上のパルスレーザー堆積法⁽²³⁾⁻⁽²⁶⁾で形成できることが報告されている。しかし、低コストで大面積への成膜が容易な化学的湿式法による形成の報告例は皆無だった。以上の背景から、本研究はMPMによりLMO薄膜の形成を試みた⁽²¹⁾。さらに、得られた膜電極を組合せてコバルトフリーのPV-LIBの作製を試み、LCOを用いたデバイスと比較検討した。

2. 実験

2.1 使用試薬

酢酸マンガンはAlfa Aesar社製、分子プレカーサー液TFLEAD-Ti、酢酸リチウム、ブチルアミン、モレキュラーシーブス4Aは富士フィルム和光純薬株式会社製、イソプロピルアルコール(IPA)は、大成化学株式会社製、ヘキサフルオロリン酸リチウム電解液(1 mol L⁻¹ LiPF₆/EC-DMC)はキシダ化学株式会社製を用いた。エタノールは上野化学工業株式会社製を用いて、モレキュラーシーブス4Aで脱水して使用した。基板はAGC株式会社製のフッ素ドープ酸化スズプレコートガラス基板(FTO基板, 100 × 100 × 1.8 mm³)を用い、日東電工株式会社製のアクリル両面テープと大成化学株式会社製のテフロンシートを用いてデバイスを作製した。FTOガラス基板は、20 × 33 mm²に切断し、IPA中、超音波照射しながら30分間ずつ2回洗浄した。70°Cの乾燥器中で10分間乾燥後、室温まで放冷し、成膜用基板として使用した。

2.2 LMOプレカーサー溶液の調製

30 mL スクリュー管ビンに、酢酸リチウム 0.27 g (4 mmol)、酢酸マンガン 0.35 g (2 mmol) を量り取り、エタノールを 10 g 加えた。ここにブチルアミンを 1.8 g (24 mmol) 量り入れた。室温で 3 時間攪拌して Li⁺と Mn²⁺濃度がそれぞれ 0.33 と 0.17 mmol g⁻¹のLMOプレカーサー溶液 S_{LMO}を調製した。

2.3 スピンコート法によるLMOプレカーサー膜の形成

FTOガラス基板(20 × 33 mm²)にS_{LMO}を50 μL滴下し、2段階スピンコート法(1st 500 rpm-5 s, 2nd 2000 rpm-30 s)で塗布した。基板は先に図2のようにマスキングした。

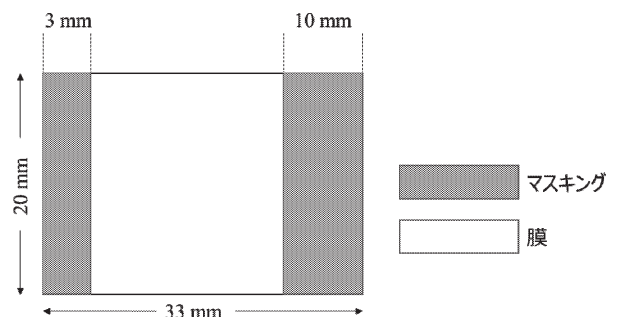


図2 薄膜形成概略図

2.4 LMOプレカーサー膜の熱処理

2.3で形成したプレカーサー膜を、空气中で500°C、30分間熱処理した。LMOプレカーサー膜を熱処理して得た膜をF_{LMO}と示す。

2.5 LMO積層膜の形成

2.4で形成した膜F_{LMO}上に、S_{LMO}の塗布・熱処理をF_{LMO}形成と同様の手順で繰り返して得た3層積層膜をF³_{LMO}と示す。

2.6 デバイスの作製

対極のチタニアは既報に従って、あらかじめマスキングした2.3と同サイズのFTOガラス基板上に市販のTFLEAD-Tiを50 μL滴下し、2段階スピンコート法(1st 500 rpm-5 s, 2nd 2000 rpm-30 s)で塗布した⁽⁶⁾。形成したチタニアプレカーサー膜をマッフル炉で500°C、30分間熱処理した⁽⁶⁾。チタニアプレカーサー膜を熱処理して得た膜をF_{Titania}と示す。デバイスは既報に従って、形成した正極活物質薄膜F_{LMO}またはF³_{LMO}を、F_{Titania}と膜面が向き合うようにアクリル製両面テープで接着して作製した^(6, 7)。電極間に市販の1 mol L⁻¹ LiPF₆/EC-DMCを注入して、テフロンシートで封止した。図3, 4にデバイスの作製方法及と外観写真を示した。

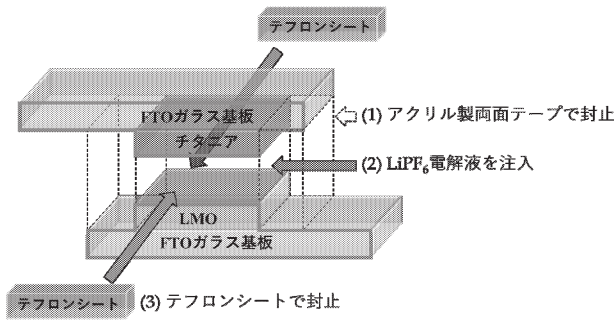


図3 デバイスの作製方法。(1) アクリル製両面テープで封止, (2) LiPF₆ 電解液を注入, (3) テフロンシートで封止



図4 正極に FLMO, 負極に FTitania を用いて LiPF₆ 電解液を注入して作製した DLMO の外観写真

2. 7 測定

薄膜の結晶構造は、X 線回折装置 SmartLab (Rigaku, Japan) を用い、出力 45 kV × 200 mA の Cu K α 線で測定した回折パターンによって同定した。X 線入射角 0.3° の平行ビーム光学系で、2 θ 範囲 10–80°, ステップ幅 0.05°, スキャン速度 5° min⁻¹ の条件で測定した。薄膜の化学状態は、X 線光電子分光装置 (XPS) JPS-9030 (JEOL, Japan) を用い、出力 10 kV × 10 mA の Al K α 線 (1486.6 eV) で、ステップ幅 0.1 eV で XPS スペクトルを測定して分析した。測定サンプルはあらかじめイオン電流密度 5.1 mA cm⁻² の Ar⁺ で 1 分間スパッタした。XPS スペクトルの結合エネルギーは、285.0 eV の C 1 s ピークをリファレンスとして補正した。測定した XPS スペクトルは Origin 2018 ソフトウェア (OriginLab Corporation, MA, USA) を用いて Voigt 関数で非線形最小二乗法により波形分離した。計算は、一回反復した前後で式 (1) に示す自由度あたりの χ^2 の差が、10⁻⁹ 未満である時に終了とした。ここで I_o はスペクトル強度の実測値、I_c は強度の計算値である。

$$\chi^2 = \sum (I_o - I_c)^2 \quad (1)$$

電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) JSM-6701F (JEOL, Japan) で粒径および膜厚を 5 kV の加速電圧で観察した。測定試料を SEM 観察用台座にカーボンテープで固定し、カーボンペーストで薄膜と SEM 観察用台座を接続後、デシケーター内で一晚乾燥させて観察した。

各デバイスの電流印加による電圧変化は既報に従って、6241A DC Voltage Current Source/Monitor (ADC, Japan) で測定した⁽⁶⁾。0.2 mA の定電流印加と自然放電を 1 分間

隔で繰り返す充放電試験を 30 サイクル行った。また、各デバイスの光照射による電圧変化も既報に従って、VOAC7523H デジタルマルチメーター (IWATSU ELECTRIC, Japan) で測定した⁽⁶⁾。光照射には、LAX-Cute (Asahi spectra, Japan) を使用した。デバイスの FTitania 側への 1-sun 強度の疑似太陽光全域 (100 mW cm⁻²) 照射と暗所放置を 1 分間隔で繰り返し、30 サイクル行った。疑似太陽光の照度は、CS-20 (Asahi spectra, Japan) で設定した。

3. 結果と考察

3. 1 プレカーサー溶液の調製

図 5 に調製した LMO プレカーサー溶液の写真を示す。脱水したエタノール中で酢酸リチウム、酢酸マンガ、ブチルアミンを反応させて調製したプレカーサー溶液 SLMO は、室温 25°C で 3 ヶ月間沈殿を生じない安定な溶液だった。ブチルアミンは、Li と Mn の酢酸塩をエタノールに溶解させるために重要な役割を果たしており、その化学量論比は両金属イオンに対して配位数 4 を想定して決定した。また SLMO は、スピコートを用いた FTO ガラス基板への塗布性に優れていることがわかった。このように、典型的な MPM で用いられている EDTA 等の多座配位子を用いることなく、安定な SLMO を簡便にワンポット調製できた。

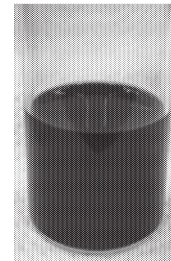


図5 LMO プレカーサー溶液の外観写真

3. 2 形成した薄膜の XRD パターン

3. 2. 1 FLMO と F'LMO の XRD パターン

FLMO と F'LMO の XRD パターンをそれぞれ示す。FLMO では、2 θ = 18.8, 21.4, 44.7° にある 3 本のピークが、また F'LMO ではさらに 2 θ = 37.1, 59.1, 65.4° の合計 6 本のピークが観測された。これらは、ICDD card No. 01-084-1634 の Li₂MnO₃ に一致し、それぞれ順に(001), (110), (-132), (131), (132), (060)の各面に帰属できた。また、各膜の 2 θ = 26.6, 34.0, 38.0, 39.1, 42.7, 51.8, 54.9, 61.9, 64.8, 66.0, 71.2, 78.7° の計 12 本のピークは ICDD card No. 00-041-1445 の基板中の SnO₂ に一致し、それぞれ、(110), (101), (200), (111), (210), (211), (220), (310), (112), (301), (202), (321)の各面に帰属できた。このように、500°C の熱処理で、FLMO と F'LMO は層状岩塩型構造の LMO に結晶化したことが分かった。

