

気液二相流解析を適用した顕微鏡用液浸水の自動供給システムの開発

Development of automatic water immersion dispenser for microscope applying numerical simulation of gas-liquid two-phase flow

- 和泉啓太, 株式会社ニコン, 神奈川県横浜市栄区長尾台町 471, Keita.Izumi@nikon.com
 荻本千津子, 株式会社ニコン, 神奈川県横浜市栄区長尾台町 471, Chizuko.Ogimoto@nikon.com
 八十川利樹, 株式会社ニコン, 神奈川県横浜市栄区長尾台町 471, Toshiki.Yasokawa@nikon.com
 Keita Izumi, Nikon Corp., 471, Nagaodai-cho, Sakae-ku, Yokohama, Kanagawa
 Chizuko Ogimoto, Nikon Corp., 471, Nagaodai-cho, Sakae-ku, Yokohama, Kanagawa
 Toshiki Yasokawa, Nikon Corp., 471, Nagaodai-cho, Sakae-ku, Yokohama, Kanagawa

Immersion water is supplied on an objective lens for the improvement of resolution of microscope imaging. To shorten the development period of the automatic supply system of immersion water and to improve the quality of the system, we investigated both numerical gas-liquid two-phase flow simulation and experiment. In order to accurately simulate the characteristic behaviors of the immersion water, we adopted MARS(Multi-interface Advection and Reconstruction Solver) method and a contact angle hysteresis function. From simulation and experiment results, we decided that the configuration of the dual nozzles is optimal for supplying the desired fixed amount of water, and we realized commercialization of automatic water immersion dispenser for microscope.

1. はじめに

顕微鏡等の光学機器の分解能は、その光の波長 λ と、標本(観察対象)と対物レンズ間を満たす媒質の屈折率 n に依存する。その関係式は、レイリーの式で知られている。

$$\text{分解能} = 0.61 \frac{\lambda}{n \sin \varphi} \quad (1)$$

φ は、光軸(対物レンズの回転対称軸)と対物レンズの最も外側に入る光線とがなす角度を表す。よって高解像度を実現するために、空気よりも屈折率の高い液体で標本と対物レンズの間を満たすことが19世紀から行なわれており、このような技術は液浸と呼ばれる(Fig. 1)。(1)(2) また、この標本と対物レンズの間を液体で満たす供給システムについても過去に検討がなされている。(3)(4) しかし、流体力学的な知見に基づいた液浸水の供給についての報告は見当たらない。本研究では、標本と対物レンズ間に水を自動的に供給するシステムを開発・設計する上で開発期間の短縮と品質向上のために、流体シミュレーションを活用して検討を行なったので報告する。

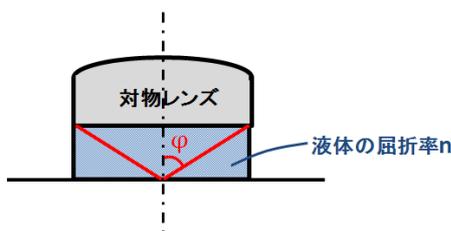


Fig. 1 液浸顕微鏡のイメージ

2. 接触角の理論

自由表面を伴う気液二相流の振る舞いを考える上で、対象のスケールが小さく粘性力や慣性力等に比べて表面張力が支配的である場合、材質の濡れ性を表す接触角を適切に扱うことが重要である。静的な状態であれば、接触角 θ は一定の静的接触角 θ_s で考えることができる。一方で、気液界面が動的に変化する場合は、界面変動に伴う接触角の履歴と界面の進行速度 V への依存性(動的接触角)とを考慮する必要がある。転落法における液滴の接触角の変化のイメージを Fig.2 に示す。 θ_1 が前進側の接触角、 θ_2 が後退

