B 202

高速3次元共焦点イメージングを用いた3次元マイクロPIV

木下 晴之[○], 大島 まり, 金田 祥平, 藤井 輝夫(東大生研)

3-D Micro-PIV Using High-speed 3-D Confocal Imaging Technique

Haruyuki KINOSHITA, Marie OSHIMA, Shohei KANEDA and Teruo FUJII

ABSTRACT

Three-component velocity measurement has been performed for micro flow using a 3-D micro-PIV technique. Sequential volumetric particle images are obtained using a high-speed 3-D confocal scanning microscopy. The present 3-D confocal system consists of a microscope, a Nipkow disk-based multi-spot confocal scanner, a piezo-driven objective positioner, and a high-speed camera. This system can scan the cubic domain of $240 \times 180 \times 19 \mu\text{m}$ in less than 100 milliseconds as changing the position of the confocal plane quickly in the out-of-plane direction by the objective positioner. As the result, we can record time series of 3-D spatial distributions of tracer particles in slow micro flow. All three components of velocity are obtained applying a 3-D PIV algorithm based on the 3-D cross-correlation method to the sequential volumetric images. We have measured a 3-D flow in a microchannel with a step using the 3-D micro-PIV technique. The out-of-plane component of velocity has been measured successfully in addition to the in-plane velocity distribution.

Keywords: Micro-PIV, 3-DPIV, 3-D confocal imaging, Piezo positioner, Backstep flow

1. 緒 論

マイクロサイズの流路を利用して生化学分析や遺伝子解析を行うマイクロ流体システム¹⁾では、サンプルや試薬はすべて流体(液体)を介して輸送され、処理される。そのためデバイス内部におけるサンプル流体の挙動が分析システムとしての性能や効率を左右する重要な要因の一つとなっている。したがって最適なデバイス形状やシステム構成を設計するためには、マイクロ流路内における流れ場に関する情報が必要不可欠である。現在ではマイクロ加工技術の進歩にともなって、より複雑で立体的なマイクロスケールの構造物や流路を容易に製作・利用することが可能となったため²⁾、その内部での流れも同じく複雑で3次元的になると予想される場合が多い。

マイクロスケールにおける流動現象を可視化・計測できる強力なツールとして、マイクロPIV³⁾がある。しかしながらいくつかの例外を除いて⁴⁻⁶⁾、そのほとんどが2次元水平面内の速度2成分しか測定することができない。マイクロPIVでは、その対象領域の小ささゆえに撮影上の光学的な制約が多く、マクロスケールPIVのようなシート光を利用した2次元断面撮影や、ステレオ視等の複数方向からの観察がほとんど不可能である。したがってステレオPIV⁷⁾や3-DPTV⁸⁾などマクロスケールで確立された3次元計測技術をそのまま応用することができない。とくに観察および撮影が顕微鏡光軸方向のみに

限られるために、面外方向(垂直方向)への粒子移動情報を画像から抽出することが極めて困難である。

そこで本研究では、マイクロ流れの速度3成分計測を実現するために、高速3次元共焦点イメージングを利用した3次元PIV法を新たに提案する。さらにそれを用いて実際にマイクロチャネル内のバックステップ流れに適用することで、3次元マイクロPIVの可能性を探る。

2. 3次元共焦点マイクロPIV

2.1 3次元PIV

速度3成分を算出するため、ここでは3次元立体粒子分布画像を取得し、それに対して3次元相関法を用いる。通常の2次元PIVやステレオPIVでは、異なる時刻($t, t+\Delta t$)の2枚の2次元平面粒子画像に対して、相関領域(例えば $32 \times 32 \text{ pixel}$)ごとに2次元相互相関を計算、そして相関係数が最大になる位置を2次元平面内で検出し、その位置へ相関領域内の粒子群が平行移動したと仮定することで、粒子の移動量と移動方向を2次元平面内で求めることができる(Fig.1(a))。一方、3次元相関法では、はじめに3次元空間における立体的な粒子分布像を用意する。それに対して3次元の相関空間(例えば $32 \times 32 \times 32 \text{ pixel}$)を設定し、時刻の異なる2つの立体に対して相関空間ごとに3次元相互相関を計算、そして最大相関係数の検出を3次元空間で行う。それにより3次元的な移動量と移動方向が得られる(Fig.1(b))。