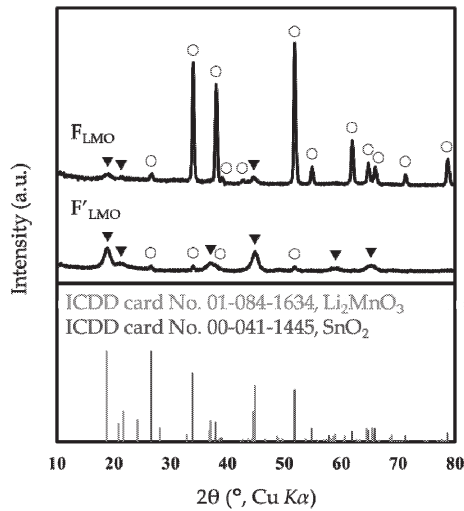


図6 スピンコート法で塗布・熱処理した F_{LMO} と積層膜 F'_{LMO} の XRD パターン。対応する ICDD パターンを膜の XRD パターンとともに示した。▼ は LMO, ○ は SnO_2 を示す。

3. 2. 2 スピンコート法で塗布・熱処理した膜の XRD パターン

図7に $F_{Titania}$ の XRD パターンを示す。

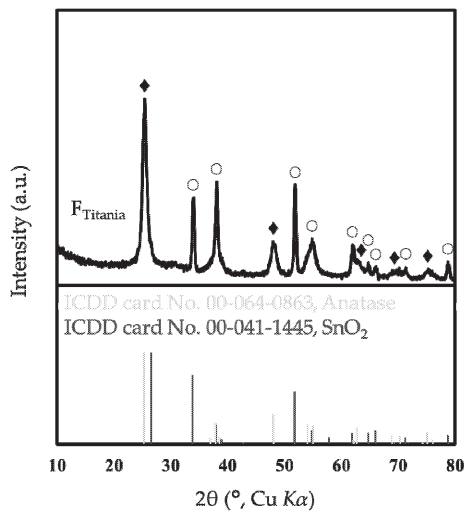


図7 $F_{Titania}$ の XRD パターン。◆はアナターゼ, ○は SnO_2 を示す。対応する ICDD パターンを膜の XRD パターンとともに示した。

$2\theta = 25.4, 48.1, 62.9, 70.2, 75.1^\circ$ の5本のピークは ICDD card No. 00-064-0863 のアナターゼに一致し、それぞれ (101), (200), (204), (220), (215) の各面に帰属できた。また $2\theta = 34.0, 38.0, 51.8, 54.9, 61.9, 64.8, 66.0, 71.2, 78.7^\circ$ の9本のピークは ICDD card No. 00-041-1445 の SnO_2 に一致し、それぞれ (101), (200), (211), (220), (310), (112), (301), (202), (321) の各面に帰属できた。市販の分子プレカーサー溶液をスピンコート法で塗布したプレカーサー膜を空气中 $500^\circ C$ で熱処理して得た $F_{Titania}$ の結

晶構造はアナターゼであり、MPM によるチタニア薄膜形成の再現性を確認した。当研究室は、透明なアナターゼ薄膜が、光照射によって励起される n 型半導体として機能することから、PV-LIB の負極活性物質として利用できることを先に報告している⁽⁶⁾。

3. 3 F_{LMO} の XPS スペクトル

F_{LMO} の XPS スペクトルを図8に示す。 53.6 eV の結合エネルギーは O に結合した Li 1s (Li-O) に対応する。 $48.7, 84.5, 89.1, 641.2\text{ eV}$ の4結合エネルギーは O に結合した Mn 3p⁽²⁷⁾, Mn 3s⁽²⁸⁾⁻⁽³⁰⁾, Mn 2p_{3/2}⁽³¹⁾ (Mn-O) にそれぞれ対応する。

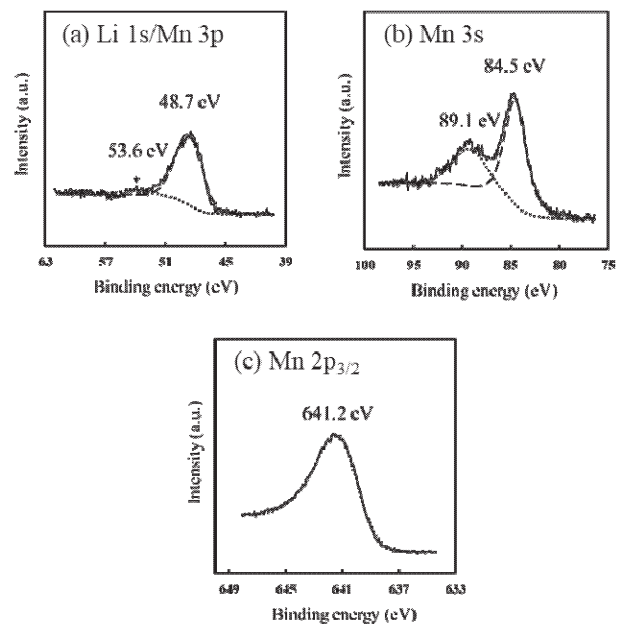


図8 F_{LMO} の (a) Li 1s/Mn 3p, (b) Mn 3s, (c) Mn 2p_{3/2} の XPS スペクトル。太い実線は実測データ, 細かい実線はベースライン, 破線と点線は波形分離の結果である。

F_{LMO} の XPS ピーク面積 (53.6 eV の Li-O と, 641.2 eV の Mn-O) より Li/Mn 比を式 (3) により計算した。相対感度係数はソフトウェア SpecSurf (JEOL, Japan) より得た値を用いた。

$$\text{Li/Mn 比} = \frac{\frac{\text{Li 1sのピーク面積}}{\text{Li 1sの相対感度係数: 0.2504}}}{\frac{\text{Mn 2p}_{3/2}\text{のピーク面積}}{\text{Mn 2p}_{3/2}\text{の相対感度係数: 36.1170}}} \quad (3)$$

計算結果は Li/Mn 比 = 2.0 であった。この XPS の結果は XRD の結果とよく一致している。

Galakhov らは、Mn の 3s ピークの分裂幅から Mn の平均酸化数 (AOS) を計算できることを報告した^{(28), (30)}。AOS は、式 (2) より算出した。ここで ΔE_s は Mn 3s の

ピーク分裂幅 (eV) である。

$$\text{AOS} = 8.956 - 1.126 \cdot \Delta E_s \quad (2)$$

Mn の AOS は, (b) Mn 3s の XPS スペクトルより得た分裂幅 4.6 eV より 3.8 と求めた。この結果は, FLMO の $\text{Mn}^{3+}/\text{Mn}^{4+}$ の比が 1/4 であることを明確に示している。また, LMO の電荷バランスを考慮すると, FLMO の組成式は $\text{Li}_2\text{MnO}_{2.9}$ となる。これらの結果から, 原料の Mn^{2+} イオンは, 空気中の熱処理で, 上記の比率で 3 価と 4 価に酸化されたことが分かった。これまでに Li_2MnO_3 粉末に NaBH_4 , CaH_2 , LiH などの還元剤を添加すると, 酸素欠損 LMO 粉末を形成できることが報告されている^{(29), (32)}。一方で, これまでに酸素欠損 LMO 薄膜の形成は報告されていない。当研究室の MPM を用いた先行研究において, エチレンジアミン-N, N, N', N'-四酢酸 (EDTA) の Ti 錯体を含むプレカーサー膜を 500°C の Ar ガス気流中で熱処理した後に, 空気中でポストアニールすることによって, 酸素欠損チタニア薄膜が得られた⁽¹⁸⁾。本研究では, EDTA 錯体を含まないにもかかわらず, スピンコートしたプレカーサー膜を空気中で熱処理するだけで酸素欠損 LMO 薄膜を形成できた。Ti の EDTA 錯体から H, C, N が除去される時に酸素欠損チタニアが形成されたことから, 本研究では LMO プレカーサー膜から酢酸とブチルアミンが熱処理で分解される過程で, 酸素欠損 LMO が形成され, 偶発的に 3 価の Mn が組み込まれたと考えられる。また, LMO の 3 価の Mn の量を制御するためには, Ar ガス気流中の熱処理が有効と考えられる。

3. 5 SEM像観察

図 9 に FLMO, F'LMO, FTitania の表面および断面 FE-SEM 像を示す。すべての薄膜の表面は, 粒径 17(2) nm の粒子が連なった, クラックのないなめらかな表面であった。断面 FE-SEM 像から, FLMO, F'LMO, FTitania の膜厚はそれぞれ 80(20), 190(20), 150(20) nm と求められた。FLMO の膜厚は, 先行研究の PV-LIB に用いた LCO (70 nm) と同等の膜厚であった。

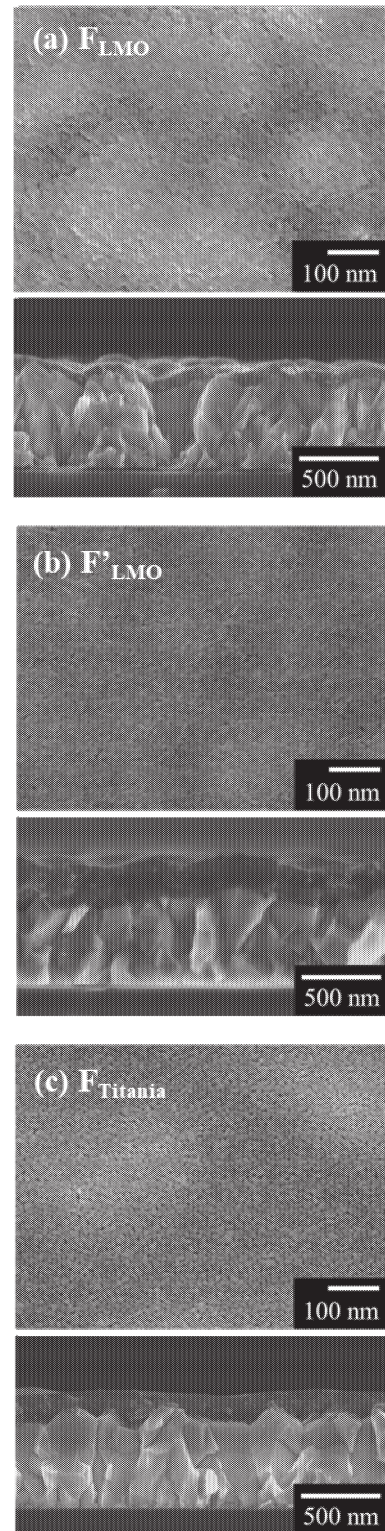


図 9 (a) FLMO, (b) F'LMO, (c) FTitania の表面および断面 FE-SEM 像。

3. 6 電圧変化試験 (充放電試験)