側の接触角である。また Fig.3 に接触角の変化のグラフのイメージを示す。横軸はキャピラリー数 Ca (2式)、または界面の進行速度 V である。

$$Ca = \frac{\mu V}{\sigma} \quad (2)$$

μ は液体の粘性係数、 σ は二流体間の表面張力係数である。 θ_r, θ_a はそれぞれ $V = 0$ における最小の後退接触角、最大の前進接触角であり、接触角の $\theta_r \sim \theta_a$ の間での変化は接触角履歴⁽⁵⁾と呼ばれる。Fig.2 の(a)は傾斜角 $\alpha = 0$ の場合で水平の状態を示しており、 θ_1 と θ_2 は静的接触角 θ_s に等しい。(b)は傾斜角 α が比較的小さい場合で θ_1 と θ_2 は接触角履歴により変化し、液滴は転落せずに静止している状態を示す。(c)は更に傾斜角 α を大きくした場合に液滴が転落する直前の傾斜角 α の状態を示している。このとき $\theta_1 = \theta_a, \theta_2 = \theta_r$ である。(d)は液滴が転落する状態まで傾斜角 α を大きくした場合を示し、 θ_1 と θ_2 は界面の進行速度 V によって変化する。

動的接触角の気液界面の進行速度の依存性は、様々な理論式が提唱されているが、Cox-Voinov の法則⁽⁶⁾⁽⁷⁾によれば次式の右辺第二項で表される。

$$\begin{aligned} \theta_1^3 &= \theta_a^3 + 9Ca \ln(L/L_s) \\ \theta_2^3 &= \theta_r^3 - 9Ca \ln(L/L_s) \end{aligned} \quad (3)$$

ここで、 L はキャピラリー長程度のマクロな長さ、 L_s は分子の大きさ程度のマイクロな長さ(スリップ長)と定義されており、およそ $\ln(L/L_s) \sim O(10)$ 程度である。但し、これらのパラメータに明確な定義は無いため、 $\ln(L/L_s)$ は実用上フィッティングパラメータとして考えられている。⁽⁵⁾⁽⁸⁾

つまり、キャピラリー数がある程度大きい現象の場合は、動的接触角の影響が無視できないが、キャピラリー数が非常に小さい現象の場合は、接触角履歴の大きさに比べて動的接触角の寄与は小さく無視して考えることができる。

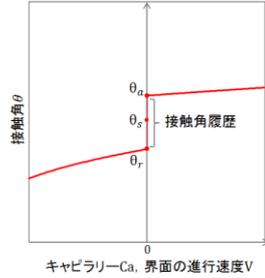
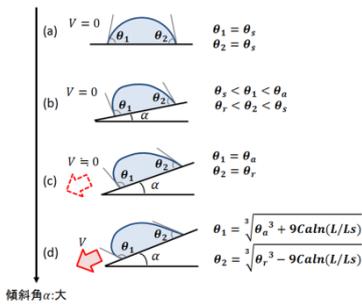


Fig. 2 転落法における液滴の接触角変化

Fig. 3 接触角の変化のグラフのイメージ

3. 接触角を扱うシミュレーション

接触角の変化を扱う上で、数値シミュレーションには、大きく分けて2つのアプローチがある。

一つは流体を連続体として考え、接触角については何らかのマクロなモデル化を行なう手法である。流体を連続体として扱うシミュレーション手法については、VOF 法や Level Set 法等があり、過去にこれらの手法に対しモデル化が検討されている。(9)(10)(11)(12)

もう一つの手法は、分子動力学法によるミクロなシミュレーションである。このタイプのシミュレーションでは、固体表面と流体とのミクロな相互作用を考慮したシミュレーションがなされている。表面の凹凸や化学的性質に対する検討が過去に報告されている。(13)(14) 分子動力学法による計算は、計算コストが高く計算対象のスケールがナノメートルレベルの小さなものに多用される。