Fig. 1 Image cross-correlation method

2.2 撮影システム

本研究ではマイクロ流路内を流れる粒子群を立体撮影するために、高速3次元共焦点イメージングシステムRT3D(横河電機)を利用した3次元共焦点マイクロPIVシステム⁴⁾を構築した。システム図をFig.2に示す。本システムでは、水平面内の共焦点走査は高速共焦点スキャナCSU22(横河電機)⁹⁾で行う。それと同時に、ピエゾ駆動の対物レンズポジショナーを使って焦点面を垂直方向へ精密に、かつ高速で移動させることにより、わずかな時間内で3次元空間を連続的に共焦点走査することができる。

共焦点システムを使って立体画像を構築する手順を以下に示す。被写界深度の極めて小さい共焦点システムを

用いることにより、まず、ある焦点位置における2次元断面画像を撮影する。次に、焦点位置をわずかに移動させて同様に共焦点断面画像を撮影する。これを対象空間全域で繰り返すことで、ある3次元空間のスライス画像が得られる。さらにそれらの画像を積み重ねることで、3次元空間に分布する粒子群の立体像を構築することができる。この手法では有限の時間をかけて3次元空間を共焦点走査するため、完全な瞬時の立体像を撮影・記録することは不可能であるが、粒子の移動速度に比べて共焦点走査に要する時間が十分短い条件下では、PIV解析を実行する2つの立体像の時間間隔を十分長く設定することで、擬似的に瞬時の立体像と見なしてPIVを行うことができる。

2.3 撮影条件と解析手法

具体的な撮影条件について述べる。本システムでは、通常 $240 \times 180 \mu\text{m}$ の2次元平面領域を1,000 fpsで共焦点断面撮影することができる。ここではさらにカメラと対物レンズポジショナーを同期させることで、焦点位置の異なる断面画像を正確に撮影・記録している。焦点位置とカメラのフレーム番号の関係をFig.3に示す。撮影開始後、高速度カメラは1,000 fpsで1.455秒間(1455フレーム)連続撮影する。その間、焦点位置は、対物レンズポジショナーによってストローク $25 \mu\text{m}$ 、振動数10.6 Hzの三角波に沿って上下振動する。焦点位置が最下面から最上面まで移動する間の64断面(64フレーム、64 ms)を使って一つの立体像を構築する。これにより一度の撮影によって、 $240 \times 180 \times 19 \mu\text{m}$ の3次元空

Fig. 2 3-D confocal micro-PIV system

Fig. 3 Timing control of focal position and camera sequence for 3-D imaging

間を 10.6 Hz で連続的に立体撮影することができる。つまり毎秒 10.6 立体のサンプリングレートで、合計 15 個の時系列 3 次元粒子分布像が得られる。

PIV 解析には相關空間 $32 \times 32 \times 32$ pixel の 3 次元相互相關法を用いた。本システムでは 3 次元共焦点走査速度の限界のため、立体撮影可能な空間は非常に薄く扁平な直方体領域 ($240 \times 180 \times 19 \mu\text{m} = 800 \times 600 \times 64$ pixel) に限られている。そのため、撮影空間の中央水平断面内のみ速度 3 成分を算出できる 2D3C 計測となっている。

3. バックステップ流れへの応用

3.1 計測対象と計測領域

3 次元共焦点マイクロ PIV を用いて、マイクロチャネ

Fig. 4 Microchannel with a backstep and 3-D imaging volume

ル内のバックステップ流れの 3 次元計測を試みた。計測対象は流路幅 3 mm の PDMS マイクロチャネルで、流路高さがチャネル途中で $36 \mu\text{m}$ から $84 \mu\text{m}$ ヘステップ的に変化している。流路形状と立体撮影領域を Fig. 4 に示す。チャネル高さがちょうど切り替わった直後の位置で、チャネル底面から $36 \mu\text{m}$ の距離にある水平面を中心にした空間 ($77 \times 77 \times 19 \mu\text{m} = 256 \times 256 \times 64$ pixel) を立体撮影し、その中央断面内における速度 3 成分を計測する。実際には $240 \times 180 \times 19 \mu\text{m}$ の空間の立体撮影が可能であるが、3 次元相關計算の負荷低減のため、その一部のみを利用している。