粉末のアナターゼと LMO の充電時のプラトロー電位 (vs. Li/Li⁺) は文献値より, それぞれ 1.5–2.0 V^{(33), (34)}, 4.5–4.6 V^{(5), (25)}である。したがってアナターゼを負極, LMO を正極として作製したデバイスの理論電位差は, 2.5–3.1 V の範囲と予想される。図 10 に DLMO の 0.2 mA 定電流印

加(破線)と疑似太陽光照射(実線)による充放電の経過時間と電圧の関係を示す。これらの平均電圧は、定常化した4-30サイクル目の電圧値で計算した。D_{LMO}は、0.2 mAの定電流印加により2.67 Vの平均充電電圧を示し、LIBとして機能した。この平均充電電圧は、上述したLMOを用いたLIBの理論値の範囲内の値であった。表1に、正極に本研究のD_{LMO}と先行研究のLCOとF_{Titania}を用いたデバイスの電圧変化試験による平均電圧を示す。作製したD_{LMO}の定電流印加による充電電圧は、2.67 Vを示し、放電電圧は2.21 Vを示した。また、外部電源なしに、疑似太陽光による充電電圧は1.45 Vを示し、放電電圧は1.44 Vを示した。したがって、D_{LMO}はPV-LIBとして機能して、その充電電圧は同一膜厚のLCOを用いたデバイスに比べて定電流印加と光照射でそれぞれ0.63 Vと0.13 V高かった。これらの結果より、LMOはLCOを代替するPV-LIBの正極活性物質として機能することが明らかとなった。

図11にD'_{LMO}の0.2 mA定電流印加(破線)と疑似太陽光照射(実線)による充放電の時間と電圧の関係を示す。LMO積層膜を用いて作製したD'_{LMO}は、0.2 mA定電流印加の繰り返しにより過充電を起こし、最大電圧の測定設定値である5 Vに達した。また、疑似太陽光による充電電圧は1.44 Vを、また放電電圧は1.43 Vを示し、光照射による充放電はほとんど変化しないことも分かった。なお、デバイスの内部抵抗を低減するためにカーボンナノチューブなどの導電助剤を複合化したLMO膜の形成は、定電流印加で過充電しないデバイスを機能させることに有効と考えられる。

D_{LMO}とD'_{LMO}は疑似太陽光照射試験で充放電電圧の差は共に0.01 Vで、自己放電の小さいPV-LIBとして機能した。この優れた性質は、LCOを用いたPV-LIBと比べて0.02 V小さいことから、酸素欠損型LMO薄膜を用いたデバイスは従来のPV-LIBと同等以上の発電・蓄電機能をもつと言える。

表1 本研究で形成したLMOと先行研究のLCOを正極としたデバイスの0.2 mA定電流印加・自然放電電圧と1 sun疑似太陽光照射・暗所放置による電圧変化のまとめ

正極	0.2 mA 定電流印加・自然放電		1 sun 疑似太陽光照射・暗所放置	
	充電(V)	放電(V)	照射(V)	暗所(V)
LMO	2.67	2.21	1.45	1.44
LCO [6]	2.04	1.82	1.32	1.29

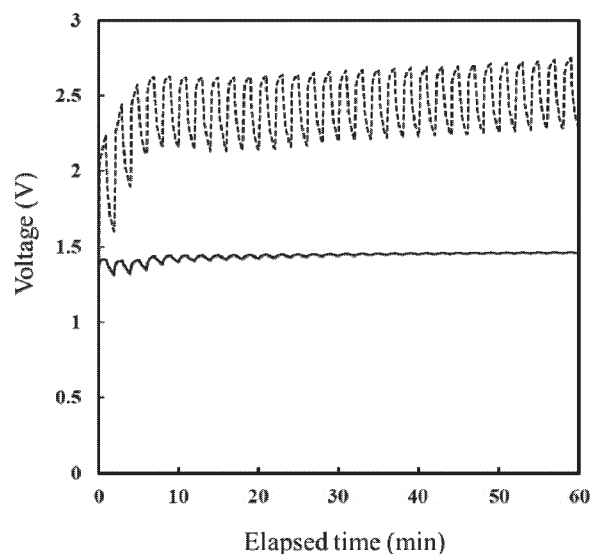


図10 D_{LMO}の0.2 mA定電流印加充電または疑似太陽光照射と自然放電サイクルを1分間隔で30サイクル繰り返した電圧変化。破線は定電流印加充電と自然放電を、実線は疑似太陽光照射と暗所放置を示す。

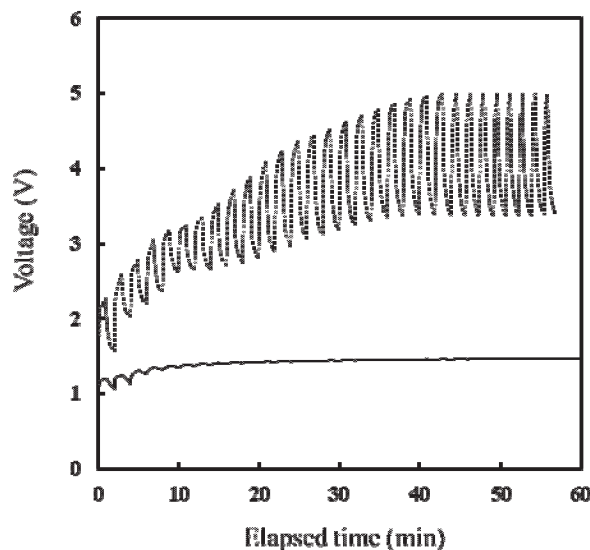


図11 D'_{LMO}の0.2 mA定電流印加充電または疑似太陽光照射と自然放電サイクルを1分間隔で30サイクル繰り返した電圧変化。破線は定電流印加充電と自然放電を、実線は疑似太陽光照射と暗所放置を示す。

4. まとめ

エタノール溶媒中で、ブチルアミンとリチウムとマンガンの酢酸塩を反応させることによって、LMOプレカーサー溶液を新規に調製した。この溶液は、スピコート法を用いてFTOガラス基板上に塗布できた。得られたLMOプレカーサー膜を500°Cで熱処理して、層状岩塩型構造のLMO薄膜を形成した。XPSスペクトルより、Mn³⁺の組み込みが示され、LMO薄膜の化学式は、

$\text{Li}_2\text{MnO}_{2.9}$ と同定できた。このように、化学的湿式法によってFTOガラス基板上に酸素欠損LMO薄膜を形成することに初めて成功した。さらに、正極と負極の活物質薄膜として、それぞれLMOとチタニアを、 LiPF_6 を含む電解液を用いたデバイス D_{LMO} は、0.2 mAの定電流印加と疑似太陽光照射により、充電電圧がそれぞれ2.67 Vと1.45 VのコバルトフリーのPV-LIBとして機能した。LCOを正極として用いたPV-LIBと比較して、定電流印加時の発生電圧は0.63 V、疑似太陽光照射時では0.13 V高くなった。

このように、本研究で達成した酸素欠損型LMO薄膜を用いたデバイスは、対応部分にLCOを用いた従来の薄膜PV-LIBよりも定電流印加と疑似太陽光照射の両方で高い電圧を与える優れた充放電デバイスとして機能した。