本研究では、対象とする顕微鏡対物レンズのスケール(ミリメートルオーダー)において、装置構成の検討にシミュレーションを活用するために、連続体として扱う手法から商用ソルバー等で汎用的に広く使われている VOF 法を選択した。また、本研究対象は、キャピラリー数が $10^{-6} \sim 10^{-5}$ 程度の非常に小さなオーダーであるため、動的接触角に比べて接触角履歴の方が大きく支配的であると考えた。よって、VOF 法に関して接触角履歴をアルゴリズム化した Chen Fang⁽¹¹⁾らの手法を参考にした。

4. 計算手法

4. 1. MARS 法

本研究では、計算メッシュに関しては、設計へのフィードバックを意識した上で計算時間の点で有利である直交格子⁽¹⁵⁾を採用する。また、直交格子系において界面形状を正確に再現するために VOF 法を拡張した MARS 法⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾を用いる。以下で、MARS 法と VOF 法における界面輸送の定式化の違いについて述べる。MARS 法では、VOF 法と同様に流体体積率(VOF 値)を定義してそれを解く。VOF 値の移流に関しては次のように定式化される。

$$\frac{\partial VOF}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla)VOF = \frac{\partial VOF}{\partial t} + \nabla \cdot (VOF \mathbf{u}) - VOF(\nabla \cdot \mathbf{u}) = 0 \quad (4)$$

t は時間、 \mathbf{u} は流体の速度である。ここでは、簡単化のため二次元について考える。VOF 法では、各格子上で VOF 値と流体速度に応じて VOF 値を隣接格子に輸送することで界面形状を捉える。ところが、VOF 法による界面輸送では、Fig. 4 に示すように、元形状が円形の場合、VOF 値の分布は採用した直交格子の場合に階段状に認識されてしまう。一方で、MARS 法では、Fig. 5 に示すように微小時間 Δt の間に輸送される VOF 値(δVOF)を求めるために、単一格子上での界面形状を考える。隣接格子に接する格子境界で流体 1 が占める流れ方向に垂直な面積率を $S(x)$ とし、同格子境界上での x 方向の流速を u_x と置くと、 δVOF は次式で表される。

$$\delta VOF = \int_{x-u_x \Delta t}^x S(x) dx \quad (5)$$

MARS 法では、このとき界面形状を連続な一次関数(line-segment 関数 $C(x)$ ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾)で近似するため、Fig. 4 に示す通り VOF 法よりも正確に扱うことができる。これにより、式(4)左辺の第二項は次のように差分化される。

$$\nabla \cdot (VOF \mathbf{u}) = \frac{1}{\Delta t} \left(\frac{\delta VOF_{i+1} - \delta VOF_i}{\Delta x} + \frac{\delta VOF_{j+1} - \delta VOF_j}{\Delta y} \right) \quad (6)$$

i, j はそれぞれ差分化した際の要素の x, y 方向の面番号である。式(6)は二次元について記述したものであるが、三次元への拡張は容易である。

表面張力については、式(7)に示す CSF モデル⁽⁹⁾によって体積力で表わされる。

$$F_v(\mathbf{x}) = \sigma \kappa(\mathbf{x}) \mathbf{n}(\mathbf{x}) \frac{\rho(\mathbf{x})}{\frac{\rho_1 + \rho_2}{2}} \quad (7)$$

ここで、 $\kappa(\mathbf{x})$ は界面の曲率、 $\mathbf{n}(\mathbf{x})$ は界面の単位法線ベクトルを表わす。 σ は2流体間の表面張力係数、 $\rho(\mathbf{x})$ は気液界面における流体の密度であり、 ρ_1, ρ_2 はそれぞれ流体 1 と流体 2 の密度である。 \mathbf{x} は気液界面の位置を表わす。気液界面と固体壁面が接触する位置 \mathbf{x}_w における境界条件は、Fig. 6 に示す接触角 θ を用いて界面の単位法線ベクトルを、

$$\mathbf{n}(\mathbf{x}_w) = \mathbf{n}_w \cos \theta + \mathbf{t}_w \sin \theta \quad (8)$$