作動流体はグリセリン水溶液で、粒径 $0.5 \mu\text{m}$ のトレーサ粒子を分散させている。流量はシリンジポンプで制御され、本実験では $1.0 \mu\text{L/h}$ となっている。流量から見積もられる平均流速は $1.1 \mu\text{m/s}$ ($\text{Re}=6.5 \times 10^{-3}$) とな

Fig. 5 Cross-sectional images of scanning volume at horizontal and vertical planes

(a) Overhead view

(b) Side view (xz plane)

Fig. 6 Two-dimensional distribution of three velocity components at center plane

り、非常に低速な流れであることが分かる。得られた 15 個の時系列立体像のうち、PIV 解析には第 1 番目と第 11 番目の立体像を用いている。したがって PIV 時間間隔は、3 次元空間を共焦点走査するのに要する時間の 10 倍以上となっている。

3.2 計測結果

撮影した立体像の水平断面画像および垂直断面画像を Fig. 5 に示す。Fig. 5 より、流れるトレーサ粒子群を立体的に撮影することに成功していることがわかる。本システムの被写界深度 ($1.88 \mu\text{m}$) は通常の顕微鏡に比べると大幅に小さくなっているものの、真の粒子像よりは大きいいため、垂直断面では水平断面に比べて粒子像が垂直方向へ細長く伸びている。

次に 3 次元相互相関法による PIV 解析の結果を Fig. 6 に示す。垂直方向へ長く延びた粒子像の影響に加えて、トレーサ粒子自身のブラウン運動の影響によって、速度場にばらつきが見られるものの、バックステップ部分での垂直方向速度成分を定性的に捉えることに成功している。

4. 結 論

高速 3 次元共焦点イメージングを利用して、マイクロ流路内流れの 2D3C 計測を実現した。トレーサ粒子群を立体撮影し、それらの 3 次元的な粒子輝度分布情報に対して 3 次元相関法を適用することで、水平面内の速度 3 成分を同時に取得することができる。さらに実際に垂直方向速度成分を有するバックステップ流れに適用したところ、その 3 次元的な流動を定性的に捉えることができた。現在の共焦点システムでは、走査速度の限界から計測可能な流れは極めて低速な流れ場に限定され、また計測可能な速度 3 成分は 2 次元平面内のみである。しかし本研究で提案する手法は、今後、共焦点走査速度の向上とともに、より実用的なマイクロ流れの 3 次元計測手法となりうる手法であると言える。

参 考 文 献

- 1) Hong, J. W. and Quake, S. R.: Integrated nanoliter systems, *Nature Biotechnology*, Vol. 21, No. 10 (2003) pp. 1179-1183.
- 2) Unger, M. A., Chou, H.-P., Thorsen, T., Scherer, A., Quake, S. R.: Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography, *Science*, Vol. 288 (2000) pp. 113-116.
- 3) Santiago, J. G., Wereley, S. T., Meinhart, C. D., Beebe, D. J., Adrian, R. J.: A particle image velocimetry system for microfluidics, *Experiments in Fluids*, Vol. 25 (1998), pp. 316-319.
- 4) Kinoshita, H., Oshima, M., Kaneda, S., Fujii, T.: Confocal micro-PIV measurement of internal flow in a moving droplet, *Proc. $\mu\text{TAS}2005$* , Vol. 1 (2005), pp. 629-631.
- 5) Yang, H., Halliwell, N. A., Coupland, J. M.: Micro holographic particle image velocimetry: Digital 3C3D measurement of free jet flow, 12th International Symposium on Applications of Laser Techniques to Flow Mechanics (2004).
- 6) Shinohara, K., Sugii, Y., Jeong, J. -H., Okamoto, K.: Development of 3D scanning micro-PIV system, 6th International Symposium on Particle Image Velocimetry (PIV'05) (2005).
- 7) Prasad, A. K.: Stereoscopic particle image velocimetry, *Experiments in Fluids*, Vol. 29 (2000), pp. 103-116.
- 8) Suzuki, Y., Ikenoya, M., Kasagi, N.: Simultaneous measurement of fluid and dispersed phases in a particle-laden turbulent channel flow with the aid of 3-D PTV, *Experiments in Fluids*, Suppl. (2000), pp. S185-S193.
- 9) Kawamura, S., Negishi, H., Otsuki, S., Tomosada, N.: Confocal laser microscope scanner and CCD camera, *Yokogawa Technical Report*, Vol. 33 (2002), pp. 17-20.