謝辞

本研究は、工学院大学工学研究科化学応用学専攻博士後期課程の諏訪園豊氏が実験者として貢献したことを記して感謝する。

参考文献

- Mizushima, K., Jones, P.C., Wiseman, P.J., Goodenough, J. B.: Li_xCoO_2 ($0 < x \leq 1$): A new cathode material for batteries of high energy density. *Mater. Res. Bull.* 1980, 15, 783–789.
- Kalyani, P., Chitra, S., Mohan, T., Gopukumar, S.: Lithium metal rechargeable cells using Li_2MnO_3 as the positive electrode, *J. Power Sources* Vol. 80, (1999) pp. 103–106.
- Robertson, A. D., Bruce, P. G.: Mechanism of electrochemical activity in Li_2MnO_3 , *Chemistry of Materials*, Vol. 15, (2003) pp. 1984–1992.
- Park, S. H., Sato, Y., Kim, J. K., Lee, Y. S.: Powder property and electrochemical characterization of Li_2MnO_3 material. *Materials chemistry and physics* Vol. 102, (2007) pp. 225–230.
- Rana, J., Stan, M., Kloepsch, R., Li, J., Schumacher, G., Welter, E., Zizak, I., Banhart, J., Winter, M.: Structural Changes in Li_2MnO_3 Cathode Material for Li-ion Batteries, *Adv. Energy Mater.* Vol. 4, (2014) 1300998.
- Nagai, H., Suzuki, T., Takahashi, Y., Sato, M.: Photovoltaic lithium ion battery fabricated by molecular precursor method, *Funct. Mater. Lett.*, Vol. 09, (2016) 1650046.
- Nagai, H., Hara, H., Enomoto, M., Mochizuki, C., Honda, T., Takano, I., Sato, M.: Synchronous Electrochromism of Lithium Ion Battery with Chemically Fabricated Transparent Thin Films, *Funct. Mater. Lett.*, Vol. 6, (2013) 1341001.
- Nagai, H., Sato, M.: Highly Functionalized Lithium-Ion Battery, *Intech*, (2016) ch.6.
- Nagai, H., Mita, S., Takano, I., Honda, T., Sato, M.: Conductive and semi-transparent Cu thin film fabricated using molecular precursor solutions, *Mater. Lett.*, Vol. 141, (2015) pp. 235–237.
- Nagai, H., Suzuki T., Mochizuki, C., Takano, I., Honda, T., and Sato, M.: Formation mechanism of p-type Cu_2O thin films via intermediate Cu^0 species derived from Cu(II) complex of ethylenediamine-N,N,N',N'-tetraacetic acid, *Science of Advanced Materials*, Vol. 6, (2014) pp. 603–611.
- Onuma, T., Nagai, H., Yamaguchi, T., Sato, M., Honda, T.: Cathodoluminescence spectra of Ga-In-O polycrystalline films fabricated by molecular precursor method, *Japanese Journal of Applied Physics*, Vol. 53, (2014) 05FF02.
- Daniel, L. S., Nagai, H., Sato, M.: Absorption spectra and photocurrent densities of Ag nanoparticle/ TiO_2 composite thin films with various amounts of Ag, *J. Mater. Sci.*, Vol. 48, (2013) pp. 7162–7170.
- Sato, M., Hara, H., Nishide, T., Sawada, Y.: A Water-resistant Precursor in a Wet Process for TiO_2 Thin Film Formation, *J. Mater. Chem.*, Vol. 6, (1996) pp. 1767–1770.
- Nishide, T., Sato, M., Hara, H.: Crystal Structure and Optical Property of TiO_2 Gels and Films Prepared from Ti-edta Complexes as Titania Precursors, *J. Mater. Sci.*, Vol. 35, (2000) pp. 465–469.
- Sato, M., Hara, H., Kuritani, M., Nishide, T.: Novel Route to Co_3O_4 Thin Films on Glass Substrates via N-alkyl Substituted Amine Salt of Co(III)-EDTA Complex. *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.*, Vol. 45, (1997) pp. 43–49.
- Sato, M., Tanji, T., Hara, H., Nishide, T., Sakashita, Y.: SrTiO_3 Film Fabrication and Powder Synthesis from a Non-polymerized Precursor System of a Stable Ti(IV) Complex and Sr(II) Salt of edta, *J. Mater. Chem.*, Vol. 9, (1999) pp. 1539–1542.
- Nagai, H., Mochizuki, C., Hara, H., Takano, I., Sato, M.: Enhanced UV-sensitivity of Vis-responsive Anatase Thin Films Fabricated by Using Precursor Solutions Involving Ti Complexes, *Sol. Energy Mater. Sol. Cells.*, Vol. 92, (2008) pp. 1136–1144.
- Nagai, H., Hasegawa, M., Hara, H., Mochizuki, C., Takano, I., Sato, M.: An Important Factor Controlling the Photoreactivity of Titania: O-deficiency of Anatase Thin Film, *J. Mater. Sci.*, Vol. 43, (2008) pp. 6902–6911.
- Nagai, H., Aoyama, S., Hara, H., Mochizuki, C., Takano, I., Baba, N., Sato, M.: Rutile Thin Film Responsive to Visible Light and with High UV Light Sensitivity, *J. Mater. Sci.*, Vol. 44, (2009) pp. 861–868.
- Nagai, H., Aoyama, S., Hara, H., Mochizuki, C., Takano, I., Honda, T., Sato, M.: Photoluminescence and Photoreactivity Affected by Oxygen Defects in Crystal-oriented Rutile Thin Film Fabricated by Molecular Precursor Method, *J. Mater. Sci.*, Vol. 45, (2010) pp. 5704–5710.
- Suwazono, Y., Nagai, H., Sato, M.: Photovoltaic Lithium-ion Battery with Layer-Structured $\text{Li}_2\text{Mn}^{\text{III}}_{0.2}\text{Mn}^{\text{IV}}_{0.8}\text{O}_{2.9}$ Thin Film Chemically Fabricated for Cathodic Active Material, *Energies* Vol. 13, (2020) 1486.
- Ruther, R.E., Dixit, H., Pezeshki, A.M., Sacci, R.L., Cooper, V.R., Nanda, J., Veith, G.M.: Correlating Local Structure with Electrochemical Activity in Li_2MnO_3 , *J. Phys. Chem. C* Vol. 119, (2015) pp. 18022–18029.
- Jacob, C., Jian, J., Zhu, Y., Su, Q., Wang, H.: A new approach to investigate Li_2MnO_3 and $\text{Li}(\text{Ni}_{0.5}\text{Mn}_{0.3}\text{Co}_{0.2})\text{O}_2$ mixed phase cathode materials, *J. Mater. Chem. A* Vol. 2, (2014) pp. 2283–2289.
- Jacob, C., Jian, J., Su, Q., Verkhoturov, S., Guillemette, R., Wang, H.: Electrochemical and Structural Effects of In Situ Li_2O Extraction from Li_2MnO_3 for Li-Ion Batteries, *ACS Appl. Mater. Interfaces* Vol. 7, (2015) pp. 2433–2438.
- Taminato, S., Hirayama, M., Suzuki, K., Yamada, N.L., Yonemura, M., Son, J.Y., Kanno, R.: Highly reversible

- capacity at the surface of a lithium-rich manganese oxide: A model study using an epitaxial film system, *Chem. Commun.* Vol. 51, (2015) pp. 1673–1676.
- (26) Sugawara, Y., Taminato, S., Hirayama, T., Hirayama, M., Kanno, R., Ukyo, Y., Ikuhara, Y.: Interfacial Atomic Structures of Single-Phase Li_2MnO_3 Thin Film with Superior Initial Charge-Discharge Behavior, *J. Electrochem. Soc.* Vol. 165, (2018) pp. A55–A60.
- (27) Polat, O., Coskun, F.M., Coskun, M.; Durmus, Z.; Caglar, Y.; Caglar, M.; Turut, A. Tailoring the band gap of ferroelectric YMnO_3 through tuning the Os doping level, *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* Vol. 30, (2019) pp. 3443–3451.
- (28) Santos, V.P., Pereira, M.F.R., Órfão, J.J.M., Figueiredo, J.L.: Catalytic oxidation of ethyl acetate over a cesium modified cryptomelane catalyst, *Appl. Catal. B Environ.* Vol. 88, (2009) pp. 550–556.
- (29) Tan, X., Liu, R., Xie, C., Shen, Q.: Modified structural characteristics and enhanced electrochemical properties of oxygen-deficient $\text{Li}_2\text{MnO}_{3-\delta}$ obtained from pristine Li_2MnO_3 , *J. Power Sources* Vol. 374, (2018) pp. 134–141.
- (30) Galakhov, V.R., Demeter, M., Bartkowski, S., Neumann, M., Ovechkina, N.A., Kurmaev, E.Z., Lobachevskaya, N.I., Mukovskii, Y.M., Mitchell, J., Ederer, D.L.: Mn 3s exchange splitting in mixed-valence manganites, *Phys. Rev. B* Vol. 65, (2002) 113102.
- (31) Anandan, S., Chen, C.Y., Wu, J.J.: Sonochemical synthesis and characterization of turbostratic $\text{MnNi}(\text{OH})_2$ layered double hydroxide nanoparticles for supercapacitor applications, *RSC Adv.* Vol. 4, (2014) pp. 55519–55523.
- (32) Kubota, K., Kaneko, T., Hirayama, M., Yonemura, M., Imanari, Y., Nakane, K., Kanno, R.: Direct synthesis of oxygen-deficient $\text{Li}_2\text{MnO}_{3-x}$ for high capacity lithium battery electrodes, *J. Power Sources* Vol. 216, (2012) pp. 249–255.
- (33) Ding, M., Liu, H., Zhao, X., Pang, L., Deng, L., Li, M.: Composite with TiO_2 and extension of discharge voltage range for capacity enhancement of a $\text{Li}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ battery, *RSC Adv.* Vol. 7, (2017) pp. 43894–43904.
- (34) Lim, E., Shim, H., Fleischmann, S., Presser, V.: Fast and stable lithium-ion storage kinetics of anatase titanium dioxide/carbon onion hybrid electrodes, *J. Mater. Chem. A* Vol. 6, (2018) pp. 9480–9488.

3. 総合研究所科学研究費採択奨励研究報告 (2019年度)

無限次代数体上の数論的対象の研究

基礎・教養科 准教授

森澤 貴之

有理数体上の代数拡大 K を代数体とよび、代数体 K における整数環 Z の整閉包を、 K の整数環といい、 O_K で表す。この代数体 K の整数環 O_K について、『整数環 Z と同様に、代数的整数環 O_K において素因数分解が一意的となるような有限次代数体 K は無数に存在するであろう』という予想がある。これをガウス予想という。本研究課題における最大の研究目標はこのガウス予想の肯定的な解決である。このガウス予想に対し、ある種の無限次代数体に含まれる無限個の有限次代数体のイデアル類群を同時に考えることで、無限個の有限次代数体の整数環の素因数分解の一意性が成り立つかどうかに関する情報を同時に得る、という手法を用いて研究を行った。

素因数分解の一意性が成り立つような代数体の整数環の無限族を探すために考える無限次代数体としては、そのイデアル類群が自明となると期待されるものであって、かつ、あまり大きくすぎないものを考える必要がある。そういった無限次代数体の中でも特に、素数 p に対し、有理数体 Q の円分的 Z_p -拡大と呼ばれる拡大に注目して研究を行った。この円分的 Z_p -拡大とは、無限個の有限次代数体の拡大列と見ることができ、そのイデアル類群同士がよい振る舞いをする中で知られている。そういった性質から、円分的 Z_p -拡大は岩澤理論における最も基本的かつ重要な無限次代数体である。

本年度は、この有理数体上の円分的 Z_p -拡大の中でも特に、素数 p が奇数の場合に注目して研究を行った。有理数体上の円分的 Z_p -拡大体の中間体の無限列 $B_0, B_1, B_2, \dots, B_n, \dots$ は全て実アーベルと呼ばれる性質を持っているため、そのイデアル類群の情報は、単数群と円単数群と呼ばれる整数環の特別な部分集合が握っている。そのため、この単数群と円単数群の構造をよく理解することがイデアル類群をよく理解することに繋がり、素因数分解の一意性の崩れ具合を観察することに繋がる。そこで本年度は、この単数群に対して定義した2つのフィルターの研究を行った。ここで言うフィルターとは、単数群の無限真部分集合列のことである。この2つのフィルターはそれぞれ全く異なる定義を持つ集合列である。 $p=2$ の場合にはそれらにはある種の関係性があることが示されているが、一般の奇素数 p についてはまだ研究がなされていないため、奇素数の場合を扱った。その構造については堀江の単数と呼ばれる特別な単数が握っているが、この堀江の単数について合同式による変形を行い、それらが満たす性質を得た。