と与える。ここで、 \mathbf{n}_w は壁面の単位法線ベクトル、 \mathbf{t}_w は気液界面と壁面の接触線に垂直で壁面に平行な単位ベクトルである。

なお、本計算を行なうにあたり、ソルバーは STREAM[®](ソフトウェアアクレイドル社製)を利用した。

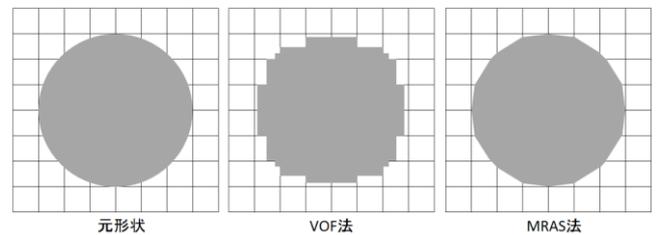


Fig. 4 VOF 法と MARS 法の界面形状の違い

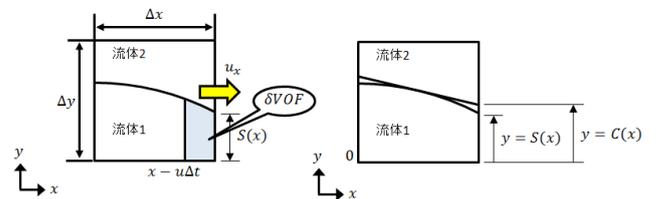


Fig. 5 MARS 法における流体界面と δVOF の関係

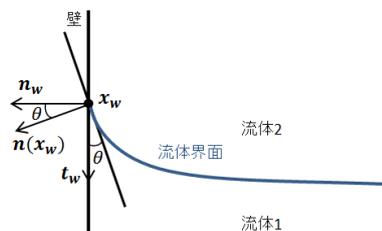


Fig. 6 接触角と界面の法線ベクトルとの関係

4. 2. 接触角履歴の関数化

接触角の履歴効果を関数として与える. Chen Fang⁽¹¹⁾らのアルゴリズムでは接触角 θ を

$$\theta(t + \Delta t) = \theta(t) + H(\theta(t) - \theta_r)H(\theta_a - \theta(t)) \frac{\partial \theta}{\partial VOF} \Delta VOF \quad (9)$$

と表現する. t は時間である. ここで, H はヘヴィサイドのステップ関数であり, θ_r , θ_a はそれぞれ後退接触角, 前進接触角を表わすパラメータである. つまり, 接触角 θ は, θ_r と θ_a の間を変化することを表わす. 時間ステップあたりの変化 $\frac{\partial \theta}{\partial VOF}$ については, VOF 値と接触角との幾何的な関係から求まる. 本研究では, 簡略化のため MARS 法に対しこの変化 $\frac{\partial \theta}{\partial VOF}$ を求める過程を省略し定数とした. なお, 実装は STREAM[®]のユーザ関数機能を用いて行った.

5. 計算手法の検証

5. 1. 検証方法

検証は, Fig.7に示す Chen Fang⁽¹¹⁾らが実施した遠心力を印加した際の水滴の観察実験と同等のシミュレーションモデルを作成し(Fig.8), 結果を比較する. この実験では, 1.2mm の径の水滴が回転体の上に配置されており, 遠心力を変化させた場合の水滴移動について観察されている. 遠心力と重力の単位 G は重力加速度である. 水滴が配置される平面の接触角についても Chen Fang らによって測定されている. 作成したシミュレーションモデルを Fig.8.9に示す. 計算格子数は, $96 \times 96 \times 55$ である. 計算格子は不等間隔とし, 水滴が存在する領域近傍は密にしている. 計算領域の境界面に対し, $+z$ 方向は, 表面圧力規定条件, $\pm x, \pm y$ 方向は, 自然流出条件を与えている. $-z$ 方向は, 壁条件(non-slip)と式(8), (9)で表される接触角条件を与える. 接触角のパラメータについては, Chen Fang らが測定した値 $\theta_a = 144^\circ, \theta_r = 91^\circ$ を用いる.