プレカーサー錯体の光化学転換による高機能性薄膜形成

応用物理学科 准教授

永井 裕己

本研究の目的は、第5期科学技術基本計画がめざす超スマート社会に向けた次世代 LSI の駆動に必要な大電流にも対応できるカーボンナノチューブが分散した銅微細配線の光形成を、簡便な化学的湿式法の分子プレカーサー法で試みる。シリコン基板上に回路を多数集積した LSI に代表される半導体デバイスは、現代社会を支えるスマートフォンなどの高度な情報処理機能をもつ電子機器の発展に寄与してきた。現在の配線材料として、主に銅(Cu) が用いられている。近年は、LSI の高集積化によって、最小線幅 20 nm 以下の微細配線が実現している。しかし、このまま微細化を進めても、配線技術の限界のために、数年後には LSI の性能向上は限界に達すると予測されている。2013 年に産総研は、電気メッキ法で銅を析出させて、単層カーボンナノチューブと Cu の複合材料を作製した。この複合材料は、Cu と同程度の電気伝導度をもちながら、Cu の 100 倍まで電流を流すことができる。産総研の報告によれば、この複合材料の作製は、Cu を CNT 構造体の内部にまで満遍なく形成する必要がある。

分子プレカーサー法は、出発原料として錯体を用いる。用いる銅錯体は特有の d-d 吸収帯と電荷移動吸収帯をもち、特に後者が関わる紫外光領域の低温光照射で化学反応を引き起こすことが期待される。すなわち、紫外光が錯体中の電子を励起し、その遷移状態で中心金属の価数を変換・固定できれば、錯体を金属や金属酸化物の膜に変換する可能性が考えられる。この仮説を基に、エチレンジアミンとアンモニアを配位子とする銅錯体を含む溶液を調製し、その溶液を石英ガラス基板上に塗布、乾燥したプレカーサー膜に波長 254 nm の光放射を 25°C で 2 時間照射した。その膜の XRD パターンは、光照射のみで密着した Cu₂O 膜の形成が可能なことを示した。このように、プレカーサー膜への光照射で錯体が分解しただけでなく、金属酸化物の結晶が成長したことをすでに見出した。この反応と結晶成長メカニズムを解明することは、本法の実用化や銅以外の金属薄膜形成への展開はもとより、錯体の光化学反応による新たな応用分野として貢献できる。このような予備実験の結果を受けて、基礎研究、応用研究として下記の計画で実験を遂行する。銅錯体は、2 価の銅イオンを出発原料とすることから、銅の形成には 2 電子還元が必要である。今後は、分子プレカーサー溶液に含まれる銅錯体を設計し、光照射で Cu と Cu₂O の形成をコントロール可能かメカニズムの考察の一つとして試みる。また、MWCNT 含有銅プレカーサー膜に紫外線を照射し、銅薄膜形成とパターンニングを試みる。

下肢人工関節シミュレータの足部機構の開発

機械システム工学科 教授
桐山 善守

背景

下肢の人工関節は、わずか数年で摩耗や破損による置換を要する症例も少なくない。このため、ヒトの筋骨格構造の力学特性を再現した下肢人工関節シミュレータが開発されており、様々な日常動作における外乱変位や力学負荷の評価が期待されている。ヒトと同様の運動を行わせるには、身体と外部環境とのインターフェースとなる足部の運動や形状の変形を再現する必要がある。そこで本研究では、ヒト足部の力学的特性と運動時の変形や蹴り出しを再現できる足部機構の開発を行った。

方法

ヒト足部は、歩行時には踵による衝撃吸収と前足部による蹴り出しを行っている。このため、踵部は半径 40 mm の円柱によって踵の接地から足部底面の床面への接地までの滑らかな運動を実現した。また、前足部を中足趾節関節位置で回転できるようにした。

ヒトの関節は、可動域限界では回転に対して受動抵抗が増加する。本足部機構もこれを再現できるようにした。具体的には、足関節の底背屈限界付近では、回転軸と並行して回転するピンがポリウレタン樹脂と接触することで受動抵抗を発揮できるようにした。前足部では、背屈時に受動抵抗を発揮できるようにし、抵抗トルクによって足部を蹴り出せるようにした。

結果

足関節は、可動域に達する前に受動抵抗を発揮してしまい、無負荷となる可動域がヒトと比べて小さかった。また前足部は、目的とする抵抗トルクを発揮するには至らなかった。この足部機構を歩行シミュレータに取り付け歩行運動を行かせたところ、足関節と中足趾節関節位置の可動域は、ヒトに比べて全体的に小さかった。また、床反力値を確認したところ、鉛直方向の値はヒトのような二峰性を示さなかった。特に、後半のピークが小さくなった。

考察

下肢シミュレータは、ヒトの 1/4 程度重量となっているにもかかわらず、足部だけはヒトに比べてやや重くなっており、全体として遠位が重くなっていた。また足部のアーチの変形も再現できておらず、足部全体の再現が必ずしも十分には行われていなかった。しかし、股や膝関節はヒトに類似した変形となっており、必要な最低限の運動を実現することができた。本足部機構は改善すべき点は多いものの、ヒト足部の構造的また運動的再現の必要性を確認することができた。

謝辞

本研究費により、足部機構の必要性が明らかとなった。ここに記して謝意を表す。

生理心理学の手法による人のインタラクション解析

機械システム工学科 准教授

見崎 大悟

昨今の IT 社会の台頭, AI 技術の発達, ロボットの低コスト化やグローバル化などで Society5.0 が訪れるとされ, 社会に求められる人材像は変化するとされる. このように変化する社会的背景を踏まえて教育スタイルの変更が求められている. 特に, 近年はアクティブラーニングや多様性を考慮した PBL など, 学生や教員間でのインタラクションが必要な教育手法が増えてきているが, その効果の検証はアンケートに基づく事例研究が多く教育効果が十分に検証されていないことが考えられる.

本研究では, 生体心理学の手法によるインタラクション解析の手法を教育分野の評価に応用するための手法について調査・研究を実施した. また, ここで得られインタラクション解析の知見は教育分野に限らず, 自動運転の車の制御や, 機械の遠隔操作, 人と機械とのインタラクションなどさまざまな分野への応用が可能である. 本年度は, 生理心理学の手法を用いて, 学習環境や, 意見の対立などの対話においての人の反応を読み取り最終的にはインタラクション解析をする実験をおこない将来的には教育の評価に貢献することを目指している.

インタラクションを解析するための計測には皮膚電気活動を採用した. 人間の発汗には温熱性発汗と精神性発汗が存在する. 温熱性発汗は体温調節のための発汗, 精神性発汗とは精神に基づいて発汗する反応のことで, “冷や汗をかく” とは精神性発汗を示している. 生理心理学では, 自律神経活動の一つとして, この精神性発汗を計測する皮膚電気活動(Electro Dermal Activit : EDA) という指標があり, 本研究では, EDA のうち, 皮膚に微弱な電流を流し, 皮膚の見かけ上の抵抗変化を調べる通電法の皮膚コンダクタンスを利用した.

一人での設計作業やデザイン作業時のチームメンバーの心理的な状況を計測するために, 腕に装着し無線通信により皮膚コンダクタンスを計測するための計測装置を制作した. センサは Seeed 社の GSR センサを用いた. Arduino または M5Stick-C のアナログ入力端子に接続し, センサからの入力を, 0.1 秒ごとにサンプリングすると同時に, カメラを用いて被験者の表情を記録した.

数人の被験者による実験より, 皮膚電気活動とビデオ分析で, リラックス状態から作業状態へと変化する際に, 言語ではない心理的状況変化を取得できていることが確認できた. これは, 無意識的反応を読み取ることができたと結論づけることが可能である. 今後は, 複数のデバイスによる正確および複数の被験者の作業からのデータの取得およびカメラ画像から取得された作業者の動作, 顔の表情, 音声およびその抑揚などと EDA の関連性の検証と教育での活用方法について研究をおこなっていく予定である.

ゲージ結合定数統一が切り拓く大統一理論の現象論的分類と探究

基礎・教養科 教授
進藤 哲央

大統一理論の構築は、素粒子理論研究の大きな目標の一つであるが、これを加速器実験によって直接検証することは困難である。本研究では、大統一理論が要請するゲージ結合定数の統一に着目する。素粒子標準模型の場合は、ゲージ結合定数のくりこみ群発展によるゲージ結合定数の単純な統一は実現しないため、ゲージ結合定数統一の実現のためには、低いエネルギースケールにゲージ結合定数のくりこみ群発展に影響をおよぼすような新粒子が存在することが要求される。本研究では、このような新粒子が TeV スケール近辺に存在する場合に、加速器実験による新粒子の直接探索やフレーバー物理、ヒッグス粒子の精密測定などによって、モデルの性質を制限・検証し、あるいは異なるモデル同士を区別する。また、このような新物理学モデルにおいて、標準模型で未解決なニュートリノ質量の起源や宇宙のバリオン数生成などの問題の解決を図る。これらの研究を通して、その背後にある大統一理論の有様に迫っていくことが目的である。この目的を達成するため、以下の研究活動を行った。

(1) 3つのヒッグス2重項を含むモデルにおける現象論研究

3つのヒッグス2重項を含むような拡張ヒッグスモデルにおいて、 Z_3 対称性を課した場合の暗黒物質の振る舞いについて研究を行い、論文にまとめた。この論文は現在査読中である。

A. Aranda, D. Hernandez-Otero, J. Hernandez-Sanchez, V. Keus, S. Moretti, D. Rojas-Ciofalo, and Tetsuo Shindou, The Z_3 symmetric $I(2\pm 1)HDM$, arXiv:1907.12470

(2) ゲージ結合定数統一を実現する現象論モデルの研究

ゲージ結合定数統一と、フェルミオン質量行列の再現を両方実現するような大統一理論のモデルを構築し、その現象論的性質を調べる、本研究課題の中心をなす研究を行い、学会発表を行った。この研究は現在も進行中である。

透明導電酸化物における小イオン半径ドーパントの歪み効果と 薄膜太陽電池電極への展開

電気電子工学科 准教授
相川 慎也

透明導電薄膜には抵抗率低減と透過率向上の両方が求められる。透明導電薄膜の抵抗率を下げるには、キャリア密度およびキャリア移動度を増加させれば良い。現行で商用的に用いられるITOは、高いキャリア密度に基づく低抵抗化が可能である。一方で、キャリア密度が高くなるとプラズマ振動周波数が大きくなり可視光領域の透過率を低下させてしまう。赤外および可視光領域で透過率の高いIZOは、薄膜にすると抵抗率が急激に大きくなるとともに、一方で、厚膜では透過率と柔軟性が劣化してしまうことが課題である。

本研究では、 In_2O_3 にイオン半径の小さいBoronをドーピングすることで、抵抗率が低く広い波長領域で透過率の高い透明導電薄膜の開発を目的とした。Boronドーピングにより、格子定数の収縮とともにバンドギャップの拡張が期待される。バンドギャップの拡張は、広い波長領域での透過率向上と相関する。また、格子定数の収縮により、In原子間の距離が短くなることでシームレスなキャリア伝導が可能となり電子移動度の向上が見込める。

In_2O_3 ターゲット上にBoron粒（純度99.999%）を置き、コスパッタすることでBoronドーピング In_2O_3 透明導電薄膜を作製した。成膜時のAr/ O_2 流量を変化させ、酸素分圧に対する薄膜の特性を評価した。

Fig. 1にBoronドーピング In_2O_3 、ITOおよび In_2O_3 の成膜時酸素分圧と抵抗率の関係を示す。酸素分圧が0 mPa、つまりArのみでスパッタした際に最も抵抗率が下がり、Boronドーピング In_2O_3 においては $9.4 \times 10^{-5} \Omega \text{cm}$ が得られ、ITO ($8.1 \times 10^{-5} \Omega \text{cm}$)に匹敵する値であった。酸素分圧0 mPaにおける可視光領域(380~750 nm)の平均透過率(T_{avg})はBoronドーピング In_2O_3 およびITOでそれぞれ80.8%および80.5%であった。Boronドーピング In_2O_3 とITOでは T_{avg} はほぼ同じであったが、ITOの膜厚がITOの1.3倍であったことを考慮すると、Boronドーピングによる透明性の効果があったと言える。

Fig. 2にBoronドーピング In_2O_3 およびITOを透明電極として用いたショットキー型太陽電池の*J-V*特性を示す。挿入図は断面概略図である。抵抗率および透過率と同様に、Boronドーピング In_2O_3 とITOとでほぼ同等の特性となった。

今回作製したBoronドーピング In_2O_3 では、Boronドーピング量依存性に対する電気および光学特性を検討していないため、今後、これらの実験を進め最適Boron含有量を探索していく。

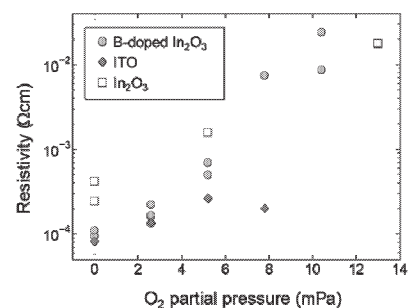


Fig. 1 Relationship between film resistivity and O_2 partial pressure during sputtering deposition. The resistivity is of the as-deposited films.

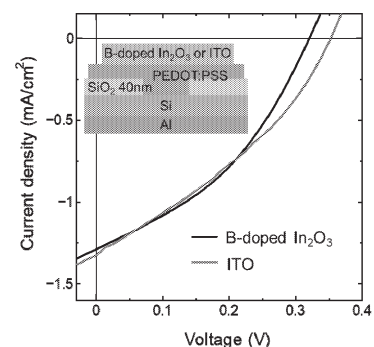


Fig. 2 *J-V* characteristics of B-doped In_2O_3 /PEDOT:PSS/n-Si and ITO/PEDOT:PSS/n-Si Schottky barrier solar cells under illumination conditions.

複数対話ロボットにおける対話感向上を目指した マルチモーダル行動デザイン

システム数理学科 教授

大和 淳司

昨年度は対話意欲の向上に向けて、対話ロボットのジェスチャがどのように影響するかについて実験を行った。この中でまず対話意欲をどのように計測するかが問題となっていた。従来主観的な要因である対話意欲については、対話者本人自らによって入力してもらうことを前提としていた。そして入力の手間や対話に対するインタラプトをどのように軽減するかが、実験計画上のポイントの一つであった。しかしながら、こうした方法を取る限り対話者への影響は逃れ得ない。加えて対話中に頻繁に入力を求めることはなお一層の阻害要因となる。そこで、外部から何らかの手段で対話意欲を推定することを考える。手段として一定の安定性があれば、対話中の連続的な変化を計測することもできるため、必要に応じて高い頻度での計測も可能になることが期待される。

今回はこの目的のため、「対話意欲推定器」を構築し、その精度評価を行った。外部から得られる情報として、以下の特徴量を用いた。・発話長、・ロボット発話からユーザ発話までの遅延時間、あわせてsAA(唾液アミラーゼ活性)の3つである。また正解データ(学習のための教師データ)としてユーザが発話毎にボタンを押下して入力した発話意欲を用いた。この発話意欲はある区間でのポジティブな反応比率として発話意欲指標を構成したものをを用いた。初期実験として4名の対話者について20対話のデータを集め、ここで得られたデータセットを元にSVRによる回帰で発話意欲推定器を構成した。推定精度の評価では誤差率が約14%と、まだ対話戦略の切替え等の元情報とするには十分な高精度には至っていない。まず精度改善のため、特徴量を検討、追加し、より詳細な情報をえることが必要である。また推定モデルについても検討の必要がある。なにより学習に用いるデータを大幅に増やす必要がある。そのために、対話シーンのビデオを第三者に視聴させて対話意欲の推定を行い、その結果を正解データとして用いることを検討する。十分にデータ量を増やし、精度の高い対話意欲推定器を構成し、これを用いた対話戦略の切替えへの研究を進めていく予定である。

本研究では電子情報通信学会 HCG シンポジウム、CNR 研究会等において学生主著の対外発表3件を実施し、奨励研究費を実験機材、消耗品等に活用した。

高度汚染環境下で使用されるエアフィルタろ材の汚染粉塵の 飛散防止技術の確立

環境化学科 教授

並木 則和

ナノマテリアル材料を取り扱う施設では、施設内で発生したナノマテリアルを含む粒子を外部へ漏洩させないために、排気処理装置に HEPA フィルタを採用している。これらのナノメートルサイズの粒子は生成後すぐに力学的作用や静電作用により容易に凝集し、サブミクロンまたはミクロンオーダーの粗大粒子に凝集することが報告されている¹⁾。ナノマテリアル由来の粒子のような健康に悪影響を及ぼすとされる粒子が堆積した排気処理装置内のフィルタユニットは、ユニット交換時の振動によって粒子が容易に飛散することで、交換作業員への健康影響が懸念される。そこで本研究では、粒子が負荷されたろ材に凝集作用を有するポリアクリルアミド両性電解質 (APA: Acrylamide Polyampholytes) 溶液を噴霧することで、汚染粒子をろ材上に固着させて飛散を抑える技術を確立することを目的とした。

具体的には、粒子が負荷されたろ材に凝集作用を有する APA 溶液を負荷することで、汚染粒子をろ材上に固着させて飛散を抑える技術を確立することを目的として、排気処理用の HEPA フィルタろ材と作業者が使用する防塵マスク用ろ材に着目して、従来のスプレーノズルとスプレー缶による噴霧法での飛散防止効果を調べた。さらに、従来の HEPA フィルタろ材の代替として期待される PTFE フィルタろ材に対するサブミクロンオーダー粒子の飛散防止効果を調べた。その結果、以下に得られた知見を示す。

- 1) スプレー缶を用いた場合、従来のスプレーノズルに比べて劣るものの最大で 85 % の粒子の飛散を抑制できた。これにより、防塵マスクの脱着時マスク内のフィルタユニット交換時のろ材に堆積した粒子の再飛散を容易に抑えられることが期待できる。
- 2) PTFE ろ材は、薄層のため飛散する粒子の大半は実験開始初期に飛散し、HEPA フィルタろ材は、厚層のため繊維深層部に達した粒子が間欠的な逆洗気流によって徐々に飛散した。
- 3) PTFE ろ材に APA 溶液を負荷すると、PTFE 繊維の撥水作用により APA 溶液の液滴が形を留めのまま繊維に付着し、そこに捕集された試験粒子が凝集した。
- 4) PTFE ろ材はナノファイバーろ材であるため、層厚みが極端に薄く粒子保持容量が小さいが、APA 溶液を負荷することにより捕集に寄与する繊維表面を更新できることから、粒子の堆積したろ材を再生利用する技術としても期待できる。

蓄電池用電解液の溶媒・電解質塩・希釈剤の物理化学的機能分担

環境化学科 准教授

関 志朗

Li-S 電池系の実現は高容量、低コストでの電池作製を可能とする。Li-S 電池系の課題は、充放電時に S 正極の反応中間体である多硫化 Li (Li_2S_x) が電解液中へ溶出し、電池の著しい寿命低下を引き起こすことである。この課題に対し、 Li_2S_x の溶出を抑制する正極難溶性電解液として「溶媒和イオン液体 (SIL)」の適用が見出されている。しかし、S 正極/電解質界面で過渡的な Li^+ との配位状態にない遊離したエーテル分子の生成、及びこれへの Li_2S_x の微量溶出により本質的な Li_2S_x 溶出の課題解決には至っていない。この解決方策として、我々は過剰量の Li 塩を溶解させ、 Li_2S_x の溶出を徹底的に抑制することを提案した[1]。高性能の電解液を得るには高いキャリアーイオン濃度と高い移動度の両立が重要である。そのため、電解液の粘度低減のため低粘性のフッ素系希釈溶媒 (HFE) を添加し、SIL の特性を損なうことなく Li-S 電池の性能向上を図った。HFE/SIL 間ではマイクロ相分離構造が報告されており、SIL の安定な液体構造 (Li_2S_x 難溶解性) を保ち、粘度のみを低下させること (Li^+ 移動度の向上) を期待した。

2 種の液体を混合した時、加成性が成り立つと考えられる密度の理想値を 0 とし、その理想値からのずれを表した値を過剰密度 E_ρ と定義し、混合時の物理化学的性能の変化を解析した。HFE 希釈した等モル・高 Li 塩組成 SIL 電解液の過剰密度 (E_ρ) の HFE 組成依存性を検討した結果、303.15K 以下では、両 SIL への HFE 添加により E_ρ は常に負の値を示し、SIL/HFE 間で反発を生ずることを示唆した。また、高 Li 塩組成 SIL の E_ρ は負の絶対値がより大きく、SIL 中の Li 塩組成は、SIL と HFE の相互作用に影響することが示された。得られた E_ρ より各 SIL への HFE 添加時において想定される混合モデルのイメージを検討すると、等モル SIL・高 Li 塩組成 SIL の場合の双方において SIL 構造が安定に保たれ、複数分子によるクラスター構造を取り、その近傍を HFE が取り囲む構造が推察された[2]。一方、これまででの SIL と HFE の混合電解液物性の結果は、分子レベルの詳細な液体構造を直接的に説明できるものではないため、今後分光法 (ラマン分光、高エネルギー X 線回折等) 及び計算化学 (DFT 計算、MD シミュレーション等) に基づく考察が必要と考えられた。

[1] Y. Ishino, K. Takahashi, W. Murata, Y. Umebayashi, S. Tsuzuki, M. Watanabe, M. Kamaya, S. Seki, *Ener. Tech.*, 1900197, pp 1-4 (2019).