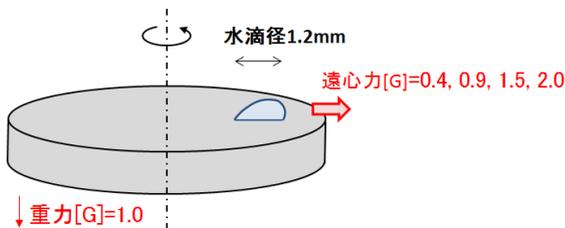


Fig. 7 Chen Fang⁽¹¹⁾らの実験イメージ

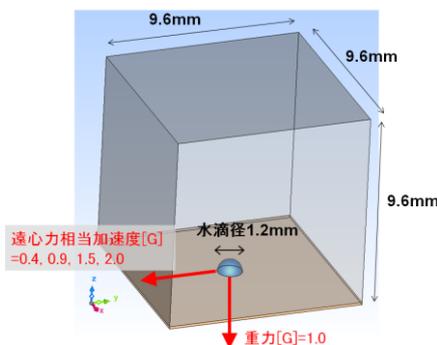


Fig. 8 検証用シミュレーションモデル

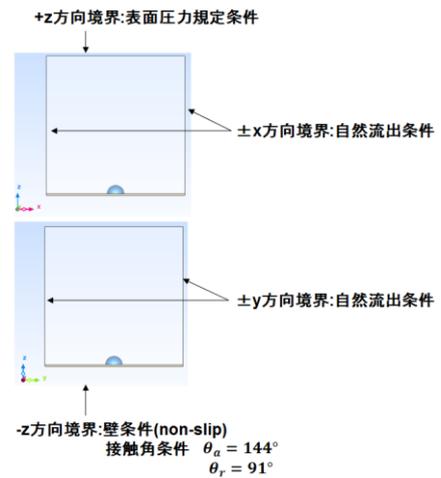


Fig. 9 検証用シミュレーションモデルの境界条件

5. 2. 検証結果

遠心力を加えてから 0.01 秒後のシミュレーションの結果を, Fig. 10に示す. Chen Fang らの実験同様に, 遠心力が小さい場合は接触角履歴の影響により水滴が移動せず, 遠心力が大きくなると水滴が移動するという挙動が見えている. なお, 遠心力 0.4g, 0.9g のケースでは, 0.01 秒後以降も水滴が移動しないことを確認している. 遠心力が 1.5g の場合, シミュレーションでは水滴が移動しはじめており, 実験との差異が見られた. 与える遠心力が 0.9-2.0g の間に移動有無の遷移境界がある様に見える.

遠心力[G]	シミュレーション結果	Chen Fang ⁽¹¹⁾ らの実験
0.4	移動しない	移動しない
0.9	移動しない	移動しない
1.5	移動する	移動しない
2.0	移動する	移動する

Fig. 10 0.01 秒後のシミュレーション結果

6. 顕微鏡用液浸水供給システムへの計算手法の適用

6. 1. 基礎検討

基礎検討として, 単純な水供給のシステムを組み, 実験・シミュレーションの双方から検討を行なった. Fig. 11に実験系の写真とイメージを記す. 対物レンズとカバーガラスの間に x 方向からノズルで水を供給する. 供給流量は約 $100[\mu\text{L}/\text{min}]$ とした. また, 対物レンズとカバーガラスの間のワーキングディスタンス(WD)はレンズの仕様によって決まり, 約 $0.17 \sim 0.95[\text{mm}]$ である. また, 各材質について, 接触角計を用いて静的接触角の測定を行なった. シミュレーションでは, これらの値をベースにして実験の観察との比較を行ないながら式(9)の合わせこみを行なった. 合わせこみ後のシミュレーションの結果と実験の観察結果の比較を Fig.12 に示す. ノズルのサイズや配置等を適切に設計することにより, 実験とシミュレーション双方で, 対物レンズの中心に適切に水が供給可能なことを確認した.