[2] K. Takahashi, Y. Ishino, W. Murata, Y. Umebayashi, S. Tsuzuki, M. Watanabe, H. Takaba, S. Seki, *RSC Adv.*, **9**, pp 24922-24927 (2019).

3本らせんをとらないコラーゲンポリペプチドと腫瘍

生命化学科 教授

今村 保忠

3本らせんをとらないコラーゲンポリペプチド鎖を NTH とよぶ。NTH は生理的条件下で合成され、血管新生と腫瘍との相関が指摘されている。申請者は、腫瘍化した細胞が NTH を多量に産生し、血管新生を誘導することで、腫瘍化が促進されるという作業仮説を着想した。本研究では、腫瘍細胞において、何が NTH 産生を引き起こすのかを明らかにする。特に、低酸素と腫瘍代謝について検証する。また、NTH がどのように腫瘍に関わるかを明らかにする。

まず、血管新生誘導への NTH の関与を検証した。正常細胞においては、NTH はアスコルビン酸欠乏下に産生される。しかしながら、血管新生時には *in vivo* において、また、*in vitro* の血管新生モデルにおいても NTH が産生されることを明らかにした。*in vitro* の実験系ではアスコルビン酸存在下にも NTH が産生されることを見出した。NTH 産生の新しい制御ポイントがあることが明らかにされた。そこで、培養細胞を用いて、NTH 産生条件を再検討した。低酸素条件、擬似低酸素条件において産生されることを確認できた。炎症性サイトカイン投与条件では、明確な NTH 産生が確認できなかった。NTH が血小板を直接活性化するかを検討を開始したが、実験系の構築に手間取り十分な結果を得られず、次年度へ持ち越すことになった。

腫瘍細胞に関しては、多くの細胞で NTH 産生が確認された。また、NTH の分解産物が腫瘍の増殖に促進的に作用することを明らかにした。今後、直接関与するペプチドの単離同定が必要になる。現時点では、腫瘍細胞における代謝の偏りが NTH 産生に関連するとの推測できるが、実証する必要がある。

他波長データアーカイブを利用した多変数星形成則の構築

基礎・教養科 准教授

小麥 真也

銀河においてガスが星へ変換される際の量的関係、「星形成則」を従来の1変数・キロパーセク分解能の関数から多変数・100パーセク分解能の関数へ拡張することが目的である。近傍銀河の分子雲約1000個について星形成およびその周辺環境の物理量や進化段階をカタログ化する。分子雲の進化過程や星形成と周辺環境の動的平衡状態について示唆を得て、また銀河シミュレーション分野に強い観測的制限を与えることが期待されている。本奨励研究費を受けて、まず近傍銀河 M33 に対して行った大規模な分子ガスと星間塵の観測と解析についての初期的な成果をヘルシンキで開催された国際会議” Linking the Milky Way and Nearby Galaxies” で発表した。75 個という少数の分子雲に対する検討ではあったが、多変数星形成則を構築するための統計的手法を確立することができた。

さらに大規模なサンプルを用いて統計的議論を推し進めるために必須となる分子雲のカタログ化を行うために、近傍銀河 NGC4321 を選定した。NGC4321 はアタカマ大型ミリ波サブミリ波干渉計 (ALMA) を用いて欧州の主導するグループによる観測が完了しており、未整約のデータがアーカイブ化されている。報告者はこれらの銀河についての一酸化炭素輝線観測データの再解析を開始し、観測者である欧州のグループに比していち早く精密な分子雲の広域マップを得た。分子雲のカタログ化を推し進めるなかで NGC4321 については通常の円盤銀河では想定されない特異的な構造を発見した。銀河全体の回転方向とは逆回転する巨大なガス構造であるが、力学的な検討を重ねた結果、それが過去の小規模な銀河衝突イベントによる潮汐的な構造であることを提唱し、愛媛大学宇宙進化研究センターでのセミナーを行った。このような発見は ALMA のような大規模データアーカイブを徹底的に利用する本研究に特徴的な副産物ともいえる。

分子雲のカタログ化の検討は別途推し進めている。ALMA のデータベース構築に用いられているパイプラインを流用することで半自動的にカタログ化が可能となる見込みがある。国立天文台の研究者と共同で令和2年度の科学研究費(基盤C)を獲得した。今後は基盤C科研費の研究計画に従って、分子雲の進化段階を効率的に評価する方法を検討していく。

物質性の観点からの近現代都市空間史の探求

建築デザイン学科 准教授

初田 香成

近年の災害による建築や都市空間の物理的な破壊は、それらが単なる物質からできていることに改めて気づかせてくれた。物的側面から建築を考えることは、狭義の建築史ではある意味で当然の方法として行われてきたが、単体の有名建築ばかりが扱われがちだった。これに対し、本研究は建築・都市空間の物質性という特性に着目し、バラックから持ち家へと変貌していった都市空間の近現代化過程を解明しようとするものである。日本の都市は高度経済成長を通じてバラックを消滅させ、持ち家を普及させてきたが、大量に建設された持ち家は現在、空き家の増大、震災などの問題に直面しつつある。一方、バラックは災害後の復興過程においてブリコラージュ的に建設され、一度建つと法的権利がなくても即物的に持続するという、物質性の特性を体現してきた。このような観点から本研究はバラック建築の物質的な特性を見直し、それが持ち家に変貌していった戦後の転換過程に着目した。成果は次の三点にまとめられる。

第一に闇市跡を中心としたバラックについて全国規模でその残存状況を把握し、新宿西口・思い出横丁の建築実測調査を行った。この結果、一見雑多に見える闇市の建築の増改築について、間口寸法と地形条件、当初の架構といった観点から法則性を読み解いた（成果は2020年度日本建築学会大会学術講演梗概集に2本の梗概として投稿した）。

第二に日本で持ち家が普及する転機となったGHQによる戦後改革の影響を解明するため、米国立公文書館の史料調査を行った。この結果、米国が終戦以前に日本の住宅に関心を寄せて調査を行い、住宅営団を含む戦時中の公的機関を清算することを占領方針の前提としたこと、同時に経済復興を進めるために援助資金をもとに住宅金融公庫を設立したことなどがわかった。

第三に2019年12月に日本建築学会都市史小委員会シンポジウム「シリーズ都市空間の物質性（マテリアリティ）」第二回「旅の媒介装置 物的環境が拓く関係性」を開催し、旅行史や美術史の研究者も招き、物質性の象徴的局面について議論を行った。シンポジウムは物質性に関する方法論について学際的議論を行うことを目的とし、2020年度も開催予定である。

音場浮遊法を活用した非接触流体制御： 浮遊液滴の微粒化メカニズムの解明

機械工学科 准教授
長谷川 浩司

近年、分析化学、生物、医学・創薬分野、さらには物質科学分野をはじめとした幅広い分野において、非接触流体制御技術が注目されている。特に、非接触流体制御技術の1つである音場浮遊法は、容器壁面からの汚染の影響を抑制することや流体次第では人体への危険が回避可能であるという利点に加え、静電浮遊法や電磁浮遊法などのその他の浮遊法と比較して制御対象流体に制約がないことから積極的な活用が望まれている。しかしながら、浮遊液滴には、大変形や微粒化の発現に加え、非線形効果である音響流との連成により、従来とは異なる熱・物質輸送が発生することが明らかとなっている。このような浮遊液滴の非線形ダイナミクスが非接触流体制御に及ぼす影響については、限定された理論的や数値解析的な知見は拡充されてきたものの、実験技術上の困難が主な理由となって、実験的知見をベースにした複合現象に対する網羅的理解が乏しいのが現状である。

本研究では、非接触流体制御技術の1つである音場浮遊法を活用し、浮遊液滴の微粒化ダイナミクスの発生メカニズムを特定し、高精度に安定浮遊条件を明らかにすることを目的とした。従来の音場浮遊技術では、線形的な液滴挙動を前提としているものの、申請者らの先行研究によって、音場浮遊液滴には、界面大変形や微粒化などの非線形現象が発現することが示されており、浮遊液滴の浮遊安定性向上のための知見が求められている。本申請では、非線形音場中に浮遊する液滴の微粒化過程に対して、高速度イメージングにより定量的実験情報を獲得すると同時に、実験では直接計測が極めて困難である液滴界面での圧力分布などを求めるための数値解析的検討も行った。得られた成果は、査読付英文雑誌に2編掲載（いずれも本学学生が筆頭著者）されるとともに、国際学会で2件、国内学会で5件の発表を行った。

以上のように得られた成果は、広範囲な応用分野に適用可能な新たなマイクロフレイディクス技術の基礎として革新的な非接触流体制御技術の確立に資すると考える。今後、より詳細な物理現象の把握のためには、光干渉計などを活用し、非接触で物理量計測をすることで浮遊液滴の界面近傍局所における熱物質輸送の時空間変動を定量的に明らかにする必要がある。

プラズマアクチュエータが誘起するスパン渦と縦渦を スマートに利用した高性能剥離制御

機械理工学科 准教授
佐藤 允

多くの流体機器では、流れが物体表面から離れてしまう「剥離流れ」がしばしば生じる。物体周りの流れをコントロール(制御)することで、剥離流れの抑制を実現できれば、流体機器の性能向上と騒音低減に大きく貢献できる。現在に至るまで流れの制御に関する研究は様々なアプローチで行われている。特に近年では誘電体バリア放電プラズマアクチュエータ(DBDPA)やシンセティックジェットといった比較的サイズの小さいデバイスを用いた流体制御技術が注目を集めている。