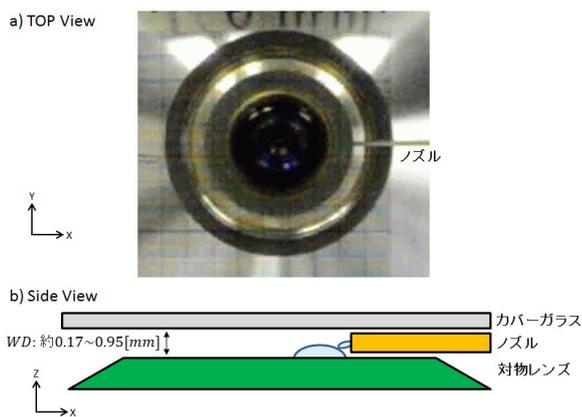


Fig. 11 基礎検討用実験系の概略図

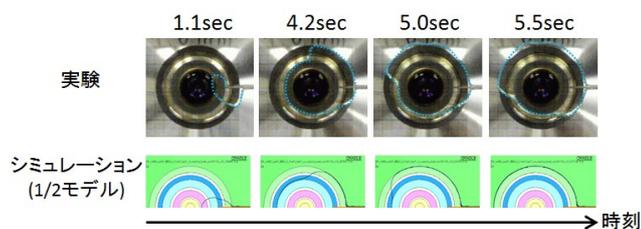


Fig. 12 実験とシミュレーションによる基礎検討

6. 2. 製品システムへの適用検討

基礎検討で得られた接触角履歴のパラメータを用いて、製品システムの検討を進めた。水の供給量を一定にコントロールするために、様々な構成をシミュレーションレベルで検討した上で、最終的に安定性や製造の実現性の観点で、デュアルノズルの構成を採用した。一方のノズルで供給すると同時にもう一方のノズルで回収する。これにより、水がある量まで供給された時点で供給と回収が釣り合い対物レンズ上の水量を一定に保持可能となる。シミュレーションで最適化した供給条件で、実験でも適切に水量コントロール可能なことを確認した (Fig. 13)。

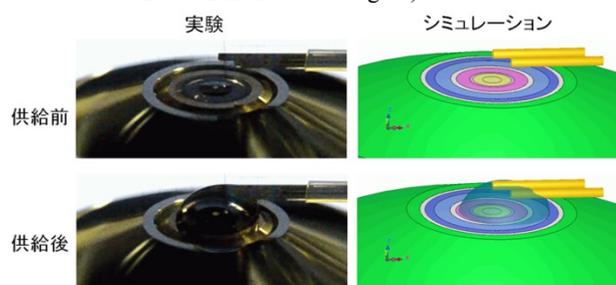


Fig. 13 実験とシミュレーションによる製品システム検討

7. おわりに

顕微鏡の標本と対物レンズ間の水の供給を自動化するために、流体シミュレーション、実験の双方からシステム検討を行なった。シミュレーションでは、自由表面解析手法である MARS 法に対し接触角履歴を与えた。供給される水量を一定とするために、デュアルノズルの構成を採用し、研究用倒立顕微鏡 ECLIPSE Ti2-E の液浸水自動供給システム(ウォーターイマージョンディスペンサー)⁽²⁰⁾として 2017 年に製品化した。

謝辞

本研究を進めるに当たり、株式会社ニコンの高橋聡志博士、小池哲也氏、木村聡氏、竹内淳氏には助言、協力を頂いた。また、株式会社ソフトウェアクレイドルの岡森克高氏、信井紘一郎氏に

は流体解析を行なうにあたり貴重な助言を頂いた。ここに感謝の意を表します。

参考文献

- (1) ニコン(2017), 「さらに理解を深めるための顕微鏡知識 水浸対物レンズと油浸対物レンズの使い分け | 株式会社ニコンインステック」, <http://www.nikon-instruments.jp/jpn/learn-know/microscope-abc/learn-more-microscope/water-oil-immersion-objective-select> (閲覧日:2018年7月9日)
- (2) 熊本泰昭, "＜特集「光学顕微鏡法—その歴史と展望—」＞光学顕微鏡の歴史的外観," 京都府立医科大学雑誌 126(12), 787-796, 2017
- (3) Wasmund HF, Ploem JS., "A computer-based microscope as the foundation for automated prescreening systems," *Microscopica acta. Supplement*, 6(1983), 135-144
- (4) Smimoff WA., "An immersion oil dispenser for microscopes.," *Canadian journal of medical technology*,33(1971),243-244
- (5) Burak Eral, Dieter 't Mannetje, J.M. Oh, "Contact angle hysteresis: a review of fundamentals and applications," *Colloid and Polymer Science*, 291(2013), 2, 247-260
- (6) O.V. Voinov, "Hydrodynamics of wetting.," *Fluid Dynamics* 11(1976), 714-721
- (7) R.G. Cox, "The dynamics of the spreading of liquids on a solid surface.," *Journal of Fluid Mechanics* 168(1986), 169-194
- (8) 山本恭史, "特集 移動接触線問題の数値シミュレーション," *混相流(日本混相流学会誌)*,28(2014),1,12-18
- (9) S. van Mourik, A. E. P. Veldman, M. E. Dreyer, "Simulation of capillary flow with a dynamic contact angle," *Microgravity Science and Technology* 17(2005), 87-94
- (10) S. Afkhami, S. Zaleski, M. Bussmann, "A mesh-dependent model for applying dynamic contact angles to VOF simulations," *Journal of Computational Physics* 228(2009), 5370-5389
- (11) Chen Fang, Carlos Hidrovo, Fu-min Wang, John Eaton, Kenneth Goodson, "3-D numerical simulation of contact angle hysteresis for microscale two phase flow," *International Journal of Multiphase Flow* 34 (2008), 690-705
- (12) Jean-Baptiste Dupont, Dominique Legendre, "Numerical simulation of static and sliding drop with contact angle hysteresis," *Journal of Computational Physics* 229 (2010), 2453-2478
- (13) Seung Do Hong, Man Yeong Ha, S. Balachandar, "Static and dynamic contact angles of water droplet on a solid surface using molecular dynamics simulation," *Journal of Colloid and Interface Science* 339 (2009), 187-195
- (14) Takahiro Koishi, Kenji Yasuoka, Shigenori Fujikawa, and Xiao Cheng Zeng, "Measurement of contact-angle hysteresis for droplets on nanopillared surface and in the Cassie and Wenzel states: A molecular dynamics simulation study," *ACS Nano* 5 (2011), 6834-6842
- (15) 小野謙二, "〔特集〕CFD の新展開 設計における直交格子法の利用," *ながれ* 21(2001), 16-25
- (16) 功刀資彰, "自由表面を含む多相流の直接数値解法," *日本機械学会論文集(B編)*, 63(1997), 1576-1584
- (17) 功刀資彰, "界面体積追跡法による気液二相流解析," *日本流体力学学会数値流体力学部門 Web 会誌*, 11(2003), 3, 108-120
- (18) 株式会社ソフトウェアクレイドル, "STREAM V14 ユーザーズガイド基礎編," 株式会社ソフトウェアクレイドル(2018)
- (19) Brackbill, J.U, Kothe, D.B, Zemach, C., "A continuum method for modeling surface tension," *Journal of Computational Ph*

ysics 100(1992),2,335-354

- (20) ニコン(2017), 「研究用倒立顕微鏡 ECLIPSE Ti2 - 特長・機能 | 株式会社ニコンインステック」, http://www.nikon-instruments.jp/jpn/bioscience-products/inverted-microscope/eclipse_ti/features (閲覧日:2018年3月9日)