DBDPAを用いた流体制御では、流れの方向にPAを配置することによって、従来のボルテックスジェネレータと同様の効果を示す、ボルテックスジェネレータ型プラズマアクチュエータ(VG-PA)や、スパン方向に一様に設置したスパン型プラズマアクチュエータ(SP-PA)が主流である。既往研究より、SP-PAではPAの設置位置と流れ場の剥離点位置の関係が制御効果に極めて大きな影響を与えるため剥離点近傍にPAを設置することが重要であること、間欠的に駆動を行う「バースト駆動」が「連続駆動」よりも制御効果が高くなることが明らかになっている。一方、VG-PAではPAの設置位置と剥離点位置の影響は小さく、剥離点近傍にPAを設置する必要がないこと、VG-PAでは「連続駆動」による縦渦の生成が効果的な制御には重要であるため、投入運動量がSP-PAの数10倍になることが明らかになっている。これらの知見より、SP-PAとVG-PAの相補的使用により、各PAが有する問題の解決が図れるものと考えられる。

2019年度の研究では、Jukesらによって行われたVG-PAによる剥離制御実験をベースとし、VG-PAの配置、特にPAの間隔が制御効果に与える影響についてLarge-eddy simulation(LES)を用いて明らかにすることを目的とした。本数値解析は格子点数が1億程度の大規模な計算であるため、スーパーコンピュータOakforest-PACSを用いて行った。

本数値解析により以下の知見が得られた。

- (1)VG-PAの間隔 λ が翼の揚力係数、抗力係数、揚抗比に与える影響を調べた結果、揚力係数では $\lambda=0.1c$ 、抗力係数では $\lambda=0.05c$ 、揚抗比では $\lambda=0.1c$ のケースが最も制御効果が高いことがわかった。ここで、 c は翼コード長である。
- (2)層流境界層流れにおける縦渦生成の数値解析結果と本LESの結果より、VG-PAを用いた剥離制御においては、PAの間隔を、相対して生成される縦渦同士が適切な位置で衝突・合体するように設定することが制御効果を高めることがわかった。

レーザーポストイオン化による電界蒸発機構の解明と アトムプローブ顕微鏡の高精度化

応用物理学科 教授
坂本 哲夫

表記タイトルの研究は、科研費が採択されてから開始しようとしているテーマであるため、具体的にこの間、研究を進めたわけではないが、レーザーポストイオン化の部分は長いスパンでの研究として継続中であるため、その点について報告する。

レーザーポストイオン化とは、イオンビーム照射により、飛び出すスパッタ原子・分子のうち、殆どを占める中性粒子をイオン化する手法であり、スパッタ後にイオン化させることから、この名称がついている。本研究におけるレーザーポストイオン化は、アトムプローブ顕微鏡において、試料針の先端から電解蒸発した原子のうち、これまで余り注目されてこなかった中性原子をイオン化・検出し、アトムプローブの分野で議論の的となっている、電解蒸発機構について新しい測定事実を得ようとするものである。レーザーポストイオン化には大別して、非共鳴多光子イオン化と、共鳴多光子イオン化の2種類がある。電解蒸発機構の解明においては、どちらのイオン化方法でも新たなデータが得られるが、一般に、アトムプローブ装置では直線飛行型の質量分析計が用いられることが多く、質量分解能は整数マスあればよいとされている。しかしながら、メカニズムの解明ともなると、クラスターや水素付加イオン、化合物イオンも検出できた法がよく、そうなると質量分解能が足りず、同重体干渉によってデータが不明瞭になる可能性がある。そこで、共鳴イオン化を行えば、特定の元素だけをイオン化できるため、同重体干渉の問題はなくなる。そのための波長可変レーザーとして、**Ti:Sa** レーザーを **JST** プロジェクトにより開発しており、その **Ti:Sa** レーザーにより共鳴イオン化は実施可能である。アトムプローブは原子一つ一つを試料針から電解蒸発させ、位置敏感検出器にて、どのサイトから飛び出した原子なのかを辿ることができる。これにより、数ナノメートルサイズの領域の3次元元素分布が再構築できるのであるが、飛び出した原子がどのくらいの割合でイオン化・検出されているのか、あるいは、中性原子は放出されているのかなどについては、未解明な部分が多く、本手法はそれらを明らかにするものであり、次年度以降も申請をしていく予定である。

IoT による路線バス最適化の研究

システム数理学科 教授
三木 良雄

研究背景と課題

少子高齢化社会全体の持続性に路線バス等の公共交通機関の存続は必須課題である。しかし、高度経済成長期に形成された都市構造（団地、学校、バス路線）と利用者の乖離、路線バス運転手の不足が進み路線バス事業の収益性と事業継続性は苦しい状況に直面している。一方で IT を活用した交通システムとして MaaS (Mobility as a Service) が提案されている。しかし、この種システム事業者サイドから見た場合、オンデマンド交通システムが前提となるため利用者の要求に応じてコストが発生するモデルとなり、事業性をさらにひっ迫することが懸念される。普及している北欧諸国では高い福祉税率に基づく事業補助によりこの GAP が補填されサービス提供が成立している状況である。

研究内容

我々は 2015 年度から西東京バスとの共同研究にて、路線バス停留所の利用客数を都市の観測対象とした IoT ととらえ、ビッグデータ解析に基づく市民の移動モデルや提供サービスを事業者ならびに市政へ提案してきた。先の研究課題に対する答えとして本年度の研究では、乗合交通とオンデマンド交通のハイブリッド型交通システムを考案した。本システムでは、まず①大病院など比較的長時間の待ち時間が発生するサービス事業者と交通事業者を一体化したサービスモデルを想定する。②デマンド発生時に一体化したサービス全てに予約が可能。③到着してからの待ち時間に基づき、すぐに交通サービスのスケジュールを行わない。④複数の利用者の待ち時間を総合して、乗合交通として複数の乗客をピックアップし目的のサービス事業者まで送り届ける。(図 1) (図 2) という利用者利便性と事業者の収益性を両立する。

研究状況

提案方式については交通事業者、八王子市等への提案を行ったが、新型コロナウイルスの影響により、市内病院の協力者を募ることができなかった。代替案として、観光地（観光スポットの滞在時間を長くして帰りの交通を予約する）モデルを作成。現在システム開発中であり、2021 年度に実証実験予定である。

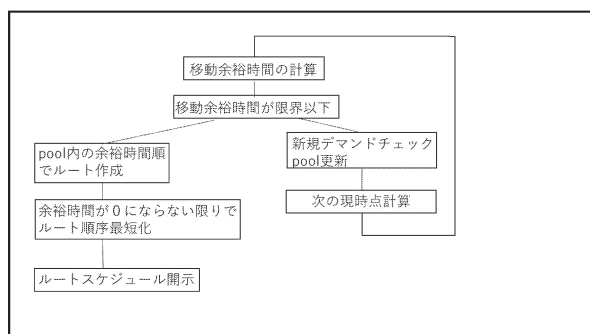


図 1 提案方式のシステム動作

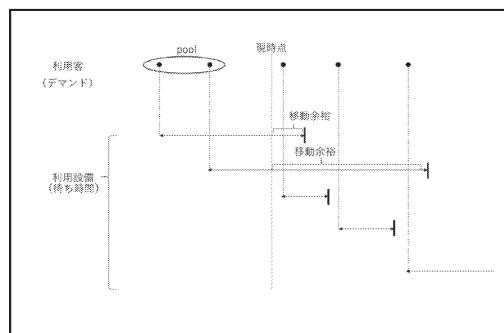


図 2 乗合実現のための時間説明

超高並列環境に対応する時空間多重格子法

コンピュータ科学科 准教授

藤井 昭宏

科学技術シミュレーションを考えると、多くの場合、時間方向と空間方向に領域が広がる問題を解くことになる。このような問題では時間方向に細かく時間ステップを刻み、時間ステップを進めるたびに、繰り返し連立一次方程式を解く必要があることが多い。多重格子法はそのための有力な手法として知られている。一般的にこのようなシミュレーションは、時間方向には強い依存関係があることが多く、空間方向の問題の並列化のみが行われ、時間積分の並列化は適用されてこなかった。しかし計算機システムの大規模化に伴い、時間積分の並列化の手法としても多重格子法を適用する手法が研究され注目されている。

多重格子法はこのように時間積分の並列化手法としても、連立一次方程式の解法としても適用できる。本研究では、この両面から研究を行った。時間積分の並列化の手法として TSC 法を提案し、発表した。さらに、多重格子法の一つである SA-AMG 法で連立一次方程式を解く際に安定化させる手法として、ニアカーネルベクトルを自動抽出する手法を提案し論文としてまとめた。以下に 2019 年度に行った主な研究成果について記述する。

1. Akihiro Fujii, Shigeo Kaneko, Teruo Tanaka, Takeshi Iwashita, “Time Segment Correction Method for Parallel Time Integration”, *Journal of Information Processing*, 2019, Volume 27, Pages 822-830, Released December 15, 2019, Online ISSN 1882-6652, <https://doi.org/10.2197/ipsjjip.27.822> .

非線形時間積分問題を対象に、それを並列化する手法を考案した。時間積分では 1 タイムステップを進めるために、ニュートン法が用いられることが多いが、複数の時間ステップの関係性を同時に更新するため、すべての時間ステップで一度にヤコビ行列を生成し、全時間ステップにまたがる大きい行列としてまとめ、それを粗く近似して解く手法 (TSC 法) を提案した。単純な非線形熱拡散のテスト問題での結果であるが、十分に有効性を発揮できるケースがあることを確認し、論文として発表している。実問題での応用例も模索していきたい。

2. 野村 直也, 中島 研吾, 藤井 昭宏, 「高スケーラブル・安定的な SA-AMG 法に向けたニアカーネルベクトル自動抽出手法に関する研究」*情報処理学会論文誌コンピューティングシステム (ACS)*, 12(3), 46-63 (2019-07-29), 1882-7829.

多重格子法の一つの SA-AMG 法でニアカーネルベクトルという成分を指定することで、解法が安定化することが知られているが、本研究では問題に応じたニアカーネル成分の自動抽出手法について提案し、その有効性を示した。

